PARTE II

BIOFILM

Autores: E. Carlino, E. Chisari, Matthew J. Dietz, N. Logoluso, A. M. Dell'Aquila, J. Arruda de Matos, C. R. Arciola, J. Stoney, K. H Cichos

Autor de Correspondencia
Kyle Cichos
Hughston Clinic
Columbus, GA, EE.UU.
Email: kcichos11@gmail.com

PREGUNTA 1. ¿La eficacia antimicrobiana in vitro de las soluciones de irrigación antiséptica se ha traducido en una reducción de las infecciones del sitio quirúrgico y las infecciones articulares peripotésicas en la práctica clínica?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: La evidencia clínica es prometedora para la aplicación de antisépticos, en particular la povidona yodada (PI), que cuenta con la mayor parte de los estudios clínicos comparativos. Los cirujanos pueden considerar la irrigación antiséptica con povidona yodada para la prevención de infecciones articulares peripotésicas (IAP) tras una artroplastia articular total y de infecciones del sitio quirúrgico (ISQ) tras una cirugía de columna vertebral, con un nivel de evidencia bajo a moderado. Sin embargo, se necesitan ensayos controlados aleatorizados (ECA) de alta calidad para consolidar esta recomendación. Ningún otro antiséptico cuenta con suficientes datos clínicos para comentar al respecto en este momento.

NIVEL DE EVIDENCIA: Moderada.

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 100%, En desacuerdo 0%, Abstención 0% (Consenso Total).

JUSTIFICACIÓN

Las infecciones postoperatorias tras procedimientos ortopédicos se asocian con un aumento de la morbilidad y la mortalidad, y pueden suponer una carga significativa tanto para el paciente como para los sistemas sanitarios [1]. Se realizan esfuerzos constantes para identificar métodos preventivos en todos los aspectos de la atención perioperatoria, incluyendo el uso de soluciones de irrigación antiséptica intralesional. Sin embargo, ninguna ha demostrado ser definitivamente superior en la práctica clínica. Las organizaciones nacionales e internacionales aún no han llegado a un consenso sobre el uso de estas soluciones para la prevención de IAP/ISQ en general. La guía de Excelencia del Instituto Nacional de Salud y Atención del Reino Unido [2] desaconseja el uso de irrigación profiláctica de heridas incisionales en general, mientras que las guías de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de EE. UU. [3] indican que se debe considerar la irrigación intraoperatoria del tejido profundo o subcutáneo con solución acuosa de yodóforo para la prevención de ISQ, con una recomendación débil/evidencia de calidad moderada. De manera similar, la Organización Mundial de la Salud (OMS) sugiere considerar la irrigación de la herida incisional con yodo povidona antes del cierre para prevenir la ISQ, con evidencia de baja calidad [4]. Por otro lado, la actualización de 2022 de la guía SHEA/IDSA/APIC recomienda realizar un lavado antiséptico intraoperatorio de la herida con yodo povidona diluido estéril, basándose en evidencia de calidad moderada, principalmente obtenida en cirugía abdominal [5]. Más recientemente, datos sólidos de ECA, principalmente de aplicaciones en cirugía general, respaldan el uso de antisepsia intralesional con yodo povidona antes del cierre para la prevención de la ISQ [6]. Sin embargo, la evidencia de estudios clínicos en cirugía ortopédica es mucho más escasa.

Las evaluaciones *in vitro* de antisépticos intralesionales han mostrado resultados prometedores en casi todo el espectro [7-14]. Sin embargo, una aplicación similar y exitosa a la práctica clínica ha tenido resultados dispares. Los antisépticos estudiados actualmente incluyen yodo povidona diluido, gluconato de clorhexidina (CHG), peróxido de hidrógeno, cloruro de benzalconio y solución de ácido cítrico/citrato de sodio/lauril sulfato de sodio, entre otros, aunque muchos de ellos cuentan con pocos o ningún estudio clínico en cirugía ortopédica hasta la fecha [7-15]. Se han realizado pocos estudios clínicos retrospectivos sobre el uso de CHG en la prevención de la infección de articular periprotesica (IAP) [16,17]. Uno comparó un nuevo protocolo de irrigación/remojo con CHG antes del cierre con el protocolo anterior de irrigación únicamente con solución salina normal y no se encontraron diferencias en la IPA, a pesar de tener una potencia estadística significativamente baja [16]. Múltiples series de casos que utilizan una solución de ácido cítrico/citrato de sodio/lauril sulfato de sodio como antiséptico intralesional demuestran eficacia, pero carecen de un grupo control, lo que limita las conclusiones sobre su uso para la prevención de IAP [18,19]. Si bien cada uno de estos antisépticos demuestra ser prometedor *in vitro*, se necesitan más estudios clínicos antes de poder evaluar su eficacia clínica para la prevención de IAP.

La solución antiséptica más estudiada clínicamente hasta la fecha es el yodo povidona diluido. Varios metaanálisis

recientes que evalúan la asociación entre soluciones de irrigación antisépticas e IAP han reportado resultados variables [20–23]. Un metaanálisis no reportó diferencias en las tasas de infección postoperatoria con el uso de lavado con yodo povidona en artroplastias totales de articulaciones (AT) primarias o de revisión aséptica (OR: 0,90; IC del 95 %: 0,27-2,98; p= 0,86) [22]. Por otro lado, otro metaanálisis reportó una disminución en la infección postoperatoria después de una AT al comparar el yodo povidona con la solución salina normal (OR: 0,44; IC del 95 %: 0,34-0,56; p < 0,001), pero no se observaron diferencias entre el yodo povidona y otros antisépticos, ni entre el yodo povidona y soluciones no reportadas [23]. Esta revisión también incluyó un estudio diseñado más para evaluar la contaminación de las vasijas quirúrgicas que de la propia articulación, por lo que la heterogeneidad del estudio sigue siendo preocupante. Un ensayo prospectivo aleatorizado con un gran número de pacientes sometidos a ATR (n= 4743) de una sola institución demostró recientemente una disminución de la IAP con el uso secuencial de hidróxido de sodio, yodo povidona y solución salina normal, en comparación con solución salina normal sola (0,17 % frente a 1,26 %, p= 0,012) [24]. Este prometedor trabajo es el único estudio prospectivo aleatorizado realizado hasta la fecha en ATR primaria, con resultados positivos para la combinación de antisépticos intralesionales para la prevención de la IAP. Otro estudio prospectivo realizado por Calkins et al. investigó la revisión aséptica de la ATR, comparando el lavado con solución salina normal con el lavado con yodo povidona al 0,35 %, y encontró una disminución significativa en la aparición de IAP con el uso de yodo povidona diluido (0,4 % frente a 3,4 %, p= 0,038) [25]. Este estudio respalda aún más el uso de yodo povidona en lugar de solución salina normal para la prevención de la IAP, a pesar del pequeño tamaño de la muestra (n= 478).

Si bien los metaanálisis anteriores abarcan la literatura disponible en el momento de nuestra búsqueda, sus resultados se ven limitados principalmente por el bajo nivel de evidencia de los estudios incluidos (la mayoría estudios retrospectivos sobre cambios en la práctica). También existe una heterogeneidad significativa en los protocolos de estudio individuales y su evaluación de los resultados, incluida la definición de infección. De igual manera, los resultados de prevención frente al tratamiento de la IAP están mal definidos en varios de los estudios que incluyeron casos primarios y de revisión, lo que complica aún más la formulación de conclusiones definitivas sobre la prevención de la IAP. Los metaanálisis sobre este tema se ven además gravemente limitados por la falta de granularidad de los datos de cada uno de los estudios incluidos, lo que genera inquietudes en los datos y los resultados publicados. Por estas razones, no se pueden extraer conclusiones definitivas sobre la prevención de la IAP con antisépticos intralesionales en este momento, y se requieren más estudios prospectivos aleatorizados, más allá del trabajo de Li et al. y Calkins et al. [24,25] debe realizarse antes de concluir la traducción definitiva de cualquier antiséptico para la prevención de IAP en la práctica clínica.

Las infecciones del sitio quirúrgico se agrupan principalmente en procedimientos de columna y traumatología dentro de la ortopedia. Un metaanálisis reciente sobre técnicas de irrigación e ISQ en cirugía de columna informó una disminución en la tasa de ISQ con el uso de lavado con yodo povidona (RR 0,32; IC del 95 %: 0,20-0,53; p< 0,00001), pero citó la falta de evidencia clara para otros métodos antisépticos [26]. Una revisión de subcategorías de estudios prospectivos mostró la posibilidad de una disminución del riesgo de ISQ aguda con el uso de yodo povidona en cirugía de columna; sin embargo, los resultados variaron entre los estudios [27-31]. Múltiples estudios encontraron una disminución de la ISQ con el uso de IP en comparación con otras soluciones de irrigación [27-32]. Específicamente, Chen et al. han publicado dos ensayos controlados aleatorizados (ECA) independientes sobre múltiples procedimientos de columna vertebral en 2005 [27] y sobre fusiones posterolaterales lumbosacras para discos degenerativos en 2006 [28], en los que se comparó la inmersión en yodo povidona diluido (3 minutos, 0,35%) con la irrigación con solución salina normal. Ambos estudios resultaron en una reducción significativa de la ISQ (p = 0,007 y p = 0,029, respectivamente) [27,28]. Por el contrario, Cohen et al. no encontraron diferencias en el riesgo de ISQ en pacientes pediátricos de cirugía de columna vertebral en general ni al estratificar el riesgo en pacientes de alto riesgo (1/18 IP frente a 2/19 NS) y bajo riesgo (0/59 IP frente a 0/57 NS) [32]. De igual manera, Fei et al. no encontraron diferencias en la positividad del cultivo tisular entre el lavado pulsátil y el yodo povidona (2,5% frente a 2,5%), aunque la tasa en el grupo de lavado NS fue mucho mayor que en ambos (20%) [30]. De nuevo, De Luna et al. tampoco encontraron diferencias entre el yodo povidona pulsátil frente a la NS bulbar (0 % frente a 12 %, p= 0,235) [29]. Todos estos estudios presentan importantes limitaciones de potencia y tamaño muestral, así como protocolos y técnicas inconsistentes para el uso del yodo povidona en particular y para las técnicas utilizadas en los grupos control. Por lo tanto, si bien existe más evidencia de ECA en la literatura sobre columna vertebral y parece prometedora, se necesita más investigación con tamaños muestrales suficientes y protocolos consistentes antes de poder emitir conclusiones. Además, los estudios retrospectivos presentan limitaciones similares a las descritas previamente para la IAP.

Para mayor exhaustividad, tanto en la prevención de IAP como de ISQ espinal, numerosos estudios han investigado el uso combinado de yodo povidona + polvo de vancomicina (VP) [20,33,34]. Si bien estos resultados también son prometedores y respaldan el uso de yodo povidona + aditivo, la mayoría de las organizaciones recomiendan no usar VP ni irrigación con antibióticos para la antisepsia intralesional [3-5] por diversas razones, incluyendo la preocupación por la gestión responsable de los antimicrobianos, por lo que no comentaremos más sobre esta combinación en este momento.

En conclusión, la mayor parte del debate sobre las soluciones antisépticas intralesionales en cirugía ortopédica gira en torno al yodo povidona, ya que actualmente existen escasos datos clínicos comparativos sobre otras soluciones antisépticas. Por lo tanto, no se puede comentar sobre la aplicación clínica de otras soluciones, como el CHG, el

peróxido de hidrógeno, el cloruro de benzalconio y la solución de ácido cítrico/citrato de sodio/lauril sulfato de sodio, entre otras, en este momento. Con respecto al yodo povidona, existe evidencia prometedora, pero contradictoria, sobre la reducción de la ISQ con yodo povidona en cirugía de columna, debido a las graves limitaciones del tamaño muestral y a la variabilidad del protocolo, lo que indica que se necesitan ECA adicionales para extraer conclusiones

definitivas sobre la aplicación del yodo povidona como solución antiséptica en cirugía de columna. Lo mismo ocurre con la prevención de IAP con yodo povidona, donde la mayoría de los datos actuales se basan en estudios retrospectivos de cambio de práctica (antes/después), con solo dos ECA que incluyen su uso: uno con un tamaño de muestra pequeño en artroplastias totales de revisión aséptica y el otro con I yodo povidona + peróxido de hidrógeno en artroplastias totales primarias. Las variables que deben controlarse mediante ECA incluyen las técnicas de irrigación, los grupos control y otras variables que contribuyen al riesgo y la prevención de infecciones. Se necesitan ECA de alta calidad antes de poder realizar afirmaciones definitivas sobre la aplicación clínica de yodo povidona para la prevención de IAP. Dada la prometedora experiencia de los estudios comparativos hasta la fecha, los cirujanos deberían considerar el uso de yodo povidona como solución de irrigación antiséptica para la prevención de IAP e ISQ espinal.

REFERENCIAS

1. Whitehouse JD, et al. The impact of surgical-site infections following orthopedic surgery at a community hospital and a university hospital: adverse quality of life, excess length of stay, and extra cost. Infect Control Hosp Epidemiol 2002;23:183–9.
2. National Institute for Health and Care Excellence. Surgical site infections: prevention and treatment 2019. https://www.nice.org.uk/guidance/ng125 (accessed August 1, 2024).
3. Berríos-Torres SI, et al. Centers for Disease Control and Prevention Guideline for the Prevention of Surgical Site Infection, 2017. JAMA Surg 2017;152:784–91.
4. Allegranzi B, et al. New WHO recommendations on intraoperative and postoperative measures for surgical site infection prevention: an evidence-based global perspective. Lancet Infect Dis 2016;16:e288–303.
5. Calderwood MS, et al. Strategies to prevent surgical site infections in acute-care hospitals: 2022 Update. Infect Control Hosp Epidemiol 2023;44:695–720.
6. Groenen H, et al. Incisional Wound Irrigation for the Prevention of Surgical Site Infection: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. JAMA Surgery 2024;159:792–800.
7. Whitely ME, et al. Preclinical evaluation of a commercially available biofilm disrupting wound lavage for musculoskeletal trauma. J Orthop Surg Res 2022;17:347.
8. Platt J, Bucknall RA. An experimental evaluation of antiseptic wound irrigation. Journal of Hospital Infection 1984;5:181–8.
9. Schwechter EM, Folk D, Varshney AK, Fries BC, Kim SJ, Hirsh DM. Optimal Irrigation and Debridement of Infected Joint Implants: An *In vitro* Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Biofilm Model. The Journal of Arthroplasty 2011;26:109–13.
10. Oduwole KO, et al. Anti-biofilm activity of sub-inhibitory povidone-iodine concentrations against *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. Journal of Orthopaedic Research 2010;28:1252–6.
11. Yarboro SR, Baum EJ, Dahners LE. Locally Administered Antibiotics for Prophylaxis Against Surgical Wound Infection: An *in vivo* Study. JBJS 2007;89:929..
12. Cavanaugh DL, Berry J, Yarboro SR, Dahners LE. Better Prophylaxis Against Surgical Site Infection with Local as Well as Systemic Antibiotics: An *in vivo* Study. JBJS 2009;91:1907.
13. Bashyal RK, Mathew M, Bowen E, James GA, Stulberg SD. A Novel Irrigant to Eliminate Planktonic Bacteria and Eradicate Biofilm Superstructure With Persistent Effect During Total Hip Arthroplasty. The Journal of Arthroplasty 2022;37:S647–52.
14. Glynn AA, et al. Hydrogen peroxide induced repression of icaADBC transcription and biofilm development in *Staphylococcus epidermidis*. Journal of Orthopaedic Research 2009;27:627–30.
15. Willigenburg NW, et al. Prosthetic Joint Infection and Wound Leakage After the Introduction of Intraoperative Wound Irrigation With a Chlorhexidine-Cetrimide Solution: A Large-Scale Before-After Study. Arthroplast Today 2023;19:101053.
16. Frisch NB, et al. Intraoperative chlorhexidine irrigation to prevent infection in total hip and knee arthroplasty. Arthroplast Today 2017;3:294–7.
17. Lung BE, et al. Chlorhexidine gluconate lavage during total joint arthroplasty may improve wound healing compared to dilute betadine. J Exp Orthop 2022;9:67.
18. Singer RW. Real-World Evidence of the Impact of a Novel Surgical Irrigant on Surgical Site Infections in Primary Total Knee Arthroplasty Performed at an Ambulatory Surgery Center. Surg Infect (Larchmt) 2024;25:240–6.
19. Williams M, Harris RM. Efficacy of a Novel Intraoperative Surgical Irrigant in Preventing Periprosthetic Joint Infections in Primary Knee, Hip, and Shoulder Arthroplasties: A Retrospective Analysis. Orthop Surg 2024;16:1277–83.
20. Movassaghi et al. Systematic Review and Meta-Analysis of Intrawound Vancomycin in Total Hip and Total Knee Arthroplasty: A Continued Call for a Prospective Randomized Trial. J Arthroplasty 2022;37:1405- 1415.e1.
21. Martin VT, et al. A systematic review and meta-analysis comparing intrawound vancomycin powder and povidone iodine lavage in the prevention of periprosthetic joint infection of hip and knee arthroplasties. Journal of Orthopaedic Science 2024;29:165–76.
22. Kim C-H, et al. The Effect of Povidone-Iodine Lavage in Preventing Infection After Total Hip and Knee Arthroplasties: Systematic Review and Meta-Analysis. The Journal of Arthroplasty 2020;35:2267–73
23. Ebrahimzadeh M-H, Safdari M-R, Moradi A, Rastaghi S, Daliri M. How effective is diluted povidone-iodine in preventing periprosthetic joint infection in total joint arthroplasty (TJA)? An updated systematic review and meta-analysis. BMC Musculoskeletal Disorders 2023;24:416.
24. Li L-G, et al. The value of sequential application of hydrogen peroxide, povidone-iodine and physiological saline in reducing postoperative infections after total knee arthroplasty: A prospective, randomized, controlled study. Knee 2024;47:53–62.
25. Calkins TE, et al. Dilute Betadine Lavage Reduces the Risk of Acute Postoperative Periprosthetic Joint Infection in Aseptic Revision Total Knee and Hip Arthroplasty: A Randomized Controlled Trial. J Arthroplasty 2020;35:538- 543.e1.
26. Torres KA, et al. Irrigation techniques used in spine surgery for surgical site infection prophylaxis: a systematic review and meta-analysis. BMC Musculoskelet Disord 2022;23:813.
27. Cheng M-T, et al. Efficacy of dilute betadine solution irrigation in the prevention of postoperative infection of spinal surgery. Spine (Phila Pa 1976) 2005;30:1689–93.
28. Chang F-Y, et al. Can povidone-iodine solution be used safely in a spinal surgery? Eur Spine J 2006;15:1005–14.
29. De Luna V, et al. Intraoperative Disinfection by Pulse Irrigation with Povidone-Iodine Solution in Spine Surgery. Adv Orthop 2017;2017:7218918.
30. Fei J, Gu J. Comparison of Lavage Techniques for Preventing Incision Infection Following Posterior Lumbar Interbody Fusion. Med Sci Monit 2017;23:3010–8.
31. Sigari RA, Abdolhoseinpour H. Operative site irrigation with povidone-iodine solution in spinal surgery for surgical site infection prevention: Can it be used safety? Anaesthesia, Pain & Intensive Care 2020;24:314–8.
32. Cohen LL, et al. Why Irrigate for the Same Contamination Rate: Wound Contamination in Pediatric Spinal Surgery Using Betadine Versus Saline. Journal of Pediatric Orthopaedics 2020;40:e994.
33. Meza BC, et al. Measures to reduce end-of-case wound contamination: the impact of intra-wound vancomycin powder and betadine irrigation on surgical site infections in posterior spinal fusion. Spine Deform 2020;8:45–50.
34. Mallet C, et al. Does the use of intrawound povidone-iodine irrigation and local vancomycin powder impact surgical site infection rate in adolescent idiopathic scoliosis surgery? Eur Spine J 2022;31:3020–8.

Autores: Kyle H Cichos, John L Daiss, Stephen L Kates, Gowrishankar Muthukrishnan, Kohei Nishitani, Dina Raafat, Edward M Schwarz, Chao Xie

Autor de Correspondencia
Kyle Cichos
Hughston Clinic
Columbus, GA, EE.UU.
Email: kcichos11@gmail.com

PREGUNTA 2. ¿Existe un proteoma inmune en la infección periprotésica?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: Sí, existe un proteoma inmunitario en IAP, y nuestra comprensión de este proteoma continúa creciendo y evolucionando.

NIVEL DE EVIDENCIA: Opinión de experto.

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 100%, En desacuerdo 0%, Abstención 0% (Consenso Total).

JUSTIFICACIÓN

La infección articular periprotésica (IAP) sigue siendo una causa importante de fracaso de la artroplastia tras una artroplastia total de rodilla (ATR) o una artroplastia de cadera (ATC). Si bien la comprensión de los mecanismos subyacentes del desarrollo y la persistencia de la IAP continúa evolucionando, también lo hace la tecnología disponible para estudiar todos los aspectos del proceso. El papel del sistema inmunitario en la IAP también se está haciendo más evidente, lo que introduce la idea de un proteoma inmunitario en la IAP. Conceptualmente, el proteoma inmunitario es el conjunto de proteínas producidas por el sistema inmunitario humano, incluyendo anticuerpos, citocinas, quimiocinas y otras moléculas de señalización celular inmunitaria, en respuesta a un desafío antigénico. Recientemente, el perfil proteómico de los compartimentos del huésped en la IAP ha despertado interés en el avance del conocimiento y la mejora de las capacidades diagnósticas para ayudar a abordar los casos de IAP difíciles de distinguir [2, 3]. Dada la complejidad del huésped, es importante comprender los diferentes compartimentos/tejidos muestreados, incluyendo (localmente) tejido sinovial, hueso, líquido sonicado del implante y líquido sinovial, y (sistémicamente) sangre periférica. Cada uno de estos lugares de muestreo tendrá perfiles proteómicos únicos en comparación con otros compartimentos. Si bien todos se han estudiado en diversas áreas con respecto al proteoma, el suero y el líquido sinovial han sido los más estudiados hasta la fecha, probablemente debido a su accesibilidad y su papel actual en el diagnóstico de IAP.

Enfoques recientes de alto rendimiento, como la espectrometría de masas (EM), la matriz de vías proteicas y los ensayos multiplexados (Luminex, Meso-scale Discovery [MSD], Simoa, etc.), han mejorado la capacidad de estudiar el proteoma de forma más completa e imparcial, superando algunas limitaciones de técnicas como ELISA, tinción inmunohistoquímica (IHQ), Western blot y otras empleadas para estudiar el proteoma. La elaboración de perfiles basada en cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS), junto con la interpretación bioinformática, se ha utilizado para diferenciar la IAP del aflojamiento aséptico [2, 4-7]. En estos estudios, tres de los cuales incluyeron líquido sinovial y un líquido sonicado de implante, se identificaron varias proteínas con un aumento en la IAP en comparación con la revisión aséptica en cada caso, incluyendo la proteinasa 3 (PRTN3), el antígeno de diferenciación nuclear de células mieloides (MNDA) y la lactoferrina (LTF). Sin embargo, hubo cierta discrepancia entre los estudios, posiblemente basada en la ubicación de la muestra (líquido sinovial vs. tejido [óseo] vs. líquido sonicado) con MNDA y PRTN3 en particular [2, 4-7]. Una mayor superposición entre los estudios implicó una mayor abundancia de ciertas proteínas en la IAP en comparación con la revisión aséptica, en diversos grados, incluyendo la proteína C reactiva (PCR), S100A8/A9, CORO1A, HISTH2HBL, SERPINB1, PGD, APCS, ACTN1, APOD, CAP1, LRG1, ANXA2, PRG4, CRTAC1, LCN2, MPO, CTDG, MMP9 y PYGL [2, 4-7]. Para resumir estos hallazgos, basados en análisis de enriquecimiento de vías, las vías enriquecidas en los casos de IAP generalmente involucraron la hemostasia, el sistema inmunitario innato, la organización de la matriz extracelular y el metabolismo proteico [2, 4-7]. Muchas de estas proteínas han despertado recientemente atención e interés en múltiples campos de la medicina y diversas afecciones.

Al centrarse en métodos alternativos, distintos de la MS, para investigar el proteoma, el líquido sinovial es un objetivo popular para el estudio de ensayos multiplex y la evaluación ELISA de moléculas de señalización, en particular. Por ejemplo, la interleucina-6 (IL-6) ha sido objeto de numerosos estudios a lo largo de los años y se ha observado sistemáticamente elevada en la IAP en comparación con la revisión aséptica [3, 8-15]. Además, se ha demostrado que la IL-6 está elevada en la IAP en comparación con la revisión aséptica para la artroplastia total de hombro, lo que demuestra hallazgos análogos en una articulación distinta en

comparación con la literatura sobre la cadera y la rodilla 16. Un estudio no encontró cambios en la IL-6 para la IAP de ATR/ATC frente a la revisión aséptica, lo que destaca las diferencias en las técnicas de medición y el impacto del diseño/fabricante del ensayo [17]. Otras proteínas que comúnmente, pero no siempre, se encuentran aumentadas en la IAP frente a la revisión aséptica incluyen IL-8, IL-1β, IL-10, PCR, IFN-β, TNF-α y muchas otras citocinas/quimiocinas involucradas en la respuesta/señalización inmunitaria [8-11, 14, 17, 18]. Además, en el líquido sinovial, se han identificado múltiples proteínas individuales con un aumento en la IAP, incluyendo la lipocalina-2 [19], las proteínas del complemento (C1q, C3b/C3i, C4b, C5, C5a, MBL, properdina) [20], los péptidos antimicrobianos (LL-37, HBD-3) [10] y las que actualmente se incluyen en al menos un criterio que define la IAP, como la esterasa leucocitaria 21 y la alfa-defensina [22]. Los datos respaldan claramente la variación proteómica entre la IAP y la revisión aséptica en el líquido sinovial, y nuestra comprensión de estas variaciones continúa evolucionando con las mejoras tecnológicas y en el diseño de estudios.

Menos estudios han investigado el proteoma del compartimento tisular que aquellos que estudian el líquido sinovial. Sin embargo, los estudios que investigaron tejido (sinovial, hueso/sinovial e indefinido) también fueron consistentes al identificar IL-6 e IL-1β como citocinas aumentadas en casos de IAP [23-25]. Las demás variaciones proteómicas fueron menos consistentes entre los estudios dentro del espacio tisular, incluyendo TNF-α, IL-10 e IL-4, entre otros [23-25]. Además, Warren et al. encontraron que la proteína de punto de control inmunitario PD-L1 estaba significativamente aumentada en tejidos con IAP en comparación con revisiones asépticas, pero no se observó una diferencia significativa en la abundancia de PD-1 [26]. Además, un estudio reciente demostró que la proteína de punto de control TIM-3 puede utilizarse para pronosticar resultados adversos en pacientes con IAP por *S. aureus* [27]. Es probable que los análisis tisulares varíen ampliamente según el tipo de tejido (óseo vs. sinovial, etc.) y según la variación en el procesamiento. Chen et al. realizaron un análisis proteómico de tejidos óseos con IAP y encontraron algunas proteínas con una abundancia similar a la identificada en el líquido sinovial, concretamente LTF y PRTN3, a la vez que encontraron un alto enriquecimiento de las proteínas del sistema del complemento [7]. Por lo tanto, incluso dentro del espacio tisular existe un proteoma inmunitario en la IAP en comparación con las revisiones asépticas. Varios estudios han investigado las variaciones sistémicas en las proteínas en la IAP. Entre los marcadores más ampliamente identificados que presentan un aumento en la sangre periférica/suero de la IAP, en comparación con la revisión aséptica, se encuentran la calprotectina IL-6 y el ADN libre de células (ADNcf) [10, 13, 17, 28, 29]. Otras proteínas que mostraron un aumento sistémico en la IAP, en al menos un estudio, incluyen HBD-2, IL-4, IL-17, BAFF, APRIL y elastasa de neutrófilos [10, 13, 17, 28, 29], mientras que IL-1α, IL-1β, IL-8, G-CSF y TNF-α17, así como LL-37 y HBD-3, no mostraron cambios 10. Curiosamente, un estudio reciente destacó que los niveles bajos de albúmina sérica se correlacionaban estrechamente con la presencia de una infección por *S. aureus* en un contexto de IAP y se asociaban con malos resultados clínicos en estos pacientes [30]. No está claro cuántos de estos casos presentaron síntomas más sistémicos que pudieran haber contribuido a la variabilidad proteica sistémica; sin embargo, la evidencia actual sugiere que también existe cierto nivel de variabilidad proteómica en la sangre periférica/suero en casos de IAP en comparación con revisiones asépticas, y se necesita más investigación en esta área, incluyendo posibles enfoques multiómicos, para dilucidar mejor la extensión del proteoma sistémico en la IAP. Además de las citocinas, varios estudios han evaluado el proteoma inmunitario humoral específico del patógeno en pacientes con IAP en sangre periférica (suero, plasma, etc.) [31-37]. Trabajos recientes se han centrado en la idea de que el proteoma inmunitario protector frente al patógeno contribuye a los resultados clínicos en pacientes con IAP. Por ejemplo, los pacientes (de un registro internacional de bioespecímenes [38]) con altos títulos de anticuerpos contra la proteína IsdB de *S. aureus*, que elimina el hemo, fueron altamente propensos a presentar eventos adversos posquirúrgicos como artrodesis, reinfección, amputación y muerte séptica [39, 40]. En marcado contraste, los anticuerpos contra la subunidad glucosaminidasa (Gmd) de la autolisina de *S. aureus* (Atl) en pacientes se correlacionaron con una marcada reducción de los resultados adversos [34]. Además, las reducciones significativas en el riesgo de resultados adversos en los pacientes también se asociaron con altos títulos de IgG contra otros antígenos de *S. aureus*, como Amd, CHIPS, SCIN y Hla [39]. En conjunto, estos estudios sugieren que el proteoma inmunitario humoral puede utilizarse como herramienta pronóstica para determinar los resultados clínicos en pacientes con IAP.

En conclusión, los nuevos enfoques de alto rendimiento, combinados con investigaciones de proteínas más específicas, indicaron la presencia de un proteoma inmunitario en la IAP, en comparación con las revisiones asépticas. Este proteoma afecta al líquido sinovial, al líquido sonicado del implante, a los tejidos locales y a la sangre periférica. A medida que se desarrollen técnicas más avanzadas e imparciales y se facilite su disponibilidad, también mejorará nuestra comprensión de este proteoma y su posible uso para el diagnóstico, el tratamiento y, en última instancia, la prevención de la IAP en el futuro.

REFERENCIAS

1. Broker BM, van Belkum A. 2011. Immune proteomics of Staphylococcus aureus. Proteomics 11:3221-3231.
2. Fisher CR, Mangalaparthi KK, Greenwood-Quaintance KE, et al. 2023. Mass spectrometry-based proteomic profiling of sonicate fluid differentiates *Staphylococcus aureus* periprosthetic joint infection from non-infectious failure: A pilot study. Proteomics Clin Appl 17:e2200071.
3. Fisher CR, Salmons HI, Mandrekar J, et al. 2022. A 92 protein inflammation panel performed on sonicate fluid differentiates periprosthetic joint infection from noninfectious causes of arthroplasty failure. Sci Rep 12:16135.
4. Li R, Song L, Quan Q, et al. 2021. Detecting Periprosthetic Joint Infection by Using Mass Spectrometry. The Journal of bone and joint surgery American volume 103:1917-1926.
5. Sowislok A, Busch A, Kaschani F, et al. 2024. Differences in the Synovial Fluid Proteome of Septic and Aseptic Implant Failure. Antibiotics (Basel) 13.
6. Wang C, Wang Q, Li R, et al. 2019. LTF, PRTN3, and MNDA in Synovial Fluid as Promising Biomarkers for Periprosthetic Joint Infection: Identification by Quadrupole Orbital-Trap Mass Spectrometry. The Journal of bone and joint surgery American volume 101:2226-2234.

