

---

# Modelos experimentales de osteomielitis

---

Manuel Gomis\*, José Barberán<sup>a</sup> y Javier Ariza<sup>b</sup>

Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital del Aire. Madrid. <sup>a</sup>Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Gómez Ulla. Madrid. Departamento de Medicina. Universidad Complutense. Madrid. <sup>b</sup>Servicio de Enfermedades Infecciosas. Ciudad Sanitaria de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona.

---

## RESUMEN

La osteomielitis humana todavía presenta importantes problemas de diagnóstico y tratamiento. La heterogeneidad de la enfermedad y el gran número de variables que influye sobre la misma (microorganismo causal, localización y extensión de la infección, edad del paciente, condición del huésped, grado de necrosis, entre otras) dificultan su estudio. Los ensayos clínicos con osteomielitis bien clasificadas y estratificadas son difíciles de llevar a cabo y generalmente sólo incluyen un reducido número de casos. Para controlar esta gran cantidad de factores, se han desarrollado modelos animales de confianza similares a la infección humana, y que permiten el estudio de la patogenia, el diagnóstico y el tratamiento de la osteomielitis. En este trabajo se realiza un breve resumen de los modelos animales históricos y actuales, y se describen con detalle los que nuestro grupo de trabajo ha creado con *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, así como los ensayos terapéuticos realizados en los mismos con cefotaxima, ceftazidima, piperacilina, imipenem/cilastatina, clindamicina y un factor estimulante de colonias de granulocitos.

### Palabras clave:

Osteomielitis experimental. Osteomielitis crónica. Patología.

---

## OSTEOMYELITIS EXPERIMENTAL MODEL

Human osteomyelitis still presents important problems to evaluate and treatment. The heterogeneity of the disease and the high number of variables with influence (causal organism, site and extent of involvement, age of the patient, condition of the host, degree of necrosis, etc.) complicate the study. Clinical trials with osteomyelitis correctly classified and stratified are difficult to design and usually including a small number of patients. To control these multiple factors, it has been developed reliable animal models which approach to the human infection, and to allow the study of pathogenesis, diagnosis and treatment of osteomyelitis. In this article we have made a brief review of the historical and current models and we describe in detail the models created by our group with *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* and the therapeutic trials carried out with cefotaxime, ceftazidime, piperacillin, imipenem/cilastatin, clindamycin and a granulocyte colony-stimulating factor.

### Key words:

Experimental osteomyelitis. Chronic osteomyelitis. Pathology.

---

## Introducción histórica

A pesar de los avances conseguidos en las últimas décadas en el tratamiento de las enfermedades infecciosas, las tasas de curación que se obtienen en la osteomielitis, en particular en su forma crónica, continúan estando por debajo de

la media alcanzada en otros procesos, ya que no se logra esterilizar el hueso en más del 70 % de las ocasiones<sup>1,2</sup>. A esto contribuyen el retraso en su detección y la falta de unos regímenes terapéuticos óptimos. No obstante, se ha progresado notablemente en su tratamiento, lo que ha mejorado el pronóstico. Las nuevas técnicas de imagen

---

\*Correo electrónico: mgomis@iponet.es.

como la gammagrafía ósea, la tomografía computarizada o la resonancia magnética han aportado mayor precocidad, sensibilidad y especificidad en el diagnóstico, y el amplio arsenal terapéutico del que hoy día se dispone ha demostrado su eficacia en muchos casos<sup>3-5</sup>. Se han realizado numerosos ensayos clínicos, algunos de escaso rigor científico y muy pocos de tipo comparativo. A ello han contribuido la heterogeneidad de la enfermedad (etiología, patogenia, localización, forma evolutiva, etc.) y la variabilidad existente en otros muchos aspectos (criterios de inclusión y exclusión, definición de aguda o crónica, técnicas de diagnóstico, pautas de los antimicrobianos, indicaciones quirúrgicas y criterios de respuesta clínica y microbiana), que dificultan enormemente el diseño de los estudios por la incapacidad de conseguir grandes grupos homogéneos que permitan obtener conclusiones definitivas.

Los modelos de osteomielitis en el animal de experimentación permiten obtener una cantidad de individuos, con las distintas variables de la infección unificadas, lo suficientemente amplia como para intentar acercarse a la realidad de los problemas que plantea la infección del hueso.

La historia de la osteomielitis experimental en animales se inicia en el año 1884, cuando Rodet consigue desarrollar en el hueso de conejos, principalmente en las metafisis del fémur y de la tibia, lesiones similares a las de la infección ósea humana, tras inyectarles por vía intravenosa *micrococcus*, aunque en el experimento murieron prematuramente bastantes animales por sepsis<sup>6</sup>. Diez años más tarde, Lexer repite el experimento usando pequeñas cantidades atenuadas de *Staphylococcus* spp. para evitar la muerte de los conejos en los primeros días y la aparición de artritis, obteniendo cambios patológicos en el hueso, pero sin lograr una infección progresiva<sup>7</sup>. Posteriormente, hubo una serie de intentos fallidos llevados a cabo por Starr en 1922, Haldeman en 1934 y Thompson y Dubos en 1938, quienes inoculando *Staphylococcus aureus* por vía intravenosa o de forma local en el hueso de conejos, sólo observaron lesiones supurativas en la zona de la administración del microorganismo<sup>8-10</sup>.

En 1941, Scheman et al, en otro modelo en conejos, son los primeros autores que consiguen una osteomielitis crónica progresiva en el animal de experimentación. Para ello, previamente a la inoculación de *S. aureus* por vía intravenosa o de forma directa en el hueso, introdujeron 0,3-0,4 ml de una sustancia esclerosante denominada *morruate sodium* al 5 %, con el fin de crear una trombosis vascular. El objetivo se alcanzó en la mayoría de los animales que recibieron la carga

bacteriana localmente y sobrevivieron más de 2-4 semanas. La administración por separado de la sustancia esclerosante y de *S. aureus* no fue suficiente para inducir la infección. Un porcentaje muy elevado de animales a los que se les inyectó el inóculo por vía intravenosa murieron en pocos días con abscesos hepáticos, esplénicos y renales, y ocasionalmente óseos<sup>11</sup>. Este mismo modelo fue reproducido en 1966 por Stevens<sup>12</sup>, pero ni este autor ni los creadores del mismo llegaron a tener conciencia de la trascendencia que su invento iba a tener en años posteriores.

La valoración adecuada y el desarrollo definitivo llegó con la experiencia de Norden y Kennedy en 1970, quienes perfeccionaron el modelo de Scheman estableciendo una osteomielitis crónica de manifestaciones histopatológicas y radiográficas similares a la humana. El trabajo fue realizado en conejos blancos Nueva Zelanda, a los que a través de una aguja insertada de forma percutánea en la cara lateral de la metafisis de la tibia, hasta alcanzar la cavidad medular, se les inyectaba 0,1 ml de *morruate sodium* al 5 %, seguido de la misma cantidad de una suspensión bacteriana de *S. aureus* resistente a la penicilina y de suero fisiológico para asegurar la entrada de los anteriores compuestos dentro de la médula. Los estudios histopatológicos demostraron lesiones características de osteomielitis con trayectos fistulosos y exudado purulento, y recuperaron el microorganismo en más del 90 % de los casos con un recuento medio de 10<sup>5</sup> unidades formadoras de colonias (UFC)/ml. Así mismo, establecieron grupos de animales con concentraciones variables del inóculo, demostrando una relación entre la dosis y el efecto. En los hemocultivos realizados, la frecuencia de las bacteriemias disminuía conforme se distanciaban en el tiempo de la inoculación. Los estudios radiográficos fueron aparentes entre las 2 y las 3 semanas después de la inyección de la carga bacteriana. El mismo procedimiento fue realizado con *Proteus mirabilis* alcanzando el éxito en un porcentaje más reducido de animales<sup>13</sup>.