7. Chen Y, Huang C, Chen X, et al. 2022. Bone protein analysis via label-free quantitative proteomics in patients with periprosthetic joint infection. J Proteomics 252:104448.
8. Deirmengian C, Hallab N, Tarabishy A, et al. 2010. Synovial fluid biomarkers for periprosthetic infection. Clinical orthopaedics and related research 468:2017-2023.
9. Fröschen FS, Schell S, Schildberg FA, et al. 2020. Analysis of synovial biomarkers with a multiplex protein microarray in patients with PJI undergoing revision arthroplasty of the hip or knee joint. Arch Orthop Trauma Surg 140:1883-1890.
10. Gollwitzer H, Dombrowski Y, Prodinger PM, et al. 2013. Antimicrobial peptides and proinflammatory cytokines in periprosthetic joint infection. J Bone Joint Surg Am 95:644-651.
11. Jacovides CL, Parvizi J, Adeli B, et al. 2011. Molecular markers for diagnosis of periprosthetic joint infection. The Journal of arthroplasty 26:99-103.e101.
12. Krane F, Wegmann K, Hackl M, et al. 2024. Evaluation of interleukin-6 in synovial fluid in periprosthetic joint infection of the elbow. Int Orthop 48:2421-2427.
13. Majors I, Jagadale VS. 2019. Serum interleukin 6 could be a valuable initial diagnostic tool in prosthetic knee joint infections. European journal of orthopaedic surgery & traumatology: orthopedie traumatologie 29:1781-1788.
14. Sharma K, Ivy M, Block DR, et al. 2020. Comparative analysis of 23 synovial fluid biomarkers for hip and knee periprosthetic joint infection detection. J Orthop Res 38:2664-2674.
15. Su X, Zhu B, Qin L, et al. 2023. Joint fluid interleukin-6 combined with the neutral polymorphonuclear leukocyte ratio (PMN%) as a diagnostic index for chronic periprosthesis infection after arthroplasty. Journal of orthopaedics and traumatology: official journal of the Italian Society of Orthopaedics and Traumatology 24:34.
16. Frangiamore SJ, Saleh A, Grosso MJ, et al. 2017. Neer Award 2015: Analysis of cytokine profiles in the diagnosis of periprosthetic joint infections of the shoulder. Journal of shoulder and elbow surgery 26:186-196.
17. Erdemli B, Özbek EA, Başarir K, et al. 2018. Proinflammatory biomarkers' level and functional genetic polymorphisms in periprosthetic joint infection. Acta Orthop Traumatol Turc 52:143-147.
18. Argyrou C, Papagrigorakis E, Tzefronis D, et al. 2024. Multiplex cytokine analysis for the identification of novel potential synovial fluid biomarkers for periprosthetic joint infections. Injury 55:111659.
19. Vergara A, Fernández-Pittol MJ, Muñoz-Mahamud E, et al. 2019. Evaluation of Lipocalin-2 as a Biomarker of Periprosthetic Joint Infection. The Journal of arthroplasty 34:123-125.
20. Fröschen FS, Schell S, Wimmer MD, et al. 2021. Synovial Complement Factors in Patients with Periprosthetic Joint Infection after Undergoing Revision Arthroplasty of the Hip or Knee Joint. Diagnostics (Basel) 11.
21. Parvizi J, Jacovides C, Antoci V, et al. 2011. Diagnosis of periprosthetic joint infection: the utility of a simple yet unappreciated enzyme. The Journal of bone and joint surgery American volume 93:2242-2248.
22. Deirmengian C, Kardos K, Kilmartin P, et al. 2014. Diagnosing periprosthetic joint infection: has the era of the biomarker arrived? Clinical orthopaedics and related research 472:3254-3262.
23. Heim CE, Vidlak D, Odvody J, et al. 2018. Human prosthetic joint infections are associated with myeloid-derived suppressor cells (MDSCs): Implications for infection persistence. J Orthop Res 36:1605-1613.
24. Prince N, Penatzer JA, Dietz MJ, et al. 2020. Localized cytokine responses to total knee arthroplasty and total knee revision complications. J Transl Med 18:330.
25. Prince N, Penatzer JA, Dietz MJ, et al. 2020. Impact of Cytokines and Phosphoproteins in Response to Chronic Joint Infection. Biology (Basel) 9.
26. Warren SI, Charville GW, Manasherob R, et al. 2022. Immune checkpoint upregulation in periprosthetic joint infection. J Orthop Res 40:2663-2669.
27. Saito M, McDonald KA, Grier AK, et al. 2024. Immune Checkpoint Molecules as Biomarkers of *Staphylococcus aureus* Bone Infection and Clinical Outcome. bioRxiv.
28. Keemu H, Vaura F, Maksimow A, et al. 2021. Novel Biomarkers for Diagnosing Periprosthetic Joint Infection from Synovial Fluid and Serum. JB JS Open Access 6.
29. Oto J, Herranz R, Fuertes M, et al. 2024. Dysregulated neutrophil extracellular traps and haemostatic biomarkers as diagnostic tools and therapeutic targets in periprosthetic joint infection. The bone & joint journal 106-b:1021-1030.
30. Campbell MP, Mott MD, Owen JR, et al. 2022. Low albumin level is more strongly associated with adverse outcomes and *Staphylococcus aureus* infection THAn hemoglobin A1C or smoking tobacco. J Orthop Res.
31. Gedbjerg N, LaRosa R, Hunter JG, et al. 2013. Anti-glucosaminidase IgG in sera as a biomarker of host immunity against *Staphylococcus aureus* in orthopaedic surgery patients. J Bone Joint Surg Am 95:e171.
32. Nishitani K, Beck CA, Rosenberg AF, et al. 2015. A Diagnostic Serum Antibody Test for Patients With *Staphylococcus aureus* Osteomyelitis. Clin Orthop Relat Res 473:2735-2749.
33. Oh I, Muthukrishnan G, Ninomiya MJ, et al. 2018. Tracking Anti-*Staphylococcus aureus* Antibodies Produced *In vivo* and *Ex vivo* during Foot Salvage Therapy for Diabetic Foot Infections Reveals Prognostic Insights and Evidence of Diversified Humoral Immunity. Infection and immunity 86.
34. Kates SL, Owen JR, Beck CA, et al. 2020. Lack of Humoral Immunity Against Glucosaminidase Is Associated with Postoperative Complications in *Staphylococcus aureus* Osteomyelitis. J Bone Joint Surg Am.
35. Muthukrishnan G, Soin S, Beck CA, et al. 2020. A Bioinformatic Approach to Utilize a Patient's Antibody-Secreting Cells against *Staphylococcus aureus* to Detect Challenging Musculoskeletal Infections. Immunohorizons 4:339-351.
36. Hao SP, Masters EA, Ninomiya MJ, et al. 2021. Species-Specific Immunoassay Aids Identification of Pathogen and Tracks Infectivity in Foot Infection. Foot Ankle Int 42:363-372.
37. Owen JR, Campbell MP, Mott MD, et al. 2021. IgG4-specific responses in patients with *Staphylococcus aureus* bone infections are not predictive of postoperative complications. Eur Cell Mater 42:156-165.
38. Morgenstern M, Erichsen C, Militz M, et al. 2020. The AO trauma CPP bone infection registry: Epidemiology and outcomes of *Staphylococcus aureus* bone infection. J Orthop Res.
39. Muthukrishnan G, Beck CA, Owen JR, et al. 2021. Serum antibodies against *Staphylococcus aureus* can prognose treatment success in patients with bone infections. J Orthop Res 39:2169-2176.
40. Fowler VG, Allen KB, Moreira ED, et al. 2013. Effect of an investigational vaccine for preventing *Staphylococcus aureus* infections after cardiothoracic surgery: a randomized trial. Jama 309:1368-1378.

Autores: Eoin Sheehan, Valentin Antoci, Alberto Carli, Yasuhiro Homma, Robert Hube, Benjamin Ricciardi, Edward M Schwarz

Autor de Correspondencia
Edward M Schwarz
University of Rochester Medical Center
NY, EE.UU.
Email: edward_schwarz@urmc.rochester.edu

PREGUNTA 3. ¿Cuál es (son) el (los) mejor(es) modelo(s) preclínico (s) de infección ortopédica para la evaluación de tecnologías de diagnóstico?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: Al igual que con toda investigación en organismos vivos, el modelo óptimo se determina principalmente por la hipótesis que se va a probar, y se aplican las normas generales de bienestar animal (p. ej., los estudios moleculares/mecanísticos y de índices diagnósticos iniciales deben probarse en especies pequeñas, mientras que las hipótesis clínicamente relevantes sobre diagnósticos específicos para humanos podrían ser apropiadas para su prueba en especies más grandes o humanizadas). En cuanto a los modelos animales, en todos los estudios se debe declarar lo siguiente: el potencial traslacional, la aprobación ética, el diseño del modelo y los análisis estadísticos con un umbral prospectivo de éxito y fracaso. Actualmente, el estándar de la industria para evaluar el potencial diagnóstico es un análisis de la curva ROC (característica operativa del receptor) de la nueva tecnología frente a cultivos clínicos, signos y síntomas clínicos u otros diagnósticos de infección ortopédica aprobados por la FDA. Se recomienda a los posibles investigadores consultar: PREPARE (Planificación de la Investigación y Procedimientos Experimentales en Animales: Recomendaciones para la Excelencia), https://norecopa.no/PREPARE. Directrices como esta deberían ser obligatorias para los medios editoriales. Los estudios deben utilizar inóculos estandarizados de bacterias. Los criterios de valoración deben ser válidos y el diagnóstico debe incluir observaciones cuantitativas microbiológicas, radiológicas, serológicas y clínicas. Las tecnologías de diagnóstico más recientes pueden correlacionarse con las modalidades mencionadas y deben apuntar específicamente a replicar la precisión y reducir la invasividad. Si bien actualmente no existen modelos validados *in silico* e *in vitro* para evaluar el diagnóstico de infecciones ortopédicas, estas tecnologías están surgiendo rápidamente y podrían requerir consideración en un futuro próximo.

NIVEL DE EVIDENCIA: Opinión de experto.

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 93%, En desacuerdo 0%, Abstención 7% (Consenso Total).

JUSTIFICACIÓN

Una revisión sistemática de la literatura en las bases de datos PubMed y Ovid Embase identificó 628 artículos relevantes para la pregunta. Se seleccionaron 38 artículos para su extracción y revisión a través de Covidence. Los modelos murinos y roedores han sido los más utilizados en los últimos años debido a sus ventajas en costo, la reducción de las preocupaciones por el bienestar animal y los avances en la disponibilidad de nuevas modalidades de diagnóstico. Se han denominado herramientas de investigación de "primer paso" en experimentos antes de avanzar a modelos más grandes [1]. Se han desarrollado modelos animales grandes para escenarios clínicos específicos, como inóculos más bajos, e incluyen modelos de infección ortopédica tanto en conejos como en cerdos, lo que indica su uso en el modelado de infecciones indolentes o tempranas [2, 3]. En vista del complejo y sofisticado entorno inmunitario en humanos, muchos argumentarían la utilidad de los modelos animales más grandes. El modelo del conejo permite una buena transición a grupos más grandes y comparte características de cada uno. El blanco de Nueva Zelanda parece ser la raza más común, representando casi el 99% de todos los estudios de infección 4. Desde un punto de vista mecanicista, los modelos porcinos podrían ser preferibles a los murinos debido a la mayor similitud del sistema inmunitario porcino con el humano: los cerdos presentan un alto número de neutrófilos en la circulación periférica (50-70%) [3, 5] y presentan receptores tipo Toll más similares. Además, el hueso porcino presenta una homeostasis similar a la de los humanos [3]. Hemos recopilado los modelos animales más robustos en la Tabla 1.

Diagnóstico

Las observaciones clínicas son importantes y se recomienda a los investigadores que sigan las directrices mencionadas anteriormente. Además de las observaciones habituales de los animales de prueba, la medición de la marcha, la simetría de carga, la prueba de von Frey y la separación de los dedos permiten obtener una visión más completa del bienestar animal [6, 7].

Evaluaciones microbiológicas cuantitativas

Los investigadores deben conocer las cepas bacterianas específicas de cada especie y saber que las muestras bacterianas derivadas de humanos pueden no reflejar los modelos animales [5, 8]. Es necesario que haya

concordancia en el mecanismo y las dosis de inoculación, así como en la administración de antibióticos si es necesario. La forma de tomar las muestras ya sea por cultivo directo, sonicación u homogeneización, no es uniforme en los distintos estudios. Si bien la infección relacionada con implantes se basa predominantemente en biofilms, muchos estudios no detectan cepas planctónicas ni lo que se denomina estado VBNC viable pero no cultivable. La adición de PCR y el análisis de ADN polimórfico amplificado aleatoriamente (RAPD) del ADN bacteriano permite una mayor precisión. La hibridación fluorescente in situ (FISH) es una herramienta de diagnóstico que analiza el ARN ribosómico en especies de biofilms, tanto sésiles como planctónicas [9, 10].

Análisis de ácidos nucleicos, serología y proteínas

Varios autores investigaron modelos infectados y registraron la respuesta inmunitaria mediante PCR [11,12]. La secuenciación de ADN de nueva generación también se ha estudiado en modelos preclínicos [13]. El estudio de la expresión proteica y génica a partir de la serología de animales expuestos a especies bacterianas, en comparación con las técnicas de cultivo tradicionales [14]. Los ensayos Multiplex-Luminnex se han popularizado para estudiar grandes conjuntos de citocinas, quimiocinas y anticuerpos séricos [15,16]. Rochford et al., en un modelo robusto, establecieron estándares respecto a los niveles serológicos de los marcadores inmunitarios TNF y otras interleucinas en un estudio con ratones que comparó la unión infectada y aséptica [17]. Sin embargo, no todos los anticuerpos detectados contra antígenos bacterianos en animales reflejan con precisión la respuesta humana, como informaron Sadovskaya et al. en un modelo de cobaya [18]. Para abordar esto, se han desarrollado modelos murinos humanizados para estudiar la infección ósea [19].

Imagenología

Los cambios en la infección por rayos X se han documentado ampliamente en un modelo de tibia de conejo [20]. El uso de la PET con FDG es superior a la RMN en un modelo murino y se correlaciona bien con las técnicas clínicas tradicionales de inflamación y cultivo [21]. Odekerken et al. informaron sobre un modelo de conejo NZW con infección tibial que permite diferenciar entre casos sépticos y asépticos mediante imágenes micro PET con 18F-FGD [22-24]. Estos estudios se corroboraron en una rata utilizando un segundo radiotrazador [25]. Wang estudió además otros radiotrazadores en el conejo [26]. Los anticuerpos monoclonales radiomarcados específicos del ácido teicoico en la pared celular bacteriana también son una posible herramienta diagnóstica con la PET y se han estudiado en ratones comparándolos con la bioluminiscencia y las técnicas convencionales [27]. Esto se ha ampliado aún más utilizando anticuerpos marcados con indio y SPECT/CT en un modelo murino [28]. Otros radiotrazadores, como el 99mTc-ciprofloxacino, han mostrado baja especificidad en modelos de conejos [29]. La microTC en modelos de ratón y conejo muestra una buena correlación con modelos histológicos y bioluminiscentes [30-32].

Bioluminiscencia, fluorescencia y diagnóstico fotoacústico

La imagenología por bioluminiscencia (BLI) detecta las señales emitidas por células metabólicamente activas que expresan luciferasa a través de los tejidos de animales vivos, eliminando la necesidad de sacrificar a los sujetos para la cuantificación bacteriana [33]. La BLI se ha utilizado para estudiar la infección ósea en ratones11, ratas [34] y conejos [35]. La BLI es un biomarcador del crecimiento planctónico *in vivo* de bacterias12 y se correlaciona bien con los hallazgos de la uCT en un modelo desarrollado por BernTHAl et al. [30]. Ibrahim publicó posteriormente un modelo de roedor no cementado que explora la bioluminiscencia y se correlaciona con la uCT, la resonancia magnética y el microscopio electrónico de barrido (SEM)7. Niska analizó un ratón modificado genéticamente con un gen knock-in que permite la obtención de imágenes ópticas bioluminiscentes y fluorescentes de la carga bacteriana mediante neutrófilos verdes fluorescentes36. Numerosos estudios replican los modelos anteriores para esta modalidad diagnóstica [30, 37, 38]. La imagenología fluorescente dirigida (TFLI) puede permitir la detección específica de patógenos mediante imágenes de fluorescencia no invasivas con sondas específicas para bacterias39. Los modelos murinos se utilizan en microscopía intravital para monitorizar la infección en tiempo real. Se ha demostrado que la imagenología longitudinal de la médula ósea [LIMB] es viable en este modelo, al tiempo que permite la caracterización de la proliferación bacteriana temprana y el comportamiento de las células inmunitarias, como la proliferación de neutrófilos en la región periimplantaria [38, 40]. Otra técnica no invasiva es la imagenología fotoacústica (PAI). La información bidimensional adquirida (hasta una profundidad de 8 cm) mediante ultrasonidos puede reconstruirse en representaciones tridimensionales del tejido subyacente y la señal asociada, proporcionando un detalle tisular comparable al de la resonancia magnética convencional [33, 38, 40, 41].

En conclusión, la ambición de muchas de estas tecnologías de diagnóstico es lograr un mecanismo menos invasivo de vigilancia de infecciones y, por ende, reducir la morbilidad animal y el número de animales necesarios.

REFERENCIAS

1. Dao A, O'Donohue AK, Vasiljevski ER, et al. 2023. Murine models of orthopedic infection featuring Staphylococcus aureus biofilm. J Bone Jt Infect 8:81-89.
2. Mariani BD, Martin DS, Chen AF, et al. 2014. Polymerase Chain Reaction molecular diagnostic technology for monitoring chronic osteomyelitis. J Exp Orthop 1:9.
3. Jensen LK, Koch J, Dich-Jorgensen K, et al. 2017. Novel porcine model of implantassociated osteomyelitis: A comprehensive analysis of local, regional, and systemic response. J Orthop Res 35:2211-2221.
4. Bottagisio M, Coman C, Lovati AB. 2019. Animal models of orthopaedic infections. A review of rabbit models used to induce long bone bacterial infections. J Med Microbiol 68:506-537.
5. Jensen LK, Henriksen NL, Blirup SA, et al. 2019. Guideline for Preclinical Studies of Bone Infections in Large Animals Based on a Systematic Review of 316 Non-Rodent Models. J Bone Joint Surg Am 101:1894-1903.
6. Fan Y, Xiao Y, Sabuhi WA, et al. 2020. Longitudinal Model of Periprosthetic Joint Infection in the Rat. J Orthop Res 38:1101-1112.
7. Ibrahim MM, Liu Y, Ure K, et al. 2023. Establishment of a Novel Rat Model of Gram-Negative Periprosthetic Joint Infection Using Cementless Hip Hemiarthroplasty. J Bone Joint Surg Am 105:42-52.
8. Aalbaek B, Jensen LK, Jensen HE, et al. 2015. Whole-Genome Sequence of *Staphylococcus aureus* S54F9 Isolated from a Chronic Disseminated Porcine Lung Abscess and Used in Human Infection Models. Genome Announc 3.

9. Schoenrath F, Kikhney J, Kursawe L, et al. 2018. Life on the driveline: Molecular detection and fluorescence in situ hybridization-based visualization of microbial species in patients with left ventricular assist devices. J Heart Lung Transplant 37:163-166.
10. Mallmann C, Siemoneit S, Schmiedel D, et al. 2010. Fluorescence in situ hybridization to improve the diagnosis of endocarditis: a pilot study. Clin Microbiol Infect 16:767-773.
11. Li D, Gromov K, Soballe K, et al. 2008. Quantitative mouse model of implantassociated osteomyelitis and the kinetics of microbial growth, osteolysis, and humoral immunity. J Orthop Res 26:96-105.
12. Nishitani K, Sutipornpalangkul W, de Mesy Bentley KL, et al. 2015. Quantifying the natural history of biofilm formation *in vivo* during the establishment of chronic implant-associated *Staphylococcus aureus* osteomyelitis in mice to identify critical pathogen and host factors. J Orthop Res 33:1311-1319.
13. Jeyaraman M, Jeyaraman N, Nallakumarasamy A, et al. 2024. Next Generation Sequencing in orthopaedic infections - Where is the road headed? J Clin Orthop Trauma 51:102397.
14. Achermann Y, Tran B, Kang M, et al. 2015. Immunoproteomic Identification of *In vivo*-Produced Propionibacterium acnes Proteins in a Rabbit Biofilm Infection Model. Clin Vaccine Immunol 22:467-476.
15. Muthukrishnan G, Soin S, Beck CA, et al. 2020. A Bioinformatic Approach to Utilize a Patient's Antibody-Secreting Cells against *Staphylococcus aureus* to Detect Challenging Musculoskeletal Infections. Immunohorizons 4:339-351.
16. Masters EA, Trombetta RP, de Mesy Bentley KL, et al. 2019. Evolving concepts in bone infection: redefining "biofilm", "acute vs. chronic osteomyelitis", "the immune proteome" and "local antibiotic therapy". Bone Res 7:20.
17. Rochford ETJ, Sabate Bresco M, Zeiter S, et al. 2016. Monitoring immune responses in a mouse model of fracture fixation with and without *Staphylococcus aureus* osteomyelitis. Bone 83:82-92.
18. Sadovskaya I, Faure S, Watier D, et al. 2007. Potential use of poly-N-acetyl-beta-(1,6)-glucosamine as an antigen for diagnosis of staphylococcal orthopedicprosthesis-related infections. Clin Vaccine Immunol 14:1609-1615.
19. Muthukrishnan G, Wallimann A, Rangel-Moreno J, et al. 2021. Humanized Mice Exhibit Exacerbated Abscess Formation and Osteolysis During the Establishment of Implant-Associated *Staphylococcus aureus* Osteomyelitis. Front Immunol 12:651515.
20. Kraft CN, Schlegel U, Pfluger D, et al. 2001. Radiological signs of osteitis around extramedullary metal implants. A radiographic-microbiological correlative analysis in rabbit tibiae after local inoculation of *Staphylococcus aureus*. Arch Orthop Trauma Surg 121:338-342.
21. Aguilera-Correa JJ, Salinas B, Gonzalez-Arjona M, et al. 2023. Positron Emission Tomography-Computed Tomography and Magnetic Resonance Imaging Assessments in a Mouse Model of Implant-Related Bone and Joint *Staphylococcus aureus* Infection. Microbiol Spectr 11:e0454022.
22. Odekerken JC, Arts JJ, Surtel DA, et al. 2013. A rabbit osteomyelitis model for the longitudinal assessment of early post-operative implant infections. J Orthop Surg Res 8:38. 23. Odekerken JC, Brans BT, Welting TJ, et al. 2014. (18)F-FDG microPET imaging differentiates between septic and aseptic wound healing after orthopedic implant placement: a longitudinal study of an implant osteomyelitis in the rabbit tibia. Acta Orthop 85:305-313.
24. Odekerken JC, Walenkamp GH, Brans BT, et al. 2014. The longitudinal assessment of osteomyelitis development by molecular imaging in a rabbit model. Biomed Res Int 2014:424652.
25. Ren W, Muzik O, Jackson N, et al. 2012. Differentiation of septic and aseptic loosening by PET with both 11C-PK11195 and 18F-FDG in rat models. Nucl Med Commun 33:747-756.
26. Wang Y, Li Y, Han L, et al. 2022. (18)F-FDG and (68) Ga-FAPI PET/CT for the evaluation of periprosthetic joint infection and aseptic loosening in rabbit models. BMC Musculoskelet Disord 23:592.
27. Pickett JE, Thompson JM, Sadowska A, et al. 2018. Molecularly specific detection of bacterial lipoteichoic acid for diagnosis of prosthetic joint infection of the bone. Bone Res 6:13.
28. van Dijk B, Hooning van Duyvenbode JFF, de Vor L, et al. 2023. Evaluating the Targeting of a *Staphylococcus*-aureus-Infected Implant with a Radiolabeled Antibody *In vivo*. Int J Mol Sci 24.
29. Sarda L, Saleh-Mghir A, Peker C, et al. 2002. Evaluation of (99m)Tc-ciprofloxacin scintigraphy in a rabbit model of *Staphylococcus aureus* prosthetic joint infection. J Nucl Med 43:239-245.
30. BernTHAl NM, Taylor BN, Meganck JA, et al. 2014. Combined *in vivo* optical and microCT imaging to monitor infection, inflammation, and bone anatomy in an orthopaedic implant infection in mice. J Vis Exp:e51612.
31. Fatima F, Fei Y, Ali A, et al. 2017. Radiological features of experimental staphylococcal septic arthritis by micro computed tomography scan. PLoS One 12:e0171222.
32. Stadelmann VA, Thompson K, Zeiter S, et al. 2020. Longitudinal time-lapse *in vivo* micro-CT reveals differential patterns of peri-implant bone changes after subclinical bacterial infection in a rat model. Sci Rep 10:20901.
33. Walton KD, Lord A, Kendall LV, et al. 2014. Comparison of 3 real-time, quantitative murine models of staphylococcal biofilm infection by using *in vivo* bioluminescent imaging. Comp Med 64:25-33.
34. Hadden WJ, Ibrahim M, Taha M, et al. 2021. 2021 Frank Stinchfield Award: A novel cemented hip hemiarthroplasty infection model with real-time *in vivo* imaging in rats : an animal study. Bone Joint J 103-B:9-16.
35. Miller RJ, Thompson JM, Zheng J, et al. 2019. *In vivo* Bioluminescence Imaging in a Rabbit Model of Orthopaedic Implant-Associated Infection to Monitor Efficacy of an Antibiotic-Releasing Coating. J Bone Joint Surg Am 101:e12.
36. Niska JA, Meganck JA, Pribaz JR, et al. 2012. Monitoring bacterial burden, inflammation and bone damage longitudinally using optical and muCT imaging in an orthopaedic implant infection in mice. PLoS One 7:e47397.
37. Thompson JM, Miller LS. 2019. Preclinical Optical Imaging to Study Pathogenesis, Novel Therapeutics and Diagnostics Against Orthopaedic Infection. J Orthop Res 37:2269-2277.
38. Xie C, Ren Y, Weeks J, et al. 2024. Longitudinal intravital imaging of the bone marrow for analysis of the race for the surface in a murine osteomyelitis model. J Orthop Res 42:531-538.
39. Park HY, Zoller SD, Hegde V, et al. 2021. Comparison of two fluorescent probes in preclinical non-invasive imaging and image-guided debridement surgery of Staphylococcal biofilm implant infections. Sci Rep 11:1622.
40. Lekkala S, Ren Y, Weeks J, et al. 2024. A semi-automated cell tracking protocol for quantitative analyses of neutrophil swarming to sterile and *S. aureus* contaminated bone implants in a mouse femur model. PLoS One 19:e0296140.
41. Wang Y, Thompson JM, Ashbaugh AG, et al. 2017. Preclinical Evaluation of Photoacoustic Imaging as a Novel Noninvasive Approach to Detect an Orthopaedic Implant Infection. J Am Acad Orthop Surg 25 Suppl 1:S7-S12

Autores: Jessica Amber Jennings, Ezzuddin Abuhussein, Louise Kruse-Jensen, T. Fintan Moriarty, Javad Parvizi, Edward M. Schwarz, Claudia Siverino

Autor de Correspondencia
Amber Jennings
Department of Biomedical Engineering
University of Memphis, EE. UU.
Email: jjnnings@memphis.edu

PREGUNTA 4. ¿Cuáles son los mejores modelos preclínicos de infección ortopédica para la evaluación de la eficacia terapéutica?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: Como ocurre con toda investigación en organismos vivos, el mejor modelo se determina principalmente por la hipótesis que se desea probar. Las especies estudiadas para abordar cuestiones relevantes para las infecciones ortopédicas abarcan desde gusanos (1) hasta caballos (2), y se aplican las normas generales de bienestar animal (p. ej., los estudios moleculares/mecanísticos y de rango de dosis inicial/índice terapéutico deben probarse en especies pequeñas, mientras que las hipótesis clínicamente relevantes de farmacocinética, biomecánica y diseño de implantes deben probarse en especies más grandes). También se ha producido una revolución en las herramientas de investigación y en la medición de resultados en los modelos preclínicos de infecciones ortopédicas, de modo que el rigor científico y la reproducibilidad del diseño experimental influyen ahora en la ética de la investigación con animales y en la validez de las conclusiones relativas a la eficacia terapéutica. Si bien existen revisiones publicadas que ofrecen orientación sobre las especies que deberían utilizarse para preguntas del espectro preclínico (3-5), es necesario trabajar para optimizar un diseño experimental ideal basado en: 1) los principios de las 3R (Reemplazo, Reducción y Refinamiento) para la investigación con animales, 2) las tecnologías actualmente disponibles para lograr el rigor científico deseado en las conclusiones (evidencia preclínica piloto vs. definitiva), y 3) la viabilidad de los enfoques para permitir la reproducibilidad por parte de otros investigadores en el campo. Para cumplir con estos estándares científicos actuales, los mejores modelos preclínicos de eficacia terapéutica deben incluir la cuantificación del inóculo patógeno, la evidencia de infección antes del tratamiento y la cuantificación de la carga patógena en el punto final prospectivo. Los estudios superiores también incluyen resultados longitudinales con potencia estadística (p. ej., radiología, serología, imágenes bioluminiscentes) y análisis *ex vivo* (p. ej., histología, microbiología, bioquímica, biología molecular).

NIVEL DE EVIDENCIA: Fuerte.

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 95%, En desacuerdo 0%, Abstención 5% (Consenso Total).

JUSTIFICACIÓN

Interpretamos "mejor" como lo más ético, riguroso y reproducible. Dado que no existen modelos preclínicos de infección ortopédica validadas *in silico* (computacionalmente) ni *in vitro*, solo consideramos modelos animales vertebrados no humanas. Se realizó una búsqueda bibliográfica exhaustiva utilizando las palabras clave "Infecciones relacionadas con prótesis, infección ortopédica, osteomielitis, infección articular, IAP, experimentación animal, eficacia del tratamiento, evaluación terapéutica, erradicación de biofilms" en PubMed y Embase. Inicialmente, se identificaron 1749 estudios únicos potencialmente relevantes, seleccionados por dos revisores independientes, de los cuales 422 se seleccionaron para su revisión completa y 168 se incluyeron para su evaluación. Para centrarse en la cuestión de la "eficacia del tratamiento", solo se incluyeron artículos de investigación primaria, y se excluyeron todos los estudios que no contaban con una medida de resultado que confirmara el establecimiento de una infección crónica seguida de la aleatorización a grupos control vs. grupo de tratamiento (se excluyeron los estudios de modelado animal y tratamiento profiláctico). También consideramos que las metodologías contemporáneas/de vanguardia son las "mejores", por lo que excluimos los artículos publicados antes de 2010.

Modelos murinos

Once publicaciones que cumplieron los criterios de inclusión utilizaron modelos murinos [6-16]. Todos los estudios evaluaron la infección ósea por *Biofilms*. Las inoculaciones oscilaron entre 103 y 108 UFC administradas mediante un implante contaminado (n= 8) o inyección directa en la sangre, la articulación o la médula ósea. Todos los estudios enumeraron las UFC en implantes y tejidos óseos. La mayoría de los estudios utilizaron cepas bioluminiscentes (Xen29, Xen36, USA300) y monitorizaron la infección longitudinalmente mediante imágenes bioluminiscentes (BLI). Dos estudios utilizaron BLI para aleatorizar a los ratones al tratamiento (n= 10). La mayoría de los estudios utilizaron micro-CT como medida de resultado de la osteólisis. La mayoría de los estudios realizaron histología con tinción de H&E, Gram y TRAP para confirmar la infección y cuantificar los abscesos y los

osteoclastos, respectivamente. Algunos estudios utilizaron microscopía electrónica para evaluar el biofilm en implantes y dentro de la red lacuno-canalicular de osteocitos (OLCN) del hueso infectado. Pocos estudios pesaron a los ratones o realizaron análisis serológicos, hematológicos o moleculares. Un estudio utilizó un ratón transgénico para cuantificar las células mieloides positivas a la proteína verde fluorescente como resultado. En conjunto, los mejores modelos murinos para evaluar la eficacia del tratamiento utilizan una inoculación estandarizada de bacterias bioluminiscentes y realizan BLI longitudinal para evaluar el crecimiento *in vivo* y aleatorizar a los ratones a los grupos de tratamiento. También realizan estudios *ex vivo* en criterios de valoración prospectivos para cuantificar las UFC en el implante y los tejidos óseos, cuantificar la osteólisis mediante microTC e histomorfometría para evaluar las biofilms bacterianas, el hueso, las células óseas y las células inmunitarias.

Modelos de rata

Cincuenta publicaciones que utilizaron modelos de rata cumplieron los criterios de inclusión y se incluyeron en la revisión [17-64]. Las dos especies principales de rata utilizadas fueron las ratas Wistar y Sprague Dawley. Entre los estudios, el 66 % utilizó ratas macho, el 18 % ratas hembra y el 8 % no informó el sexo de las ratas. Los sitios de defectos más comunes fueron el fémur y la tibia, junto con sus respectivos canales intramedulares. Cabe destacar que solo un estudio se centró en la columna vertebral [49], mientras que algunos examinaron las articulaciones de la rodilla [27, 33, 60, 61]. Los estudios utilizaron principalmente modelos de clavos en la tibia o el fémur, junto con modelos de fractura fijados con agujas de Kirschner de acero inoxidable. Solo un número limitado de estudios empleó placas de acero inoxidable para la fijación de fracturas [33, 46, 63]. Otros tipos de implantes incluyeron tornillos de polieteretercetona [PEEK) [19, 47, 57, 58] y varillas recubiertas de cemento 49. El microorganismo predominante analizado fue *Staphylococcus aureus*; el 88 % de los estudios utilizaron *Biofilms* sensible a la meticilina (SAMS) o *S. aureus* resistente a la meticilina [SAMR). El 10 % de los estudios se centraron en *S. epidermidis*, y solo un estudio utilizó ambos [18]. *S. epidermidis* se utilizó principalmente en modelos de rata con tornillos de PEEK [19, 57, 58]. La inoculación inicial de bacterias osciló entre 10^3 y 10^8 UFC por animal. La infección se estableció inoculando la solución bacteriana directamente en el defecto o el canal intramedular, o insertando una aguja de Kirschner preinoculada en el sitio del defecto. El volumen de inoculación varió entre 10 y 100 µL. Como medida de resultado, todos los estudios incluyeron evaluaciones bacteriológicas del tejido recuperado para cuantificar la supervivencia bacteriana. Sin embargo, no todos los estudios realizaron una evaluación bacteriológica exhaustiva, ya que algunos no analizaron todos los tejidos afectados o no informaron la metodología exacta utilizada para la cuantificación. La radiografía y la microtomografía computarizada (microCT) se emplearon con frecuencia para evaluar la consolidación o la resorción ósea. También se realizaron análisis histopatológicos para evaluar la presencia de bacterias o la respuesta de las células inmunitarias. Un número limitado de estudios cuantificó las concentraciones de antibióticos en el suero, el hueso y el espacio intramedular. Además, se midieron los niveles de citocinas, como IL-6 o TNF-α, en el suero de los animales infectados.

Modelos de conejo

Doce publicaciones utilizaron modelos de conejo, principalmente conejos blancos de Nueva Zelanda debido a su docilidad y similitud con los humanos en su reacción a enfermedades y medicamentos. El sitio de defecto más común fue la tibia, al no requerir fijación interna ni externa. Sitios menos comunes incluyeron el radio [65], el fémur [66, 67] y la mandíbula [68, 69]. El microorganismo más común fue el SARM, seguido del SAMS, con menos estudios que investigaron microorganismos gramnegativos como *Klebsiella pneumoniae* [70] y *E. coli.* [71]. Los implantes utilizados para iniciar la infección asociada a implantes incluyeron agujas de Kirschner, agujas de Jamshidi e implantes de titanio hechos a medida, con cantidades de inoculación que oscilaron entre 10^5 y 10^9 UFC. Además de la bacteriología, la puntuación radiográfica se ha establecido como una medida eficaz de la consolidación ósea, aunque existe cierto debate sobre los sistemas de puntuación más apropiados [72]. La puntuación histomorfométrica también es común para evaluar la consolidación y la inflamación en el sitio del defecto. Algunos estudios midieron marcadores sanguíneos, MicroCT, peso, mortalidad y concentración sistémica de antibióticos como medidas de resultado adicionales. Los mejores modelos de conejos incluyen, como mínimo, bacteriología, un sistema de puntuación radiográfica y un sistema de puntuación histomorfométrica establecidos.

Modelos porcinos

Cuatro publicaciones que cumplieron los criterios de inclusión utilizaron modelos porcinos [30, 73-75]. Todas emplearon cerdas inmaduras de ~40 kg de peso corporal. La infección ósea se estableció mediante 10^{-1} UFC de *Biofilms* mediante inyección directa o junto con la inserción de un pequeño implante de acero no funcional. El desarrollo de la infección ósea se confirmó después de 7 días mediante análisis microbiológicos del tejido óseo infectado y sonicación de los implantes. Tras el período de intervención terapéutica y la eutanasia, se realizaron exactamente los mismos análisis. Esto permitió que la reducción de UFC de la infección establecida fuera el resultado principal para evaluar la eficacia terapéutica. Este enfoque fue factible, ya que se ha incluido una cirugía de revisión fiable a escala humana en todas las intervenciones terapéuticas probadas en cerdos [30, 73, 74]. Debido al tamaño de los cerdos, la obtención de imágenes intravitales del desarrollo de la infección es difícil. Si la cirugía de revisión no forma parte de la intervención terapéutica, el desarrollo de la infección debe confirmarse mediante otros análisis, como técnicas de imagen y la eutanasia de los controles de infección. Al igual que las ovejas, los cerdos permiten realizar pruebas preclínicas robustas de las modalidades de tratamiento incluidas en la revisión de la osteomielitis en una sola etapa, como los abordajes quirúrgicos, la introducción de biomateriales, los recubrimientos de implantes y la cirugía plástica. Debido al creciente uso de ovejas y cerdos en la

investigación de infecciones óseas, se debería prestar aún más atención a obtener un mejor conocimiento sobre su fisiología ósea, su respuesta inmunitaria y el metabolismo de los antimicrobianos en comparación con los humanos.