Andriole et al desarrollaron otro modelo de osteomielitis estafilocócica similar al de Norden y Kennedy, con la diferencia de que la inoculación se hacía mediante la apertura de un agujero en la cortical de la tibia con la ayuda de un microtalladro. Además, en una serie de animales introdujeron una aguja de acero en el canal medular y en otra produjeron una fractura. En la primera, la infección se observó en todos los casos, y sólo en el 88 % de la segunda<sup>14</sup>.

La participación cada vez más frecuente de *Pseudomonas aeruginosa* en la osteomielitis hu-

mana ha llevado a crear modelos experimentales con este microorganismo. Hubo un primer intento por parte de Van Wingerden et al<sup>15</sup>, pero fueron Norden y Keleti los que lo establecieron definitivamente en 1980 con la misma técnica anteriormente descrita. La infección fue más leve, menos destructiva y con menor formación de involucro y extensión fuera del hueso que con *S. aureus*. El microorganismo se recuperó en el 90 % de los animales<sup>16</sup>. Este modelo fue modificado por Mader y Wilson en 1986: el *morrhuate sodium* se introdujo 2 días antes de la inoculación y previamente al momento de hacer la misma, y se elevó la concentración de *P. aeruginosa*, con lo que la consecución de la osteomielitis fue más rápida y progresiva<sup>17</sup>.

Johansson et al aprovecharon las anteriores técnicas para desarrollar un modelo con *Bacteroides fragilis*. En él se utilizó una esponja de alcohol de polivinilo impregnada con el microorganismo, que se colocó en la cavidad medular a través de un agujero realizado con un microtaladro, donde con anterioridad se había colocado *morrhuate sodium*<sup>18</sup>.

La utilización de ratas como animal de experimentación en la osteomielitis ha sido posterior. El primer modelo es el descrito por Zak et al en ratas Wistar en 1982. Utilizaron *S. aureus* y siguieron las directrices de Norden y Kennedy con la diferencia exclusiva del empleo de un microtaladro para hacer la inoculación y el cierre del mismo con cera ósea. A los 14 días de inyectar la suspensión bacteriana fueron evidentes los microabscesos y los fragmentos de hueso necrosado rodeados de una infiltración de neutrófilos, aunque era rara la presencia de sequestros y neoformación ósea. En las ratas sacrificadas después del primer mes de la inoculación se comprobó la producción de una osteomielitis crónica similar a la humana con sequestros, formación de hueso reactivo y un infiltrado crónico con macrófagos<sup>19</sup>. Rising et al realizaron un modelo parecido en ratas Sprague-Dawley, pero haciendo la inoculación con una aguja percutánea<sup>20</sup>. En un segundo trabajo emplearon como sustancia esclerosante ácido araquidónico y demostraron que era tan eficaz como el *morrhate sodium* para el desarrollo de la osteomielitis con la ventaja de usar dosis menores. Su mecanismo de acción es similar, aunque es probable que las prostaglandinas sintetizadas a partir de él sean las responsables de la respuesta inflamatoria y de la reabsorción ósea<sup>21</sup>.

En los últimos años han aparecido algunos trabajos en los que se ha logrado la osteomielitis sin utilizar ninguna sustancia esclerosante, cuando parecía necesaria en anteriores estudios. Así lo

han demostrado Nelson et al en un modelo en ratas con *P. aeruginosa*, donde indujeron la infección en el 90-95 % de los animales<sup>22</sup> y más recientemente Gisby et al en otro modelo con *S. aureus*<sup>23</sup>.

Otros animales como perros<sup>24,25</sup>, cobayas<sup>26</sup> y pollos<sup>27</sup> también han servido de modelos para esta infección.

## Descripción del modelo

Nuestro grupo de trabajo, ante el incremento de las osteomielitis por bacilos gramnegativos como consecuencia de los cambios epidemiológicos ocurridos por diversos factores en los últimos tiempos (empleo de técnicas quirúrgicas más agresivas, la adicción a drogas intravenosas, la hemodiálisis las inmunodeficiencias, los traumatismos asociados a accidentes de tráfico, etc.), desarrolló un modelo de osteomielitis en ratas Wistar con varias bacterias de esta característica tintorial, basado en las experiencias previas de Zak et al. Posteriormente creamos otro con *S. aureus*, siguiendo idénticos procedimientos. Una vez que estos modelos fueron validados, procedimos a la valoración de distintos antimicrobianos.

## Creación del modelo con bacilos gramnegativos

### Material y métodos

**Microorganismos.** Se escogió una cepa de *Escherichia coli* y otra de *P. aeruginosa*, ambas de procedencia clínica. El microorganismo se mantuvo en incubación en agar Müller-Hinton a 35 °C la noche anterior al día de la inoculación. El inóculo se preparó el mismo día de su utilización, comparando la densidad óptica con la escala de McFarland, para obtener una concentración bacteriana de 10<sup>7</sup> UFC/0,05 ml de *E. coli* y 10<sup>8</sup> UFC/0,05 ml de *P. aeruginosa*.

**Animales.** Se emplearon dos lotes de 30 ratas Wistar homogéneas en género, edad y peso, que fueron divididos en cuatro sublotos de 7-8 animales. Un lote se inoculó con *E. coli* y otro con *P. aeruginosa*.

**Preanestesia y anestesia.** Treinta minutos antes de la anestesia se administraron a los animales 0,6-1 ml (3-5 mg) de clorpromazina por vía intramuscular.

La anestesia se realizó por vía intraperitoneal con tiopental sódico, a la dosis de 50 mg/kg de peso. Para su administración se preparó una di-

lución 1/60 de un vial de 1 ml, conteniendo 1 g de tiopental sódico con agua destilada. La dilución contenía 16,6 mg/ml. Cuando esta anestesia no fue suficiente, se suministró éter etílico por inhalación mediante una campana de plástico, conteniendo algodones empapados en la sustancia, aproximándola a la cabeza del animal para facilitar su respiración.

**Técnica de inoculación.** La pata trasera izquierda se afeitó y se limpió con alcohol de 70°. A continuación se colocó el animal en un campo quirúrgico estéril. Se practicó una incisión longitudinal medial, en bloque, en el tercio superior de la tibia (tuberosidad), hasta la cresta tibial, rechazando planos musculares, aponeurosis y periostio. Con un microtaladro de dentista, que contenía una broca de 1 mm, se practicó un agujero en la cara interna metafisaria hasta alcanzar la cavidad medular. En él se insertó una aguja de 0,8 mm, a través de la cual se inyectaron 0,05 ml de sulfato de bario estéril diluido al 10% en suero fisiológico (que actúa como sustancia esclerosante), seguido de 0,05 ml de la suspensión bacteriana y de 0,05 ml de suero fisiológico para asegurar la entrada de los anteriores elementos. Después, la aguja se retiró, el agujero fue obturado con cera ósea estéril y la herida cerrada en un solo plano con seda. Acto seguido el animal fue devuelto a su jaula.

**Obtención y procesamiento de las muestras.** A los 7, 14, 28 y 56 días tras la inoculación, se sacrificaron dos sublotos de ratas, cada uno correspondiente a un microorganismo, utilizando una sobredosis de tiopental sódico intraperitoneal. Se desarticularon y aislaron las tibias inoculadas, y se lavaron externamente con alcohol de 70°. Un tercio de las huesos se introdujo en recipientes individuales con formaldehído al 10% para su procesamiento histopatológico. El resto del material, tras ser triturado en un mortero estéril de acero inoxidable, se colocó también en recipientes individuales con 5 ml de caldo de Müller-Hinton a 4 °C, para su transporte y posterior estudio microbiano.

**Procedimiento histopatológico.** Las muestras obtenidas, previamente fijadas en formaldehído al 10%, fueron decalcificadas con ácido nítrico al 7%. Posteriormente se procesaron según el método habitual de inclusión en parafina. Se realizaron las siguientes tinciones: hematoxilina-eosina, reticulina de Wilder, PAS y tricrómico de Masson.

**Procedimiento microbiano.** Las tibias trituradas se incubaron en estufa de cultivo a 35 °C duran-

te 24 h. A continuación se hicieron diluciones seriadas en suero fisiológico. De cada una de ellas se tomaron 0,025 ml con micropipeta y se sembraron en placas de Petri con agar Müller-Hinton para *P. aeruginosa* y agar MacConkey para *E. coli*, incubándose 24 h a 37 °C en estufa de cultivo. Finalmente se procedió a la lectura de las placas e identificación del microorganismo por técnicas habituales.

**Lotes accesorios.** En 8 ratas accesorias no incluidas en los lotes anteriores, se provocaron lesiones por el taladro, y en otras ocho se hizo lo mismo inyectándose a continuación la sustancia esclerosante (sulfato de bario estéril al 10% en suero fisiológico). Las ratas fueron sacrificadas en grupos de dos para su estudio histopatológico, a las 24 h, y a los 3, 7 y 14 días.

### Resultados

**Mortalidad.** Seis ratas (20%) murieron en las 48 h que siguieron a la inoculación de *P. aeruginosa*. Las 24 ratas que sobrevivieron quedaron divididas en cuatro sublotos de 6 animales.

Cinco ratas (16,6%) murieron en las 72 h posteriores a la inoculación de *E. coli*. Las 25 restantes quedaron divididas en tres sublotos de seis y uno de siete.

**Resultados microbianos.** Éstos fueron homogéneos, recuperándose el agente causal en todos los casos, con discretos incrementos en el número de UFC/g (tabla I).

**Resultados histopatológicos.** El estudio histopatológico demostró la aparición de lesiones osteomielíticas evidentes a partir del día 14 en el caso de *P. aeruginosa* e incluso antes con *E. coli*. Había necrosis óseas rodeadas e infiltradas por polimorfonucleares, células plasmáticas y más hacia la periferia, sobre todo a partir del día 28, se observaron osteocitos y aposición de hueso, tendiendo hacia la formación de lesión granulomatosa de cuerpo extraño. Macroscópicamente eran evidentes la osteólisis y las deformaciones (tablas II y III).

En ocho de las ratas no incluidas en los anteriores lotes se estudiaron los efectos provocados por la broca y el taladro, encontrándose lesiones localizadas, sin sequestratos y con escasa reacción leucocitaria y fibrosa, y sin reactivación osteoblástica marcada. En otras 8 ratas tampoco incluidas, a las que se inyectó sulfato de bario, se encontraron lesiones esclerosas medulares y destructivas trabeculares sin reacción osteoblástica ni fibrosa.

TABLA I  
RESULTADOS MICROBIANOS DEL MODELO CON BACILOS GRAMNEGATIVOS

<i>Microorganismo</i>	<i>Día del sacrificio</i>	<i>Número de muestras</i>	<i>Media Log UFC/g ± desviación típica</i>
<i>P. aeruginosa</i>	7	4	7,559 ± 0,129
	14	4	7,911 ± 0,094
	28	4	8,022 ± 0,043
	56	4	8,201 ± 0,063
<i>E. coli</i>	7	4	7,570 ± 0,086
	14	4	7,872 ± 0,066
	28	4	7,967 ± 0,057
	56	4	8,269 ± 0,056

TABLA II  
RESULTADOS HISTOPATOLÓGICOS CON *P. AERUGINOSA*

<i>Día de sacrificio</i>	<i>Macroscopia</i>	<i>Microscopia</i>
7	Sin alteraciones	Sin alteraciones
14	Lesión osteolítica Deformación ósea	Necrosis supurativa ósea
28	Lesión osteolítica Deformación ósea	Necrosis supurativa ósea con secuestros óseos
56	Lesión esclerosa Deformación ósea	Lesión crónica esclerosa Lesión granulomatosa de cuerpo extraño

TABLA III  
RESULTADOS HISTOPATOLÓGICOS CON *E. COLI*

<i>Día de sacrificio</i>	<i>Macroscopia</i>	<i>Microscopia</i>
7	Lesión osteolítica Deformación ósea	Necrosis supurativa ósea
14	Lesión osteolítica Deformación ósea	Necrosis supurativa ósea
28	Lesión osteolítica Deformación ósea	Necrosis supurativa ósea con secuestros óseos
56	Lesión osteolítica Deformación ósea	Lesión crónica esclerosa

### Creación del modelo con *S. aureus*

#### *Material y métodos*

*Microorganismos.* Se escogió una cepa de *S. aureus* sensible a la meticilina, procedente de un aislado clínico de un paciente con osteomielitis. El inóculo, que contenía una concentración de  $3 \times 10^8$  UFC/ml, se preparó de igual forma que el modelo anterior.

*Animales.* Se emplearon 50 ratas Wistar homogéneas en cuanto a género, edad y peso, que fueron divididos en seis grupos. Los cuatro primeros de 10 animales y los otros dos de cinco.

*Preanestesia y anestesia.* Igual al modelo con bacilos gramnegativos.

*Técnica de inoculación.* Igual al modelo con bacilos gramnegativos. Los animales del grupo 6 no

recibieron la suspensión bacteriana, ni los del grupo 5, sulfato de bario.

*Obtención y procesamiento de las muestras.* Los cuatro primeros grupos se sacrificaron a los 7, 14, 28 y 56 días, respectivamente, tras la inoculación y el los grupos 5 y 6 a las 2 semanas. La obtención y procesamiento de las muestras fue igual al modelo anterior con *P. aeruginosa*. La mitad de los huesos de los cuatro primeros grupos y todos los de grupo 6 fueron para estudio histopatológico. El resto del material lo fue para el microbiano.

*Procedimiento histopatológico y microbiano.* Igual al modelo con *P. aeruginosa*.