Modelos ovinos

Cinco publicaciones que cumplieron los criterios de inclusión utilizaron modelos ovinos. Cuatro de estos estudios utilizaron ovejas hembras, y no se informó en el quinto. Tres estudios utilizaron la tibia (todos con clavos intramedulares, pero sin crear fracturas ni osteotomía) y dos en el fémur (un estudio utilizó un vástago protésico de cadera y otro un tapón cilíndrico de acero inoxidable de 20 mm de largo y 8 mm de diámetro). Todos los estudios evaluaron la infección ósea por *Biofilms*, ya sea SAMS o SAMR. No se utilizaron cepas bioluminiscentes en ningún estudio. Los inóculos oscilaron entre 10^7 y 10^9 UFC, añadidos como suspensión líquida al canal intramedular o al implante, o depositados sobre una lámina de colágeno e insertados en el canal intramedular adyacente al implante. Todos los estudios realizaron una evaluación microbiológica; cuatro de ellos proporcionaron resultados cuantitativos, mientras que un estudio cultivó e identificó las bacterias sin cuantificar la carga bacteriana. Todos los estudios utilizaron radiografía para evaluar los cambios óseos debidos a la infección. Solo un estudio utilizó histopatología para evaluar la inflamación (aguda y crónica), la necrosis y la neoformación óseas [76]. Ningún estudio con ovejas utilizó histopatología para identificar bacterias en los tejidos. Todos los estudios realizaron un examen clínico rutinario y regular de observaciones como cambios de peso y comportamiento, cojera y signos locales de infección. Tres estudios utilizaron un sistema de puntuación específico, aunque no se describió en detalle [77-79]. Los dos restantes no revelaron si se utilizó un sistema de puntuación para monitorear el bienestar animal. También se realizó hematología. En un estudio, se midieron los leucocitos, la proteína C reactiva y la VSG, pero se suspendieron debido a la falta de correlación con el estado de la infección [79]. De manera similar, Foster et al. no midieron marcadores hematológicos por la misma razón. Alegrete et al. Se realizaron evaluaciones hematológicas regulares, incluyendo leucocitos y proteína C reactiva (PCR), y nuevamente, los leucocitos no arrojaron resultados diferenciales según el estado de la infección. Sin embargo, este estudio sí mostró diferencias en la PCR entre los grupos [76]. Boot et al. y Nakahara et al. no presentaron datos hematológicos [76, 80]. Debido al pequeño número de estudios con ovejas, resulta difícil identificar el mejor modelo. No está del todo claro por qué la histopatología es menos común en los modelos ovinos en comparación con animales más pequeños; sin embargo, esto podría estar relacionado con la gran área de infección y la dificultad para identificar el verdadero foco de la infección. En el único estudio con ovejas donde la infección se localizó en un defecto preformado y, por lo tanto, fue fácilmente identificable, se realizó histopatología. Otra mejora necesaria para los modelos ovinos es identificar biomarcadores sanguíneos mejorados para monitorear la progresión de la enfermedad o la carga de infección. El bienestar animal depende de observaciones clínicas como el comportamiento general, la cojera y la apariencia de la herida.

Para todos los modelos animales descritos anteriormente, a fin de cumplir con los estándares de las 3R, es esencial contar con la potencia adecuada para detectar diferencias significativas en los efectos del tratamiento. En los modelos animales murinos, el número de animales por grupo osciló entre 3 y 20, con una mediana de 10. Con modelos animales más grandes, es necesario equilibrar los costos de los animales y su cuidado, incluyendo suficientes animales para detectar los efectos del tratamiento. En el caso de los conejos, el número de animales por grupo osciló entre 3 y 23, con una mediana de 12. En el caso de los cerdos y las ovejas, el número de animales por grupo osciló entre 3 y 10, con una mediana de 6. La gran mayoría de los estudios solo incluyeron animales de un solo sexo, lo que dificulta determinar si existen diferencias de sexo en las estrategias de tratamiento para la infección musculoesquelética.

Los mejores estudios también describen medidas para minimizar el sesgo en la evaluación de resultados, incluyendo el equilibrio del estado de infección al inicio del tratamiento, la aleatorización de los animales en los grupos de tratamiento y el cegamiento de los grupos de tratamiento tanto a los cirujanos en el momento de la intervención como a los evaluadores de resultados. La evaluación de la calidad de los artículos extraídos determinó que el 60% de los estudios describieron una aleatorización adecuada, el 48% de los estudios describieron adecuadamente los evaluadores cegados del resultado y solo el 25% describió el cegamiento del cirujano al grupo de tratamiento.

REFERENCIAS

1. Sifri CD, et al. 2003. Caenorhabditis elegans as a model host for Staphylococcus aureus pathogenesis. Infect Immun 71:2208-2217.
2. Goodrich LR. 2006. Osteomyelitis in horses. Vet Clin North Am Equine Pract 22:389-417, viii-ix.
3. Moriarty TF, et al. 2017. A large animal model for a failed two-stage revision of intramedullary nail-related infection by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Eur Cell Mater 34:83-98.
4. Reizner W, Het al. 2014. A systematic review of animal models for *Staphylococcus aureus* osteomyelitis. Eur Cell Mater 27:196-212.
5. Jennings JA, et al. 2024. 2023 International Consensus Meeting on musculoskeletal infection: Summary from the treatment workgroup and consensus on treatment in preclinical models. J Orthop Res 42:500-511.
6. Inzana JA, et al. 2015. A novel murine model of established Staphylococcal bone infection in the presence of a fracture fixation plate to study therapies utilizing antibiotic-laden spacers after revision surgery. Bone 72:128-136.
7. Inzana JA, et al. 2015. 3D printed bioceramics for dual antibiotic delivery to treat implant-associated bone infection. Eur Cell Mater 30:232-247.
8. Corrado A, Donato P, Maccari S, et al. 2016. *Staphylococcus aureus*-dependent septic arthritis in murine knee joints: local immune response and beneficial effects of vaccination. Sci Rep 6:38043.
9. Jorgensen NP, Skovdal SM, Meyer RL, et al. 2016. Rifampicin-containing combinations are superior to combinations of vancomycin, linezolid and daptomycin against *Staphylococcus aureus* biofilm infection *in vivo* and *in vitro*. Pathog Dis 74:ftw019.
10. Hu Y, Hegde V, Johansen D, et al. 2017. Combinatory antibiotic therapy increases rate of bacterial kill but not final outcome in a novel mouse model of *Staphylococcus aureus* spinal implant infection. PLoS One 12:e0173019.
11. Jorgensen NP, Hansen K, Andreasen CM, et al. 2017. Hyperbaric Oxygen Therapy is Ineffective as an Adjuvant to Daptomycin with Rifampicin Treatment in a Murine Model of *Staphylococcus aureus* in Implant-Associated Osteomyelitis. Microorganisms 5.
12. Hegde V, Dworsky EM, Stavrakis AI, et al. 2017. Single-Dose, Preoperative Vitamin-D Supplementation Decreases Infection in a Mouse Model of Periprosthetic Joint Infection. J Bone Joint Surg Am 99:1737-1744.
13. Yokogawa N, Ishikawa M, Nishitani K, et al. 2018. Immunotherapy synergizes with debridement and antibiotic therapy in a murine 1-stage exchange model of MRSA implantassociated osteomyelitis. J Orthop Res 36:1590-1598.

14. Kobayashi H, Fujita R, Hiratsuka S, et al. 2022. Differential effects of anti-RANKL monoclonal antibody and zoledronic acid on necrotic bone in a murine model of *Staphylococcus aureus*-induced osteomyelitis. J Orthop Res 40:614-623.
15. Burke ZDC, Hart CM, Kelley BV, et al. 2023. Monoclonal Antibody Disrupts Biofilm Structure and Restores Antibiotic Susceptibility in an Orthopedic Implant Infection Model. Antibiotics (Basel) 12.
16. Ren Y, Weeks J, Xue T, et al. 2023. Evidence of bisphosphonate-conjugated sitafloxacin eradication of established methicillin-resistant *S. aureus* infection with osseointegration in murine models of implant-associated osteomyelitis. Bone Res 11:51.
17. Barnea Y, et al. 2016. Efficacy of dalbavancin in the treatment of MRSA rat sternal osteomyelitis with mediastinitis. J Antimicrob Chemother 71:460-463.
18. Brinkman CL, Schmidt-Malan SM, Karau MJ, et al. 2019. A novel rat model of foreign body osteomyelitis for evaluation of antimicrobial efficacy. J Exp Appl Anim Sci 3:7-14.
19. Burch MA, Keshishian A, Wittmann C, et al. 2021. The non-steroidal anti-inflammatory drug carprofen negatively impacts new bone formation and antibiotic efficacy in a rat model of orthopaedic-device-related infection. Eur Cell Mater 41:739-755.
20. Choi YS, et al. 2023. Efficacy of Silver Nanoparticles-Loaded Bone Cement against an MRSA Induced-Osteomyelitis in a Rat Model. Medicina (Kaunas) 59.
21. Dai T, Ma C, Zhang F, et al. 2024. The Efficacy and Safety of an Intra-articular Dual-Acting Antibacterial Agent (TNP-2092) for Implant Infection-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. J Infect Dis 229:1658-1668.
22. Dos Reis JA, Jr., et al. 2015. Photodynamic Antimicrobial Chemotherapy (PACT) in osteomyelitis induced by *Staphylococcus aureus*: Microbiological and histological study. J Photochem Photobiol B 149:235-242.
23. Dvorzhinskiy A, Pet al. 2021. Ceramic composite with gentamicin decreases persistent infection and increases bone formation in a rat model of debrided osteomyelitis. J Bone Jt Infect 6:283-293.
24. Egawa S, Hirai K, Matsumoto R, et al. 2020. Efficacy of Antibiotic-Loaded Hydroxyapatite/Collagen Composites Is Dependent on Adsorbability for Treating *Staphylococcus aureus* Osteomyelitis in Rats. J Orthop Res 38:843-851.
25. Ehrensberger MT, et al. 2015. Cathodic voltage-controlled electrical stimulation of titanium implants as treatment for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* periprosthetic infections. Biomaterials 41:97-105.
26. Eren Boncu T, Uskudar Guclu A, Catma MF, et al. 2020. *In vitro* and *in vivo* evaluation of linezolid loaded electrospun PLGA and PLGA/PCL fiber mats for prophylaxis and treatment of MRSA induced prosthetic infections. Int J Pharm 573:118758.
27. Ersoy A, et al. 2024. High-dose vancomycin spacers provided early recovery without nephrotoxicity compared with standard-dose in MRSA-induced periprosthetic joint infection model of rats. Knee 49:125-134.
28. Fang CH, Tsai PI, Huang SW, et al. 2017. Magnetic hyperthermia enhance the treatment efficacy of peri-implant osteomyelitis. BMC Infect Dis 17:516.
29. Freischmidt H, Armbruster J, Rothhaas C, et al. 2022. Efficacy of an Antibiotic Loaded Ceramic-Based Bone Graft Substitute for the Treatment of Infected Non-Unions. Biomedicines 10.
30. Fuglsang-Madsen AJ, Henriksen NL, Chavez ES, et al. 2024. Eradication of *Staphylococcus aureus* in Implant-Associated Osteomyelitis by an Injectable In Situ-Forming Depot Antibiotics Delivery System. J Infect Dis 230:614-623.
31. Garcia EJ, et al. 2013. Local application of free antibiotic powder in the treatment of osteomyelitis in a rat model. Orthopedics 36:e986-989.
32. Gerivani B, Staji H, Rassouli M, et al. 2020. Co-administration of Erythromycin and Leech Salivary Extract Alleviates Osteomyelitis in Rats Induced by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Vet Comp Orthop Traumatol 33:243-251.
33. Goetz J, Keyssner V, Hanses F, et al. 2022. Animal experimental investigation on the efficacy of antibiotic therapy with linezolid, vancomycin, cotrimoxazole, and rifampin in treatment of periprosthetic knee joint infections by MRSA. Bone Joint Res 11:143-151.
34. Goto B, Iriuchishima T, Horaguchi T, et al. 2011. Therapeutic effect of photodynamic therapy using Na-pheophorbide a on osteomyelitis models in rats. Photomed Laser Surg 29:183-189.
35. Greimel F, Scheuerer C, Gessner A, et al. 2017. Efficacy of antibiotic treatment of implantassociated *Staphylococcus aureus* infections with moxifloxacin, flucloxacillin, rifampin, and combination therapy: an animal study. Drug Des Devel Ther 11:1729-1736.
36. Inanmaz ME, et al. 2014. Extracorporeal shockwave increases the effectiveness of systemic antibiotic treatment in implant-related chronic osteomyelitis: experimental study in a rat model. J Orthop Res 32:752-756.
37. Jia B, Zhang Z, Zhuang Y, et al. 2022. High-strength biodegradable zinc alloy implants with antibacterial and osteogenic properties for the treatment of MRSA-induced rat osteomyelitis. Biomaterials 287:121663.
38. Jung SW, Oh SH, Lee IS, et al. 2019. In Situ Gelling Hydrogel with Anti-Bacterial Activity and Bone Healing Property for Treatment of Osteomyelitis. Tissue Eng Regen Med 16:479- 490.
39. Karau MJ, Schmidt-Malan SM, Albano M, et al. 2020. Novel Use of Rifabutin and Rifapentine to Treat Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Rat Model of Foreign Body Osteomyelitis. J Infect Dis 222:1498-1504.
40. Karau MJ, Schmidt-Malan SM, Cunningham SA, et al. 2022. Activity of Omadacycline in Rat Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Osteomyelitis. Antimicrob Agents Chemother 66:e0170321.
41. Kaya GS, Kaya M, Gursan N, et al. 2011. The use of 808-nm light therapy to treat experimental chronic osteomyelitis induced in rats by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Photomed Laser Surg 29:405-412.
42. Kaya M, Simsek-Kaya G, Gursan N, et al. 2012. Local treatment of chronic osteomyelitis with surgical debridement and tigecycline-impregnated calcium hydroxyapatite: an experimental study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol 113:340-347.
43. Kemah B, Uzer G, Turhan Y, et al. 2018. Effects of Local Application of Nano-silver on Osteomyelitis and Soft Tissue Infections: An Experimental Study in Rats. J Bone Jt Infect 3:43-49.
44. Kussmann M, Obermueller M, Berndl F, et al. 2018. Dalbavancin for treatment of implantrelated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis in an experimental rat model. Sci Rep 8:9661.
45. Lingscheid T, Poeppl W, Bernitzky D, et al. 2015. Daptomycin plus fosfomycin, a synergistic combination in experimental implant-associated osteomyelitis due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in rats. Antimicrob Agents Chemother 59:859-863.
46. Lovati AB, Romano CL, Bottagisio M, et al. 2016. Modeling *Staphylococcus epidermidis*Induced Non-Unions: Subclinical and Clinical Evidence in Rats. PLoS One 11:e0147447.
47. Mdingi VS, Gens L, Mys K, et al. 2024. Short-Term Celecoxib Promotes Bone Formation without Compromising Cefazolin Efficacy in an Early Orthopaedic Device-Related Infection: Evidence from a Rat Model. Antibiotics (Basel) 13.
48. Neyisci C, et al. 2018. Treatment of implant-related methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis with vancomycin-loaded VK100 silicone cement: An experimental study in rats. J Orthop Surg (Hong Kong) 26:2309499017754093.
49. Ofluoglu EA, Bulent E, Derya AM, et al. 2012. Efficiency of antibiotic-loaded polymethylmeTHAcrylate rods for treatment of the implant-related infections in rat spine. J Spinal Disord Tech 25:E48-52.
50. Ozturan KE, Yucel I, Kocoglu E, et al. 2010. Efficacy of moxifloxacin compared to teicoplanin in the treatment of implant-related chronic osteomyelitis in rats. J Orthop Res 28:1368-1372.
51. Poeppl W, Lingscheid T, Bernitzky D, et al. 2014. Efficacy of fosfomycin compared to vancomycin in treatment of implant-associated chronic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis in rats. Antimicrob Agents Chemother 58:5111-5116.
52. Poeppl W, Tobudic S, Lingscheid T, et al. 2011. Daptomycin, fosfomycin, or both for treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis in an experimental rat model. Antimicrob Agents Chemother 55:4999-5003.
53. Qi XY, Qiu XS, Jiang JY, et al. 2019. Microwaves increase the effectiveness of systemic antibiotic treatment in acute bone infection: experimental study in a rat model. J Orthop Surg Res 14:286.
54. Ramot Y, Steiner M, Amouyal N, et al. 2021. Treatment of contaminated radial fracture in Sprague-Dawley rats by application of a degradable polymer releasing gentamicin. J Toxicol Pathol 34:11-22.
55. Roukoz S, El Khoury G, Saghbini E, et al. 2020. Does the induced membrane have antibacterial properties? An experimental rat model of a chronic infected nonunion. Int Orthop 44:391-398.
56. Silva V, Antao HS, Guimaraes J, et al. 2020. Efficacy of dalbavancin against MRSA biofilms in a rat model of orthopaedic implant-associated infection. J Antimicrob Chemother 75:2182- 2187.
57. Siverino C, Freitag L, Arens D, et al. 2021. Titanium Wear Particles Exacerbate *S. epidermidis*-Induced Implant-Related Osteolysis and Decrease Efficacy of Antibiotic Therapy. Microorganisms 9.
58. Thompson K, Freitag L, Styger U, et al. 2021. Impact of low bone mass and antiresorptive therapy on antibiotic efficacy in a rat model of orthopedic device-related infection. J Orthop Res 39:415-425.
59. Vergidis P, Schmidt-Malan SM, Mandrekar JN, et al. 2015. Comparative activities of vancomycin, tigecycline and rifampin in a rat model of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis. J Infect 70:609-615.
60. Wei J, et al. 2022. Intra-articular versus systemic vancomycin for the treatment of periprosthetic joint infection after debridement and spacer implantation in a rat model. Bone Joint Res 11:371-385.
61. Wei J, Tong K, Zhou S, et al. 2021. Intra-wound vancomycin powder for the eradication of periprosthetic joint infection after debridement and implant exchange: experimental study in a rat model. BMC Microbiol 21:333.
62. Yamamuro Y, Kabata T, Nojima T, et al. 2023. Combined adipose-derived mesenchymal stem cell and antibiotic therapy can effectively treat periprosthetic joint infection in rats. Sci Rep 13:3949.
63. Yoshitani J, Kabata T, Arakawa H, et al. 2020. Combinational therapy with antibiotics and antibiotic-loaded adipose-derived stem cells reduce abscess formation in implant-related infection in rats. Sci Rep 10:11182.
64. Yucel MO, et al. 2022. Rifaximine spacer application is not superior to local teicoplanin treatment in a rat model of osteomyelitis. North Clin Istanb 9:505-513.
65. Beenken KE, Smith JK, Skinner RA, et al. 2014. Chitosan coating to enhance the therapeutic efficacy of calcium sulfate-based antibiotic therapy in the treatment of chronic osteomyelitis. J Biomater Appl 29:514-523.
66. Amador G, Gautier H, Le Mabecque V, et al. 2010. *In vivo* assessment of the antimicrobial activity of a calcium-deficient apatite vancomycin drug delivery system in a methicillinresistant *Staphylococcus aureus* rabbit osteomyelitis experimental model. Antimicrob Agents Chemother 54:950-952.
67. Gaudin A, Amador Del Valle G, Hamel A, et al. 2011. A new experimental model of acute osteomyelitis due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in rabbit. Lett Appl Microbiol 52:253-257.
68. Kimishima K, Matsuno T, Makiishi J, et al. 2016. Effects of gatifloxaine content in gatifloxacine-loaded PLGA and β-tricalcium phosphate composites on efficacy in treating osteomyelitis. Odontology 104:105-113.

69. Fu T, Yu M, Yan Q, et al. 2018. Bacteriocin Isolated from Lactobacillus Rhamnosus L34 Has Antibacterial Effects in a Rabbit Model of Infection After Mandible Fracture Fixation. Med Sci Monit 24:8009-8014.
70. Gatin L, Mghir AS, Mouton W, et al. 2019. Colistin-containing cement spacer for treatment of experimental carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* prosthetic joint infection. Int J Antimicrob Agents 54:456-462.
71. Davido B, et al. 2023. Efficacy of ceftazidime/avibactam in various combinations for the treatment of experimental osteomyelitis in rabbits caused by OXA-48- /ESBL-producing *Escherichia coli*. J Antimicrob Chemother 78:1211-1218.
72. Aktekin CN, et al. 2007. A different perspective for radiological evaluation of experimental osteomyelitis. Skeletal radiology 36:945-950.
73. Blirup-Plum SA, et al. 2020. Pathological and microbiological impact of a gentamicin-loaded biocomposite following limited or extensive debridement in a porcine model of osteomyelitis. Bone Joint Res 9:394-401.
74. Vittrup S, Jensen LK, Hartmann KT, et al. 2024. Rifampicin does not reduce moxifloxacin concentrations at the site of infection and may not improve treatment outcome of a one-stage exchange surgery protocol of implant-associated osteomyelitis lesions in a porcine model. APMIS 132:198-209.
75. Lin J, et al. 2024. Efficacy of EDTA-NS irrigation in eradicating *Staphylococcus aureus* biofilm-associated infection. Bone Joint Res 13:40-51.
76. Alegrete N, et al. 2023. Vancomycin-loaded, nanohydroxyapatite-based scaffold for osteomyelitis treatment: *in vivo* rabbit toxicological tests and *in vivo* efficacy tests in a sheep model. Bioengineering 10:206.
77. Boot W, Foster AL, Guillaume O, et al. 2022. An antibiotic-loaded hydrogel demonstrates efficacy as prophylaxis and treatment in a large animal model of orthopaedic device-related infection. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology 12:826392.
78. Foster AL, Boot W, Stenger V, et al. 2021. Single-stage revision of MRSA orthopedic device- related infection in sheep with an antibiotic-loaded hydrogel. Journal of Orthopaedic Research® 39:438-448.
79. Moriarty T, et al. 2017. A large animal model for a failed two-stage revision of intramedullary nail-related infection by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Eur Cell Mater 34:83-98.
80. Nakahara I, et al. 2024. Therapeutic efficacy of vancomycin-loaded carbon fiber-reinforced polyetheretherketone hip stem for periprosthetic joint infection: A pilot study. Journal of Orthopaedic Research® 42:474-483.

Autores: Eoin Sheehan, Edward M. Schwarz, Volker Alt, Louise Kruse-Jensen, Nader Maai, T. Fintan Moriarty, & Satish Kutty, Thomas P. Schaer & Joseph C. Wenke

Autor de Correspondencia
Eoin Sheehan
University of Limerick School of Medicine,
Limerick, Ireland
Email: eoinsheehan@gmail.com

PREGUNTA 5. ¿Son éticos los modelos animales bilaterales de defectos óseos infectados?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: En jurisdicciones donde se permite la investigación sobre defectos óseos bilaterales infectados en modelos animales, se debe considerar lo siguiente: además de la aprobación local del Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales (IACUC). 1), se deben incluir evaluaciones científicas de movilidad y funcionalidad que probablemente superen los estándares establecidos para modelos de infección por defectos óseos en una sola extremidad, en lo que respecta al bienestar animal (necesidad de eutanasia) y al manejo del dolor (necesidad de administración de analgésicos). 2) El efecto acumulativo de todos los defectos en el bienestar animal, con un tratamiento analgésico y un manejo adecuados, no debe superar el efecto de un solo defecto infectado. 3) El rigor científico general de la investigación debe proporcionar una prueba de concepto formal. 4) Garantías de que existe una justificación científica para el uso de un modelo bilateral y de que no se aplica principalmente por razones de rentabilidad y 5) la investigación debe cumplir con las regulaciones nacionales e internacionales que rigen la investigación con animales, como la Ley de Bienestar Animal (AWA) en Estados Unidos, la Directiva 2010/63/UE en la Unión Europea y las directrices de organizaciones como los Institutos Nacionales de Salud (NIH) y la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). Varias otras instituciones han publicado directrices, como las directrices ARRIVE (Informe de Experimentos *In vivo* en Investigación con Animales) y las formuladas por la Asociación para la Evaluación y Acreditación del Cuidado de Animales de Laboratorio. En última instancia, corresponde a los investigadores, al menos, optimizar y lograr uniformidad en los modelos animales unilaterales. Los investigadores también deben esforzarse por mejorar las técnicas, los resultados y la potencia estadística antes de avanzar en el ámbito de los modelos bilaterales.

NIVEL DE EVIDENCIA: Opinión de Experto

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 70%, En desacuerdo 0%, Abstención 30% (Consenso Moderado).

JUSTIFICACIÓN

Esta pregunta surgió a raíz de acontecimientos recientes en la comunidad internacional de investigación ortopédica que cuestionaron la omnipotencia de la capacidad de un Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales IACUC individual para aprobar investigaciones en modelos animales bilaterales de defectos óseos infectados, basándose en las siguientes preocupaciones éticas: 1) La ética sobre el dolor y el sufrimiento aceptables que deben soportar los animales de experimentación varía tanto entre países como dentro de ellos. Por lo tanto, para lograr la aceptación mundial de los hallazgos experimentales, es necesario aplicar estándares éticos reconocidos internacionalmente para la aprobación ética de la investigación en animales de experimentación. 2) No existen modelos validados de lesiones bilaterales infectadas que garanticen que no se excedan los umbrales de dolor y sufrimiento, y los resultados establecidos de bienestar animal (es decir, cojera) no fueron diseñados para evaluar lesiones bilaterales infectadas. 3) Los IACUC generalmente no cuentan con la experiencia científica necesaria para saber si los resultados primarios de un estudio se verán comprometidos por las consecuencias graves para la salud de los defectos óseos infectados bilaterales. La importancia de esta pregunta también se deriva de las nuevas y cambiantes restricciones al uso de modelos animales para la investigación en varios países del mundo, que incluyen la prohibición del uso de especies (p. ej., perros y gatos) y modelos de heridas de guerra (es decir, múltiples lesiones traumáticas graves infectadas) que anteriormente eran toleradas y publicadas en la literatura [1-10]. Además de las preocupaciones sobre el bienestar animal, también se ha cuestionado el rigor científico de los estudios preclínicos publicados y revisados por pares sobre infecciones óseas en animales grandes y modelos no roedores. Esto también constituye un problema ético, ya que la mayoría de los IACUC no están familiarizados con las tecnologías actuales que deberían utilizarse para evaluar los defectos óseos infectados y, por lo tanto, no pueden evaluar la base científica para determinar si la investigación es ética. Estas preocupaciones se ponen de relieve en una revisión sistemática de 316 estudios cualificados (254 en conejos, 16 en cerdos, 23 en perros, 11 en cabras y 12 en ovejas), que informó que menos del 5 % cumplía con los estándares contemporáneos de rigor científico y reproducibilidad [11]. Específicamente, los autores encontraron deficiencias globales en: 1) metodología, 2) definiciones de infección, aleatorización y análisis de potencia, y 3) en el enmascaramiento para evitar resultados sesgados. La falta de rigor científico en los

resultados histológicos se citó como una preocupación particular, ya que pocos estudios utilizaron una puntuación semicuantitativa validada de las lesiones y varios carecían de una cuantificación objetiva de los resultados. Otras deficiencias que se han tolerado en el pasado, pero que ahora son necesarias para establecer una prueba de concepto formal, incluyen: 1) la evaluación cuantitativa de la carga bacteriana del inóculo, en el tejido y en los implantes en los criterios de valoración prospectivos, el uso de antibióticos y los tratamientos estándar en grupos de control, y 3) análisis cuantitativos ciegos de los efectos antimicrobianos y los resultados de esterilidad. Dada la necesidad crítica de una investigación fiable sobre infecciones musculoesqueléticas en modelos animales, varios grupos han publicado directrices científicas que incluyen detalles relacionados con el modelo (es decir, implante, lesión, cirugía, tratamientos, resultados), el patógeno, el animal infectado, los estudios *in vivo* y los análisis post mortem, todos ellos de crucial importancia para la validación de los resultados y la reproducibilidad [11, 12].

Con respecto a la cuestión específica de los modelos bilaterales para defectos óseos infectados, estos podrían reducir el número de animales necesarios para el estudio; sin embargo, existe una gran preocupación de que esto afecte negativamente el bienestar animal. También existen importantes preocupaciones potenciales relacionadas con la propagación de bacterias entre las extremidades y la propagación de tratamientos antibacterianos entre ellas, especialmente si las dos extremidades difieren en algún parámetro experimental (por ejemplo, una está infectada y la otra no, o una extremidad recibe tratamiento local y la otra no). Estos últimos problemas podrían resolverse mediante un diseño de estudio cuidadoso y grupos de control.

El desarrollo de modelos animales bilaterales de infecciones óseas presenta un alto riesgo de mortalidad debido a la posibilidad de bacteriemia, pero también a la aparición de respuestas fisiológicas que provocan deterioro del estado general, como cambios severos de temperatura corporal, inapetencia y la consiguiente pérdida de peso. Las reacciones inflamatorias sistémicas, el dolor y el decúbito persistente pueden confundirse con ausencia de cojera y eludir a los investigadores. El estudio de modelos bilaterales de un solo hueso, como radio, cúbito y peroné en extremidades con dos huesos, podría ser beneficioso. Esto permitiría controles intraanimales. Las investigaciones e intervenciones deben ser razonables, para garantizar la comodidad de los animales, en lugar de intentar reducir el número de ejemplares.

Métodos

Una revisión sistemática de la literatura en las bases de datos PubMed y Embase Ovid no identificó ninguna publicación revisada por pares que abordara directamente la cuestión. Al ampliar nuestros criterios de búsqueda, descubrimos cinco estudios relacionados con modelos animales con infección bilateral. En 1993, Spangnolo et al. analizaron un modelo bilateral de tibia de rata con osteomielitis durante un período de 6 meses, realizando estudios histológicos, radiológicos y microbiológicos cuantitativos en distintos puntos temporales [13]. Un segundo estudio examinó un modelo bilateral de tibia de rata y se implantó una aguja de Kirschner colonizada mediante un procedimiento secundario para permitir la terapia fotodinámica. Se utilizó bioluminiscencia para monitorizar la carga biológica. El estudio cumplió con las directrices éticas canadienses y el bienestar animal se consideró satisfactorio [14]. En 1991, Johannson et al. informaron sobre un modelo bilateral de conejo con colonización metafisaria tibial por Bacteroides fragilis. La segunda extremidad sirvió como control no infectado. Después de 18 semanas, 4 de los 5 modelos mostraron infección en el lado control, lo que demuestra el riesgo significativo de bacteriemia diseminada a las extremidades en estos modelos. Además, se trata de un patógeno entérico que rara vez se observa en infecciones óseas [15]. Haenle et al., en un modelo metafisario tibial bilateral de rata bien construido, que muestra criterios de valoración robustos y un análisis que permitió controles intraanimales, examinó inóculos variables de *S. aureus* [16].

En un estudio canino reciente, Schweser et al. analizaron la reparación de defectos cubitales bilaterales inoculados con placas de *S. aureus*, seguida de otro procedimiento tres semanas después, en el que se tomaron muestras y se realizaron cuatro intervenciones tras la irrigación y el desbridamiento [17]. Los autores citaron artículos previos de prueba de concepto en un modelo unilateral de conejo. Los tratamientos incluyeron controles con antibióticos y terapia con bacteriófagos, y los animales fueron sacrificados después de 11 semanas y sometidos a una evaluación histológica y de UFC de biofilm. El estudio cita como precedente un modelo canino previo con defecto bilateral no infectado. Utiliza superposiciones de puntos temporales y dos procedimientos quirúrgicos con un aparato de infusión en un grupo de animales; esto plantea la cuestión del bienestar animal, aunque el autor informa observaciones clínicas normales en todo momento. Existe ambigüedad sobre si se utilizan "controles en animales", ya que los autores citan la aprobación ética y un número reducido de pacientes. Se utilizan estadísticas ANOVA que muestran resultados variables en los tratamientos combinados [17].

La escasez de estudios sobre infecciones bilaterales también puede indicar un sesgo de publicación, ya que algunas revistas no publican dichos artículos debido a posibles conflictos éticos o resultados negativos. Sin embargo, al formular esta recomendación, se consideraron varios estudios y directrices de agencias sobre el uso ético de modelos animales en investigación [18-33]. También identificamos 13 artículos de investigación revisados por pares sobre modelos de lesiones bilaterales no infectadas [33-44], de los cuales solo 5 proporcionaron información sobre el bienestar animal y 6 informaron sobre la muerte prematura de los animales de estudio (Tabla 1), lo que resalta aún más las necesidades y oportunidades de mejora en la investigación ortopédica con animales en general. Además, solo uno de estos estudios se publicó después de 2018, lo que puede deberse a cambios en las perspectivas éticas sobre estos modelos animales.

En conclusión, si bien existen varios modelos bilaterales de defectos óseos reportados en la literatura, hasta donde

sabemos, solo hay 5 que informan sobre modelos infectados bilateralmente.