*Procedimiento estadístico.* Los datos obtenidos se han tratado con el programa SPSS para Win-

TABLA IV  
RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS  
DEL MODELO CON *S. AUREUS*

	UFC/ml	UFC/g de hueso
Grupo 1		
Tibia 1	$3 \times 10^3$	$4,7 \times 10^3$
Tibia 2	$1 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$
Tibia 3	$4,2 \times 10^5$	$4,6 \times 10^5$
Tibia 4	$7,5 \times 10^5$	$1,05 \times 10^6$
Tibia 5	$12,8 \times 10^6$	$1,5 \times 10^7$
Grupo 2		
Tibia 1	$16,1 \times 10^4$	$1,9 \times 10^5$
Tibia 2	$3,6 \times 10^2$	$5,2 \times 10^2$
Tibia 3	$4,8 \times 10^2$	$7 \times 10^2$
Tibia 4	$3 \times 10^4$	$6,5 \times 10^4$
Tibia 5	$7,75 \times 10^4$	$1,05 \times 10^5$
Grupo 3		
Tibia 1	$2,7 \times 10^3$	$3,3 \times 10^3$
Tibia 2	$6,8 \times 10^4$	$8,5 \times 10^4$
Tibia 3	$3,3 \times 10^4$	$4,2 \times 10^4$
Tibia 4	—	—
Tibia 5	$9,9 \times 10^4$	$1,6 \times 10^5$
Grupo 4		
Tibia 1	$5 \times 10^4$	$7 \times 10^4$
Tibia 2	$3 \times 10^3$	$3,6 \times 10^3$
Tibia 3	$9,3 \times 10^4$	$1,2 \times 10^5$
Tibia 4	$1,9 \times 10^4$	$3,1 \times 10^4$
Tibia 5	$3,7 \times 10^4$	$5 \times 10^4$
Grupo 5		
Tibia 1	$7,2 \times 10^4$	$8,4 \times 10^4$
Tibia 2	$8 \times 10^4$	$9 \times 10^4$
Tibia 3	$6,6 \times 10^2$	$9 \times 10^2$
Tibia 4	$3,9 \times 10^2$	$4,5 \times 10^2$
Tibia 5	$5,4 \times 10^3$	$6,3 \times 10^3$

dows. En la descripción estadística se utilizó la mediana, moda, máximo, mínimo y rango, y en la comparación de grupos el test de la U de Mann-Whitney. Se consideró significativo un valor de  $p < 0,05$ .

**Resultados**

*Resultados clínicos.* En los días siguientes a la inoculación las ratas tuvieron un comportamiento normal. En 12 se observó un aumento de la temperatura corporal al tacto que más tarde desapareció y en 14 había signos inflamatorios locales y abscesos de partes blandas en la extremidad manipulada.

*Resultados histológicos.* En las tibias de los cuatro primeros grupos existían lesiones líticas con los típicos *nidus* formados por una zona central de necrosis, donde en ocasiones se veían cocos gram-positivos, rodeada por capas de un infiltrado de células inflamatorias (polimorfonucleares, linfocitos y células plasmáticas) y más periféricamente de una reacción fibrohistiocitaria. Las tibias del grupo 6 sólo presentaban lesiones fibrosas semejantes a un granuloma de cuerpo extraño.

*Resultados microbianos.* En todas las tibias de los diferentes grupos que recibieron inóculo bacteriano, excepto una del grupo 3, se recuperaron estafilococos. En la tabla IV se reflejan las cifras en UFC/ml y en UFC/g de hueso, en la tabla V la estadística descriptiva y en la tabla VI los resultados de la comparación entre los grupos aplicando el test de la U de Mann-Whitney.

**Modelo con *E. coli*. Tratamiento con cefotaxima<sup>28</sup>**

*Material y métodos*

*Microorganismos.* Se empleó una cepa de *E. coli* con la que se llevó a cabo una suspensión bacteriana de  $10^7$  UFC/0,05 ml. La concentración mínima inhibitoria para cefotaxima fue de  $0,25 \mu\text{g/ml}$ . En la preparación del inóculo se siguieron las mismas normas que en la creación del modelo.

*Animales.* Se utilizaron 48 ratas Wistar homogéneas en cuanto a género, edad y peso, con las que se establecieron cuatro grupos:

*CNT-1:* grupo control sin tratamiento. Las ratas se sacrificaron 56 días después de la inoculación. Contenía 11 ratas.

TABLA V  
ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DEL MODELO CON *S. AUREUS*

	<i>Mediana</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Moda</i>	<i>Máximo</i>	<i>Rango</i>
Grupo 1					
UFC/ml	420.000	3.000	3.000	12.800.000	12.797.000
UFC/g	460.000	4.700	4.700	15.000.000	14.995.300
Grupo 2					
UFC/ml	30.000	360	360	161.000	160.640
UFC/g	65.000	520	520	190.000	189.480
Grupo 3					
UFC/ml	50.500	2.700	2.700	99.000	96.300
UFC/g	63.500	3.300	3.300	160.000	156.700
Grupo 4					
UFC/ml	37.000	3.000	3.000	93.000	90.000
UFC/g	50.000	3.600	3.600	120.000	116.400
Grupo 5					
UFC/ml	5.400	390	390	80.000	79.610
UFC/g	84.000	450	450	90.000	89.550

TABLA VI  
RESULTADOS DE LA COMPARACIÓN ENTRE GRUPOS EN EL MODELO  
CON *S. AUREUS*. TEST DE LA U DE MANN-WHITNEY

	<i>Grupo 2</i>	<i>Grupo 3</i>	<i>Grupo 4</i>	<i>Grupo 5</i>
Grupo 1	p = 0,0758	p = 0,0864	p = 0,0937	
Grupo 2		p = 0,6242	p = 0,7540	p = 0,9168
Grupo 3			p = 0,8065	

*CTX-1*: grupo de tratamiento corto (14 días), en el que la antibioterapia se inició 14 días después de la inoculación. Las ratas se sacrificaron 28 días después de finalizar el tratamiento (56 días después de la inoculación). Contenía 13 ratas.

*CNT-2*: grupo control sin tratamiento. Las ratas se sacrificaron 70 días después de la inoculación. Contenía 11 ratas.

*CTX-2*: grupo de tratamiento largo (28 días). El tratamiento se inició 14 días después de la inoculación. Las ratas se sacrificaron 28 días después de acabar la antibioterapia (70 días después de la inoculación). Contenía 13 ratas.

*Antibioterapia*. La dosis de cefotaxima fue de 100 mg/12 h administrada por vía subcutánea. Se calculó a partir de una dosis estándar en osteomielitis humana del adulto, establecida en mg/kg de peso/día. Esta cantidad se corrigió multiplicando por un factor 6 (corrección peso/superficie del animal), conociendo la cantidad a administrar en mg/kg de peso/día/rata.

*Preanestesia y anestesia*. Igual que en la creación del modelo.

*Técnica de inoculación*. Igual que en la creación del modelo.

*Obtención y procesamiento de las muestras*. Igual que en la creación del modelo: 5 tibias de los grupos de control y seis de los de tratamiento se destinaron para estudio histopatológico. Para el procesamiento microbiano se emplearon 6 tibias de los grupos de control y siete de los de tratamiento.

*Procedimiento histopatológico y microbiano*. Igual que en la creación del modelo.

*Valoración estadística*. Las diferencias entre las medias se compararon por medio de la t de Student.