REFERENCIAS

1. An YH, Kang QK, Arciola CR. 2006. Animal models of osteomyelitis. Int J Artif Organs 29:407-420.
2. Patel M, Rojavin Y, Jamali AA, et al. 2009. Animal models for the study of osteomyelitis. Semin Plast Surg 23:148-154.
3. Wancket LM. 2015. Animal Models for Evaluation of Bone Implants and Devices: Comparative Bone Structure and Common Model Uses. Vet Pathol 52:842-850.
4. Reizner W, Hunter JG, O'Malley NT, et al. 2014. A systematic review of animal models for *Staphylococcus aureus* osteomyelitis. Eur Cell Mater 27:196-212.
5. Wang Y, Che M, Zheng Z, et al. 2022. Animal Models for Postoperative Implant-Related Spinal Infection. Orthop Surg 14:1049-1058.
6. Dai T, Kharkwal GB, Tanaka M, et al. 2011. Animal models of external traumatic wound infections. Virulence 2:296-315.
7. Samdavid THAnapaul RJR, Alamneh YA, Finnegan DK, et al. 2024. Development of a Combat-Relevant Murine Model of Wound Mucormycosis: A Platform for the Pre-Clinical Investigation of Novel Therapeutics for Wound-Invasive Fungal Diseases. J Fungi (Basel) 10.
8. Yin LY, Manring MM, Calhoun JH. 2013. A rabbit osteomyelitis model to simulate multibacterial war wound infections. Mil Med 178:696-700.
9. Huang S, Wen J, Zhang Y, et al. 2023. Choosing the right animal model for osteomyelitis research: Considerations and challenges. J Orthop Translat 43:47-65.
10. Park JH, Bae HS, Kim I, et al. 2024. Efficacy of Bone Regeneration Cell Therapy Using Mesenchymal Stem Cells Originating from Embryonic Stem Cells in Animal Models; Bone Defects and Osteomyelitis. Tissue Eng Regen Med.
11. Jensen LK, Henriksen NL, Blirup SA, et al. 2019. Guideline for Preclinical Studies of Bone Infections in Large Animals Based on a Systematic Review of 316 Non-Rodent Models. J Bone Joint Surg Am 101:1894-1903.
12. Moriarty TF, Harris LG, Mooney RA, et al. 2019. Recommendations for design and conduct of preclinical *in vivo* studies of orthopedic device-related infection. J Orthop Res 37:271- 287.
13. Spagnolo N, Greco F, Rossi A, et al. 1993. Chronic staphylococcal osteomyelitis: a new experimental rat model. Infect Immun 61:5225-5230.
14. Bisland SK, Chien C, Wilson BC, et al. 2006. Pre-clinical *in vitro* and *in vivo* studies to examine the potential use of photodynamic therapy in the treatment of osteomyelitis. Photochem Photobiol Sci 5:31-38.
15. Johansson A, Svensson O, Blomgren G, et al. 1991. Anaerobic osteomyelitis. A new experimental rabbit model. Clin Orthop Relat Res:297-301.
16. Haenle M, Zietz C, Lindner T, et al. 2013. A model of implant-associated infection in the tibial metaphysis of rats. ScientificWorldJournal 2013:481975.
17. Schweser K, Bozynski CC, Stoker AM, et al. 2024. Bacteriophage Therapy for Acute Fracture-Related Infections: An Effective Treatment When Compared to Antibiotics In A Canine Model. J Orthop Trauma.
18. Ferdowsian HR, Beck N. 2011. Ethical and scientific considerations regarding animal testing and research. PLoS One 6:e24059.
19. Allen MJ, Hankenson KD, Goodrich L, et al. 2017. Ethical use of animal models in musculoskeletal research. J Orthop Res 35:740-751.
20. (NENT) NCfREiSaT. 2018. Ethical Guidelines for the Use of Animals in Research. The Research Ethics Magazine. https://www.forskningsetikk.no/en/guidelines/science-andtechnology/ethical-guidelines-for-the-use-of-animals-in-research/.
21. Diaz L, Zambrano E, Flores ME, et al. 2020. Ethical Considerations in Animal Research: The Principle of 3R's. Rev Invest Clin 73:199-209.
22. Roux KM, Cobb LH, Seitz MA, et al. 2021. Innovations in osteomyelitis research: A review of animal models. Animal Models and Experimental Medicine.
23. Shim J, Kim J. 2022. Considerations for experimental animal ethics in the research planning and evaluation process. Kosin Medical Journal. https://doi.org/10.7180/kmj.7122.7139.
24. Meroni G, Tsikopoulos A, Tsikopoulos K, et al. 2022. A Journey into Animal Models of Human Osteomyelitis: A Review. Microorganisms 10.
25. Magalhães-Sant'Ana M, Sandøe P, Olsson I. 2023. Painful dilemmas: the ethics of animalbased pain research. Animal Welfare 18:49-63.
26. Stokes WS. 2002. Humane endpoints for laboratory animals used in regulatory testing. ILAR J 43 Suppl:S31-38.
27. . European Parliament; European Council. 63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Off. J. Eur. Union 2010,.
28. Kilkenny C, Browne W, Cuthill IC, et al. 2010. Animal research: reporting *in vivo* experiments: the ARRIVE guidelines. Br J Pharmacol 160:1577-1579.
29. Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, et al. 2010. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. PLoS Biol 8:e1000412.
30. Hooijmans CR, de Vries R, Leenaars M, et al. 2011. Improving planning, design, reporting and scientific quality of animal experiments by using the Gold Standard Publication Checklist, in addition to the ARRIVE guidelines. Br J Pharmacol 162:1259-1260.
31. Hooijmans CR, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M. 2010. A gold standard publication checklist to improve the quality of animal studies, to fully integrate the Three Rs, and to make systematic reviews more feasible. Altern Lab Anim 38:167-182.
32. Jennings JA, Arts JJ, Abuhussein E, et al. 2024. 2023 International Consensus Meeting on musculoskeletal infection: Summary from the treatment workgroup and consensus on treatment in preclinical models. J Orthop Res 42:500-511.
33. Liu K, Li D, Huang X, et al. 2013. A murine femoral segmental defect model for bone tissue engineering using a novel rigid internal fixation system. J Surg Res 183:493-502.
34. Chaubey A, Grawe B, Meganck JA, et al. 2013. Structural and biomechanical responses of osseous healing: a novel murine nonunion model. J Orthop Traumatol 14:247-257.
35. Johnson KD, August A, Sciadini MF, et al. 1996. Evaluation of ground cortical autograft as a bone graft material in a new canine bilateral segmental long bone defect model. J Orthop Trauma 10:28-36.
36. Lam K, Bozynski CC, Cook CR, et al. 2024. Comparison of reamer irrigator aspirator (RIA) suspension versus bone marrow aspirate concentrate (BMC) for percutaneous treatment of long bone nonunions-A preclinical canine model. Injury 55:111590.
37. Paterson DC, Carter RF, Maxwell GM, et al. 1977. Electrical bone-growth stimulation in an experimental model of delayed union. Lancet 1:1278-1281.
38. Oryan A, Monazzah S, Bigham-Sadegh A. 2015. Bone injury and fracture healing biology. Biomed Environ Sci 28:57-71.
39. Zhao MD, Huang JS, Zhang XC, et al. 2016. Construction of Radial Defect Models in Rabbits to Determine the Critical Size Defects. PLoS One 11:e0146301.
40. Xing J, Jin H, Hou T, et al. 2014. Establishment of a bilateral femoral large segmental bone defect mouse model potentially applicable to basic research in bone tissue engineering. J Surg Res 192:454-463.
41. Markel MD, Wikenheiser MA, Chao EY. 1991. Formation of bone in tibial defects in a canine model. Histomorphometric and biomechanical studies. J Bone Joint Surg Am 73:914-923.
42. Fujita M, Matsui N, Tsunoda M, et al. 1998. Establishment of a non-union model using muscle interposition without osteotomy in rats. Kobe J Med Sci 44:217-233.
43. Balaguer T, Fellah BH, Boukhechba F, et al. 2018. Combination of blood and biphasic calcium phosphate microparticles for the reconstruction of large bone defects in dog: A pilot study. J Biomed Mater Res A 106:1842-1850.
44. Chen X, Song F, Jhamb D, et al. 2015. The Axolotl Fibula as a Model for the Induction of Regeneration across Large Segment Defects in Long Bones of the Extremities. PLoS One 10:e0130819.

Tabla 1. Información sobre el bienestar animal en estudios publicados con lesiones bilaterales no infectadas.

Autor	Especie animal	Nº de animales (Nº de control)	Hueso largo + método de fijación	Anestesia	Manejo del dolor + (Duración)	Deambulación	Bienestar	Cojera	Muerte
K. Liu et al. (2013)	Ratones C57BL/6	9(18)	Fémur (placa y tornillos)	Buprenorfina 2 veces/día (2 días)	Movimiento sin restricción tras la anestesia	Monitoreo de peso diario durante 7 días antes y después de la cirugía; actividades normales como comer y beber al día siguiente	Monitoreo de peso diariamente durante 7 días antes y después de la operación, actividades normales como comer y beber al día siguiente de la cirugía.	Sin información	3
A. Chubey et al. (2013)	Ratones (doble transgénicos, Col1/Col2)	36(9)	Fémur (placa y tornillos)	Isoflurano	No se menciona más información	Actividad sin restricción tras la recuperación hasta el sacrificio	Sin información	Sin información	0
K. D. Johnson et al. (1996)	Perros mestizos adultos	23	Radio (fijación externa)	Pentobarbital sódico	Buprenorfina cada 12 h (1–2 días) y flunixina meglumina diaria (1–3 días)	Apoyo bilateral al caminar 8 h después de la cirugía; marcha normal en 24 h	Sin información	1 caso de cojera	2
K. Lamet et al. (2024)	Perros (esqueléticamente maduros, criados para investigación)	3	Ulna (placa y tornillos)	Sin información	Morfina y tramadol tras la 3ª cirugía; morfina (3 días)	Actividad sin restricción en jaulas individuales; tras 6 semanas caminaban con correa 15 min 5 veces/semana	Sin información	Sin información	0
D. Paterson et al. (1997)	Perro (mestizo)	89	Tibia (varilla intramedular y pines externos)	Sin información	Sin información	Actividad completa permitida por al menos 8 semanas	Sin información	Sin información	19
A. Oryan et al. (2016)	Rata	16	Radio (sin fijación)	Ketamina y xilazina	Sin información	Sin información	Jaulas plásticas a 24 °C, con acceso libre a agua y pellets de laboratorio	Sin información	0
M. D. Zhao et al. (2016)	Conejo (blanco de Nueva Zelanda adulto)	40	Radio (sin fijación)	Diazepam y ketamina	Buprenorfina	Sin información	Ciclo luz/oscuridad 12 h; monitoreo de temperatura corporal, respiración y alimentación; signos mínimos de estrés en la mayoría de los casos	1 caso de deformidad femoral (excluido)	1
J. Xing et al. (2014)	Ratón transgénico GFP+	36	Fémur (placa con alambres)	Pentobarbital sódico	Buprenorfina cada 12 h (1 día)	Actividad libre y sin restricción de carga, sin soporte externo	Comportamiento alimenticio sin alteraciones tras la cirugía	Marcha normal a los 10 días	2
M. Markel et al. (1999)	Perro (población mixta)	20	Tibia (fijación externa)	Pentobarbital sódico	Sin información	Permitido caminar libremente	Sin información	Sin información	0
D. A. Chakkalakal (1999)	Ratas Sprague-Dawley	Desconocido	Fíbula (sin fijación)	Sin información	Sin información	Deambulación normal dentro de los 2 días posteriores a la cirugía	Sin información	Sin información	Desconocido
M. Fujita et al. (1999)	Ratas Wistar	48	Tibia (varilla intramedular)	Sin información	Sin información	Actividad normal en pocos días postoperatorios	Sin información	Actividad normal	0
T. Balaguier et al. (2018)	Perro (Beagle)	8	Fémur (fractura rotacional)	Fentanilo parche 12 horas antes de la cirugia	meloxicam (5 días) y morfina si es necesario	A los 3 días se permitió movimiento libre con evaluación física diaria	Dolor evaluado cada 2 h durante las primeras 24 h, luego cada 6 h por los 5 días siguientes	Sin información	2
X. Chen et al. (2015)	Ajolote (Ambystoma mexicanum)	36(16)	Fíbula (sin fijación)	Sin información	Mesilato de tricaína (2 h)	Sin información	Sin información	Sin información	0

Autores: Rami Hamoudeh, Fatima Abdulla, Stefano Bini, Tarek Benzouak, Daniel Schlatterer, James Huddleston III, Edward M Schwarz, Hesham Abdelbary

Autor de Correspondencia
Dr. Hesham Abdelbary, MD, FRCSC
Department of Orthopedic Surgery
University of Ottawa
Email: habdelbary@ohri.ca

PREGUNTA 6. ¿Existen agentes específicos que hayan demostrado ser eficaces contra el biofilm en modelos preclínicos?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: Sí. Existe evidencia preclínica de que los antimicrobianos, los disruptores químicos, los disruptores físicos y basados en energía, los bacteriófagos, los disruptores enzimáticos y los anticuerpos son modalidades eficaces contra el biofilm.

NIVEL DE EVIDENCIA: Moderado

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 100%, En desacuerdo 0%, Abstención 0% (Consenso Total).

JUSTIFICACIÓN

La formación de biofilm es una estrategia defensiva intrínseca que las bacterias utilizan para sobrevivir a los estreses ambientales, como el sistema inmunitario del huésped y la terapia antibiótica. Existe una fuerte evidencia que respalda que la formación de biofilm plantea numerosos desafíos en el manejo de la infección articular periprotésica (IAP) y contribuye al fracaso general del tratamiento estándar actual. Las características fenotípicas y genotípicas del biofilm dependen de numerosos factores, incluido el tipo de organismo, el entorno del huésped y la superficie infectada. Por lo tanto, para mejorar los resultados del tratamiento de la IAP, se han desarrollado nuevas modalidades que se dirigen a diferentes componentes del biofilm. Para responder a esta pregunta, revisamos estudios preclínicos que probaron agentes o intervenciones terapéuticas contra el biofilm bacteriano en una multitud de superficies. Se excluyeron los estudios que probaron enfoques profilácticos utilizados para inhibir la formación de biofilm, como tratamientos que alteran la superficie y agentes dirigidos a bacterias planctónicas. Los agentes terapéuticos dirigidos al biofilm se agruparon en seis categorías principales: 1) antimicrobianos, 2) disruptores químicos, 3) disruptores físicos y basados en energía, 4) bacteriófagos, 5) disruptores enzimáticos y 6) anticuerpos.

Métodos

Se realizó una búsqueda bibliográfica exhaustiva en cuatro bases de datos (es decir, Medline, Embase, Web of Science y SINAHL) diseñada para identificar estudios centrados en agentes dirigidos contra biofilms *in vitro* o *in vivo*, la cual identificó 1125 artículos únicos. A partir de este proceso de selección, se eligieron 197 estudios para revisión del texto completo. Finalmente, 96 estudios cumplieron con los criterios de inclusión para la revisión sistemática y se organizaron en seis clases generales de agentes eficaces contra el biofilm en modelos preclínicos.

Resultados

1. Antimicrobianos

Los antimicrobianos son agentes que matan directamente bacterias u otros microorganismos. Los antibióticos son el agente antimicrobiano más común, seguidos por los péptidos, nanopartículas e inmunomoduladores. Se identificaron 33 artículos relevantes que probaron agentes antimicrobianos en modelos preclínicos, la mayoría centrados en *S. aureus* y especies coagulasa negativas. Muchos estudios evaluaron la concentración mínima de erradicación de biofilm (MBEC), que es la concentración más baja necesaria para erradicar completamente un biofilm, y la integridad del mismo. La MBEC suele ser significativamente mayor que la concentración inhibitoria mínima (MIC), aplicable a bacterias planctónicas, y generalmente excede las concentraciones alcanzables clínicamente a menos que se administre localmente con un vehículo, como fosfato cálcico. Agentes comunes como Vancomicina y Tobramicina penetran el biofilm a altas dosis (100–750 µg/mL), pero pueden no ser eficaces contra bacterias embebidas [2,3]. Otros fármacos, como Moxifloxacino, mostraron mayor eficacia contra *Biofilms* que la Vancomicina [4,5]. La Rifampicina fue ampliamente estudiada y resultó más eficaz contra infecciones basadas en biofilm cuando se usó en combinación con otros fármacos (linezolid, moxifloxacino, doxiciclina), pero puede inhibir la Gentamicina [4–8].

Algunos antimicrobianos mostraron una eficacia mejorada contra el biofilm. Se demostró que la Rifabutina era superior en la reducción del biofilm a concentraciones más bajas, en comparación con la rifampicina y la rifapentina. El Cefiderocol es un antibiótico conjugado con sideróforo que demostró la capacidad de penetrar biofilms bacterianos

utilizando los sistemas de transporte de hierro de las bacterias [6]. Otros antibióticos resultaron ser más efectivos contra el biofilm cuando se usaron en combinación, particularmente cuando incluían Tedizolid [9–14]. Varios extractos de origen vegetal fueron significativamente más eficaces que la Clorhexidina para eliminar el biofilm de superficies de silicona, con una toxicidad mínima en tejidos blandos [15].

Varios péptidos novedosos diseñados para penetrar y desestabilizar la matriz del biofilm y alterar las membranas bacterianas (por ejemplo: WLBU2, PLG0206, Camel Peptide y otros) muestran una excelente erradicación de biofilms y de viabilidad bacteriana *in vitro*, y son agentes sumamente prometedores [16–19]. Por ejemplo, el ácido 8-hidroxiserrulat-14-en-19-oico (EN4) es un péptido con una rápida acción reductora del biofilm, logrando reducciones superiores a 3 log de UFC en *Biofilms* y *S. epidermidis* en cinco minutos [18]. Las nanopartículas con fuerte actividad antimicrobiana, como el zinc activado, también muestran gran potencial al disrumpir las membranas celulares [19]. Cabe señalar que, al igual que los antibióticos, los agentes novedosos que han mostrado eficacia frente al biofilm de una cepa bacteriana pueden no ser igualmente efectivos frente a otra, por lo que podría requerirse realizar más pruebas.

La eficacia de los antimicrobianos a menudo depende de su capacidad para penetrar los biofilms, lo que pone de manifiesto la necesidad de enfoques que mejoren la disrupción del biofilm. Por ejemplo, los antibióticos tradicionales han mostrado una mayor efectividad cuando se utilizan en combinación con disruptores enzimáticos como Exebacase o con métodos de disrupción física, como la administración de fármacos asistida por ultrasonido [20,21].

2. Disruptores químicos

Los disruptores químicos son agentes que interfieren con la integridad estructural, la señalización o la función de un biofilm sin necesariamente matar a los microorganismos. De los 21 artículos incluidos, la mayoría involucró modelos de biofilm *in vitro* en microplacas y biofilms sobre superficies clínicamente relevantes como metal, plástico y cerámica. Dos estudios incorporaron modelos *in vivo* utilizando agujas K de titanio o implantes de hilo de poliéster [22,23]. Los biofilms *in vitro* más comunes incluyeron *Biofilms, S. epidermidis y P. aeruginosa.*

La mayoría de los disruptores químicos demostraron reducciones significativas en la biomasa del biofilm y en las UFC bacterianas, alcanzando reducciones de 2 a 4 log, aunque la erradicación completa fue poco frecuente. Las soluciones de zinc activado, el vidrio bioactivo, la polihexanida (PHMB) y las nanopartículas de quitosano funcionalizadas con cloroquina y DNasa I se encontraron entre las más efectivas para lograr reducciones de MBEC. Las soluciones de irrigación como XPerience y PHMB mostraron una actividad antibiofilm superior en comparación con antisépticos estándar como la povidona yodada y la clorhexidina, lo que pone de relieve una tendencia hacia soluciones de irrigación especializadas dirigidas al biofilm [24,25].

Varios agentes químicos fueron probados de forma aislada contra el biofilm. Los agentes basados en metales, en particular el zinc activado y el vidrio bioactivo, superaron de forma constante a los antisépticos convencionales, demostrando una reducción significativa del biofilm en múltiples especies bacterianas. El zinc activado erradicó el 100% del biofilm de MRSA y redujo el biofilm de *P. aeruginosa* en un 99,996%, mientras que el vidrio bioactivo (BAG-S53P4) logró hasta un 50% de reducción de biomasa en *S. epidermidis* resistente a meticilina [26,27].

Los disruptores químicos de origen vegetal, como la quercetina y la alicina, mostraron resultados prometedores, reduciendo el biofilm de *P. aeruginosa* hasta en un 85%, aunque la variabilidad en su eficacia sugiere la necesidad de más investigación [28]. Los sobrenadantes libres de células de cepas de *Enterobacter* demostraron efectos antibiofilm, inhibiendo la formación de biofilm en más del 65% y disrumpiendo biofilms maduros en más del 85% [29].

El ácido acético, a concentraciones clínicamente aceptables (5%), mostró una reducción del 96,1% en biofilms de MSSA en 20 minutos, pero superó los límites de seguridad a concentraciones superiores al 10% [30]. Las nanopartículas de plata conjugadas con aptámeros de ADN lograron una reducción del 63% en la biomasa del biofilm, mejorando la penetración en la matriz de este [31].

Coraca-Huber et al. (2021) recurrieron a los ácidos grasos omega-3 y demostraron que el ácido eicosatetraenoico (EPA) presentaba una fuerte actividad antibiofilm dependiente de la dosis frente a *S. aureus* y *S. epidermidis* [32]. Por otro lado, el ácido docosahexaenoico (DHA) fue menos consistente, lo que sugiere que concentraciones más altas de EPA (≥5 mg/L) pueden tener potencial clínico para el manejo de infecciones. La N-clorotaurina (NCT) mostró una erradicación del biofilm dependiente del tiempo y de la concentración frente a *S. aureus, S. epidermidis* y *P. aeruginosa,* con una reducción de 1 log de bacterias viables en 15 minutos [33].

Las terapias sinérgicas que combinan agentes químicos disruptores del biofilm con antibióticos demostraron una eficacia mejorada, particularmente con combinaciones basadas en rifampicina para biofilms de *P. acnes*, y sinergias antibiótico–antiinflamatorio como gentamicina con ketorolaco [34,35]. Las nanopartículas basadas en quitosano funcionalizadas con DNasa I y cloroquina ofrecieron un enfoque de doble acción al disrumpir el ADN extracelular mientras ejercían actividad antimicrobiana [22]. La combinación de isobavachalcona con gentamicina y curcumina mejoró la erradicación del biofilm y redujo la osteólisis inflamatoria en biofilms de MRSA y MSSA [23]. El ácido cis-2-decenoico, un inhibidor del quorum sensing, potenció la eficacia de tetraciclina, linezolid y clorhexidina, lo que sugiere un papel relevante de la interrupción del *quorum sensing* en la mejora de los resultados del tratamiento del biofilm [36]. Turner et al. (2022) demostraron que, aunque el salicilato sódico redujo la MBEC de la rifampicina a la mitad (de 1024 a 512 μg/mL), tuvo poco o ningún

efecto sobre otros antibióticos, lo que limita su utilidad como terapia adyuvante [37].

Sin embargo, varios estudios informaron resultados inconsistentes, particularmente con la N-acetilcisteína, cuya eficacia para debilitar las estructuras del biofilm varió según la cepa y las condiciones ambientales [38,39]. La berberina, un alcaloide bioactivo de origen vegetal, mostró resultados mixtos frente a biofilms de *Biofilms,* lo que indica sus limitaciones como tratamiento independiente, pero sugiere un posible papel como coadyuvante de la terapia antibiótica debido a su capacidad para reducir la MIC frente a MRSA [40–42].

Aunque prometedoras, las terapias combinadas también introducen complejidad en las estrategias de dosificación y posibles efectos citotóxicos, lo que requiere estudios adicionales para optimizar su seguridad y eficacia.

Además, la susceptibilidad del biofilm varió significativamente según la cepa bacteriana y el grado de madurez del biofilm, lo que enfatiza la necesidad de protocolos de prueba *in vivo* más estandarizados antes de iniciar aplicaciones clínicas. En conjunto, los disruptores químicos ofrecen soluciones prometedoras para el manejo del biofilm, pero su aplicabilidad clínica sigue siendo limitada, no solo por la variabilidad en su eficacia, sino también por la falta de metodologías de prueba estandarizadas y validación en modelos *in vivo* más robustos.

3. Disrupción física y agentes energéticos

Los disruptores físicos son tratamientos que buscan alterar o interrumpir físicamente los biofilms. Son más eficaces cuando se utilizan junto con agentes antimicrobianos. Un total de 23 estudios cumplieron este criterio. Los tratamientos fotodinámicos se estudiaron ampliamente. En un estudio, los láseres combinados con azul de metileno mostraron resultados prometedores contra *S. aureus* (Briggs, 2018), mientras que dos estudios evaluaron RLP068/Cl, un agente fotosensibilizante, y descubrieron que reducía significativamente la biomasa y el recuento de células del biofilm en *S. aureus* y *P. aeruginosa* [43,44]. En otro estudio, una dosis única o fraccionada de terapia fotodinámica rojo-azul acoplada a 5-ALA generó especies reactivas de oxígeno (ROS) que alteraron entre el 95 % y el 99 % del biofilm en cultivos de SARM [45]. Una sustancia en gel fototérmica que contenía aminoácidos logró una erradicación del 100 % del biofilm [46]. Hubo varios enfoques mecánicos con buenos resultados. Un estudio evaluó el lavado pulsado. Si bien el lavado pulsátil por sí solo redujo transitoriamente la biomasa, el recrecimiento se produjo en 24 horas. Sin embargo, al administrar antibióticos posteriormente, el recrecimiento no se produjo, lo que subraya la importancia de combinar el tratamiento mecánico del biofilm con la terapia antimicrobiana [47]. Además, un chorro de plasma no térmico a presión atmosférica resultó en una reducción del 99,99 % de las UFC del biofilm, con la erradicación completa de *P. aeruginosa* [48,49]. También se demostró que elevar la temperatura del sustrato reduce el biofilm y la biomasa [50].

Se ha demostrado que otros disruptores físicos son eficaces para romper el biofilm y, por lo tanto, aumentar la eficacia antimicrobiana. Un hidrogel inyectable, "EMgel", activado por ultrasonido, también resultó eficaz para romper la biofilm [51]. Los campos magnéticos, las ondas de choque extracorpóreas (tanto de baja como de alta energía), el ultrasonido, la estimulación eléctrica, las nanogotas acústicas y el calentamiento por inducción sin contacto también resultaron eficaces para romper el biofilm, especialmente al combinarse con otros agentes, como las beta-defensinas, SAAP-148 y los antimicrobianos [21,50,52–63].

4. Bacteriófagos (fagos)

Los fagos son una clase de virus capaces de infectar y destruir específicamente bacterias sin infectar células de mamíferos. Operan mediante mecanismos distintos a los de los antibióticos, mostrando una estricta especificidad de hospedador y la capacidad de disrumpir biofilms [64]. Identificamos seis estudios que investigaron principalmente fagos: cuatro fueron modelos *in vitro*, uno *in vivo* y otro utilizó ambos modelos.

Durante la última década, ha habido un creciente interés en explorar la terapia con fagos, especialmente ante el aumento de la resistencia a los antibióticos, en particular en patógenos como *S. aureus* [64]. La terapia con fagos fue altamente eficaz en todos los estudios, dirigida principalmente a infecciones por *Biofilms, P. aeruginosa* y *E. coli*, especialmente cuando se combinó con antibióticos. Los antibióticos más comúnmente probados en combinación con fagos fueron vancomicina, rifampicina, ciprofloxacino y gentamicina.

Dos artículos investigaron la actividad de fagos individuales: uno utilizó polvo de apatita biomimético dirigido a biofilms de *Biofilms* (Totten et al., 2024), y el otro exploró la terapia con un solo fago en aislamientos procedentes de casos de IAP [65]. Ambos informaron hasta un 100% de erradicación del biofilm, lo que indica que la terapia con fagos puede ser una opción terapéutica viable para las infecciones IAP asociadas a biofilm [65,66].

Cuatro artículos investigaron la sinergia entre fagos para mejorar los resultados. En conjunto, estos estudios sugieren que la terapia combinada con fagos es superior a la monoterapia. También indican que la lisina derivada de fagos, combinada con vancomicina, es moderadamente eficaz contra el biofilm, y que los fagos combinados con múltiples antibióticos fueron más efectivos que los regímenes con un solo antibiótico. Aunque prometedora, cabe señalar que la eficacia global del tratamiento con fagos contra el biofilm no alcanza la observada con otras clases de agentes revisadas [60,67–69].

5. Disruptores enzimáticos

Los disruptores enzimáticos son una clase novedosa de agentes que se dirigen a descomponer la matriz del biofilm. En esta búsqueda se identificaron cinco artículos que coincidían con esta definición.

Las enzimas de esta categoría pueden ser de origen vegetal, como la Bromelina, que se deriva del tallo de la piña, o de origen fágico (enzybiotics). El polvo de bromelina combinado con frotado mecánico puede lograr una disolución del biofilm del 91% [70]. Estudios previos han

encontrado que la bromelina es útil en el trauma quirúrgico, la tromboflebitis, el desbridamiento de heridas y para mejorar la absorción de fármacos como los antibióticos.

Tabla 1. Clasificación y ejemplos de agentes activos contra el biofilm.

Categoría	Mecanismo clave de acción	Tipos de agentes	Ejemplos
Antimicrobianos	Muerte directa de bacterias o microorganismos	Antibióticos, péptidos, nanopartículas, antimicrobianos, inmunomoduladores	gentamicina, ácido cítrico, plata, SLS
Disruptores químicos	Interferencia química con el biofilm	Inhibidores de quorum sensing, quelantes, agentes químicos, disruptores del biofilm, antisépticos y desinfectantes	clorhexidina, povidona yodada, peróxido de hidrógeno, PHMB, lejía (a altas concentraciones), compuestos de amonio cuaternario
Bacteriófagos	Lisis viral de bacterias	Terapia con fagos	CF-301
Disruptores enzimáticos	Degradación de la matriz del biofilm	DNasa, Dispersin B	N-acetilcisteína, ácido cis-2-decenoico, nanopartículas de quitosano
Disrupción física y basada en energía	Disrupción mecánica o basada en energía del biofilm	Ultrasonido, ondas de choque, terapia fotodinámica, ROS	Arreglos de nanovarillas de óxido de titanio, nanogotas de fase cambiante, microesferas de hidrogel acústicamente sensibles
Anticuerpos	Neutralización dirigida de proteínas o componentes bacterianos asociados al biofilm	Anticuerpos monoclonales, anticuerpos diseñados, inmunoterapias	TRL1068, Aurograb, Anti-Psl

Cuatro artículos analizaron varios enzybiotics, encontrando en algunos casos una importante relación dosis-respuesta y, en otros, una sinergia relevante con antibióticos [20,71–74]. Exebacase (CF-301) es de particular interés en la literatura debido a su capacidad para lisar eficazmente los biofilms de *S. aureus* mediante la degradación del peptidoglucano de la pared celular bacteriana [20]. La DNasa es otra enzima que se dirige a componentes específicos de la matriz del biofilm, facilitando su descomposición y aumentando la susceptibilidad a los antimicrobianos [22].

6. Anticuerpos

La inmunización pasiva con anticuerpos se ha utilizado clínicamente para tratar diversas enfermedades infecciosas, incluida la COVID-19 [75]. Este enfoque también se ha investigado como tratamiento para erradicar biofilms establecidos [76]. Un ejemplo notable es la eficacia preclínica de un anticuerpo monoclonal humano nativo, TRL1068, contra la familia DNABII: el factor de integración del hospedador (IHF) y las proteínas tipo histona (HU), que fue evaluado recientemente en un ensayo clínico de fase 1 [77,78].

Los anticuerpos conjugados con compuestos fotoactivables y fármacos también han demostrado eficacia preclínica contra el biofilm [79,80].

En conclusión, las infecciones periprotésicas (IAP) representan un desafío clínico significativo, principalmente debido a la resiliencia de los biofilms y a la eficacia limitada de los antibióticos en estas infecciones complejas (Staats, Li, Sullivan y Stoodley, 2021). Aunque varios agentes han mostrado eficacia preclínica contra los biofilms, se requiere una estrategia terapéutica multimodal antibiofilm para potenciar la eficacia. Nuestra revisión muestra que, de las seis categorías principales de agentes antibiofilm, el grupo de los antimicrobianos fue el más estudiado a nivel preclínico. Los antibióticos tradicionales tienen una baja eficacia contra el biofilm cuando se utilizan solos; sin embargo, su capacidad para eliminar el biofilm mejora cuando se combinan con otros agentes antibiofilm, como péptidos, nanopartículas, enzimas, fagos o disruptores basados en energía. Debido a la heterogeneidad en los mecanismos de acción de los distintos agentes antibiofilm estudiados, así como en los patógenos tratados, no es posible determinar qué grupo de agentes es el más eficaz para ser trasladado a estudios clínicos. Para abordar esta brecha de conocimiento, es necesaria una mayor investigación que identifique cómo cada uno de estos grupos de agentes puede adaptarse para maximizar su eficacia terapéutica en el entorno clínico.