*Resultados*

*Mortalidad*. Cinco ratas (10 %) murieron antes de la fecha del inicio del tratamiento, dentro de las

TABLA VII  
 RESULTADOS MICROBIANOS (UFC/g) DEL MODELO CON *E. COLI*.  
 TRATAMIENTO CON CEFOTAXIMA

Rata	CNT-1	CTX-1	CNT-2	CTX-2
1	$6,47 \times 10^6$	$4 \times 10^4$	$6,24 \times 10^7$	$0,12 \times 10^2$
2	$8,83 \times 10^5$	$1,52 \times 10^5$	$10^8$	0
3	$2,40 \times 10^7$	$1,6 \times 10^5$	$7,75 \times 10^7$	0
4	$5,47 \times 10^6$	0	$6 \times 10^7$	0
5	—	$1,8 \times 10^5$	$2 \times 10^8$	0
6	—	$2,4 \times 10^5$	—	0
7	—	0	—	0
m <sub>x</sub>	6,716	3,6604	7,9527	0,154
δ	0,5145	2,3260	0,3408	0,3776
Sm	0,2970	0,9496	0,1740	0,1541

CNT-1: grupo control sin tratamiento; CTX-1: grupo de tratamiento corto (14 días); CNT-2: grupo control sin tratamiento; CTX-2: grupo de tratamiento largo (28 días).

Diferencias entre las medias: CNT-1 y CTX-1:  $p > 0,05$ ; CNT-2 y CTX-2:  $p < 0,05$ ; CTX-1 y CTX-2:  $p < 0,05$ .

72 h que siguieron a la inoculación. En 2 ratas se atribuyó a efectos de la anestesia y en tres a sepsis por *E. coli*.

*Resultados microbiológicos*

*1. Tratamiento corto*

En los animales tratados durante 14 días se obtuvo la esterilización del hueso en 2 de 7 (28,5 %), observándose en el resto pequeñas reducciones en el número de UFC/g, con respecto al grupo control CNT-1. Las diferencias entre las medias de CNT-1 y CTX-1 no fueron significativas (tabla VII).

*2. Tratamiento largo*

En los animales tratados 28 días se obtuvo la esterilización en 6 de 7 casos (85,7 %). El único recuento bacteriano positivo fue significativamente menor que los observados en el grupo control. La diferencia de las medias entre los grupos CNT-2 y CTX-2 fue inferior a 0,05 (tabla VII).

*3. Grupos control*

El microorganismo se recuperó en todas las muestras óseas.

*4. Estudio de la concentración mínima inhibitoria*

La concentración mínima inhibitoria (CMI) del microorganismo ensayado para cefotaxima previa al tratamiento fue de 0,25 µg/ml. Las CMI de los microorganismos aislados en las tibias de los animales tratados y en los controles oscilaron entre 0,25 y 1 µg/ml.

*Resultados histopatológicos*

*1. Tratamiento corto*

Todos los animales (n = 6) presentaron necrosis focal en la metafisis, con destrucción ósea y acúmulos de hueso compacto neoformado. La celularidad que rodeaba el área de necrosis correspondía a osteocitos, células plasmáticas y fibroblastos en neoformación capilar intensa. En la necrosis ósea existía gran infiltración de polimorfonucleares.

*2. Tratamiento largo*

El 83 % de los animales (n = 5) no presentaron alteraciones microscópicas de actividad osteomielítica. En un animal, la lesión estaba constituida por una reacción inflamatoria crónica, con gran predominio de fibroblastos y neoformación ósea.

*3. Grupos de control*

En todos los animales se observó lesión lítica macroscópica. Con microscopia óptica se objetivó necrosis destructiva supurada con secuestros óseos.

*Efectos adversos*

Durante el tratamiento con cefotaxima no se observaron efectos secundarios.

**Modelo con *P. aeruginosa* y otros antibióticos**

Siguiendo la misma metodología previamente explicada, durante estos años hemos investigado



el comportamiento de ceftazidima, piperacilina e imipenem/cilastatina frente a *P. aeruginosa*.

#### Ceftazidima<sup>29</sup>

Este antibiótico se administró a la dosis de 100 mg/12 h por vía subcutánea. Para el modelo se utilizó un cepa de procedencia clínica, con una CMI de 2 µg/ml. Se establecieron tres grupos de 15 ratas cada uno: uno de control al que no se administró el antibiótico (se sacrificó 20 días después de la inoculación) y dos de tratamiento, uno corto de 14 días (inicio a los 14 días de la inoculación y sacrificio 28 después de finalizar la administración del antibiótico) y otro largo de 28 (inicio a los 14 días de la inoculación y sacrificio 28 después de finalizar la administración del antibiótico). En los animales tratados 14 días se obtuvo la esterilización en el 43 % (3 de 7), y en los que recibieron ceftazidima durante 28 días en el 57 % (4 de 7). En ambos casos, cuando la negativización de los cultivos no fue posible, se observaron pequeñas reducciones de UFC/g con respecto al grupo control. No hubo diferencias significativas entre los dos grupos de tratamiento, pero sí que se hallaron con respecto al de control ( $p < 0,05$ ). En todos los animales de los grupos de control se recuperaron los microorganismos. La CMI inicial de 2 µg/ml, se mantuvo en los microorganismos que se aislaron en los huesos. En las ratas tratadas 14 días se evidenciaron necrosis focal con destrucción ósea y acumulaciones de hueso compacto neoformado. La celularidad que rodeaba el área de necrosis correspondía a osteocitos, células plasmáticas y fibroblastos con neoformación capilar intensa. En las del grupo de tratamiento prolongado, en 5 de 7 casos no se observaron lesiones microscópicas ni macroscópicas de actividad osteomielítica. En las dos restantes se encontró una reacción inflamatoria crónica con predominio de fibroblastos y neoformación ósea. En todos los animales del grupo de control se observó una lesión osteolítica macroscópica, y en la microscopia óptica necrosis destructiva supurada con secuestros óseos. No se apreciaron efectos adversos.

#### Piperacilina<sup>30</sup>

Se administró 2 semanas después de la inoculación, por vía subcutánea a razón de 126 mg/kg/día, repartida en tres dosis, durante 28 días. Se establecieron dos grupos: uno de control (10 ratas) y otro de tratamiento (15 ratas) que se sacrificaron 70 días después de la inocu-

lación. En ningún animal se logró esterilizar el hueso, pero sí se objetivó una reducción significativa de las UFC/g de hueso respecto al grupo control ( $p < 0,001$ ). En las tibias de las ratas tratadas no se observaron signos macroscópicos ni microscópicos de osteomielitis activa.

#### Imipenem/cilastatina<sup>31</sup>

El antibiótico se administró a la dosis de 40 mg/kg/8 h por vía subcutánea. La CMI de la cepa de *P. aeruginosa* seleccionada para imipenem/cilastatina fue de 1 µg/ml. Se crearon dos grupos de control de 8 ratas cada uno, con sacrificios a los 28 y 40 días, respectivamente, después de la inoculación, y otros dos de tratamiento durante 10 días, que se inició a los 15 de la inoculación. El primer grupo de tratamiento estaba formado por 10 ratas, sacrificadas al día siguiente de finalizar la administración del antibiótico. El segundo grupo de tratamiento estaba compuesto por 14 ratas, cuyo sacrificio se demoró hasta haber pasado 15 días después de terminar el tratamiento. No se consiguió la esterilización en ninguna rata, excepto en una del segundo grupo de tratamiento, pero se logró una reducción significativa de las UFC/g con respecto a los grupos de control. Las CMI de los microorganismos que se recuperaron en los huesos se mantuvieron iguales a las iniciales.