REFERENCIAS

1. Thieme L, Hartung A, Tramm K, et al. MBEC Versus MBIC: the Lack of Differentiation between Biofilm Reducing and Inhibitory Effects as a Current Problem in Biofilm Methodology. Biol Proced Online. 2019;21:18.
2. Badha V, Moore R, Heffernan J, Castaneda P, McLaren A, Overstreet D. Determination of Tobramycin and Vancomycin Exposure Required to Eradicate Biofilms on Muscle and Bone Tissue *In vitro*. J Bone Jt Infect. 2019;4(1):1-9.
3. Darouiche RO, Dhir A, Miller AJ, Landon GC, Raad II, Musher DM. Vancomycin penetration into biofilm covering infected prostheses and effect on bacteria. J Infect Dis. 1994;170(3):720-723. 720
4. Perez-Alba E, Flores-Treviño S, Villarreal-Salazar V, Bocanegra-Ibarias P, Vilchez-Cavazos F, Camacho-Ortiz A. Planktonic and biofilm states of *Staphylococcus aureus* isolated from bone and joint infections and the *in vitro* effect of orally available antibiotics. J Appl Microbiol. 2023;134(12):lxad258.
5. Frank KL, Reichert EJ, Piper KE, Patel R. *In vitro* Effects of Antimicrobial Agents on Planktonic and Biofilm Forms of *Staphylococcus* lugdunensis Clinical Isolates. Antimicrob Agents Chemother. 2007;51(3):888-895.
6. Abad L, Josse J, Tasse J, et al. Antibiofilm and intraosteoblastic activities of rifamycins against *Staphylococcus aureus*: promising *in vitro* profile of rifabutin. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2020;75(6):1466-1473.
7. Thompson J, Saini V, Ashbaugh A, et al. Evaluation of single and combinatorial antimicrobial treatments for prosthetic joint infections using. Molecular Imaging and Biology. 2016;18:S51.
8. Yan Q, Karau MJ, Raval YS, Patel R. Evaluation of Oritavancin Combinations with Rifampin, Gentamicin, or Linezolid against Prosthetic Joint Infection-

Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Biofilms by Time-Kill Assays. Antimicrob Agents Chemother. 2018;62(10):e00943-18.
9. Tomizawa T, Nishitani K, Ito H, et al. The limitations of mono- and combination antibiotic therapies on immature biofilms in a murine model of implant-associated osteomyelitis. Journal of Orthopaedic Research. 2021;39(2):449-457.
10. Castaneda P, McLaren A, Tavaziva G, Overstreet D. Biofilm Antimicrobial Susceptibility Increases With Antimicrobial Exposure Time. Clin Orthop Relat Res. 2016;474(7):1659-1664.
11. Dall GF, Tsang STJ, Gwynne PJ, et al. Unexpected synergistic and antagonistic antibiotic activity against *Staphylococcus* biofilms. J Antimicrob Chemother. 2018;73(7):1830-1840.
12. El Haj C, Murillo O, Ribera A, et al. Evaluation of linezolid or trimethoprim/sulfamethoxazole in combination with rifampicin as alternative oral treatments based on an *in vitro* pharmacodynamic model of staphylococcal biofilm. Int J Antimicrob Agents. 2018;51(6):854-861.
13. Ferretti C, Poma NV, Bernardo M, et al. Evaluation of antibiofilm activity of cefiderocol alone and in combination with imipenem against *Pseudomonas aeruginosa*. J Glob Antimicrob Resist. 2024;37:53-61
14. Holmberg A, Mörgelin M, Rasmussen M. Effectiveness of ciprofloxacin or linezolid in combination with rifampicin against *Enterococcus faecalis* in biofilms. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2012;67(2):433-439.
15. Guiotti AM, Cunha BG, Paulini MB, et al. Antimicrobial activity of conventional and plant-extract disinfectant solutions on microbial biofilms on a maxillofacial polymer surface. J Prosthet Dent. 2016;116(1):136-143.
16. Huang DB, Brothers KM, Mandell JB, et al. Engineered peptide PLG0206 overcomes limitations of achallenging antimicrobial drug class. PLOS ONE. 2022;17(9):e0274815.
17. Mandell JB, Koch J, Deslouches B, Urish KL. Direct antimicrobial activity of cationic amphipathic peptide WLBU2 against *Staphylococcus aureus* biofilms is enhanced in physiologic buffered saline. J Orthop Res. 2020;38(12):2657-2663. doi:10.1002/jor.24765
18. Nowakowska J, Griesser HJ, Textor M, Landmann R, Khanna N. Antimicrobial properties of 8- hydroxyserrulat-14-en-19-oic acid for treatment of implant-associated infections. Antimicrob Agents Chemother. 2013;57(1):333-342.
19. Pennone V, Angelini E, Sarlah D, Lovati AB. Antimicrobial Properties and Cytotoxicity of LL-37- Derived Synthetic Peptides to Treat Orthopedic Infections. Antibiotics. 2024;13(8):764. doi:10.3390/antibiotics13080764
20. Souche A, Kolenda C, Teoli J, et al. Activity of Exebacase (CF-301) against Biofilms Formed by *Staphylococcus epidermidis* Strains Isolated from Prosthetic Joint Infections. Antimicrob Agents Chemother. 2022;66(8):e0058822.
21. Guo H, Wang Z, Du Q, Li P, Wang Z, Wang A. Stimulated phase-shift acoustic nanodroplets enhance vancomycin efficacy against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilms. Int J Nanomedicine. 2017;12:4679-4690.
22. Xia W, Li J, Cai Q, et al. Exploring the antibiofilm potential of chitosan nanoparticles by functional modification with chloroquine and deoxyribonuclease. Carbohydrate Polymers. 2025;347:122726.
23. Chen Y, Hu H, Huang F, et al. Cocktail of isobavachalcone and curcumin enhance eradication of *Staphylococcus aureus* biofilm from orthopedic implants by gentamicin and alleviate inflammatory osteolysis. Front Microbiol. 2022;13:958132.
24. Bashyal RK, Mathew M, Bowen E, James GA, Stulberg SD. A Novel Irrigant to Eliminate Planktonic
Bacteria and Eradicate Biofilm Superstructure With Persistent Effect During Total Hip Arthroplasty. J
Arthroplasty. 2022;37(7S):S647-S652.
25. Dudek B, Brożyna M, Karoluk M, et al. *In vitro* and *In vivo* Translational Insights into the Intraoperative Use of Antiseptics and Lavage Solutions Against Microorganisms Causing Orthopedic Infections. Int J Mol Sci. 2024;25(23):12720.
26. Hill DL, Castiaux A, Pensler E, Knue J, Attar PS, Siddiqi A. A Novel Activated Zinc Solution with Improved Efficacy Against *Pseudomonas* and MRSA Biofilm Compared to Chlorhexidine and Povidone- Iodine. Surg Technol Int. 2022;41:17-23.
27. Bortolin M, De Vecchi E, Romanò CL, Toscano M, Mattina R, Drago L. Antibiofilm agents against MDR bacterial strains: is bioactive glass BAG-S53P4 also effective? Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2016;71(1):123-127.
28. Zhang H, Li S, Cheng Y. Antibiofilm Activity of Allicin and Quercetin in Treating Biofilm-Associated Orthopaedics Infection. Appl Biochem Biotechnol. Published online February 10, 2022.
29. Nunes S de O, Rosa H da S, Canellas ALB, et al. High reduction of staphylococcal biofilm by aqueous extract from marine sponge-isolated Enterobacter *sp.* Res Microbiol. 2021;172(1):103787.
30. Tsang STJ, Gwynne PJ, Gallagher MP, Simpson AHRW. The biofilm eradication activity of acetic acid in the management of periprosthetic joint infection. Bone Joint Res. 2018;7(8):517-523.
31. Hosseini B, Behbahani M, Dini G, MohabaTKAr H, Keyhanfar M. Investigating the anti-streptococcal biofilm effect of ssDNA aptamer-silver nanoparticles complex on a titanium-based substrate. RSC Adv. 2022;12(38):24876-24886.
32. Coraça-Huber DC, Steixner S, Wurm A, Nogler M. Antibacterial and Anti-Biofilm Activity of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids against Periprosthetic Joint Infections-Isolated Multi-Drug Resistant Strains. Biomedicines. 2021;9(4):334.
33. Coraça-Huber DC, Ammann CG, Fille M, Hausdorfer J, Nogler M, Nagl M. Bactericidal activity of N-chlorotaurine against biofilm-forming bacteria grown on metal disks. Antimicrob Agents Chemother. 2014;58(4):2235-2239.
34. Sekar A, Gil D, Tierney PA, et al. Synergistic use of anti-inflammatory ketorolac and gentamicin to target staphylococcal biofilms. Res Sq. Published online October 26, 2023:rs.3.rs-3471646.
35. Furustrand Tafin U, Corvec S, Betrisey B, Zimmerli W, Trampuz A. Role of rifampin against Propionibacterium acnes biofilm *in vitro* and in an experimental foreign-body infection model. Antimicrob Agents Chemother. 2012;56(4):1885-1891.
36. Masters E, Harris M, Jennings J. Cis-2-Decenoic Acid Interacts with Bacterial Cell Membranes to Potentiate Additive and Synergistic Responses against Biofilm. Accessed February 3, 2025. https://austinpublishinggroup.com/bacteriology/fulltext/bacteriology-v3-id1031.php
37. Turner AB, Gerner E, Firdaus R, et al. Role of sodium salicylate in *Staphylococcus aureus* quorum sensing, virulence, biofilm formation and antimicrobial susceptibility. Front Microbiol. 2022;13:931839.
38. Molina-Manso D, Del-Prado G, Gómez-Barrena E, Cordero-Ampuero J, Fernandez-Roblas R, Esteban J. Effect of different agents with potential antibiofilm activity on antimicrobial susceptibility of biofilms formed by *Staphylococcus spp.* isolated from implant-related infections. J Antibiot. 2016;69(9):686-688.
39. SukhonTHAmarn K, Cho J, Chisari E, Goswami K, Arnold WV, Parvizi J. N-acetylcysteine use as an adjuvant to bone cement to fight periprosthetic joint infections: A preliminary *in vitro* efficacy and biocompatibility study. J Orthop Res. 2021;39(2):356-364.
40. Tan J, Wang J, Yang C, et al. Antimicrobial characteristics of Berberine against prosthetic joint infection-related *Staphylococcus aureus* of different multi-locus sequence types. BMC Complement Altern Med. 2019;19(1):218.
41. Zuo GY, Li Y, Han J, Wang GC, Zhang YL, Bian ZQ. Antibacterial and Synergy of Berberines with Antibacterial Agents against Clinical Multi-Drug Resistant Isolates of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Molecules. 2012;17(9):10322-10330.
42. Yu HH, Kim KJ, Cha JD, et al. Antimicrobial activity of berberine alone and in combination with ampicillin or oxacillin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Med Food. 2005;8(4):454-461.
43. Vassena C, Fenu S, Giuliani F, et al. Photodynamic antibacterial and antibiofilm activity of RLP068/Cl against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* forming biofilms on prosthetic material. Int J Antimicrob Agents. 2014;44(1):47-55.
44. Valour F, Trouillet-Assant S, Riffard N, et al. Antimicrobial activity against intraosteoblastic *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59(4):2029-2036. doi:10.1128/AAC.04359-14
45. Demidov V, Sottosanti SJ, Demidova N, Bateman LM. Portable red-blue light source for antimicrobial photodynamic therapy of orthopaedic implant biofilms Request PDF. In: Vol 12822. Proceedings; 2024.
46. Wickramasinghe S, Ju M, Milbrandt NB, et al. Photoactivated Gold Nanorod Hydrogel Composite Containing d-Amino Acids for the Complete Eradication of Bacterial Biofilms on Metal Alloy Implant Materials. ACS Appl Nano Mater. 2020;3(6):5862-5873
47. Poilvache H, Ruiz-Sorribas A, Sakoulas G, Rodriguez-Villalobos H, Cornu O, Van Bambeke F.Synergistic Effects of Pulsed Lavage and Antimicrobial Therapy Against *Staphylococcus aureus* Biofilms in an in-vitro Model. Front Med (Lausanne). 2020;7:527.
48. Duske K, Wegner K, Donnert M, et al. Comparative *In vitro* Study of Different Atmospheric Pressure Plasma Jets Concerning their Antimicrobial Potential and Cellular Reaction. Plasma Processes and Polymers. 2015;12(10):1050-1060.
49. Alkawareek MY, Algwari QTh, Laverty G, et al. Eradication of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms by Atmospheric Pressure Non-Thermal Plasma. PLoS One. 2012;7(8):e44289.
50. Stewart EJ, Payne DE, Ma TM, et al. Effect of Antimicrobial and Physical Treatments on Growth of Multispecies Staphylococcal Biofilms. Appl Environ Microbiol. 2017;83(12):e03483-16.
51. Guo J, Shu X, Yu S, et al. Injectable hydrogel microsphere-bomb for MRSA-infected chronic osteomyelitis. Journal of Controlled Release. 2024;376:337-353.
52. Ehrensberger MT, Tobias ME, Nodzo SR, et al. Cathodic voltage-controlled electrical stimulation of titanium implants as treatment for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* periprosthetic infections. Biomaterials. 2015;41:97-105.
53. Fang CH, Tsai PI, Huang SW, et al. Magnetic hyperthermia enhance the treatment efficacy of peri- implant osteomyelitis. BMC Infect Dis. 2017;17(1):516.
54. Juncker RB, Lazazzera BA, Billi F. Pulsed Electromagnetic Fields Disrupt *Staphylococcus epidermidis* Biofilms and Enhance the Antibiofilm Efficacy of Antibiotics. Microbiol Spectr. 2022;10(6):e0194922. doi:10.1128/spectrum.01949-22
55. Milstrey A, Rosslenbroich S, Everding J, et al. Antibiofilm efficacy of focused high-energy extracorporeal shockwaves and antibiotics *in vitro*. Bone Joint Res. 2021;10(1):77-84.
56. Munaweera I, Shaikh S, Maples D, et al. Temperature-Sensitive Liposomal Ciprofloxacin for the Treatment of Biofilm on Infected Metal Implants using Alternating Magnetic Fields. Int J Hyperthermia. 2018;34(2):189-200.
57. Nodzo SR, Tobias M, Ahn R, et al. Cathodic Voltage-controlled Electrical Stimulation Plus Prolonged Vancomycin Reduce Bacterial Burden of a Titanium Implant-associated Infection in a Rodent Model. Clin Orthop Relat Res. 2016;474(7):1668-1675. doi:10.1007/s11999-016-4705-7
58. Schmidt-Malan SM, Brinkman CL, Karau MJ, et al. Effect of Direct Electrical Current on Bones
Infected with *Staphylococcus epidermidis*. JBMR Plus. 2019;3(5):e10119.
59. Verheul M, Drijfhout JW, Pijls BG, Nibbering PH. Non-contact induction heating and SAAP-148
eliminate persisters within MRSA biofilms mimicking a metal implant infection. Eur Cell Mater. 2021;43:34-42.

60. Wang T, Yang C, Li G, et al. Enhanced antibiofilm potential of low-intensity pulsed ultrasound combined with 0.35% povidone-iodine in a rat model of periprosthetic joint infection. Bone Joint Res. 2024;13(7):332-341. doi:10.1302/2046-3758.137.BJR-2023-0339.R1
61. Wanner S, Gstöttner M, Meirer R, Hausdorfer J, Fille M, Stöckl B. Low-energy shock waves enhance the susceptibility of staphylococcal biofilms to antimicrobial agents *in vitro*. J Bone Joint Surg Br. 2011;93(6):824-827.
62. Weeks K, Clark C, McDermott E, et al. *In vitro* and *in vivo* assessment of extended duration cathodic voltage-controlled electrical stimulation for treatment of orthopedic implant-associated infections. J Orthop Res. 2023;41(12):2756-2764.
63. Zhu C, He N, Cheng T, et al. Ultrasound-targeted microbubble destruction enhances human β-defensin 3 activity against antibiotic-resistant *Staphylococcus* biofilms. Inflammation. 2013;36(5):983-996.
64. Peng J, Guo C, Yang C, et al. Phage therapy for bone and joint infections: A comprehensive exploration of challenges, dynamics, and therapeutic prospects. J Glob Antimicrob Resist. 2024;39:12-21.
65. Totten KMC, Patel R. Phage Activity against Planktonic and Biofilm *Staphylococcus aureus* Periprosthetic Joint Infection Isolates. Antimicrob Agents Chemother. 2022;66(1):e0187921.
66. Decodts M, Cantallops-Vilà C, Hornez JC, Lacroix JM, Bouchart F. Phage-Loaded Biomimetic Apatite Powder With Antibiofilm Activity to Treat Bone-Associated Infections. J Biomed Mater Res A. 2025;113(1):e37808.
67. Joo H, Wu SM, Soni I, et al. Phage and Antibiotic Combinations Reduce *Staphylococcus aureus* in Static and Dynamic Biofilms Grown on an Implant Material. Viruses. 2023;15(2):460
68. Sosa BR, Niu Y, Turajane K, et al. 2020 John Charnley Award: The antimicrobial potential of bacteriophage-derived lysin in a murine debridement, antibiotics, and implant retention model of prosthetic joint infection. Bone Joint J. 2020;102-B(7_Supple_B):3-10.
69. Chen B, Chittò M, Tao S, et al. Isolation and Antibiofilm Activity of Bacteriophages against *Cutibacterium acnes* from Patients with Periprosthetic Joint Infection. Viruses. 2024;16(10):1592.
70. Bratton MB, Murphy JP, Rivera JC. Bromelain as a Source of Debridement for Infected Orthopedic Implants. In: ; 2024.
71. Pavan R, Jain S, Shraddha, Kumar A. Properties and Therapeutic Application of Bromelain: A Review. Biotechnol Res Int. 2012;2012:976203.
72. Karau MJ, Mandrekar J, Lehoux D, Schuch R, Cassino C, Patel R. *In vitro* activity of exebacase against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilms on orthopedic Kirschner wires. BMC Res Notes. 2023;16(1):209.
73. Poilvache H, Ruiz-Sorribas A, Cornu O, Van Bambeke F. *In vitro* Study of the Synergistic Effect of an Enzyme Cocktail and Antibiotics against Biofilms in a Prosthetic Joint Infection Model. Antimicrob Agents Chemother. 2021;65(4):e01699-20.
74. Sumrall ET, Hofstee MI, Arens D, et al. An Enzybiotic Regimen for the Treatment of Methicillin- Resistant *Staphylococcus aureus* Orthopaedic Device-Related Infection. Antibiotics (Basel). 2021;10(10):1186. doi:10.3390/antibiotics10101186
75. Pavia CS, Wormser GP. Passive immunization and its rebirth in the era of the COVID-19 pandemic. Int J Antimicrob Agents. 2021;57(3):106275.
76. Goodman SD, Obergfell KP, Jurcisek JA, et al. Biofilms can be dispersed by focusing the immune system on a common family of bacterial nucleoid-associated proteins. Mucosal Immunol. 2011;4(6):625-637
77. Estellés A, Woischnig AK, Liu K, et al. A High-Affinity Native Human Antibody Disrupts Biofilm from *Staphylococcus aureus* Bacteria and Potentiates Antibiotic Efficacy in a Mouse Implant Infection Model. Antimicrob Agents Chemother. 2016;60(4):2292-2301.
78. Conway J, Delanois RE, Mont MA, et al. Phase 1 study of the pharmacokinetics and clinical proof-of- concept activity of a biofilm-disrupting human monoclonal antibody in patients with chronic prosthetic joint infection of the knee or hip. Antimicrob Agents Chemother. 2024;68(8):e0065524.
79. Tvilum A, Johansen MI, Glud LN, et al. Antibody-Drug Conjugates to Treat Bacterial Biofilms via Targeting and Extracellular Drug Release. Adv Sci (Weinh). 2023;10(23):e2301340. doi:10.1002/advs.202301340
80. Dijk B van, Oliveira S, Hooning van Duyvenbode JFF, et al. Photoimmuno-antimicrobial therapy for *Staphylococcus aureus* implant infection. PLoS One. 2024;19(3):e0300069.

Autores: Ahmad Abbaszadeh, Mohammad Soleimani, Saeed Kordo, Edward M. Schwarz, Javad Parvizi

Autor de Correspondencia
Ahmad Abbaszadeh, MD, Orthop.
Joint Reconstruction Research Center. Tehran, Iran.
Email: ahmad.abbaszadeh2022@gmail.com

PREGUNTA 7. ¿Qué patógenos críticos deberían evaluarse de forma rutinaria en los modelos preclínicos para estudiar cuestiones importantes en la investigación de infecciones ortopédicas?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: La literatura indica que, además de los patógenos prevalentes, deben evaluarse otros bacilos gramnegativos y Enterobacteriales en las infecciones ortopédicas, especialmente en los modelos preclínicos.

NIVEL DE EVIDENCIA: Moderado.

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 98%, En desacuerdo 0%, Abstención 2% (Consenso Total).

JUSTIFICACIÓN

Las infecciones ortopédicas pueden causar complicaciones devastadoras, incluidas estancias hospitalarias prolongadas y tratamientos antibióticos extendidos, suponeniando una alta morbilidad y mortalidad en los pacientes [1]. Un número limitado de microorganismos comunes son reconocidos como los principales patógenos etiológicos de la mayoría de las infecciones ortopédicas, incluidos *Staphylococcus aureus, Staphylococcus* coagulasa negativa *(S. epidermidis), Escherichia coli* y *Enterobacter cloacae* [2–4].

Sin embargo, no son los únicos microorganismos que causan esta grave condición. Por ello, los modelos preclínicos son fundamentales para evaluar la fisiopatología de la infección y el desarrollo de agentes antimicrobianos [5]. Se realizó una revisión sistemática para determinar qué organismos deberían evaluarse de forma rutinaria en la investigación ortopédica. Se incluyeron seis estudios: cuatro en humanos [6–9], uno en ovejas [10] y uno en perros [11]. Todos los estudios (n= 6, 100%) fueron series de casos. Debido su la naturaleza, no fue posible realizar un metaanálisis. Los estudios en humanos identificaron 284 microorganismos, y los otros dos hallaron 42 y 71 microorganismos. Los estudios evaluaron infecciones de biofilm [6], sitio quirúrgico [8,11], relacionadas con fracturas [7], artritis séptica [9] y osteointegración [10].

Uno de los estudios, con 42 microorganismos, no informó el número exacto de cada microorganismo, por lo que no fue posible extraer los datos [10]. En los estudios restantes (705 microorganismos), los aislamientos más reportados fueron: *S. aureus* (susceptible y resistente a meticilina) (n= 168, 23,8%), *Enterobacteriaceae* (n=158, 22,4%), CoNS (n= 156, 22,1%), otros bacilos gramnegativos (n= 69, 9,7%), otros *Enterobacteriales* (n=52, 7,3%), *S. pseudointermedius* (n=31, 4,3%), *Streptococcus* (n=31, 4,3%), *Enterococcaceae* (n= 22, 3,1%), cocos grampositivos (n= 11, 1,5%), bacilos grampositivos (n=10, 1,4%) y *Pasturella spp.* (n= 2, 0,2%). Los aislamientos de S. *pseudointermedius* se observaron únicamente en un estudio con sujetos caninos, ya que es principalmente un patógeno de animales domésticos [10].

Las infecciones óseas y articulares causadas por el género *Staphylococcus*, incluidos *S. aureus* y *S. epidermidis*, y por la familia *Enterobacteriaceae*, incluidos *E. coli, K. pneumoniae* y *E. cloacae*, han sido reportadas y evaluadas. Sin embargo, lo más importante es que no debe pasarse por alto la patogénesis de otros Enterobacteriales y bacilos gramnegativos. Además, S. *pseudointermedius* fue el aislamiento más frecuente (52,5%) en cultivos de infecciones del sitio quirúrgico en un estudio en animales, lo que indica que es un posible patógeno en las infecciones ortopédicas.

Asimismo, sugerimos considerar la lista de microorganismos recomendada por la Food and Drug Administration (FDA) para ser probados, que incluye: *Acinetobacter baumannii, Bacteroides fragilis, Candida albicans, Candida tropicalis, Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, Escherichia coli, Haemophilus influenzae, Klebsiella aerogenes, Klebsiella oxytoca, Klebsiella pneumoniae, Micrococcus yunnanensis, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa, Serratia marcescens, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus haemolyticus, Staphylococcus hominis, Staphylococcus saprophyticus, Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes*.

En conclusión, la evidencia demuestra que, además de los patógenos prevalentes, otros bacilos gramnegativos y Enterobacteriales también deben evaluarse en los modelos preclínicos. Además, la evaluación de cualquier tecnología frente a hongos puede ser importante. Los estudios preclínicos se centran en patógenos comunes, por ejemplo, *S. aureus, S. epidermidis, E. coli*. No obstante, se requieren más estudios preclínicos sobre microorganismos menos comunes para una revisión sistemática y un metaanálisis más completo.

La publicación de estos nuevos estudios debe documentar cuantitativamente la patología en el hueso y los tejidos blandos, y las cepas deben secuenciarse y depositarse en un

banco de microorganismos de referencia de acceso público (es decir, la American Type Culture Collection, THAC).

REFERENCES

1. Parvizi J. Orthopedic infections: no one is denying anymore THAt we have a problem! Vol. 31, Knee Surgery & Related Research. Springer; 2019. p. 1–2.
2. Arciola CR, Campoccia D, Ehrlich GD, Montanaro L. Biofilm-based implant infections in orthopaedics. Biofilm-based Healthcare-associated Infections: Volume I. 2014;29–46.
3. Lovati AB, Bottagisio M, de Vecchi E, Gallazzi E, Drago L. Animal models of implant-related low-grade infections. A twenty-year review. A modern approach to biofilm- related orthopaedic implant infections: advances in microbiology, infectious diseases and public health volume 5. 2016;29–50.
4. Phillips JE, Crane TP, Noy M, Elliott TSJ, Grimer RJ. The incidence of deep prosthetic infections in a specialist orthopaedic hospital: a 15-year prospective survey. J Bone Joint Surg Br. 2006;88(7):943–8.
5. Beagan MLC, Dreyer CH, Jensen LK, Jensen HE, Andersen TE, Overgaard S, et al. The potential of sheep in preclinical models for bone infection research–A systematic review. J Orthop Translat. 2024;45:120–31.
6. Coraça-Huber DC, Kreidl L, Steixner S, Hinz M, Dammerer D, Fille M. Identification and morphological characterization of biofilms formed by strains causing infection in orthopedic implants. Pathogens. 2020;9(8):649.
7. Fonkoue L, Tissingh EK, Ngouateu MT, Muluem KO, Ngongang O, Mbouyap P, et al. The microbiological profile and antibiotic susceptibility of fracture related infections in a low resource setting differ from high resource settings: a cohort study from Cameroon. Antibiotics. 2024;13(3):236.
8. Liu S, Qi Q, Chen Z, Liu N, Guo Z, Sun C, et al. Polymicrobial and monomicrobial infections after spinal surgery: a retrospective study to determine which infection is more severe. Asian Spine J. 2017;11(3):427.
9. Nasim O, Khalil A, Khan S, Kohli S, Pantelias C, Banoori F, et al. Microbiological profile and clinical features of septic arthritis of the Shoulder: A 10-year cohort single-centre study. Cureus. 2023;15(12).
10. Williams DL, Bloebaum RD, Beck JP, Petti CA. Characterization of bacterial isolates collected from a sheep model of osseointegration. Curr Microbiol. 2010;61:574–83.
11. Hagen CRM, Singh A, Weese JS, Marshall Q, Linden A zur, Gibson TWG. Contributing factors to surgical site infection after tibial plateau leveling osteotomy: a follow-up retrospective study. Veterinary Surgery. 2020;49(5):930–9.

Autores: Gerald J. Atkins, Claudia Siverino, Alexander W. Burns, James Slover, Volker Alt, Anil Aurora Bingyun Li, Edward M. Schwarz

Autor de Correspondencia
Prof. Dr. Gerald J. Atkins
Centre for Orthopaedic and Trauma Research
University of Adelaide
Adelaide, SA, Australia.
Email: gerald.atkins@adelaide.edu.au

PREGUNTA 8. ¿Pueden las bacterias sobrevivir en el espacio intracelular de los osteoblastos?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: Sí, existe un cuerpo sustancial de evidencia *in vitro* e *in vivo* de que los patógenos de la IAP (Infección Articular Periprotésica) son capaces de infectar y residir en el espacio intracelular de las células osteoblásticas, aunque la duración de esta infección intracelular es variable, con estudios que estiman una persistencia que oscila entre 24 horas y semanas. Gran parte de la evidencia actual disponible es sobre *S. aureus*, pero también se ha identificado una amplia gama de otros patógenos que infectan los osteoblastos.

NIVEL DE EVIDENCIA: Fuerte.

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 98%, En desacuerdo 0%, Abstención 2% (Consenso Total).

JUSTIFICACIÓN

Las células del linaje osteoblástico, incluidos los progenitores de osteoblastos, las células de revestimiento óseo, los osteoblastos maduros y los osteocitos, constituyen la gran mayoría de las células en el tejido óseo duro, y los osteocitos por sí solos representan el 90-95% de estas células [1]. La infección intracelular de este linaje es un mecanismo potencial importante por el cual los patógenos pueden escapar de los tratamientos antimicrobianos, como se resumió recientemente para el patógeno más prevalente en la osteomielitis humana, *Staphylococcus aureus* [2]. La naturaleza de larga vida de los osteocitos en particular también proporciona un nicho potencialmente a largo plazo para las bacterias que se adaptan fenotípicamente a fenotipos de bajo crecimiento, como las variantes de colonias pequeñas (SCV). Estas bacterias también pueden escapar de la detección durante el diagnóstico si el tejido infectado no se muestrea y procesa adecuadamente, y por lo tanto pueden presentarse como infecciones con cultivo negativo. La capacidad de las bacterias para sobrevivir en células viables del 'hueso profundo' (potencialmente en hueso por lo demás 'sano') también fundamenta la necesidad de un desbridamiento óseo apropiado durante el manejo quirúrgico u otra modalidad de tratamiento para abordar estas bacterias, con el riesgo de infección crónica si esto no se logra.

Se realizó una búsqueda bibliográfica exhaustiva en PubMed y Embase, identificando inicialmente 1358 estudios únicos potencialmente relevantes, examinados por dos revisores independientes, de los cuales se seleccionaron 200 para la revisión de texto completo y 89 se incluyeron para la evaluación. Definimos 'persistencia' como un período de al menos 24 horas después de la infección donde había evidencia tanto de células huésped viables que contenían bacterias intracelulares viables. Incluimos estudios de investigación originales, revisados por pares, de todas las células del linaje osteoblástico, así como informes de casos informativos y revisiones sistemáticas. Varios casos de osteomielitis crónica detallaron la infección osteoblástica a partir de una biopsia ósea: 1) en una mujer de 53 años con el anaerobio obligado *Prevotella melanginoganica* visible en los osteocitos [3]; 2) un caso de cocos Gram-positivos en osteoblastos y osteocitos viables establecido por histoquímica y microscopía electrónica de transmisión (TEM) en un hombre de 73 años [4]; 3) se encontró *S. aureus* en osteoblastos de un niño de 14 años [5].

La mayoría de los estudios *in vitro* demostraron bacterias intracelulares viables en las células huésped después de un corto período de infección de 45 a 180 minutos, seguido de la eliminación de las bacterias extracelulares y luego la evaluación de la formación de unidades formadoras de colonias (CFU) después de la siembra de lisados de células huésped tras al menos 24 horas. La indicación de viabilidad de las células huésped después de la infección también fue un requisito para la inclusión. De los estudios incluidos, 68 (76%) examinaron *S. aureus* intracelular, bien conocido por ser un patógeno intracelular facultativo, con una multitud de cepas resistentes a meticilina (MRSA) y sensibles (MSSA), aislados clínicos y cepas de laboratorio estándar. Siete estudios examinaron la infección por *S. aureus* de la línea celular de osteoblastos de ratón bien caracterizada MC3T3-E1 [6-12], con persistencia intracelular demostrada hasta por 28 días [7]. Otros estudios de infección de líneas celulares de ratón se realizaron en las líneas celulares de tipo osteoblástico NRG [13] y OBβ1[14]. Se utilizó una única línea celular de osteoblastos maduros de rata, UMR-106,

para demostrar la persistencia intracelular de *S. aureus* durante hasta 8 días [15], mientras que se utilizaron osteoblastos primarios de calvaria de rata para mostrar persistencia durante 21 días [16]. Cuatro estudios examinaron la infección por *S. aureus* de osteoblastos primarios de ratón (derivados de calvaria) [17-20], con persistencia demostrada entre 24 y 48 horas. La mayoría de los estudios en líneas celulares humanas se realizaron en células de osteosarcoma MG-63, un modelo de osteoblasto inmaduro, que experimenta una diferenciación osteogénica limitada, si es que la hay. En total, 25 estudios examinaron la infección por *S. aureus* de MG-63, la mayoría presentando evidencia de un período posterior a la infección de 24 a 48 horas [9,21−40] con varios extendiendo las observaciones a 7-8 días [41−43]. Se realizaron cinco estudios adicionales en la línea celular de osteoblastos maduros humanos, SaOS-2, que tiene un fuerte potencial osteogénico, con persistencia demostrada entre 24 y 72 horas [44−48]. Un solo grupo utilizó osteoblastos humanos transformados con SV-40 [49, 50] para estudiar la infección. Quince estudios utilizaron osteoblastos primarios humanos, derivados de cultivos de explantes de hueso trabecular, como el tipo de célula huésped para examinar la persistencia intracelular de *S. aureus*. Esto se demostró más comúnmente entre 24 y 48 horas [39,51−60], mientras que algunos estudios extendieron las observaciones a una semana o más [11, 61-63], y hasta 21 días en un estudio de Tuchscherr et al. [64]. Este grupo también demostró el cambio fenotípico de *S. aureus* aun fenotipo SCV, vinculado a infecciones crónicas [53].

También se han utilizado modelos de células de osteocitos para demostrar la persistencia de *S. aureus*. Yang et al. [65] demostraron la infección y persistencia de *S. aureus* en osteocitos primarios humanos derivados de osteoblastos, asociada con un cambio fenotípico a SCV durante un período de infección de 6 días. Más recientemente, también se han utilizado células SaOS-2 diferenciadas a un fenotipo similar a osteocitos, mostrando persistencia de *S. aureus* hasta 21 días [48,66−69]. Las células de ratón similares a osteocitos MLO-Y4 también apoyaron la infección por *S. aureus* [12]. La infección de osteocitos viables por *S. aureus* también se demostró en un modelo de hueso humano *ex vivo* y en muestras óseas de pacientes con IAP [65]. De Mesy Bentley et al. Demostraron mediante TEM que *S. aureus* invade la red lacunocanalicular de osteocitos (OCLN), pareciendo de formar separa entrar en los canalículos en un modelo deI AP de ratón [70] y en un estudio de caso humano de infección del pie diabético [71]. Este proceso se demostró en un modelo de hueso de ratón *ex vivo* [72], y se informó la inmunotinción OCLN de *S. aureus* en varios otros casos de osteomielitis, tanto pediátricos como adultos [73]. Aunque la infección de osteoblastos/osteocitos vivos en estos últimos estudios no fue reportada, son un apoyo del acceso de *S. aureus* a estos tipos de células.

Además de *S. aureus*, se demostró que las especies de estafilococos *S. argenteus* y el *S. pseudintermedius* coagulasa-negativo infectan las células MG-63 hasta por 7-10 días [37,43], y se demostró que *S. epidermidis* infecta osteoblastos primarios humanos [11, 58] y células MC3T3-E1 hasta por 10 días [11,74]. También se demostró que otro aislado común de infección articular periprotésica, *Cutibacterium acnes,* persiste en células MG-63 hasta 96 horas, volviéndose indetectable después de este punto de tiempo [75]. Las especies Gram-negativas *Streptococcus gordonii* (en MG-63) [36], *Salmonella Dublin* [19] y *P. melanginoganica* también han demostrado persistir en células osteoblásticas. También se ha demostrado que los patógenos asociados con la periodontitis son trópicos para los osteoblastos, incluidos *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (en MG-63) [76] y *Porphyromonas gingivalis*, demostrado en modelos de osteoblastos primarios de ratón [77-79] e in situ en osteoblastos y osteocitos de hueso alveolar en un modelo de ratón [80]. Se ha demostrado que varias especies de *Mycobacterium* persisten en osteoblastos *in vitro*: *Mycobacterium tuberculosis* en MG-6338, células SaOS-2 [81] y osteoblastos primarios humanos [82], M. bovis en células MC3T3-E1 (hasta 7 días) [83]. Podría decirse que lo que más apoya directamente la respuesta afirmativa a esta pregunta es la demostración de la infección y persistencia del patógeno intracelular obligado *Chlamydia pneumoniae* en la línea celular osteoblástica humana hFOB1.19 [84] y en células SaOS-2 [85].

Finalmente, se demostró la infección intra-osteoblástica (SaOS-2, MG-63 [86]; MC3T3-E1 [87-88]; osteoblasto primario de ratón [87] e intra−osteocítica (MLO-Y4 [89-90]) con el patógeno causante de la brucelosis osteoarticular, *Brucella abortus*, así como otras especies *B. suis, B. melitensis* y *B. canis* [86].