#### Modelo con *S. aureus* y dosis terapéuticas y subterapéuticas de clindamicina<sup>32</sup>

Se empleó una cepa de *S. aureus*, sensible a la meticilina, procedente de un aislamiento clínico. Se establecieron tres grupos, uno de control sin tratamiento (6 ratas) y otros dos con clindamicina de 7 y 8 ratas. El antibiótico fue administrado a la razón de 70 y 90 mg/kg/día, respectivamente, en tres dosis, durante 28 días, por vía subcutánea. En los dos grupos de tratamiento hubo una disminución significativa de las UFC/ml respecto al control, pero no se detectaron diferencias entre los mismos.

#### Modelo con *S. aureus* y factor estimulante de colonias de granulocitos más dosis subterapéuticas de clindamicina<sup>33</sup>

Se crearon tres grupos: a) control con 27 ratas sin tratamiento; b) tratadas con clindamicina (35 mg/kg b.i.d., subcutánea), y c) tratadas con clindamicina (35 mg/kg b.i.d., subcutánea) más factor estimulante de colonias de granulocitos (25 µg/kg b.i.d., subcutáneo). El tratamiento se

inició 14 días después de la inoculación y se prolongó durante 28 días. El sacrificio se efectuó a las 2 semanas de terminar la terapia. Con el factor estimulante de colonias asociado a clindamicina se produjo una reducción de las UFC/ml cuatro veces mayor que sin él, aunque no fue suficiente para alcanzar una significación estadística.

## DISCUSIÓN

La elección de la rata Wistar en vez del conejo para desarrollar nuestro modelo se debió a que este animal se maneja con mayor facilidad, resulta más económico y no presenta de forma tan manifiesta los efectos secundarios (diarreas inespecíficas o idiopáticas o por colitis pseudomembranosa) del empleo de antimicrobianos durante períodos prolongados. Preferimos el empleo de un microtaladro para hacer un agujero en la cortical ósea a la aguja percutánea, para facilitar la inoculación y por la garantía que nos ofrecía de que ésta fuera correcta.

Con estos trabajos hemos conseguido crear modelos fiables de osteomielitis crónica con bacilos gramnegativos (*E. coli* y *P. aeruginosa*) y *S. aureus*, en los que los signos de la infección ósea eran evidentes a partir del día 14 de la inoculación. Posteriormente nos han servido para valorar la respuesta a varios antimicrobianos. También comprobamos el efecto que tiene la inoculación exclusivamente del sulfato de bario (lesiones esclerosas medulares y destrucción de trabéculas, sin reacción osteoblástica ni fibrosa), así como los provocados por la broca y el taladro (lesiones localizadas con escasa reacción leucocitaria y fibrosa). En el modelo estafilocócico, logramos desarrollar la osteomielitis sin necesidad de sustancia esclerosante, como se venía creyendo hasta no hace mucho tiempo.

Naturalmente, somos plenamente conscientes de las limitaciones que estos estudios tienen en referencia a la osteomielitis humana, que de forma sucinta son las siguientes: a) el uso de una sustancia esclerosante extraña; b) la utilización del microtaladro que parece favorecer la síntesis de prostaglandinas en el hueso y, por tanto, la infección, y c) la administración de inóculos mucho más altos de los que se precisan para que tenga lugar una osteomielitis humana.

En el capítulo terapéutico, hemos demostrado la utilidad de antibióticos como cefotaxima, cefotaxidima, piperacilina e imipenem/cilastatina en el tratamiento de la osteomielitis experimental, que posteriormente ha sido corroborada en la clínica. Más recientemente, hemos comprobado el

efecto beneficioso en la osteomielitis de un factor estimulante de colonias de granulocitos junto a dosis subterapéuticas de clindamicina.

En definitiva, contamos en la actualidad con un modelo de osteomielitis crónica fiable, fácil de desarrollar y económico, que permitirá continuar en el futuro la labor de investigación, que durante una década llevamos realizando.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Cierny G, Mader JT. Adult chronic osteomyelitis. *Orthopaedics* 1984; 7: 1.557-1.564.
2. Sheagren JN. Bone and joint infections. *Curr Opin Infect Dis* 1990; 3: 653-654.
3. Aliabadi P, Nikpoor N. Imaging osteomyelitis. *Arthritis & Rheumatism* 1994; 37: 617-622.
4. Gentry LO. Role of newer beta-lactam antibiotics in treatment of osteomyelitis. *Am J Med* 1985; 78 (Supl 6A): 134-139.
5. Gomis Gavilán M, Ledesma Martín-Pintado F, López Sánchez F. Tratamiento de la osteomielitis crónica. *An Med Intern (Madrid)* 1995; 12: 115-121.
6. Rodet A. Physiologie pathologique-étude expérimentale sur l'osteomyelite infectieuse. *C R Acad Sci* 1885; 99: 569-571.
7. Lexer E. Zur experimentellen erzeugung osteomyelitischer herde. *Arch Klin Chir* 1894; 48: 181-200.
8. Starr CL. Acute hematogenous osteomyelitis. *Arch Surg* 1922; 4: 567-587.
9. Haldeman KO. Acute osteomyelitis. A clinical and experimental study. *Surg Gynecol Obstet* 1934; 59: 25-31.
10. Thompson RHS, Dubos RJ. Production of experimental osteomyelitis in rabbits by intravenous injection of *Staphylococcus aureus*. *J Exp Med* 1938; 68: 191-206.
11. Scheman L, Janota M, Lewin P. The production of experimental osteomyelitis: preliminary report. *JAMA* 1941; 117: 1.525-1.529.
12. Stevens DB. Value of prophylactic penicillin in experimental osteomyelitis. *J Surg Res* 1966; 6: 446-450.
13. Norden CW, Kennedy E. Experimental osteomyelitis I. A description of the model. *J Infect Dis* 1970; 122: 410-418.
14. Andriole VT, Nagel DA, Southwick WO. A paradigm for human chronic osteomyelitis. *J Bone Joint Surg (Am)* 1973; 55A: 1.511-1.515.
15. Van Wingerden GI, Lolans V, Jackson GG. Experimental pseudomonas osteomyelitis. Treatment with sisomicin and carbenicillin. *J Bone Joint Surg (Am)* 1974; 56A: 1.452-1.458.
16. Norden CW, Keleti E. Experimental osteomyelitis caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *J Infect Dis* 1980; 141: 71-75.
17. Mader JT, Wilson KJ. Models of osteomyelitis. En: Zak O, Sande MA, editores. *Experimental models in antimicrobial chemotherapy*. Londres: Academic Press, 1986; 2: 155-173.