En conclusión, la capacidad de los patógenos para invadir y residir en las células huésped está muy extendida y esto también ocurre en el contexto de la infección ósea. Existe una evidencia abrumadora de que patógenos como *S. aureus*, estafilococos coagulasa-negativos, especies de *Brucella*, *Chlamydia* y una serie de otras especies patógenas son capaces de infectar células del linaje osteoblástico.

REFERENCIAS

1. Bonewald LF. The amazing osteocyte. J Bone Miner Res. 2011;26:229–38.
2. Zelmer AR, Nelson R, Richter K, Atkins GJ. Can intracellular *Staphylococcus aureus* in osteomyelitis be treated using current antibiotics? A systematic review and narrative synthesis. Bone Res. 2022;10:53.
3. Dominiak BJ, Oxberry W, Chen PC. Identification of Prevotella in pedal osteomyelitis of a diabetic patient. Ultrastruct Pathol. 2003;27:271–83.
4. Bosse MJ, Gruber HE, Ramp WK. Internalization of bacteria by osteoblasts in a patient with recurrent, long-term osteomyelitis. A case report. J Bone Joint Surg Am. 2005;87:1343–7.
5. Walter N, et al. Intracellular *S. aureus* in Osteoblasts in a Clinical Sample from a Patient with Chronic Osteomyelitis-A Case Report. Pathogens. 2021;10:e1005063.
6. Ahmad-Mansour N, Plumet L, Pouget C, Lelièvre L, Dyon-Tafani V, Alt V, et al. The ROSA-Like Prophage Colonizing *Staphylococcus aureus* Promotes Intracellular Survival, Biofilm Formation, and Virulence in a Chronic Wound Environment. J Infect Dis. 2023;228:1800–4.
7. Qin HJ, et al. Melatonin, a potentially effective drug for the treatment of infected bone nonunion. J Pineal Res. 2024;76:e12914.
8. Trouillet-Assant S, et al. Adaptive processes of *Staphylococcus aureus* isolates during the progression from acute to chronic bone and joint infections in patients. Cell Microbiol. 2016;18:1405–14.
9. Li X, Pang Y, Guan L, Zhang J, Li B. Mussel-inspired antimicrobial hydrogel with cellulose nanocrystals/tannic acid modified silver nanoparticles for enhanced calvarial bone regeneration. Int J Biol Macromol. 2024;270:132419.
10. Uskoković V, Desai TA. Simultaneous bactericidal and osteogenic effect of nanoparticulate calcium phosphate powders loaded with clindamycin on osteoblasts infected with *Staphylococcus aureus*. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2014;37:210–22.
11. Perez K, Patel R. Survival of *Staphylococcus epidermidis* in Fibroblasts and Osteoblasts. Infect Immun. 2018;86:e00040-18.
12. Garcia-Moreno M, et al. Osteocytes Serve as a Reservoir for Intracellular Persisting *Staphylococcus aureus* Due to the Lack of Defense Mechanisms. Front Microbiol. 2022;13:937466.

13. Ishida I, Kohda C, Yanagawa Y, Takagi M. Epigallocatechin gallate suppresses expression of receptor activator of NF-kappaB ligand (RANKL) in *Staphylococcus aureus* infection in osteoblast-like NRG cells. J Med Microbiol. 2007;56:1042–6.
14. Mouton W, Josse J, Jacqueline C, Lemarié A, Brémont V, Bignon A, et al. *Staphylococcus aureus* internalization impairs osteoblastic activity and early differentiation process. Sci Rep. 2021;11:17685.
15. Hamza T, Li B. Differential responses of osteoblasts and macrophages upon *Staphylococcus aureus* infection. BMC Microbiol. 2014;14:207.
16. Hamza T, et al. Intra-cellular *Staphylococcus aureus* alone causes infection *in vivo*. Eur Cell Mater. 2013;25:341–50; discussion 350.
17. Johnson MB, et al. Induction of protective interferon-beta responses in murine osteoblasts following *Staphylococcus aureus* infection. Front Microbiol. 2022;13:1066237.
18. Pillai RR, et al. Nafcillin-loaded PLGA nanoparticles for treatment of osteomyelitis. Biomed Mater. 2008;3:034114.
19. Bost KL, Bento JL, Ellington JK, Hudson MC. Induction of colony-stimulating factor expression following *Staphylococcus* or Salmonella interaction with mouse or human osteoblasts. Infect Immun. 2000;68:5075–83.
20. Chauhan VS, Marriott I. Differential roles for NOD2 in osteoblast inflammatory immune responses to bacterial pathogens of bone tissue. J Med Microbiol. 2010;59:755–62.
21. Meléndez-Carmona M, et al. Intraosteoblastic activity of levofloxacin and rifampin alone and in combination against clinical isolates of meticillin-susceptible *Staphylococcus aureus* causing prosthetic joint infection. Int J Antimicrob Agents. 2019;54:356–60.
22. Dyon-Tafani V, Josse J, Dieppois G, Lelièvre L, Abad L, Alt V, et al. Antimicrobial activity of the new FabI inhibitor afabicin desphosphono against intraosteoblastic *Staphylococcus aureus*. Int J Antimicrob Agents. 2021;57:106321.
23. Kolenda C, Josse J, Medina M, Lelièvre L, Abad L, Dyon-Tafani V, et al. Evaluation of the Activity of a Combination of Three Bacteriophages Alone or in Association with Antibiotics on *Staphylococcus aureus* Embedded in Biofilm or Internalized in Osteoblasts. Antimicrob Agents Chemother. 2020;64:e02581-19.
24. Abad L, Chauvelot P, Audoux E, Lelièvre L, Lelièvre L, Josse J, et al. Lysosomal alkalization to potentiate eradication of intra-osteoblastic *Staphylococcus aureus* in the bone and joint infection setting. Clin Microbiol Infect. 2022;28:135.e131-135.e137.
25. Rasigade JP, Dunyach-Rémy C, Sapin A, Bes M, Pothier J, Tristan A, et al. A Prophage in Diabetic Foot Ulcer-Colonizing *Staphylococcus aureus* Impairs Invasiveness by Limiting Intracellular Growth. J Infect Dis. 2016;214:1605–8.
26. Valour F, Rasigade JP, Trouillet-Assant S, Tasse J, Lemaire A, Josse J, et al. Delta-toxin production deficiency in *Staphylococcus aureus*: a diagnostic marker of bone and joint infection chronicity linked with osteoblast invasion and biofilm formation. Clin Microbiol Infect. 2015;21:568.e561-511.
27. Rasigade JP, Trouillet-Assant S, Ferry T, Laurent F, Laurent F, Vandenesch F, et al. PSMs of hypervirulent *Staphylococcus aureus* act as intracellular toxins THAt kill infected osteoblasts. PLoS One. 2013;8:e63176.
28. Munoz-Gallego I, Melendez-Carmona MA, Lora-Tamayo J, Lora-Tamayo J, Lora-Tamayo J, Viedma E, et al. Microbiological and Molecular Features Associated with Persistent and Relapsing *Staphylococcus aureus* Prosthetic Joint Infection. Antibiotics. 2022;11:1119.
29. Woischnig AK, Gonçalves LM, Ferreira M, Almeida AJ, Pereira C. Acrylic microparticles increase daptomycin intracellular and *in vivo* anti-biofilm activity against *Staphylococcus aureus*. Int J Pharm. 2018;550:372–9.
30. Musso N, Caruso G, Bongiorno D, Lazzaro LM, Lazzaro LM, Lazzaro LM, et al. Different Modulatory Effects of Four Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clones on MG-63 Osteoblast-Like Cells. Biomolecules. 2021;11:794.
31. Bongiorno D, Musso N, Caruso G, Lazzaro LM, Lazzaro LM, Celi D, et al. *Staphylococcus aureus* ST228 and ST239 as models for expression studies of diverse markers during osteoblast infection and persistence. Microbiologyopen. 2021;10:e1178.
32. Bongiorno D, Musso N, Lazzaro LM, Caruso G, Celi D, Biondo C, et al. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* persistence in osteoblasts using imaging flow cytometry. Microbiologyopen. 2020;9:e1017.
33. Abad L, Tafani V, Tasse J, Lelièvre L, Josse J, Alt V, et al. Evaluation of the ability of linezolid and tedizolid to eradicate intraosteoblastic and biofilm-embedded *Staphylococcus aureus* in the bone and joint infection setting. J Antimicrob Chemother. 2019;74:625–32.
34. Valour F, Trouillet-Assant S, Riffard N, Josse J, Lelièvre L, et al. Antimicrobial activity against intraosteoblastic *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59:2029–36.
35. Dupieux C, et al. Intraosteoblastic activity of daptomycin in combination with oxacillin and ceftaroline against MSSA and MRSA. J Antimicrob Chemother. 2017;72:3353–6.
36. Jauregui CE, Mansell JP, Jepson MA, Jenkinson HF. Differential interactions of Streptococcus gordonii and *Staphylococcus aureus* with cultured osteoblasts. Mol Oral Microbiol. 2013;28:250–66.
37. Maali Y, Martins-Simões P, Valour F, Lelièvre L, Bignan A, Triffandier T, et al. Pathophysiological Mechanisms of *Staphylococcus* Non-aureus Bone and Joint Infection: Interspecies Homogeneity and Specific Behavior of S. pseudintermedius. Front Microbiol. 2016;7:1063.
38. Wright KM, Friedland JS. Differential regulation of chemokine secretion in tuberculous and staphylococcal osteomyelitis. J Bone Miner Res. 2002;17:1680–90.
39. Ferreira M, Rzhepishevska O, Grenho L, Miranda JM, Almeida AJ, Silva JC, et al. Levofloxacin-loaded bone cement delivery system: Highly effective against intracellular bacteria and *Staphylococcus aureus* biofilms. Int J Pharm. 2017;532:241–8.
40. Chauvelot P, et al. Evaluation of intraosteoblastic activity of dalbavancin against *Staphylococcus aureus* in an *ex vivo* model of bone cell infection. J Antimicrob Chemother. 2021;76:2863–6.
41. Nicolas A, Deplanche M, Commere PH, Lelièvre L, Josse J, Alt V, et al. Transcriptome Architecture of Osteoblastic Cells Infected With *Staphylococcus aureus* Reveals Strong Inflammatory Responses and Signatures of Metabolic and Epigenetic Dysregulation. Front Cell Infect Microbiol. 2022;12:854242.
42. Abad L, Josse J, Tasse J, Lelièvre L, Lelièvre L, Valour F, et al. Antibiofilm and intraosteoblastic activities of rifamycins against *Staphylococcus aureus*: promising *in vitro* profile of rifabutin. J Antimicrob Chemother. 2020;75:1466–73.
43. Diot A, Dyon-Tafani V, Bergot M, Lelièvre L, Josse J, Alt V, et al. Investigation of a *Staphylococcus argenteus* Strain Involved in a Chronic Prosthetic-Joint Infection. Int J Mol Sci. 2020;21:5542.
44. Alagboso FI, Mannala GK, Walter N, Walter N, Alt V, Alt V, et al. Rifampicin restores extracellular organic matrix formation and mineralization of osteoblasts after intracellular *Staphylococcus aureus* infection. Bone Joint Res. 2022;11:327–41.
45. Mannala GK, Rupp M, Walter N, Walter N, Alt V, Alt V, et al. Microbiological and ultrastructural evaluation of bacteriophage 191219 against planktonic, intracellular and biofilm infection with *Staphylococcus aureus*. Eur Cell Mater. 2022;43:66–78.
46. Mohamed W, Domann E, Chakraborty T, Mohamed W, Chakraborty T, Chakroborty T, et al. TLR9 mediates *S. aureus* killing inside osteoblasts via induction of oxidative stress. BMC Microbiol. 2016;16:230.
47. Mohamed W, Sommer U, Sethi S, Alt V, Alt V, Chakroborty T, et al. Intracellular proliferation of *S. aureus* in osteoblasts and effects of rifampicin and gentamicin on *S. aureus* intracellular proliferation and survival. Eur Cell Mater. 2014;28:258–68.
48. Gunn NJ, Zelmer AR, Kidd SP, Solomon LB, Bonewald LF, Atkins GJ. A Human Osteocyte Cell Line Model for Studying *Staphylococcus aureus* Persistence in Osteomyelitis. Front Cell Infect Microbiol. 2021;11:781022.
49. Shi SF, Zhang XL, Zhu C, He C, Gu XS. Ultrasonically enhanced rifampin activity against internalized *Staphylococcus aureus*. Exp Ther Med. 2013;5:257–62.
50. Shi S, Lu W, Gu X, Lin Q. Efficacy of Gentamicin-Loaded Chitosan Nanoparticles Against *Staphylococcus aureus* Internalized in Osteoblasts. Microb Drug Resist. 2024;30:196–202.
51. Ellington JK, Harris M, Hudson MC, R. R. Intracellular *Staphylococcus aureus* and antibiotic resistance: implications for treatment of staphylococcal osteomyelitis. J Orthop Res. 2006;24:87–93.
52. Josse J, Guillaume C, Bour C, Leport M, Bignon A, Bignon A, et al. Impact of the Maturation of Human Primary Bone-Forming Cells on Their Behavior in Acute or Persistent *Staphylococcus aureus* Infection Models. Front Cell Infect Microbiol. 2016;6:64.
53. Tuchscherr L, Kreis CA, Hoerr V, Löffler B, Löffler B, Becker K, et al. *Staphylococcus aureus* develops increased resistance to antibiotics by forming dynamic small colony variants during chronic osteomyelitis. J Antimicrob Chemother. 2016;71:438–48.
54. Kalinka J, Hachmeister M, Geraci J, Hachmeister M, Becker K, Becker K, et al. *Staphylococcus aureus* isolates from chronic osteomyelitis are characterized by high host cell invasion and intracellular adaptation, but still induce inflammation. Int J Med Microbiol. 2014;304:1038–49.
55. Abdulrehman T, Qadri S, Skariah S, Li S, Boddula R, Chen C, et al. Boron doped silver-copper alloy nanoparticle targeting intracellular *S. aureus* in bone cells. PLoS One. 2020;15:e0231276.
56. Rosslenbroich SB, Raschke MJ, Kreis C, Kreis C, Becker K, Löffler B. Daptomycin: local application in implant-associated infection and complicated osteomyelitis. Sci World J. 2012;2012:578251.
57. Sanchez CJ, Jr., Shiels SM, Tennent DJ, Shiels SM, Gelfand JA, Masini MA, et al. Rifamycin Derivatives Are Effective Against Staphylococcal Biofilms *In vitro* and Elutable From PMMA. Clin Orthop Relat Res. 2015;473:2874–84.
58. Dapunt U, Giese T, Stegmaier S, Zimmermann M, Giese T, Stenger B, et al. The osteoblast as an inflammatory cell: production of cytokines in response to bacteria and components of bacterial biofilms. BMC Musculoskelet Disord. 2016;17:243.
59. Kreis CA, Raschke MJ, Roßlenbroich SB, Rosslenbroich SB, Hachmeister M, Löffler B, et al. Therapy of intracellular *Staphylococcus aureus* by tigecyclin. BMC Infect Dis. 2013;13:267.
60. Bormann N, Koliszak A, Kasper S, Roßlenbroich S, Becker K, Tuchscherr L, et al. A short artificial antimicrobial peptide shows potential to prevent or treat bone infections. Sci Rep. 2017;7:1506.
61. Strobel M, Pförtner H, Tuchscherr L, Tuchscherr L, Löffler B, Löffler B. Post-invasion events after infection with *Staphylococcus aureus* are strongly dependent on both the host cell type and the infecting *S. aureus* strain. Clin Microbiol Infect. 2016;22:799–809.
62. Tuchscherr L, Pöllath C, Siegmund A, Siegmund A, Löffler B, Löffler B. Clinical *S. aureus* Isolates Vary in Their Virulence to Promote Adaptation to the Host. Toxins (Basel). 2019;11:479.
63. Tuchscherr L, Bischoff M, Lattar SM, Lattar SM, Lattar SM, M. A, et al. Sigma Factor SigB Is Crucial to Mediate *Staphylococcus aureus* Adaptation during Chronic Infections. PLoS Pathog. 2015;11:e1004870.
64. Tuchscherr L, Löffler B. *Staphylococcus aureus* dynamically adapts global regulators and virulence factor expression in the course from acute to chronic infection. Curr Genet. 2016;62:15–7.
65. Yang D, Wijenayaka AR, Solomon LB, Solomon LB, Findlay DM, Findlay DM, et al. Novel Insights into *Staphylococcus aureus* Deep Bone Infections: the Involvement of Osteocytes. mBio. 2018;9:e00855-18.
66. Sun Q, Huynh K, Muratovic D, Li B, Alt V, Alt V, et al. Rapid bacterial evaluation beyond the colony forming unit in osteomyelitis. Elife. 2024;13:e91122.

67. Zelmer AR, Starczak Y, Solomon LB, Kidd SP, Bonewald LF, Bonewald LF, et al. Saos-2 cells cultured under hypoxia rapidly differentiate to an osteocyte-like stage and support intracellular infection by *Staphylococcus aureus*. Physiol Rep. 2023;11:e15851.
68. Zelmer AR, Yang D, Gunn NJ, Kidd SP, Bonewald LF, Bonewald LF, et al. Osteomyelitis-relevant antibiotics at clinical concentrations show limited effectivity against acute and chronic intracellular *S. aureus* infections in osteocytes. Antimicrob Agents Chemother. 2024;68:e0080824.
69. Gunn NJ, Kidd SP, et al. *Staphylococcus aureus* persistence in osteocytes: weathering the storm of antibiotics and autophagy/xenophagy. Front Cell Infect Microbiol. 2024;14:1403289.
70. De Mesy Bentley KL, Tombetta R, Nishitani K, Nishitani K, Nishitani K, Awad HA, et al. Evidence of *S. aureus* deformation, proliferation and migration in canaliculi of cortical bone using a murine model of osteomyelitis. J Orthop Res. 2016;34:1062–70.
71. de Mesy Bentley KL, MacDonald A, Schwarz EM, Oh I. Chronic Osteomyelitis with *Staphylococcus aureus* Deformation in Submicron Canaliculi of Osteocytes: A Case Report. JBJS Case Connect. 2018;8:e8.
72. Vanvelk N, de Mesy Bentley KL, Verhofstad MHJ, Verhofstad MHJ, Verhofstad MHJ, et al. Development of an *ex vivo* model to study *Staphylococcus aureus* invasion of the osteocyte lacuno-canalicular network. J Orthop Res. 2024.
73. Jensen LK, Birch JM, Jensen HE, Birge-Petersen E, Hansen RB, Diness T, et al. Bacterial invasion of the submicron osteocyte lacuna-canaliculi network (OLCN): a part of osteomyelitis disease biology. APMIS. 2023;131:325–32.
74. Fisher C, Patel R. Rifampin, Rifapentine, and Rifabutin Are Active against Intracellular Periprosthetic Joint Infection-Associated *Staphylococcus epidermidis*. Antimicrob Agents Chemother. 2021;65:e00366-21.
75. Aubin GG, Baud'huin M, Lavigne JP, Lavigne JP, Quarante A, Lebeurre M, et al. Interaction of Cutibacterium (formerly Propionibacterium) acnes with bone cells: a step toward understanding bone and joint infection development. Sci Rep. 2017;7:42918.
76. Zhao P, Liu J, Pan C, Pan Y. NLRP3 inflammasome is required for apoptosis of Aggregatibacter actinomycetemcomitans-infected human osteoblastic MG63 cells. Acta Histochem. 2014;116:1119–24.
77. Zhang W, Ju J, Rigney T, Tribble GD. Fimbriae of Porphyromonas gingivalis are important for initial invasion of osteoblasts, but not for inhibition of their differentiation and mineralization. J Periodontol. 2011;82:909–16.
78. Zhang W, Swearingen EB, Ju J, Tribble GD. Porphyromonas gingivalis invades osteoblasts and inhibits bone formation. Microbes Infect. 2010;12:838–45.
79. Zhang W, Ju J, Rigney T, Tribble G. Integrin α5β1-fimbriae binding and actin rearrangement are essential for Porphyromonas gingivalis invasion of osteoblasts and subsequent activation of the JNK pathway. BMC Microbiol. 2013;13:5.
80. Zhang W, Ju J, Rigney T, Tribble G. Porphyromonas gingivalis infection increases osteoclastic bone resorption and osteoblastic bone formation in a periodontitis mouse model. BMC Oral Health. 2014;14:89.
81. Sarkar S, Dlamini MG, Bhattacharya D, Dlamini MG, Dlamini MG, Dlamini MG, et al. Strains of *Mycobacterium tuberculosis* differ in affinity for human osteoblasts and alveolar cells *in vitro*. Springerplus. 2016;5:163.
82. Ma W, Jin W, He X, He X, Zhang T, Li C, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Induced Osteoblast Dysregulation Involved in Bone Destruction in Spinal Tuberculosis. Front Cell Infect Microbiol. 2022;12:780272.
83. Hotokezaka H, Kitamura A, Matsumoto S, Kitamura A, Matsumoto S, Nakayama K. Internalization of Mycobacterium bovis Bacillus Calmette-Guérin into osteoblast-like MC3T3-E1 cells and bone resorptive responses of the cells against the infection. Scand J Immunol. 1998;47:453–8.
84. Bailey L, et al. *Chlamydia* pneumoniae infection results in generalized bone loss in mice. Microbes Infect. 2008;10:1175–81.
85. Rizzo A, et al. Zoledronic acid affects the cytotoxic effects of *Chlamydia* pneumoniae and the modulation of cytokine production in human osteosarcoma cells. Int Immunopharmacol. 2014;22:66–72.
86. Delpino MV, Fossati CA, Baldi PC. Proinflammatory response of human osteoblastic cell lines and osteoblast-monocyte interaction upon infection with *Brucella spp*. Infect Immun. 2009;77:984–95.
87. Scian R, et al. *Brucella* abortus invasion of osteoblasts inhibits bone formation. Infect Immun. 2012;80:2333–45.
88. Pesce Viglietti AI, et al. Abortus Modulates Osteoblast Function Through the Induction of Autophagy. Front Cell Infect Microbiol. 2018;8:425.
89. Viglietti AIP, Benitez PCA, Gentilini MV, Gentilini MV, Fossati CA, Delpino MV. *Brucella* abortus invasion of osteocytes modulates connexin 43 and integrin expression and induces osteoclastogenesis via receptor activator of NF-kappaB ligand and tumor necrosis factor alpha secretion. Infect Immun. 2016;84:3473–82.
90. Pesce Viglietti AI, Giambartolomei GH, Delpino MV. Endocrine modulation of *Brucella* abortus-infected osteocytes function and osteoclastogenesis via modulation of RANKL/OPG. Microbes Infect. 2019;21:287–95.

Autores: Gerald J. Atkins, Débora Coraça-Huber, Kohei Nishitani, Ebru Oral, Dirk Bumann, Alexander Burns, Xie Chao, Pablo Cornejo

Autor de Correspondencia
Prof. Dr. Gerald J. Atkins
Centre for Orthopaedic and Trauma Research
University of Adelaide
Adelaide, SA, Australia.
Email: gerald.atkins@adelaide.edu.au

PREGUNTA 9. ¿Las bacterias intracelulares desempeñan un papel en la propagación de las infecciones musculoesqueléticas?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: Sí. Los patógenos intracelulares facultativos y obligados infectan y residen en las células huésped y contribuyen a las infecciones musculoesqueléticas (MSKI) crónicas y recurrentes.

NIVEL DE EVIDENCIA: Fuerte.

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo %, En desacuerdo %, Abstención %

JUSTIFICACIÓN

La premisa de esta pregunta es que las bacterias intracelulares son una característica de las infecciones musculoesqueléticas (MSKI). Las bacterias pueden ser patógenos intracelulares obligados o facultativos, es decir, o bien requieren la infección intracelular para replicarse, o bien pueden existir extracelularmente como organismos libres, en biofilms o en estado intracelular. En cualquier caso, el campo microbiológico considera que las bacterias intracelulares viables y persistentes deberían ser intrínsecamente capaces de propagar la infección bajo condiciones ambientales apropiadas, como la liberación tras la muerte de la célula huésped o el desarrollo de resistencia a los fármacos antimicrobianos. El patógeno causal más comúnmente identificado en la osteomielitis humana, *Staphylococcus aureus*, ahora se reconoce como un patógeno intracelular facultativo capaz de invadir y sobrevivir en muchos tipos de células huésped, manipulando múltiples vías celulares, incluida la apoptosis y la autofagia para lograrlo, y al hacerlo contribuye a las infecciones recurrentes [1,2]. Para abordar la pregunta planteada, se realizó una búsqueda bibliográfica exhaustiva en las bases de datos PubMed y Embase, utilizando términos MeSH desarrollados por bibliotecarios. La búsqueda identificó 373 estudios potencialmente relevantes. Estas publicaciones fueron seleccionadas por dos revisores independientes, y 88 publicaciones finales fueron elegidas para una revisión en profundidad, incluyéndose 45 para la evaluación final.

Dentro de este grupo, identificamos cuatro categorías generales de estudio como un marco de interrogación útil. Los estudios de la Categoría 1, que proporcionaron información para esta pregunta, ofrecieron un fuerte nivel de evidencia de infección y persistencia bacteriana en células relevantes para las MSKI. La 'persistencia' se define comúnmente como un período de al menos 24 horas después de la infección, donde hay evidencia de células huésped viables y bacterias intracelulares viables. Señalamos que la pregunta planteada anteriormente consideró la evidencia extensa de esto específicamente en células osteoblásticas, que constituyen la mayoría de los estudios relacionados con la infección ósea. Treinta y tres de los estudios incluidos abordaron únicamente la persistencia de *S. aureus* [2-29] y 4 exploraron esto en investigaciones clínicas o preclínicas extendidas [30-33]. La mayoría de estos estudios demostraron la presencia de bacterias intracelulares viables a partir de la disrupción física de las células infectadas y la siembra de lisados de células huésped en medios de crecimiento bacteriano, registrando la presencia de unidades formadoras de colonias (CFU). Se demostró que *S. aureus* persistía durante tiempos variables en varios tipos de células relevantes para las MSKI, incluidos osteoblastos primarios de ratón [8,31] y células osteoblásticas maduras humanas SaOS-2 [18], durante hasta 8 días en células osteoblásticas humanas MG-63 [3-5,7,9,17, 20-22, 26] y hasta 21 días en osteoblastos primarios humanos [6, 10, 15, 24, 25]. También se demostró persistencia en osteocitos primarios humanos [30], en células SaOS-2 diferenciadas de tipo osteocito [13, 28, 29, 33, 34] y en células MLO-Y4 de tipo osteocito de ratón [12]. Para las células del linaje hematopoyético, Krauss et al. [16] demostraron la infección y replicación de *S. aureus* en osteoclastos humanos, y Tian et al. [32] mostraron que los macrófagos derivados de la médula ósea apoyaron la persistencia de *S. aureus* durante hasta 28 días. Rodrigues-Lopes et al. [35], utilizando 191 aislados, incluidos 93 de pacientes con infección articular periprotésica (IAP), en varios tipos de células diana, demostraron que la infección, replicación y persistencia intracelular es una característica general, y por inferencia esperada, de la patogénesis de *S. aureus*.

Otras especies que demostraron persistir intracelularmente incluyeron *Staphylococcus epidermidis*, en MC3T3-E1 y

osteoblastos primarios humanos [36, 37], y *Staphylococcus argenteus* y *Staphylococcus pseudintermedius*, en células MG-63 [38, 39].Un estudio reportó la presencia de *Cutibacterium acnes* intracelular en los macrófagos y células estromales en la articulación del hombro en una cohorte humana normal, sugiriendo una reserva intracelular endémica de estas bacterias potencialmente patógenas [40]. También en apoyo de que las infecciones intracelulares son una característica común de la IAP, Viehl et al. informaron que una cohorte de 20 pacientes con IAP crónica mostraron un perfil de degranulación de células natural killer consistente con una respuesta generalizada a infecciones intracelulares, independientemente del tipo de patógeno [41].

Los estudios de la Categoría 2 proporcionaron evidencia preclínica o clínica de patógenos intracelulares asociados con infecciones crónicas, ofreciendo una posible explicación para la infección crónica en cuestión. Los estudios preclínicos incluyeron la identificación intra-osteoblástica de *S. aureus* en un modelo de osteomielitis hematógena de ratón [31], la penetración profunda de *C. acnes* en la red lacunocanalicular de osteocitos (OCLN) en un modelo de IAP de ratón [42] y la supervivencia de *S. aureus* en macrófagos tanto en un modelo de osteomielitis por inyección intra-femoral en rata como en pacientes con osteomielitis crónica [32]. Yang et al. mostraron la invasión de *S. aureus* en osteocitos viables en hueso humano *ex vivo*, así como mediante inmunotinción de hueso de paciente con IAP [30]. El mismo grupo estableció que la carga bacteriana en infecciones intracelulares con culturabilidad disminuida o nula podría cuantificarse con precisión utilizando un enfoque de PCR digital, e identificaron especies de estafilococos coagulasa-negativos en biopsias óseas de casos de IAP crónica con cultivo negativo utilizando esta técnica [33]. Otros hallazgos clínicos fueron de cocos Gram-positivos en osteocitos y osteoblastos viables en un caso de osteomielitis crónica en adultos [43], *S. aureus* en osteoblastos de un niño con osteomielitis crónica [44], y *Prevotella melanginoganica* en osteocitos y células endoteliales de una mujer con osteomielitis crónica del pie [45]. Los estudios de la Categoría 3 proporcionaron evidencia experimental de que las bacterias intracelulares pueden escapar de su célula huésped mediante un mecanismo biológico, ya sea espontáneamente (es decir, un mecanismo desconocido) o debido a un tratamiento/intervención o la eventual muerte de la célula huésped. Esto sería una fuerte evidencia de apoyo para un papel patológico recurrente de estas bacterias. Dos estudios identificados examinaron la liberación de *S. aureus* intracelular después de un período demostrado de quiescencia intracelular, ya sea espontáneamente y en respuesta a moduladores de la autofagia [46], o después del tratamiento antibiótico en un contexto de infección tanto aguda como crónica [29], utilizando ambos estudios células SaOS-2 de tipo osteocito.

Tres estudios identificados comprendieron la cuarta categoría y proporcionaron evidencia de que las bacterias intracelulares son directamente capaces de, o fueron responsables de, causar una infección musculoesquelética. Hamza et al. [47] generaron una infección por *S. aureus* intracelular en osteoblastos primarios de rata y mostraron que tan solo 100 CFU intracelulares podrían establecer directamente una infección en un modelo de fractura abierta. Finalmente, dos estudios demostraron infecciones por patógenos intracelulares obligados, demostrando inequívocamente el principio en cuestión: Miailhes et al. identificaron Coxiella burnetti como el patógeno causal en una paciente con IAP [48] y Ostfeld et al. demostraron *Chlamydia* pecorum intracelular en articulaciones de ovejas infectadas natural y experimentalmente, causando poliartritis por clamidia [49].

En conclusión, esta revisión sistemática confirma la asociación ampliamente reconocida entre la invasión intracelular de células huésped por bacterias y la cronicidad o recurrencia de la infección, con evidencia fuerte y diversa de estudios experimentales, preclínicos y clínicos. Finalmente, se ha demostrado que las infecciones intracelulares por patógenos intracelulares facultativos u obligados causan MSKI.

REFERENCIAS

1. Watkins KE, Unnikrishnan M. Evasion of host defenses by intracellular *Staphylococcus aureus*. Adv Appl Microbiol. 2020;112:105-41.
2. Rodrigues Lopes I, et al. Microscopy-based phenotypic profiling of infection by *Staphylococcus aureus* clinical isolates reveals intracellular lifestyle as a prevalent feature. Nat Commun. 2022;13:7174.
3. Abad L, et al. Lysosomal alkalization to potentiate eradication of intra-osteoblastic *Staphylococcus aureus* in the bone and joint infection setting. Clin Microbiol Infect. 2022;28:135.e131-135.e137.
4. Abad L, et al. Antibiofilm and intraosteoblastic activities of rifamycins against *Staphylococcus aureus*: promising *in vitro* profile of rifabutin. J Antimicrob Chemother. 2020;75:1466-73.
5. Abad L, et al. Evaluation of the ability of linezolid and tedizolid to eradicate intraosteoblastic and biofilm-embedded *Staphylococcus aureus* in the bone and joint infection setting. J Antimicrob Chemother. 2019;74:625-32.
6. Abdulrehman T, et al. Boron doped silver-copper alloy nanoparticle targeting intracellular *S. aureus* in bone cells. PLoS ONE. 2020;15:e0231276.
7. Bongiorno D, et al. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* persistence in osteoblasts using imaging flow cytometry. Microbiologyopen. 2020;9:e1017.
8. Chauhan VS, Marriott I. Differential roles for NOD2 in osteoblast inflammatory immune responses to bacterial pathogens of bone tissue. J Med Microbiol. 2010;59:755-62.
9. Dupieux C, et al. Intraosteoblastic activity of daptomycin in combination with oxacillin and ceftaroline against MSSA and MRSA. J Antimicrob Chemother. 2017;72:3353-6.
10. Ellington JK, Harris M, Hudson MC, R. R. Intracellular *Staphylococcus aureus* and antibiotic resistance: Implications for treatment of staphylococcal osteomyelitis. J Orthop Res. 2006;24:87-93.
11. Ferreira M, et al. Levofloxacin-loaded bone cement delivery system: Highly effective against intracellular bacteria and *Staphylococcus aureus* biofilms. Int J Pharm. 2017;532:241-8.
12. Garcia-Moreno M, et al. Osteocytes Serve as a Reservoir for Intracellular Persisting *Staphylococcus aureus* Due to the Lack of Defense Mechanisms. Front Microbiol. 2022;13:937466.
13. Gunn NJ, Kidd SP, Solomon LB, Bonewald LF, Atkins GJ. *Staphylococcus aureus* persistence in osteocytes: weathering the storm of antibiotics and autophagy/xenophagy. Front Cell Infect Microbiol. 2024;14:1403289.
14. Johnson MB, et al. Induction of protective interferon-β responses in murine osteoblasts following *Staphylococcus aureus* infection. Front Microbiol. 2022;13:1066237.
15. Kalinka J, et al. *Staphylococcus aureus* isolates from chronic osteomyelitis are characterized by high host cell invasion and intracellular adaptation, but still induce inflammation. Int J Med Microbiol. 2014;304:1038-49.
16. Krauss JL, et al. *Staphylococcus aureus* Infects Osteoclasts and Replicates Intracellularly. mBio. 2019;10:e02206-19.
17. Melendez-Carmona MA, Munoz-Gallego I, Viedma E, Lora-Tamayo J, del Toro M, Cerezales J, et al. Intraosteoblastic activity of levofloxacin and rifampin alone and in combination against clinical isolates of meticillin-susceptible *Staphylococcus aureus* causing prosthetic joint infection. Int J Antimicrob Agents. 2019;54:356-60.
18. Mohamed W, et al. Intracellular proliferation of *S. aureus* in osteoblasts and effects of rifampicin and gentamicin on *S. aureus* intracellular proliferation and survival. Eur Cells Mater. 2014;28:258-68.
19. Mouton W, et al. *Staphylococcus aureus* internalization impairs osteoblastic activity and early differentiation process. Sci Rep. 2021;11:17685.
20. Muñoz-Gallego I, Meléndez-Carmona M, Lora-Tamayo J, Viedma E, Tello-Montoliu A, Llorca-Ferrando S, et al. Microbiological and Molecular Features Associated with Persistent and Relapsing *Staphylococcus aureus* Prosthetic Joint Infection. Antibiotics (Basel). 2022;11:1119.

21. Nicolas A, Deplanche M, Commere PH, Lelièvre L, Josse J, Alt V, et al. Transcriptome Architecture of Osteoblastic Cells Infected With *Staphylococcus aureus* Reveals Strong Inflammatory Responses and Signatures of Metabolic and Epigenetic Dysregulation. Front Cell Infect Microbiol. 2022;12:854242.
22. Rasigade JP, Trouillet-Assant S, Ferry T, Laurent F, Vandenesch F, Etienne J, et al. PSMs of Hypervirulent *Staphylococcus aureus* Act as Intracellular Toxins THAt Kill Infected Osteoblasts. PLoS ONE. 2013;8:e63176.
23. Shi S, Lu W, Gu X, Lin Q. Efficacy of Gentamicin-Loaded Chitosan Nanoparticles Against *Staphylococcus aureus* Internalized in Osteoblasts. Microb Drug Resist. 2024;30:196-202.
24. Trouillet-Assant S, Lelièvre L, Martins-Simões P, Alt V, Bénet T, Josse J, et al. Adaptive processes of *Staphylococcus aureus* isolates during the progression from acute to chronic bone and joint infections in patients. Cell Microbiol. 2016;18:1405-14.
25. Tuchscherr L, Kreis CA, Hoerr V, Kahl BC, Becker K, Löffler B. *Staphylococcus aureus* develops increased resistance to antibiotics by forming dynamic small colony variants during chronic osteomyelitis. J Antimicrob Chemother. 2016;71:438-48.
26. Valour F, et al. Delta-toxin production deficiency in *Staphylococcus aureus*: a diagnostic marker of bone and joint infection chronicity linked with osteoblast invasion and biofilm formation. Clin Microbiol Infect. 2015;21:568.e561-511.
27. Yang D, Wijenayaka AR, Solomon LB, Findlay DM, Bonewald LF, Atkins GJ. Novel insights into *Staphylococcus aureus* deep bone infections: The involvement of osteocytes. mBio. 2018;9:e00415-00418.
28. Zelmer AR, Starczak Y, Solomon LB, Kidd SP, Bonewald LF, Atkins GJ. Saos-2 cells cultured under hypoxia rapidly differentiate to an osteocyte-like stage and support intracellular infection by *Staphylococcus aureus*. Physiol Rep. 2023;11:e15851.
29. Zelmer AR, Yang D, Gunn NJ, Kidd SP, Bonewald LF, Atkins GJ. Osteomyelitis-relevant antibiotics at clinical concentrations show limited effectivity against acute and chronic intracellular *S. aureus* infections in osteocytes. Antimicrob Agents Chemother. 2024;68:e0080824.
30. Yang D, Wijenayaka AR, Solomon LB, Findlay DM, Bonewald LF, Atkins GJ. Novel Insights into*Staphylococcus aureus* Deep Bone Infections: the Involvement of Osteocytes. mBio. 2018;9:e00855-18.
31. Ji Z, Su J, et al. EGFR/FAK and c-Src signalling pathways mediate the internalisation of *Staphylococcus aureus* by osteoblasts. Cell Microbiol. 2020;22:e13240.
32. Tian L, Tan Z, Yang Y, Zhang Q, Zhao M, Shi D, et al. In situ sprayed hydrogels containing resiquimod-loaded liposomes reduce chronic osteomyelitis recurrence by intracellular bacteria clearance. Acta Biomater. 2023;169:209-27.
33. Sun Q, et al. Rapid bacterial evaluation beyond the colony forming unit in osteomyelitis. Elife. 2024;13:e91122.
34. Gunn NJ, Zelmer AR, Kidd SP, Solomon LB, Bonewald LF, Atkins GJ. A Human Osteocyte Cell Line Model for Studying *Staphylococcus aureus* Persistence in Osteomyelitis. Front Cell Infect Microbiol. 2021;11:781022.
35. Rodrigues Lopes I, Alcantara LM, Silva RJ, Pothier J, Pires R, Botelho L, et al. Microscopy-based phenotypic profiling of infection by *Staphylococcus aureus* clinical isolates reveals intracellular lifestyle as a prevalent feature. Nat Commun. 2022;13:7174.
36. Perez K, Patel R. Survival of *Staphylococcus epidermidis* in Fibroblasts and Osteoblasts. Infect Immun. 2018;86:e00040-18.
37. Fisher C, Patel R. Rifampin, Rifapentine, and Rifabutin Are Active against Intracellular Periprosthetic Joint Infection-Associated *Staphylococcus epidermidis*. Antimicrob Agents Chemother. 2021;65:e00366-21.
38. Diot A, et al. Investigation of a *Staphylococcus argenteus* Strain Involved in a Chronic Prosthetic-Joint Infection. Int J Mol Sci. 2020;21:5542.
39. Maali Y, et al. Pathophysiological Mechanisms of *Staphylococcus* Non-aureus Bone and Joint Infection: Interspecies Homogeneity and Specific Behavior of S. pseudintermedius. Front Microbiol. 2016;7:1063.
40. Hudek R, et al. *Cutibacterium acnes* is an intracellular and intra-articular commensal of the human shoulder joint. J Shoulder Elbow Surg. 2021;30:16-26.
41. Viel S, Rouzaire P, Laurent F, Lemaire A, Josse J, Alt V, et al. Activation of Natural Killer Cells in Patients with Chronic Bone and Joint Infection due to Staphylococci Expressing or Not the Small Colony Variant Phenotype. Int J Chronic Dis. 2014;2014:280653.
42. Botros M, et al. *Cutibacterium acnes* invades submicron osteocyte lacuno-canalicular networks following implant-associated osteomyelitis. J Orthop Res. 2024;42:2593-603.
43. Bosse MJ, Gruber HE, Ramp WK. Internalization of bacteria by osteoblasts in a patient with recurrent, long-term osteomyelitis. A case report. J Bone Joint Surg Am. 2005;87:1343-7.
44. Walter N, , et al. Intracellular *S. aureus* in Osteoblasts in a Clinical Sample from a Patient with Chronic Osteomyelitis-A Case Report. Pathogens. 2021;10:e1005063.
45. Dominiak BJ, Oxberry W, Chen PC. Identification of Prevotella in pedal osteomyelitis of a diabetic patient. Ultrastruct Pathol. 2003;27:271-83.
46. Gunn NJ, Kidd SP, Solomon LB, Bonewald LF, Atkins GJ. *Staphylococcus aureus* persistence in osteocytes: weathering the storm of antibiotics and autophagy/xenophagy. Front Cell Infect Microbiol. 2024;14:1403289.
47. Hamza T, Dietz M, Pham D, Alt V, Meindl A, Schnettler R, et al. Intra-cellular *Staphylococcus aureus* alone causes infection *in vivo*. Eur Cells Mater. 2013;25:341-50; discussion 350.
48. Miailhes P, Conrad A, Sobas C, Ferry T, Laurent F, Lelièvre L, et al. Coxiella burnetti prosthetic joint infection in an immunocompromised woman: iterative surgeries, prolonged ofloxacin-rifampin treatment and complex reconstruction were needed for the cure. Arthroplasty. 2021;3:43.
49. Ostfeld N, Islam MM, Jelocnik M, K. M. L. W. C. *Chlamydia* pecorum-Induced Arthritis in Experimentally and Naturally Infected Sheep. Vet Pathol. 2021;58:346-60.

Autores: Margarita Trobos, Alexander W Burns, Humberto González-Ugalde, Noreen J Hickok, Liliana A Morales-Laverde, Ebru Oral, Claudia Siverino

Autor de Correspondencia
Assoc. Prof. Margarita Trobos
Department of Biomaterials, Institute of Clinical Sciences
Sahlgrenska Academy
University of Gothenburg, Sweden
Email: margarita.trobos@biomaterials.gu.se

PREGUNTA 10. ¿Cómo deberían evaluarse las propiedades antimicrobianas de un implante ortopédico de titanio en estudios animales y clínicos?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: Las propiedades antimicrobianas de los implantes ortopédicos de titanio deben evaluarse utilizando una combinación de estudios *in vitro*, animales y clínicos para garantizar una evaluación exhaustiva de la seguridad y la eficacia. Los modelos animales proporcionan información crucial sobre las interacciones biológicas de los implantes con los tejidos huésped y los patógenos, mientras que los estudios en humanos validan la aplicabilidad clínica. Para evaluar eficazmente las propiedades antimicrobianas de los nuevos implantes ortopédicos de titanio, se recomienda utilizar una combinación de modelos animales bien establecidos, especies bacterianas apropiadas, dosis de inoculación estandarizadas y técnicas analíticas integrales.

NIVEL DE EVIDENCIA: Moderado. Si bien existe evidencia sustancial que respalda los métodos de evaluación, las variaciones en el diseño del estudio, las cepas bacterianas y las medidas de resultado requieren una mayor estandarización para fortalecer la traslación clínica.

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 98%, En desacuerdo 0%, Abstención 2% (Consenso Total).

JUSTIFICACIÓN

Criterios de Elegibilidad

Se realizó una revisión sistemática de la literatura en las bases de datos PubMed y Web of Science. Debido al inmenso número de artículos científicos sobre este tema (2.747 estudios examinados), esta revisión solo incluyó estudios publicados a partir de 2015, centrándose en modelos animales y estudios en humanos que evaluaran la efectividad y seguridad de los implantes antimicrobianos fabricados con titanio (Ti) y sus aleaciones. Se excluyeron los artículos de revisión, los estudios restringidos a modelos puramente *in vitro* o los que se centraban en dispositivos no ortopédicos o biomateriales distintos al Ti. Las intervenciones incluidas fueron recubrimientos antibacterianos, nanomateriales, modificaciones de superficie y sistemas de liberación localizada de fármacos aplicados a los implantes para prevenir la colonización bacteriana. Se excluyeron los tratamientos antimicrobianos que no formaban parte del implante en sí, como antibióticos sistémicos o locales, tratamientos de desbridamiento, sonicación in situ y estimulación eléctrica. Los resultados incluidos fueron la reducción de la formación de biofilms, la adhesión bacteriana, las tasas de infección, la resistencia a los antibióticos, la viabilidad bacteriana, la respuesta inflamatoria, el análisis histológico, los resultados clínicos y los resultados funcionales. Se excluyeron los estudios que solo evaluaron la biocompatibilidad o la osteointegración.

Introducción

Los implantes de Ti son ampliamente utilizados en ortopedia debido a su excelente biocompatibilidad, resistencia mecánica y resistencia a la corrosión. Sin embargo, las infecciones asociadas a implantes siguen siendo un desafío significativo, lo que requiere el desarrollo y la evaluación de estrategias antimicrobianas. Aunque los modelos *in vitro* proporcionan información inicial sobre la eficacia antimicrobiana, su relevancia es limitada debido a la ausencia de factores complejos del huésped, como las respuestas inmunitarias y la integración tisular. Esta revisión proporciona una visión general de los modelos animales y humanos recientes utilizados para evaluar las propiedades antimicrobianas de los implantes ortopédicos de Ti. De los 51 estudios analizados, 42 utilizaron modelos animales y 9 fueron estudios clínicos en humanos (2 ensayos controlados aleatorizados, 6 estudios de cohortes y 1 estudio de casos y controles).

Consideraciones Metodológicas

Modelos in vitro. Son esenciales para la detección preliminar de propiedades antimicrobianas antes de pasar a estudios *in vivo*. Los modelos *in vitro* permiten la experimentación controlada sobre la adhesión bacteriana, la formación de biofilms y la eficacia antimicrobiana en condiciones estandarizadas. Las técnicas *in vitro* comunes incluyen el recuento de unidades formadoras de colonias (CFU), la tinción de viabilidad (vivo/muerto), la tinción con cristal violeta y la obtención de imágenes mediante microscopía confocal de barrido láser (CLSM) y microscopía electrónica

de barrido (SEM). Los modelos *in vitro* proporcionan información valiosa sobre los mecanismos de acción de las estrategias antimicrobianas y ayudan a refinar las condiciones experimentales para estudios *in vivo* posteriores.

Tanto los modelos animales como los estudios en humanos desempeñan funciones cruciales en la evaluación de las propiedades antimicrobianas de los implantes ortopédicos de Ti.

Modelos animales de infección relacionada con dispositivos ortopédicos (ODRI) Estos ofrecen entornos controlados y la capacidad de realizar procedimientos invasivos, proporcionando información valiosa sobre la eficacia del implante en la prevención de infecciones. Las especies animales más utilizadas en los estudios son ratas, conejos y ratones, seleccionadas por su rentabilidad y relevancia traslacional para la fisiología ósea humana. Por ejemplo, las ratas Sprague-Dawley, los conejos Nueva Zelanda Blancos y los ratones C57BL/6 se emplean comúnmente debido a su tamaño manejable y a sus respuestas inmunitarias bien caracterizadas. Además, también se utilizaron ovejas y minicerdos.

El tamaño de muestra más común por grupo experimental fue n= 6 para conejos [1-5], n= 5−10 para ratas y ratones [6-8], y n= 7 para ovejas y minicerdos [9, 10]. El inóculo (**CFU** y volumen) utilizado para inducir la infección debe ser apropiado para la especie animal y la región corporal, y debe determinarse mediante estudios piloto preliminares. Un inóculo demasiado grande puede causar septicemia y muerte, mientras que una dosis demasiado pequeña puede eliminarse rápidamente. El tiempo necesario para el establecimiento de la infección varía según la especie y difiere de los casos clínicos. Factores como la virulencia de la cepa bacteriana y la fase de crecimiento influyen en la concentración de inóculo necesaria. La elección de la especie bacteriana depende de si el modelo se dirige a infecciones agudas (por ejemplo, *Staphylococcus aureus*) o crónicas (como, estafilococos coagulasa-negativos). Reflejando su relevancia clínica en las infecciones asociadas a implantes, *S. aureus* fue la especie bacteriana predominante utilizada para inducir infecciones (32 estudios), siendo las cepas más comunes THAC 25923 y Xen29. Las dosis de inoculación para inducir infecciones que imiten las condiciones clínicas varían, siendo las dosis típicas10^6-10^8 CFU/ml** para conejos y 10^6 CFU/ml** para ratas. La mayoría de los modelos animales han utilizado hasta ahora un inóculo inicial de cultivos bacterianos planctónicos. La introducción de biofilms maduras cultivadas en un implante como inóculo inicial en modelos animales podría optimizar aún más las estrategias de tratamiento antimicrobiano [11]. Además, la cinética de la remodelación ósea difiere entre animales y humanos, lo que afecta la duración del estudio. Para mejorar la relevancia clínica, la colocación del implante debe permitir el movimiento con carga de peso. Los tipos de implantes utilizados incluyen clavos, tornillos, agujas, pines y placas, a menudo colocados en el fémur o la tibia para simular escenarios clínicos [12-21]. Los resultados típicos medidos incluyen la viabilidad bacteriana, las tasas de infección, los resultados clínicos, la respuesta inflamatoria y la reducción de la formación de biofilms. Los puntos de tiempo de evaluación varían de 1 semana a varios meses, según el diseño del estudio. Por ejemplo, Zhou et al. (2017) evaluaron la reducción de la infección y los resultados clínicos durante 8 semanas en un modelo de conejo [5].

Estudios Clínicos. A menudo estos emplean diseños de cohortes o de ensayos controlados aleatorizados (ECA). Las poblaciones estudiadas incluyen pacientes sometidos a cirugías ortopédicas con mayor riesgo de infección, como aquellos con fracturas o reemplazos articulares. Al igual que en los estudios con animales, los estudios clínicos evaluaron recubrimientos cargados con antibióticos, recubrimientos de plata y otras estrategias antimicrobianas. Por ejemplo, se han investigado los clavos intramedulares recubiertos de gentamicina y las megaprótesis recubiertas de plata por su eficacia en la prevención de infecciones. Entre los 9 estudios en humanos evaluados, todos incluyeron mediciones de resultados clínicos, como las tasas de recuperación del paciente y las tasas de éxito del implante, 6 midieron las tasas de infección y 4 evaluaron los resultados funcionales, como los niveles de movilidad y dolor [22-30]. Los puntos de tiempo de evaluación van desde varios meses hasta años, siendo 1 año un punto de seguimiento común. Por ejemplo, DeMeo et al. (2023) informaron las tasas de infección y los resultados clínicos durante un período de seguimiento de 34,41 ±9,46 meses [22], y Kawano et al. (2023) informaron resultados clínicos y funcionales durante 5 años [24].

Evaluación de Resultados y Técnicas Analíticas

Los resultados comúnmente medidos para evaluar las propiedades antimicrobianas de los implantes ortopédicos de Ti en estudios animales y clínicos incluyen: *1) Viabilidad Bacteriana*, que evalúa la proporción de bacterias vivas frente a muertas para determinar la eficacia antimicrobiana del implante (eliminación o inhibición). Los métodos comunes incluyen tinción de viabilidad (vivo/muerto), ensayos metabólicos, cuantificación de ATP y qPCR dirigida a bacterias viables. *2) Adhesión Bacteriana*, que cuantifica la adhesión bacteriana inicial a la superficie del implante, indicando qué tan bien el implante previene la colonización. Los métodos de medición incluyen el recuento de CFU después de la separación de la superficie por sonicación y vórtex, microscopía de fluorescencia, tinción con cristal violeta e imágenes SEM. *3) Reducción en la Formación de Biofilms*, que mide la capacidad del implante para prevenir o reducir los biofilms maduros, que son difíciles de tratar. Los métodos para evaluar la formación de biofilms incluyen la tinción con cristal violeta para la cuantificación de la biomasa de los biofilms, CLSM, imágenes SEM y recuento de CFU a partir de la dispersión del biofilm. *4) Tasas de Infección*, que rastrean la incidencia y gravedad de las infecciones después de la implantación para evaluar la eficacia clínica de las estrategias antimicrobianas. Los métodos para medir las tasas de infección incluyen la observación clínica, los cultivos microbiológicos, las imágenes (rayos X, RMN) y los sistemas de puntuación de infección. *5) Resultados Clínicos*, que evalúan la salud del paciente y el éxito del implante, incluidas las tasas de recuperación y las tasas de complicaciones, la integración del implante y los resultados de salud generales después de la implantación. Los métodos de medición incluyen el examen

clínico, los resultados informados por el paciente (incluido el dolor, la calidad de vida), las imágenes y el seguimiento de las complicaciones. *6) Respuesta Inflamatoria,* que monitorea los marcadores inflamatorios locales y sistémicos para detectar infecciones o reacciones adversas causadas por el implante. Los métodos para evaluar la respuesta inflamatoria incluyen análisis de sangre, análisis histológico e inmunohistoquímica. Menos estudios incluyen *7) Resultados Funcionales* para evaluar el impacto del implante en la función física, asegurando que no perjudique el rendimiento [5, 26]. Los métodos de medición incluyen pruebas de movilidad, evaluaciones del rango de movimiento, escalas de dolor y sistemas de puntuación funcional. *8) Resistencia a los Antibióticos*, que evaluó si las bacterias expuestas al implante desarrollan resistencia a los antibióticos con el tiempo, lo que podría comprometer la eficacia antimicrobiana a largo plazo. Los métodos de medición incluyen pruebas de susceptibilidad a antibióticos (MIC), detección de genes de resistencia y secuenciación del genoma completo. Curiosamente, solo uno de los estudios evaluó la resistencia a los antibióticos después de la exposición al implante [22]. Los recientes avances tecnológicos han mejorado significativamente la evaluación de las propiedades antimicrobianas en los implantes ortopédicos. Tecnologías como la impresión 3D, la secuenciación genómica bacteriana y las imágenes *in vivo* en tiempo real han mejorado los modelos preclínicos, haciéndolos más capaces de imitar las infecciones clínicas y evaluar los materiales antimicrobianos. Estos avances permiten evaluaciones más precisas y detalladas de cómo interactúan los implantes con las bacterias y el sistema inmunitario del huésped. Entre los estudios con animales evaluados, las técnicas analíticas más frecuentemente empleadas fueron: *1)Histología* (90%) para examinar muestras de tejido en busca de signos de infección, inflamación e integración ósea (se usaron comúnmente tinciones H&E, Gram, Giemsa y ALP/TRAP); *2) Recuento de CFU* (67%) para cuantificar el número de bacterias viables en la superficie del implante y los tejidos circundantes; *3) Imágenes radiográficas (rayos X)* (36%) para evaluar la curación ósea, la integración del implante y los signos de infección. *4) Análisis hematológicos* (29%) de marcadores inflamatorios (recuento de glóbulos blancos (WBC), proteína C-reactiva (CRP), TNF-α e IL-6) para evaluar la respuesta inflamatoria del animal al implante; *5) Microtomografía computarizada (micro-CT)* (19%) para proporcionar imágenes 3D detalladas del hueso y la interfaz del implante; *6) Microscopía* para la visualización de biofilms en implantes o tejidos (*SEM* (17%), CLSM combinada con tinción Live/Dead® BacLightTM (7%)); *7) Imágenes de bioluminiscencia bacteriana* mediante IVIS (sistema de imágenes *in vivo*) para el seguimiento bacteriano (17%) [31, 32].

Estos métodos proporcionan evaluaciones cuantitativas y cualitativas de la ODRI y la respuesta del huésped. Entre los 9 estudios en humanos evaluados, los resultados se evaluaron típicamente mediante: *1) Cultivo bacteriano* de biopsias de tejido [22-29]; *2) Imágenes radiográficas* para la detección de osteointegración, estabilidad del implante y signos de aflojamiento y fallo del implante [22, 24-26]; *3) análisis hematológicos* que incluyen el recuento sanguíneo completo (CBC) emparejado con análisis de suero [23]; *4) uso de varios sistemas de puntuación/clasificación* (tales como la Puntuación de Cadera de Harris (HHS) [23], la clasificación de Gustilo–Anderson para fracturas abiertas [22], la puntuación de la Asociación Ortopédica Japonesa (JOA) para la columna vertebral [24], la puntuación de curación de heridas ASEPSIS25, la Escala Funcional de Extremidad Inferior (LEFS) [27], la Evaluación Breve de Satisfacción del Paciente (SAPS) [27] y la clasificación modificada de fallo del implante por Henderson et al.[30].

Estrategias Antimicrobianas

Los estudios revisados emplearon varias estrategias antimicrobianas, con mayor frecuencia recubrimientos cargados con antibióticos (como gentamicina, vancomicina) [33; 34], recubrimientos cargados con antisépticos (incluida plata [23, 24, 28], yodo [30], clorhexidina [35-37], o péptidos antimicrobianos (AMPs) [6, 38, 39].

Estos agentes antimicrobianos a menudo se cargaron en hidrogeles, nanopartículas o nanotubos unidos a la superficie del implante de Ti. La mayoría de las estrategias demostraron eficacia en la reducción de la colonización bacteriana y la prevención de la osteomielitis. Por ejemplo, los implantes recubiertos de gentamicina demostraron reducciones significativas en las tasas de infección y mejores resultados clínicos tanto en estudios animales como en humanos [27; 40]. De manera similar, los implantes recubiertos de plata demostraron propiedades antimicrobianas efectivas y redujeron la colonización bacteriana sin efectos adversos significativos [41, 42]. Los sistemas de liberación localizada de fármacos, que utilizan polímeros biodegradables y nanomateriales [43-45], proporcionaron una liberación sostenida de agentes antimicrobianos, reduciendo eficazmente la formación de biofilms y las tasas de infección.

En *estudios con animales*, se han evaluado varias estrategias antimicrobianas por su efectividad en la prevención de infecciones asociadas con implantes ortopédicos de Ti. Por ejemplo, el uso de recubrimientos de cloruro de hidroxipropiltrimetil amonio quitosano en Ti exhibió un control significativo de la infección y una reducción de la destrucción ósea [46]. De manera similar, los recubrimientos de nanofibras poliméricas cargadas con antibióticos redujeron significativamente las tasas de infección y la formación de biofilms al tiempo que mejoraron la integración del implante [33]. La combinación de gentamicina y vancomicina en capas de óxido nanotubular dopadas con flúor y fósforo disminuyó eficazmente la densidad del biofilm sin comprometer la integración del implante [47]. Otros estudios destacaron los beneficios de las modificaciones de la superficie, como la incorporación de AMPs y secuencias angiogénicas, que redujeron las tasas de infección y los marcadores inflamatorios al tiempo que mejoraron la vascularización y la osteointegración [48]. Además, el uso de hidrogeles de oligoampicilina previno la colonización bacteriana y la osteomielitis [49], y un recubrimiento a base de AMP (OP-145) redujo significativamente la colonización bacteriana y los signos de infección [50]. Otras estrategias, incluidos los recubrimientos de plata, los nanotubos de TiO2 jerárquicos

cargados con cinamaldehído y los hidrogeles cargados con antibióticos, también demostraron resultados prometedores en la reducción de las tasas de infección, la formación de biofilms y las respuestas inflamatorias [1, 51, 52].

Los *estudios en humanos* también han explorado la eficacia de diferentes recubrimientos antimicrobianos en implantes ortopédicos. Por ejemplo, los clavos recubiertos de gentamicina fueron efectivos para curar infecciones, promover la curación ósea y producir buenos resultados informados por los pacientes [27]. De manera similar, los recubrimientos de hidrogel cargados con antibióticos redujeron significativamente las infecciones relacionadas con fracturas, aunque se observaron algunas complicaciones [22]. Los implantes recubiertos de plata demostraron tasas de infección más bajas y mejores resultados clínicos en varios estudios [24, 29]. El uso de implantes de Ti recubiertos de yodo reveló una menor incidencia de infecciones tanto en casos de prevención como de tratamiento, sin una diferencia significativa entre los reemplazos en una etapa y en dos etapas [30]. Además, los hidrogeles reabsorbibles cargados con antibióticos redujeron significativamente las infecciones del sitio quirúrgico sin eventos adversos [25].

En conclusión, la mayoría de los estudios revisados demuestran una reducción estadística y clínicamente significativa en las tasas de infección y una mejora en los resultados clínicos con recubrimientos antimicrobianos en implantes ortopédicos de Ti. Un enfoque de múltiples niveles que incorpore estudios *in vitro*, animales y clínicos es esencial para evaluar las propiedades antimicrobianas de los implantes ortopédicos de Ti, garantizando la seguridad y la eficacia antes de la introducción clínica. Los recientes avances tecnológicos han mejorado aún más el proceso de evaluación, permitiendo evaluaciones más precisas y detalladas. La mayoría de los modelos animales de ODRI utilizan *S. aureus*, pero los futuros estudios también deberían incluir otras bacterias clínicamente relevantes, incluidos los estafilococos coagulasa-negativos, una causa común de infecciones crónicas. La investigación futura también debería centrarse en el desarrollo de resistencia a los antibióticos, que puede comprometer significativamente la eficacia a largo plazo de las estrategias antimicrobianas en los implantes ortopédicos. Esto mejorará el éxito y la sostenibilidad generales de los tratamientos antimicrobianos en aplicaciones ortopédicas.

REFERENCIAS

1. Fabritius M, Al-Munajjed AA, Freytag C, Reischl I, Hitzl W, Prantl L, et al. Antimicrobial Silver Multilayer Coating for Prevention of Bacterial Colonization of Orthopedic Implants. Materials. 2020;13:2104.
2. Hazer DB, Sakar M, Dere Y, Kose N, Ozturk K, Cetinkaya E. Antimicrobial Effect of Polymer-Based Silver Nanoparticle Coated Pedicle Screws: Experimental Research on Biofilm Inhibition in Rabbits. Spine. 2016;41:E323-9.
3. Lee JW, Cho JA, Roh YJ, Jeong E, Lee JS, Han Y, et al. Antibacterial Immunonegative Coating with Biocompatible Materials on a Nanostructured Titanium Plate for Orthopedic Bone Fracture Surgery. Biomater Res. 2024;28:38.
4. Miller RJ, Thompson JM, Zheng J, Ghimire A, Chen FY, Skelly JD, et al. *In vivo* Bioluminescence Imaging in a Rabbit Model of Orthopaedic Implant-Associated Infection to Monitor Efficacy of an Antibiotic-Releasing Coating. J Bone Joint Surg Am. 2019;101:e56.
5. Zhou L, Liu QB, Zhou ZH, Yang XL, Hu Y, Luo ZP. Efficacy of tobramycin-loaded coating K-wire in an open-fracture rabbit model contaminated by *Staphylococcus aureus*. Int J Clin Exp Med. 2017;10:6004-16.
6. Liu DQ, Xi YJ, Yu SZ, Feng XM, Yan YT, Wu HL, et al. A polypeptide coating for preventing biofilm on implants by inhibiting antibiotic resistance genes. Biomaterials. 2023;293:122007.
7. Peng ZX, Ao HY, Wang L, Huang Y, Fan C, Yang B, et al. Quaternised chitosan coating on titanium provides a self-protective surface THAt prevents bacterial colonisation and implant-associated infections. RSC Adv. 2015;5:54304-11.
8. Zhou W, Peng X, Ma Y, Zhang Q, Wang F, Yu Z, et al. Two-staged time-dependent materials for the prevention of implant-related infections. Acta Biomater. 2020;101:128-40.
9. Jaekel C, Windolf CD, Sager M, Flöer M, Krüger A, Alt V, et al. Plate-associated localized osteitis in mini-pig by biofilm-forming Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): establishment of a novel experimental model. Eur J Trauma Emerg Surg. 2022;48:3279-85.
10. Williams DL, Epperson RT, Ashton NN, Rylander MN, Williams KP, Visser G, et al. *In vivo* analysis of a first-in-class tri-alkyl norspermidine-biaryl antibiotic in an active release coating to reduce the risk of implant-related infection. Acta Biomater. 2019;93:36-49.
11. Williams DL, Costerton JW. Using biofilms as initial inocula in animal models of biofilm-related infections. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2012;100:1163-9.
12. Zhang B, Braun BM, Skelly JD, Tsuchiya T, Roco I, Wu Z, et al. Significant Suppression of *Staphylococcus aureus* Colonization on Intramedullary Ti6Al4V Implants Surface-Grafted with Vancomycin-Bearing Polymer Brushes. ACS Appl Mater Interfaces. 2019;11:28641-7.
13. Dong JL, Zhou W, Hu XL, Xie YX, Zhu ZQ, Wang H, et al. Honeycomb-inspired ZIF-sealed interface enhances osseointegration via anti-infection and osteoimmunomodulation. Biomaterials. 2024;307:122513.
14. Park J, Jeong D, Lee Y, Jin T, Im W, Lee M, et al. Bioactivated lubricant-infused surfaces: A dual-action strategy for enhancing osseointegration and preventing implant-associated infections. Chem Eng J. 2024;482:148465.
15. Ren H, Wang P, Huang HW, Zhang B, Liu J, Ma YN, et al. N-Halaminated spermidine-containing polymeric coating enables titanium to achieve dual functions of antibacterial and osseointegration. Biomater Sci. 2024;12:2648-59.
16. Li ZH, Jin LQ, Yang XJ, Liu JJ, Su JJ, Zhu XL, et al. A multifunctional ionic liquid coating on 3D-Printed prostheses: Combating infection, promoting osseointegration. Mater Today Bio. 2024;26:100827.
17. Zhang LJ, Yang YR, Xiong YH, Chen Z, Liu Y, Li G, et al. Infection-responsive long-term antibacterial bone plates for open fracture therapy. Bioact Mater. 2023;25:1-12.
18. Metsemakers WJ, Emanuel N, Cohen O, Haser R, Senderey-Berkovitz T, Efrat M, et al. A doxycycline-loaded polymer-lipid encapsulation matrix coating for the prevention of implant-related osteomyelitis due to doxycycline-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Control Release. 2015;209:47-56.
19. Wang K, Gao MZ, Fan JC, Li XW, Li ZL, Fan H, et al. SrTiO$_3$ Nanotube-Based "Pneumatic Nanocannon" for On-Demand Delivery of Antibacterial and Sustained Osseointegration Enhancement. ACS Nano. 2024;18:16011-26.
20. Wang YK, Teng WSY, Zhang ZJ, Feng ZT, Li Z, Huang LL, et al. A trilogy antimicrobial strategy for multiple infections of orthopedic implants throughout their life cycle. Bioact Mater. 2021;6:1853-66.
21. Skelly JD, Chen FY, Chang SY, Chen ZL, Lin TY, Huang LL, et al. Modulating On-Demand Release of Vancomycin from Implant Coatings via Chemical Modification of a Micrococcal Nuclease-Sensitive Oligonucleotide Linker. ACS Appl Mater Interfaces. 2023;15:37174-83.
22. De Meo D, Cera G, Pica R, Carcuro S, Maccauro G, Liuzza S, et al. Antibiotic-Loaded Coatings to Reduce Fracture-Related Infections: Retrospective Case Series of Patients with Increased Infectious Risk. Antibiotics (Basel). 2023;12:1248.
23. Eto S, Kawano S, Someya S, Matsuzaki T, Natsuda S, Nakashima Y, et al. First Clinical Experience With Thermal-Sprayed Silver Oxide-Containing Hydroxyapatite Coating Implant. J Arthroplasty. 2016;31:1498-503.
24. Kawano S, Ueno M, Fujii M, Ishida Y, Eto S, Nakamura H, et al. Case Series of Silver Oxide-Containing Hydroxyapatite Coating in Antibacterial Cementless Total Hip Arthroplasty: Clinical Results of 50 Cases at 5-Year Follow-Up. Arthroplasty Today. 2023;19:100889.
25. Malizos K, Blauth M, Danita A, Diefenbeck M, Duda GN, Krikler S, et al. Fast-resorbable antibiotic-loaded hydrogel coating to reduce post-surgical infection after internal osteosynthesis: a multicenter randomized controlled trial. J Orthop Traumatol. 2017;18:159-69.
26. Moghaddam A, Weis J, Haubruck P, Diefenbeck M, Hinz B, Rauschmann M. Evaluation of the clinical use of the ETN PROtect$^{\text{\textregistered}}$ in non-union therapy. Injury. 2019;50:32-9.
27. Pujol O, Vicente M, Castellanos S, Nocito G, Cugat R, Gelber PE. Preliminary Outcomes of a Staged Percutaneous Retrograde Prefabricated Gentamicin-coated Intramedullary Nail to Manage Complications after Ankle Fusion through Tibial Bone Transport. Strategies Trauma Limb Reconstr. 2023;18:155-62.
28. Schoder S, Lafuente M, Alt V. Silver-coated versus uncoated locking plates in subjects with fractures of the distal tibia: a randomized, subject and observer-blinded, multi-center non-inferiority study. Trials. 2022;23:806.
29. Scoccianti G, Frenos F, Beltrami G, Iaccheri S, Caldora P, Capanna R. Levels of silver ions in body fluids and clinical results in silver-coated megaprostheses after tumour, trauma or failed arthroplasty. Injury. 2016;47 Suppl 4:S11-6.
30. Shirai T, Tsuchiya H, Terauchi R, Ikegami Y, Tanaka Y. Iodine-supported implants in prevention and treatment of surgical site infections for compromised hosts: a prospective study. J Orthop Surg Res. 2023;18:782.