18. Johansson A, Svensson O, Blomgren G, Eliasson G, Nord CE. Anaerobic osteomyelitis: a new experimental rabbit model. *Clin Orthop* 1991; 265: 297-301.
19. Zak O, Zak F, Rich R, Tosch W, Kradoffer R, Scheld WM. Experimental staphylococcal osteomyelitis in rats: therapy with rifampin and cloxacillin alone or in combination. En: Periti P, Grassi GG, editores. *Current chemotherapy and immunotherapy*. Washington: American Society for Microbiology, 1982; 973-974.
20. Rissing JP, Buxton TB, Weinstein RS, Shockley RK. Model of experimental chronic osteomyelitis in rats. *Infect Immunol* 1985; 47: 581-586.
21. Rissing JP, Buxton TB, Fisher J, Harris R, Shockley RK. Arachidonic acid facilitates experimental chronic osteomyelitis in rats. *Infect Immunol* 1985; 49: 141-144.
22. Nelson DR, Buxton TB, Luu QNL, Rissing JP. An antibiotic resistant experimental model of pseudomonas osteomyelitis. *Infection* 1990; 18: 246-249.
23. Gisby J, Beale AS, Bryant JE, Toseland CDN. Staphylococcal osteomyelitis-a comparison of co-amoxiclav with clindamycin and flucloxacillin in an experimental rat model. *J Antimicrob Chemother* 1994; 34: 755-764.
24. Deysine M, Rosario E, Isenberg HD. Acute hematogenous osteomyelitis: an experimental model. *Surgery* 1976; 79: 97-99.
25. Fitzgerald RH. Experimental osteomyelitis: description of a canine model and the role of depot administration of antibiotics in the prevention and treatment of sepsis. *J Bone Joint Surg (Am)* 1983; 65A: 371-380.
26. Passl R, Muller C, Zielinski CC, Eibl MM. A model of experimental post-traumatic osteomyelitis in guinea pigs. *J Trauma* 1984; 24: 323-326.
27. Emslie KR, Nade S. Acute hematogenous staphylococcal osteomyelitis: a description of the nature history in an avian model. *Am J Pathol* 1983; 110: 333-345.
28. Gomis M, Herranz A, Aparicio P, Fe A, Alonso MJ, Prieto J et al. An experimental model of chronic osteomyelitis caused by *Escherichia coli* treated with cefotaxime. *J Antimicrob Chemother* 1990; 26 (Supl A): 15-21.
29. Gomis M, Barberán J, Gómez-Lus ML, Herranz A, Alonso MJ, Prieto J. Ceftazidime as therapy for experimental osteomyelitis caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Esp Quimioterap* 1995; 8: 203-206.
30. Gomis M, Herranz A, Aparicio P, Fe A, Barberán J, Alonso MJ et al. Piperacilina en el tratamiento de la osteomielitis experimental en ratas causada por *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Esp Quimioterap* 1995; 8: 128-130.
31. Barberán J, Gomis M, Khorrami S, Ferrández A, López-Arce J, Gómez-Lus ML. Short guide-line of imipenem in the treatment of an experimental model of osteomyelitis by *Pseudomonas aeruginosa* [resumen 191]. Hamburgo, Alemania: 2<sup>nd</sup> European Congress of Chemotherapy and 7<sup>th</sup> Biennial Conference on Antiinfective Agents and Chemotherapy, 10-13 de mayo de 1998.
32. Barberán López J, Ramón J, Sopesén B, Khorrami S, Prieto J, Gomis M. Sub-inhibitory and inhibitory clindamycin concentrations in an experimental model of staphylococcal osteomyelitis [resumen P812]. Lausana, Suiza: 8th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 25-28 de mayo de 1997. *Clin Microbiol Infect* 1997; 3 (Supl 2): 196.
33. Gomis M, Barberán J, Sopesén B, Sánchez B, Khorrami S, Gómez-Lus ML et al. Granulocyte colony-stimulating factor plus subtherapeutic doses of clindamycin in a model of staphylococcal osteomyelitis in rats [resumen M 190]. Hamburgo, Alemania: 2<sup>nd</sup> European Congress of Chemotherapy and 7<sup>th</sup> Biennial Conference on Antiinfective Agents and Chemotherapy, 10-13 de mayo de 1998.

## DISCUSIÓN

- J.M. GATELL: ¿Cuántos días después de la inoculación comienza el tratamiento?
- J. BARBERÁN: El tratamiento se inicia a las 2 semanas después de la inoculación.
- J.A. CAPDEVILA: Después de practicar el agujero con el taladro, ¿el inóculo se deposita dentro de la cavidad medular del hueso, o bien se enclava la aguja en el hueso?
- J. BARBERÁN: Primero realizamos el agujero con el microtaladro; a continuación retiramos el microtaladro e introducimos la aguja en la cavidad libre medular, donde se inyecta el inóculo.
- J.A. CAPDEVILA: Si el líquido inoculado queda libre dentro de la cavidad medular, con vuestro modelo ¿no crees que realmente inducís una osteomielitis difusa?

- J. BARBERÁN: Procurando no perforar con el microtaladro la otra parte de la cortical de la tibia de la rata, el líquido queda libre dentro de la cavidad medular. Al quedar el inóculo en cavidad medular, se induce una osteomielitis extensa, pero a pesar de ello y como se ha podido comprobar con las imágenes que hemos presentado, no se ven afectadas ni toda la cavidad ni toda la cortical del hueso, sino que la osteomielitis queda localizada en el punto de inoculación.
- J. GAVALDA: Una recomendación técnica que os podría servir para evitar los problemas de homogeneización de los huesos es congelar los huesos a - 80 °C con nitrógeno líquido y después, con un mortero o martillo neumático, se

tritura el hueso congelado y se obtiene un polvo muy bien homogeneizado. Por último, me gustaría saber tu opinión sobre la posibilidad de curación de la osteomielitis con estos modelos. Todos sabemos que en la osteomielitis crónica con abscesos de Brodie, sin cirugía, la curación es muy difícil; en cambio, con estos modelos de osteomielitis, algunos tratamientos consiguen la curación.

J. BARBERÁN: El problema del tratamiento de la osteomielitis no es que el antibiótico no llegue al hueso. Como todos sabemos el hueso es un órgano totalmente difundido y no tiene ninguna barrera anatómica que impida el acceso del antibiótico. Sin embargo, el problema del tratamiento de la osteomielitis, sobre todo la crónica, es que se forma un macroacceso que actúa en forma de secuestro y éste dificulta que el antibiótico acceda al agente infeccioso. En el modelo experimental en rata, el absceso o el *nidus* que inducimos es microscópico, se trata de un microabsceso, y por ello el antibiótico accede fácilmente a él. La valoración se realiza posteriormente a través del estudio histopatológico y por el recuento de unidades formadoras de colonias y, a pesar del tratamiento, no siempre obtenemos la erradicación de la infección.

J. GAVALDÀ: ¿En algún momento alguien se ha planteado dejar más tiempo entre la infección y el inicio del tratamiento, a fin de los abscesos adquieran un tamaño superior y ello dificulte tratamiento antibiótico?

J. BARBERÁN: No sé exactamente lo que ocurriría si iniciásemos el tratamiento más tarde. Lo comenzamos después de la segunda semana de la inoculación basándonos en la diferenciación, más o menos aceptada, entre osteomielitis aguda y crónica, que se establece cuando el proceso infeccioso perdura más de 2 semanas. Con este modelo constatamos que en el grupo control la infección perdura. Cuando realizamos sacrificios a los 7, 14, 28 y 56 días de tratamiento, se observa al principio el *nidus* característico, como una infección necrosante supurativa aguda y, después, evoluciona con una reacción inflamatoria periférica, probablemente como intento de controlar la infección por parte del sistema inmunitario del animal.

J. ARIZA: De todas formas y desde un punto de vista clínico, vuestro modelo se parece más a una osteomielitis aguda que a la propia osteomielitis crónica. Ante una osteomielitis aguda hematógena, generalmente por *Staphylococcus aureus*, de entrada será necesario plantear un tratamiento prolongado, de al menos 3-4 semanas, con antibióticos. La cuestión está en sa-

ber si estas osteomielitis hematógenas pueden curarse sólo con antibióticos o, además, es necesario el desbridamiento quirúrgico. En cambio, la osteomielitis crónica, según el criterio clínico clásico, implica la cirugía como un requisito casi imprescindible para alcanzar la curación. El tratamiento antibiótico prolongado aplicado en vuestro modelo experimental alcanza la curación, mientras que no cura si dicho tratamiento no es prolongado. Por este motivo, e independientemente de que sirva para evaluar eficacia de antibióticos, creo que el modelo acaba asemejándose más a la osteomielitis hematógena. Finalmente, me gustaría que comentarais cómo analizáis vuestros resultados al compararlos con los publicados en la bibliografía. Es decir, de las experiencias de Norden que son las más conocidas, una de las cosas que siempre me ha llamado la atención es que los resultados como, por ejemplo, en la osteomielitis estafilocócica con cloxacilina, eran relativamente deficientes y, en cambio, los resultados eran buenos cuando hablamos de clindamicina y rifampicina. Esto nos devuelve otra vez a una conversación anterior sobre la importancia de las bacterias adherentes en infección ósea, independientemente de que haya o no cuerpo extraño. Y, después, en la infección por gramnegativos según los experimentos de Norden, los betalactámicos han sido relativamente cuestionados y, de alguna forma, las quinolonas se comportarían como antibióticos muy superiores en la infección por *Pseudomonas aureuginosa*. A partir de estos resultados y de los comentarios de Joan Gavalda, creo que el modelo no acaba de simular el concepto clínico que tenemos de osteomielitis crónica.

J. BARBERÁN: A todo hay que ponerle un límite desde el punto de vista conceptual: la mayoría de autores aceptan los 14 días como el punto de inflexión de una osteomielitis aguda a una osteomielitis crónica. Pero dentro de las crónicas pueden existir también diferencias muy evidentes. El caso extremo serían las osteomielitis de años de evolución en pacientes con heridas de guerra y que se caracterizan por continua supuración. Siendo una osteomielitis crónica también, es recidivante y poco se parece a la crónica de un mes de evolución. La afectación del hueso es total, existe una pandiafisitis, con clara imagen radiológica de secuestro. En estas situaciones se requiere limpieza quirúrgica del hueso y tratamiento con antibióticos. Pero la osteomielitis crónica más frecuente en la actualidad y en la que deberíamos centrar los esfuerzos para su tratamiento es la posquirúrgica o la

postraumática, que suele diagnosticarse con cierto retraso a pesar de disponer de tomografía computarizada o resonancia magnética. Estas osteomielitis se curan con desbridamiento quirúrgico y antibioterapia prolongada. En segundo lugar, el modelo que hemos presentado no es ni mucho menos parecido a la osteomielitis hematógena: existe una inoculación en la tibia, es una osteomielitis contigua, remeda a la fractura abierta, a la posquirúrgica, a la postraumática, a la infección de partes blandas, etc., pero no hay diseminación hematógena de la infección, y si se deja evolucionar durante más de 14 días, entraríamos en el concepto de cronicidad. Por tanto, convendría diferenciar entre las osteomielitis agudas, las crónicas de más de 14 días y, finalmente, aquellas con posibilidades muy limitadas de tratamiento y que suelen acabar en amputación. Dentro de este contexto, nos interesa el segundo tipo, la osteomielitis que tarda un poco en diagnosticarse y que la podemos curar con tratamiento quirúrgico y con tratamiento médico. Por último, y en referencia con los trabajos de Norden, podría contestarte que es un autor que ha estudiado prácticamente todos los antibióticos y que tanto con quinolonas como con betalactámicos ha obtenido buenos resultados. Nosotros empleamos las mismas técnicas de valoración, con la única diferencia de que lo estudiamos en conejo y que la inoculación la realizamos con aguja percutánea.

J. ARIZA: Mis comentarios venían a colación de que no estoy tan convencido sobre la posición de los betalactámicos en osteomielitis complicadas. Los modelos previos de Norden iban en esta dirección, al dudar de la eficacia de cloxacilina como agente estafilocócico idóneo. Y en el caso de las infecciones por gramnegativos, sobre todo las más difíciles como *Pseudomonas*, atribuían una clara superioridad a las quinolonas respecto a la terapéutica exclusiva con betalactámicos. Esto enlazaba con el tema de las bacterias adherentes, porque los antibióticos betalactámicos se influyen muchísimo en su alteración de la concentración mínima bactericida (MBC) cuando están en fase frente a las bacterias; al menos con *S. aureus* esto está claro, y no sé si también ocurre en bacilos gramnegativos.

J. BARBERÁN: Está claro que la osteomielitis es una infección por bacterias adherentes. Pero, a pesar de ello, y desde una óptica estrictamente

clínica, está claro y demostrado que los betalactámicos son antibióticos muy eficaces. Las quinolonas no lo son menos, pero tal vez han aportado una mayor comodidad de empleo. Hoy día utilizamos fundamentalmente quinolonas en el tratamiento de la osteomielitis porque se pueden administrar por vía oral, o bien inicialmente por vía intravenosa y posteriormente oral como tratamiento extrahospitalario. Los betalactámicos, por vía i.v., obligan a realizar el tratamiento durante un mes o seis semanas con el paciente ingresado. En cuanto al tema del *slime*, con dosis subterapéuticas de clindamicina intentamos comprobar si se producía una disminución de las colonias. Existen datos previos de Mader quien, utilizando dosis subinhibitorias, no subterapéuticas, de clindamicina ha conseguido inhibir las adherencias bacterianas. El trabajo se complementa con imágenes de microscopía electrónica en las que se observan los efectos antiadherentes de la clindamicina, con desaparición de *S. aureus* del hueso.

F. GUDIOL: En mi opinión la división de las osteomielitis en agudas y crónicas es una fuente de conflicto. Probablemente las únicas osteomielitis agudas son las hematógenas, quizás en el niño, que deben ser tratadas con rapidez e iniciar un tratamiento precoz a veces con datos clínicos mínimos. Por ello, creo que sería recomendable evitar los términos osteomielitis aguda y crónica. Es más esclarecedora la clasificación por mecanismo patogénico: hematógenas, postraumática, por contigüidad, etc.

J. BARBERÁN: A modo de resumen, creo que la clasificación entre aguda y crónica tiene básicamente interés desde el punto de vista de pronóstico. Una osteomielitis aguda, por el mecanismo patogénico que sea, requerirá exclusivamente tratamiento antimicrobiano, mientras que una osteomielitis crónica, del mecanismo que sea, va a necesitar desbridamiento quirúrgico más tratamiento antimicrobiano. Por otro lado, existen numerosas clasificaciones de osteomielitis, aparte de agudas y crónicas, atendiendo a Van Vogel, por contigüidad, hematógenas, las de Cierny según la afectación del hueso, según los microorganismos que la causan, etc.

J.M. GATELL: A fin de simular la osteomielitis hematógena, ¿a nadie se le ha ocurrido inyectar por vía intravenosa sulfato de bario y después el estafilococo?

J. BARBERÁN: No, que yo sepa.