31. Li FP, Huang K, Wang JB, Xiao ZH, Zhu YZ, Sun S, et al. A dual functional Ti-Ga alloy: inhibiting biofilm formation and osteoclastogenesis differentiation via disturbing iron metabolism. Biomater Res. 2023;27:100.
32. Stavrakis AI, Zhu SW, Hegde V, Kenner B, Nandi S, Stoodley P, et al. *In vivo* Efficacy of a "Smart" Antimicrobial Implant Coating. J Bone Joint Surg Am. 2016;98:1183-9.
33. Ashbaugh AG, Jiang XS, Zheng J, Chen FY, Huang LL, Schaer TP, et al. Polymeric nanofiber coating with tunable combinatorial antibiotic delivery prevents biofilm-associated infection *in vivo*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2016;113:E6919-28.
34. Diefenbeck M, Schrader C, Gras F, Mückley T, Witte F, Fankhauser C, et al. Gentamicin coating of plasma chemical oxidized titanium alloy prevents implant-related osteomyelitis in rats. Biomaterials. 2016;101:156-64.
35. Perni S, Alotaibi HF, Yergeshov AA, Khang W, Prole K, Auvray F, et al. Long acting anti-infection constructs on titanium. J Control Release. 2020;326:91-105.
36. Riool M, Dirks AJ, Jaspers V, van Wamel WJB, Crijns F, van der Wal BC, et al. A chlorhexidine-releasing epoxy-based coating on titanium implants prevents *Staphylococcus aureus* experimental biomaterial-associated infection. Eur Cell Mater. 2017;33:143-57.
37. Shiels SM, Bouchard M, Wang H, Dasa V, Berrigan J, Linder T, et al. Chlorhexidine-releasing implant coating on intramedullary nail reduces infection in a rat model. Eur Cell Mater. 2018;35:178-94.
38. Dong JY, Chen FM, Yao YY, Fan B, Yu B, He XM, et al. Bioactive mesoporous silica nanoparticle-functionalized titanium implants with controllable antimicrobial peptide release potentiate the regulation of inflammation and osseointegration. Biomaterials. 2024;305:122467.
39. Zhou H, Ren YL, Zou KX, Zhang Y, Liu W, Li CY, et al. Efficacy of pH-Responsive Surface Functionalized Titanium Screws in Treating Implant-associated *S. aureus* Osteomyelitis with Biofilms Formation. Adv Healthc Mater. 2024;13:e2400346.
40. Neut D, Dijkstra RJB, Thompson JI, Vriezekolk JE, Vogely HC, van der Mei HC. A biodegradable gentamicin-hydroxyapatite-coating for infection prophylaxis in cementless hip prostheses. Eur Cell Mater. 2015;29:42-56.
41. Kose N, Çaylak R, Peksen C, Keles S, Ozturk K, Hazer B. Silver ion doped ceramic nano-powder coated nails prevent infection in open fractures: *In vivo* study. Injury. 2016;47:320-4.
42. Yang N, Wu T, Li M, Xu Y, Zhang X, Huang X, et al. Silver-quercetin-loaded honeycomb-like Ti-based interface combats infection-triggered excessive inflammation via specific bactericidal and macrophage reprogramming. Bioact Mater. 2025;43:48-66.
43. Ghimire A, Skelly JD, Song J. Micrococcal-Nuclease-Triggered On-Demand Release of Vancomycin from Intramedullary Implant Coating Eradicates *Staphylococcus aureus* Infection in Mouse Femoral Canals. ACS Cent Sci. 2019;5:1929-36.
44. Woelfle UC, Briggs T, Bhattacharyya S, Cernan N, Hixson G, Witte F, et al. Dual local drug delivery of vancomycin and farnesol for mitigation of mrsa infection *in vivo* - a pilot study. Eur Cell Mater. 2020;40:38-57.
45. Yang Y, Ao HY, Yang SB, Li C, Wang L, Huang Y, et al. *In vivo* evaluation of the anti-infection potential of gentamicin-loaded nanotubes on titania implants. Int J Nanomedicine. 2016;11:2223-34.
46. Ao HY, Yang SB, Nie BE, Song HB, Wang L, Huang Y, et al. Improved antibacterial properties of collagen I/hyaluronic acid/quaternized chitosan multilayer modified titanium coatings with both contact-killing and release-killing functions. J Mater Chem B. 2019;7:1951-61.
47. Auñón A, Esteban J, Doadrio AL, Madoz P, Rodríguez-Calvo A, Maquieira S, et al. *Staphylococcus aureus* Prosthetic Joint Infection Is Prevented by a Fluorine- and Phosphorus-Doped Nanostructured Ti-6Al-4V Alloy Loaded With Gentamicin and Vancomycin. J Orthop Res. 2020;38:588-97.
48. Chen JJ, Hu GS, Li TJ, Zhang LJ, Wu JH, Yuan JY, et al. Fusion peptide engineered "statically-versatile" titanium implant simultaneously enhancing anti-infection, vascularization and osseointegration. Biomaterials. 2021;264:120412.
49. Chen FY, Skelly JD, Chang SY, Chen ZL, Lin TY, Huang LL, et al. Triggered Release of Ampicillin from Metallic Implant Coatings for Combating Periprosthetic Infections. ACS Appl Mater Interfaces. 2024;16:24421-30.
50. de Breij A, Riool M, Kwakman PHS, van Wamel WJB, Vink C, van der Wal BC, et al. Prevention of *Staphylococcus aureus* biomaterial-associated infections using a polymer-lipid coating containing the antimicrobial peptide OP-145. J Control Release. 2016;222:1-8.
51. Ma ZR, Zhao Y, Xu Z, Wu HX, Li N, Zhai ZZ, et al. 3D-printed porous titanium rods equipped with vancomycin-loaded hydrogels and polycaprolactone membranes for intelligent antibacterial drug release. Sci Rep. 2024;14:1416.
52. Mao Y, Xie XR, Sun GX, Wu LY, Chen YJ, Yan B, et al. Multifunctional Prosthesis Surface: Modification of Titanium with Cinnamaldehyde-Loaded Hierarchical Titanium Dioxide Nanotubes. Adv Healthc Mater. 2024;13:e2303038.

Autores: Austin E. Wininger, Saad Tarabichi, Konstantinos Malizos, Minjae Lee, Nicolas S. Piuzzi, Alison Klika, Stephen L. Kates, Antonia F. Chen, Joshua S. Bingham

Autor de Correspondencia
Austin E. Wininger, MD
Mayo Clinic Arizona
Adult Reconstruction Fellow
Email: austin.wininger@gmail.com

PREGUNTA 11. ¿Cuáles son el conjunto mínimo de datos para estudiar las infecciones ortopédicas?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: Parece haber una marcada variación en la notificación de datos con respecto a las infecciones ortopédicas y, como resultado, existe una comparabilidad limitada en toda la literatura ortopédica. Los estudios futuros deben esforzarse por incluir un mínimo de 300 pacientes por grupo de comparación con un seguimiento mínimo de 1 año y datos clave sobre las características del paciente (p. ej., factores sistémicos y comprometedores de la extremidad), factores operatorios (p. ej., indicación, necesidad de transfusión, tipo de implantes utilizados), criterios diagnósticos (p. ej., estudios de suero y líquido sinovial, cultivos operatorios) y resultados postoperatorios (p. ej., medidas de resultado informadas por el paciente).

NIVEL DE EVIDENCIA: Opinión de Expertos.

VOTO DEL DELEGADO: De Acuerdo 80%, En Desacuerdo 7%, Abstención 13% (Consenso Fuerte).

JUSTIFICACIÓN

La infección sigue siendo una causa importante de morbilidad y mortalidad en pacientes sometidos a procedimientos ortopédicos [1]. En los últimos años, hemos sido testigos de un aumento en el uso de grandes conjuntos de datos, como los datos administrativos, para estudiar las infecciones ortopédicas. Si bien estos conjuntos de datos contienen un gran número de pacientes, a menudo carecen de la granularidad necesaria para estudiar cómo los diferentes protocolos de manejo de infecciones impactan en los resultados del tratamiento en ortopedia [2-6]. Además, todavía existe una marcada variabilidad en la notificación de los datos de registro, lo que resulta en grandes desafíos tanto al agregar datos como al comparar resultados entre diferentes estudios [7]. Para investigar adecuadamente las infecciones ortopédicas, una definición más clara del conjunto mínimo de datos es primordial para asegurar la recopilación de datos clínicos precisos que sean trasladables a mejoras significativas en la atención al paciente [8,9]. Esto se puede estratificar en variables preoperatorias, intraoperatorias y postoperatorias. Dado que las tasas de infección oscilan entre aproximadamente el 1 y el 5 % después de cirugías ortopédicas con implantes, puede ser razonable proponer que se necesita un tamaño de muestra mínimo de 300 pacientes por grupo de comparación para reducir la probabilidad de análisis con potencia insuficiente y errores de tipo II [10].

La optimización del huésped es un factor preoperatorio importante con respecto a la prevención y el tratamiento de las infecciones ortopédicas [11-14]. La clasificación de McPherson se ha utilizado durante mucho tiempo en pacientes con infección articular periprotésica (IAP) de cadera y rodilla, y destaca la importancia del tipo de infección (postoperatoria temprana, hematógena o crónica tardía), los factores sistémicos comprometedores del huésped y los factores locales comprometedores de la extremidad [15,16]. Las características del paciente como la obesidad, la diabetes, la artritis inflamatoria, los medicamentos inmunosupresores, la anemia, la enfermedad renal, la desnutrición, los trastornos de salud mental, el consumo de nicotina, el abuso de alcohol y el estado de infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) también son factores de riesgo modificables bien reconocidos en esta población de pacientes [17-19]. También se ha demostrado que los valores de laboratorio preoperatorios como la hemoglobina A1c, la 25-hidroxivitamina D, la albúmina, la prealbúmina, la proteína total, el recuento total de linfocitos, el hierro y la transferrina son predictores de infección en pacientes sometidos a procedimientos ortopédicos [20-23]. También es importante identificar si un paciente ha tenido una cirugía previa, tiene antecedentes de infección en el mismo sitio quirúrgico o está recibiendo supresión antibiótica crónica. Como mínimo, se deben informar la edad, el sexo, el índice de masa corporal, el historial quirúrgico relevante y las comorbilidades médicas comprometedores del paciente. La inclusión de factores socioeconómicos individualmente o a través de un enfoque integral como el Índice de Privación de Área (ADI) en los Estados Unidos, los grandes conjuntos de datos que estudian la infección pueden revelar disparidades críticas en la utilización de la atención médica y la recuperación. Abordar estos factores es esencial para comenzar a comprender y mitigar la influencia de la

desventaja socioeconómica en las complicaciones postoperatorias y la infección de la cirugía ortopédica [24-30].

También se ha demostrado que las características operatorias son un factor en el desarrollo de infecciones ortopédicas [13,31-33]. Algunos aspectos técnicos de la cirugía, como el manejo de los tejidos blandos, el manejo de la herida, el tráfico en la sala de operaciones y la limpieza de los instrumentos, son difíciles de estandarizar y reportar. Sin embargo, otras variables, como la indicación quirúrgica, el tiempo operatorio, la pérdida de sangre estimada, la necesidad de transfusión, el tipo general de implantes utilizados (p. ej., componentes primarios frente a revisión) y la duración de la estancia, se registran de forma rutinaria en la historia clínica electrónica y deben incluirse en el conjunto mínimo de datos para las infecciones ortopédicas.

Los estudios de laboratorio de suero y líquido sinovial, en combinación con los hallazgos y cultivos operatorios, se utilizan para diagnosticar infecciones ortopédicas [34]. Los datos microbiológicos y la identificación de patógenos, cuando están disponibles, son valiosos y pueden afectar el plan de tratamiento médico y quirúrgico [35,36]. Los estudios deben ser transparentes e informar los datos reales a partir de los cuales se realiza el diagnóstico de una infección ortopédica (p. ej., utilizando los criterios de la Reunión de Consenso Internacional de 2018 o de la Sociedad Europea de Infección Ósea y Articular de 2021 para IPA de cadera y rodilla) [37,38].

Por último, existe una escasez de literatura sobre los criterios postoperatorios utilizados para definir el éxito del tratamiento de las infecciones ortopédicas [39]. Los resultados para el manejo de la infección ortopédica incluyen el control de la infección sin terapia antibiótica continuada, el control de la infección con terapia antibiótica supresora, el espaciador retenido, la necesidad de reoperación y la muerte. La necesidad de reoperación podría ser por razones asépticas o sépticas, y el tiempo hasta la reoperación o la muerte es importante de señalar, ya que la reoperación o la muerte menos de 1 año después del tratamiento de una infección ortopédica es más probable que represente un fracaso del tratamiento [40,41]. Se desconoce el seguimiento mínimo para informar los resultados del tratamiento de las infecciones ortopédicas, pero la literatura reciente ha sugerido un seguimiento mínimo de un año después del tratamiento para la infección periprotésica articular y la infección relacionada con fracturas de cadera y rodilla, y hasta 5 años para determinar la 'remisión' de la IPA [42-44]. Con el énfasis actual en la atención médica centrada en el paciente y basada en el valor, las medidas de resultado informadas por el paciente (PROMs) se han convertido en un componente importante [45,46].

Existen PROMs de salud general y específicos de la afección, que pueden combinarse para pintar una imagen más completa del resultado general, ya que la erradicación de la infección no siempre equivale a la satisfacción del paciente. Por lo tanto, los pacientes deben ser seguidos durante un mínimo de un año después del tratamiento de una infección ortopédica con las PROMs rastreadas preoperatoria y postoperatoriamente. Un enfoque estandarizado para reportar las PROMs es crítico en este contexto para asegurar que los datos recopilados reflejen verdadera relevancia clínica. Orr et al. enfatizan que un modelo de atención médica impulsado por el valor requiere un análisis e informe precisos de las PROMs para identificar a los pacientes que no cumplen con los umbrales clínicos. El uso del "cociente de relevancia clínica", que evalúa los resultados basándose en el MCID y PASS, proporciona una medida imparcial de la efectividad del tratamiento al centrarse en la proporción de pacientes que logran mejoras significativas, mejorando así la utilidad de las PROMs en la evaluación de la satisfacción y el éxito en la atención ortopédica [47].

Tabla 1. Criterios para el conjunto mínimo de datos para estudiar infecciones ortopédicas.

Tamaño de la Muestra	300 pacientes por grupo de comparación
Factores del Paciente	Edad
	Sexo
	Índice de masa corporal
	Historial quirúrgico relevante
	Factores comprometedores del huésped (p. ej., diabetes, enfermedad autoinmune, medicación inmunosupresora, enfermedad renal o desnutrición)
	Factores comprometedores de la extremidad (p. ej., pérdida de tejido blando o insuficiencia vascular)
	Factores socioeconómicos (p. ej., índice de privación de área)
Factores Quirúrgicos	Indicación quirúrgica (p. ej., electiva frente a traumática)
	Tiempo operatorio
	Pérdida de sangre estimada
	Necesidad de transfusión
	Tipo de implantes utilizados (p. ej., componentes primarios frente a revisión)
	Duración de la estancia
Criterios Diagnósticos	Estudios de laboratorio séricos (VSG, PCR)
	Análisis de líquido sinovial (si corresponde)
	Datos de cultivo operatorio
Resultados	Mínimo 1 año de seguimiento
	PROMs de salud general y específicos de la afección

PCR = proteína C reactiva, VSG = velocidad de sedimentación globular, PROMs = medidas de resultado informadas por el paciente

En conclusión, con el conocimiento actual y la evidencia disponible sobre las infecciones ortopédicas, es razonable proponer que las variables mencionadas comprenden el

conjunto mínimo de datos para los estudios relacionados con la infección ortopédica (Tabla 1). En el futuro, la nueva literatura debería esforzarse por informar estos datos para maximizar la generalización y la comparabilidad en toda la literatura ortopédica.

REFERENCIAS

1. Lee C, Mayer E, BernTHAl N, Wenke J, O'Toole RV. Orthopaedic infections: what have we learned? OTA Int. 2023 May 4;6(2 Suppl):e250.
2. Lethbridge LN, Richardson CG, Dunbar MJ. Measuring Surgical Site Infection From Linked Administrative Data Following Hip and Knee Replacement. J Arthroplasty. 2020 Feb;35(2):528–33.
3. Jin X, et al. Estimating incidence rates of periprosthetic joint infection after hip and knee arthroplasty for osteoarthritis using linked registry and administrative health data. Bone Joint J. 2022 Sep;104-B(9):1060–6.
4. Kamp MC, Liu WY, Goosen JHM, et al. Regional Prosthetic Joint Infection Working Group. Mismthah in Capture of Periprosthetic Joint Infections Between the Dutch Arthroplasty Register (LROI) and a Detailed Regional Periprosthetic Joint Infection Registry. J Arthroplasty. 2022 Jan;37(1):126–31.
5. Springer BD, Cahue S, Etkin CD, et al. Infection burden in total hip and knee arthroplasties: an international registry-based perspective. Arthroplast Today. 2017 Jun 20;3(2):137–40.
6. Taherpour N, Mehrabi Y, Seifi A, et al. Epidemiologic characteristics of orthopedic surgical site infections and under-reporting estimation of registries using capture-recapture analysis. BMC Infect Dis. 2021 Jan 4;21(1):3.
7. Chalmers I, Glasziou P. Avoidable waste in the production and reporting of research evidence. Lancet. 2009 Jul 4;374(9683):86–9.
8. Gargon E, Gurung B, Medley N, et al. Choosing important health outcomes for comparative effectiveness research: a systematic review. PLoS One. 2014 Jun 16;9(6):e99111.
9. Svensson-Ranallo PA, Adam TJ, Sainfort F. A framework and standardized methodology for developing minimum clinical datasets. AMIA Jt Summits Transl Sci Proc. 2011;2011:54–8.
10. Kim J, Seo BS. How to calculate sample size and why. Clin Orthop Surg. 2013 Sep;5(3):235–42.
11. Asadi K, Tehrany PM, Salari A, et al. A. Prevalence of surgical wound infection and related factors in patients after long bone surgery: A systematic review and meta-analysis. Int Wound J. 2023 Dec;20(10):4349–63.
12. Chen AF, Brown GA. Management of Surgical Site Infections. J Am Acad Orthop Surg. 2020 Mar 15;28(6):e238–e41.
13. Tarabichi S, Parvizi J. Prevention of surgical site infection: a ten-step approach. Arthroplasty. 2023 Apr 8;5(1):21.
14. Zaboli Mahdiabadi M, Farhadi B, et al. Prevalence of surgical site infection and risk factors in patients after knee surgery: A systematic review and meta-analysis. Int Wound J. 2024 Feb;21(2):e14765.
15. Amanatullah D, Dennis D, Oltra EG, et al. Hip and Knee Section, Diagnosis, Definitions: Proceedings of International Consensus on Orthopedic Infections. J Arthroplasty. 2019 Feb;34(2S):S329–S37.
16. McPherson EJ, Woodson C, Holtom P, et al. Periprosthetic total hip infection: outcomes using a staging system. Clin Orthop Relat Res. 2002 Oct;(403):8–15.
17.McLaren AC, Lundy DW. AAOS Systematic Literature Review: Summary on the Management of Surgical Site Infections. J Am Acad Orthop Surg. 2019 Aug 15;27(16):e717–e20.
18.Perry KI, Hanssen AD. Orthopaedic Infection: Prevention and Diagnosis. J Am Acad Orthop Surg. 2017 Feb;25 Suppl 1:S4–S6.
19.Tubb CC, Polkowksi GG, Krause B. Diagnosis and Prevention of Periprosthetic Joint Infections. J Am Acad Orthop Surg. 2020 Apr 15;28(8):e340–e8.
20. Antonelli B, Chen AF. Reducing the risk of infection after total joint arthroplasty: preoperative optimization. Arthroplasty. 2019 Aug 1;1(1):4.
21. Birinci M, Hakyemez ÖS, Geçkalan MA, et al. Effect of Vitamin D Deficiency on Periprosthetic Joint Infection and Complications After Primary Total Joint Arthroplasty. J Arthroplasty. 2024 Sep;39(9S2):S151–S7.
22. Shohat N, Goswami K, Tarabichi M, Sterbis E, Tan TL, Parvizi J. All Patients Should Be Screened for Diabetes Before Total Joint Arthroplasty. J Arthroplasty. 2018 Jul;33(7):2057–61.
23. Tarabichi M, Shohat N, Kheir MM, et al. Determining the Threshold for HbA1c as a Predictor for Adverse Outcomes After Total Joint Arthroplasty: A Multicenter, Retrospective Study. J Arthroplasty. 2017 Sep;32(9S):S263–S7.e1.
24. Benyamini B, Hadad MJ, Pasqualini I, Khan ST, Jin Y; Cleveland Clinic Adult Reconstruction Research; Piuzzi NS. Neighborhood Socioeconomic Disadvantage May Influence 1-Year Patient-Reported Outcome Measures After Total Hip Arthroplasty. J Arthroplasty. 2024 Oct 16;S0883-5403(24)01020–9.
25. Gordon AM, Ng MK, Elali F, Piuzzi NS, Mont MA. A Nationwide Analysis of the Impact of Socioeconomic Status on Complications and Health Care Utilizations After Total Knee Arthroplasty Using the Area Deprivation Index: Consideration of the Disadvantaged Patient. J Arthroplasty. 2024 Sep;39(9):2166–72.
26. Hadad MJ, Pasqualini I, Klika AK, Jin Y, Deren ME, Krebs VE, et al. High Area Deprivation Index is Associated With Not Achieving the Patient-acceptable Symptom State After TKA. Clin Orthop Relat Res. 2024 Aug 1;482(8):1428–38.
27. Hadad MJ, Rullán-Oliver P, et al.. Racial Disparities in Outcomes After THA and TKA Are Substantially Mediated by Socioeconomic Disadvantage Both in Black and White Patients. Clin Orthop Relat Res. 2023 Feb 1;481(2):254–64.
28. Jevnikar BE, Huffman N, Pasqualini I, et al.. Neighborhood Socioeconomic Disadvantage is Associated With Increased Health Care Utilization After Septic and Aseptic Revision Total Hip Arthroplasty. J Arthroplasty. 2024 Sep 16;S0883-5403(24)00951–3.
29. Jevnikar BE, Huffman N, Roth A, Klika AK, Deren ME, Zhang C, Piuzzi NS; CCARR Corporate Authorship. Impacts of neighborhood deprivation on septic and aseptic revision total knee arthroplasty outcomes: A comprehensive analysis using the area deprivation index. Knee. 2024 Sep 5;51:74–83.
30. Pasqualini I, Tidd JL, Klika AK, Jones G, Johnson JK, Piuzzi NS. High Risk of Readmission After THA Regardless of Functional Status in Patients Discharged to Skilled Nursing Facility. Clin Orthop Relat Res. 2024 Jul 1;482(7):1185–92.
31. Bohl DD, Ondeck NT, Darrith B, Hannon CP, Fillingham YA, Della Valle CJ. Impact of Operative Time on Adverse Events Following Primary Total Joint Arthroplasty. J Arthroplasty. 2018 Jul;33(7):2256–62.e4.
32. Tantillo T, Petrone B, Stapleton E, et al.. The Effect of Operating Room Size on Orthopaedic Surgical Site Infection Rates. J Am Acad Orthop Surg. 2021 Dec 1;29(23):1009–16.
33. Tarabichi S, Chisari E, Van Nest DS, et al.. Surgical Helmets Used During Total Joint Arthroplasty Harbor Common Pathogens: A Cautionary Note. J Arthroplasty. 2022 Aug;37(8):1636–9.
34. Higgins E, Suh GA, Tande AJ. Enhancing Diagnostics in Orthopedic Infections. J Clin Microbiol. 2022 Jun 15;60(6):e0219621.
35. Villa JM, Pannu TS, Theeb I, et al. International Organism Profile of Periprosthetic Total Hip and Knee Infections. J Arthroplasty. 2021 Jan;36(1):274–8.
36. Wang B, Wang Q, Hamushan M, Yu J, Jiang F, Li M, Guo G, Tang J, Han P, Shen H. Trends in microbiological epidemiology of orthopedic infections: a large retrospective study from 2008 to 2021. BMC Infect Dis. 2023 Aug 31;23(1):567.
37. McNally M, Sousa R, Wouthuyzen-Bakker M, Chen AF, Soriano A, Vogely HC, Clauss M, Higuera CA, Trebše R. The EBJIS definition of periprosthetic joint infection. Bone Joint J. 2021 Jan;103-B(1):18–25.
38. Parvizi J,et al. The 2018 Definition of Periprosthetic Hip and Knee Infection: An Evidence-Based and Validated Criteria. J Arthroplasty. 2018 May;33(5):1309–14.e2.
39. Tan TL, Goswami K, Fillingham YA, Shohat N, Rondon AJ, Parvizi J. Defining Treatment Success After 2-Stage Exchange Arthroplasty for Periprosthetic Joint Infection. J Arthroplasty. 2018 Nov;33(11):3541–6.
40. Slullitel PA, Oñativia JI, Cima I, Zanotti G, Comba F, Piccaluga F, Buttaro MA. Patients with no recurrence of infection five years after two-stage revision hip arthroplasty may be classified as periprosthetic infection 'in remission'. Bone Joint J. 2021 Jan;103-B(1):79–86.
41. Diaz-Ledezma C, Higuera CA, Parvizi J. Success after treatment of periprosthetic joint infection: a Delphi-based international multidisciplinary consensus. Clin Orthop Relat Res. 2013 Jul;471(7):2374–82.
42. Fillingham YA, Della Valle CJ, et al. Definition of Successful Infection Management and Guidelines for Reporting of Outcomes After Surgical Treatment of Periprosthetic Joint Infection: From the Workgroup of the Musculoskeletal Infection Society (MSIS). J Bone Joint Surg Am. 2019 Jul 17;101(14):e69.
43. Xu C, Tan TL, Li WT, Goswami K, Parvizi J. Reporting Outcomes of Treatment for Periprosthetic Joint Infection of the Knee and Hip Together With a Minimum 1-Year Follow-Up is Reliable. J Arthroplasty. 2020 Jul;35(7):1906–11.e5.
44. Zalavras CG, Aerden L, Declercq P, Belmans A, Metsemakers WJ. Ninety-Day Follow-up Is Inadequate for Diagnosis of Fracture-related Infections in Patients with Open Fractures. Clin Orthop Relat Res. 2022 Jan 1;480(1):139–46.
45. Franklin PD, Bond CP, Rothrock NE, Cella D. Strategies for Effective Implementation of Patient-Reported Outcome Measures in Arthroplasty Practice. J Bone Joint Surg Am. 2021 Dec 15;103(24):e97.
46. Ingelsrud LH, Wilkinson JM, Overgaard, et al. How do Patient-reported Outcome Scores in International Hip and Knee Arthroplasty Registries Compare? Clin Orthop Relat Res. 2022 Oct 1;480(10):1884–96.
47. Orr MN, Klika AK, Gagnier JJ, Bhandari M, Piuzzi NS. A Call for a Standardized Approach to Reporting Patient-Reported Outcome Measures: Clinical Relevance Ratio. J Bone Joint Surg Am. 2021 Nov 17;103(22):e91.

Autores: Vaibhav Bagaria, Dina Raafat, Gowrishankar Muthukrishnan, John L. Hamilton, Adrienn Markovics, Javad Parvizi, Edward M Schwarz

Autor de Correspondencia
Dr Vaibhav Bagaria
Director – Orthopedics.
Sir HN Reliance Hospital. Mumbai India
Email: bagariavaibhav@gmail.com

PREGUNTA 12. ¿Son los anticuerpos monoclonales capaces de erradicar biofilms en infecciones ortopédicas?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: Si bien existe evidencia preclínica de que los anticuerpos monoclonales (AcMs) pueden desorganizar la estructura de los biofilms, los ensayos clínicos de inmunización pasiva para infecciones ortopédicas solo han alcanzado la fase 1. Por lo tanto, se necesita más investigación preclínica y clínica para explorar todo el potencial y la eficacia de la terapia con AcMs.

NIVEL DE EVIDENCIA: Moderado.

VOTO DEL DELEGADO: De Acuerdo 100%, En Desacuerdo 0%, Abstención 0% (Consenso Total).

JUSTIFICACIÓN

Las infecciones periprotésicas articulares (IPA) plantean desafíos variados y significativos en entornos clínicos debido a su naturaleza persistente, la complejidad y la duración prolongada del tratamiento [1]. Entre las barreras formidables para el manejo eficaz de estas infecciones se encuentran los biofilms —comunidades estructuradas de bacterias que se adhieren a superficies tanto vivas como no vivas, incluidos implantes ortopédicos como tornillos, placas y prótesis articulares, lo que complica significativamente el manejo de la infección [2,3]. Los biofilms son notablemente resistentes a las terapias antibióticas estándar y a las respuestas inmunitarias del huésped, lo que conduce a infecciones crónicas, tiempos de recuperación prolongados, mayor morbilidad y mayores costos de atención médica [4,5]. Esta resiliencia hace necesaria la exploración de nuevas estrategias terapéuticas capaces de penetrar estas barreras y erradicar eficazmente las bacterias que se encuentran dentro [6]. Se han investigado los anticuerpos monoclonales (AcMs) contra las bacterias y los objetivos de los biofilms para este propósito, ya que son altamente específicos para un solo antígeno y han revolucionado el tratamiento en varias enfermedades, incluidas la oncología, la reumatología y las enfermedades infecciosas [7].

Para responder a la pregunta de si los anticuerpos monoclonales son capaces de erradicar biofilms en infecciones ortopédicas, se realizó una búsqueda bibliográfica exhaustiva utilizando las palabras clave "anticuerpo monoclonal" y "biofilm" en PubMed y Embase, que identificó 190 estudios únicos, 27 de los cuales se revisaron formalmente para responder a esta pregunta.

En la investigación de infecciones, los AcMs pueden diseñarse para atacar patógenos específicos o procesos patológicos, lo que los convierte en candidatos adecuados para abordar los desafíos únicos que plantean los biofilms [8]. Dado que funcionan a través de mecanismos como la neutralización de moléculas objetivo, el reclutamiento de células efectoras inmunitarias y mediante efectos antimicrobianos directos, pueden utilizarse eficazmente para desorganizar la integridad de la matriz del biofilm, promover la opsonización, mejorar la eliminación inmunitaria al exponer las células bacterianas a las células inmunitarias e inhibir las señales que promueven el crecimiento y mantenimiento del biofilm [3,9-16]. En consecuencia, ofrecen un posible enfoque dirigido para superar las limitaciones de los tratamientos antiinfecciosos tradicionales. De hecho, los estudios preliminares han demostrado que las estrategias de tratamiento combinadas que involucran AcMs junto con terapias antimicrobianas convencionales muestran una eficacia mejorada y una reducción de la persistencia bacteriana [17]. Esto se debe al hecho de que los AcMs pueden desorganizar la formación de biofilms o desencadenar su dispersión, lo que permite que el antibiótico coadministrado elimine más eficazmente las bacterias liberadas del biofilm, lo que en última instancia proporciona un resultado clínico más exitoso, al tiempo que promueve la administración de antimicrobianos [18].

Los AcMs que han demostrado potencial para atacar diferentes componentes de las biofilms incluyen:

AcM Anti-DNABII: La familia de proteínas DNABII se une al ADN extracelular (ADNe), formando un andamiaje reticulado que estabiliza la matriz extracelular del biofilm. Los AcMs dirigidos contra DNABII desorganizan este andamiaje DNABII-ADNe, lo que resulta en el colapso y la dispersión de la matriz del biofilm; esto se ha demostrado en estudios preclínicos in vitro e in vivo, incluidas las infecciones asociadas a implantes [9,23-26]. La desorganización de las proteínas DNABII utilizando AcMs

promueve la transición de las bacterias de un estado latente asociado a la biofilm a una forma planctónica más susceptible, lo que mejora la eficacia de los antibióticos [9]. TRL1068 es un AcM anti-DNABII totalmente humano. Más recientemente, se completó un ensayo clínico de fase 1 de la terapia con TRL1068 en pacientes con IPA y demostró la seguridad y viabilidad de este enfoque de inmunización pasiva [27]. CMTX-101 es un AcM anti-DNABII humanizado derivado de un AcM murino, que ha completado recientemente un ensayo clínico de fase 1a que muestra seguridad en voluntarios sanos, un estudio de fase 1b en pacientes con neumonía adquirida en la comunidad de moderada a grave. Actualmente se está llevando a cabo un estudio de fase 1b/2a en pacientes con fibrosis quística infectados crónicamente con Pseudomonas aeruginosa con CMTX-101.

Anticuerpos Anti-PNAG: Estos se dirigen a la poli-N-acetilglucosamina (PNAG), una sustancia que media la adhesión célula a célula dentro de los biofilms. Se ha demostrado que los AcMs contra PNAG reducen la formación de biofilms y mejoran la eliminación bacteriana, lo que ofrece un objetivo prometedor para las terapias basadas en el sistema inmunitario [22].

AcM 3H3: Este anticuerpo se dirige a los amiloides, específicamente a las fibras curli, que son componentes principales de los biofilms en Enterobacteriaceae. Al desorganizar la estructura amiloide dentro de los biofilms, el AcM 3H3 mejora la eficacia de los antibióticos y facilita una eliminación más eficiente de las infecciones [23].

Anti-Atl mAb: Se ha demostrado que la autolisina de S. aureus (Atl) es funcionalmente esencial para la biosíntesis y degradación de la pared celular durante la fisión binaria [24-26], y varios grupos de investigación han identificado a Atl como un antígeno inmunodominante [27, 28]. También se ha demostrado que Atl funciona como una adhesina [29] y una enzima de biofilm [30]. Estudios preclínicos han demostrado la eficacia de los AcMs contra la subunidad glucosaminidasa (Gmd) de Atl en modelos murinos de osteomielitis asociada a implantes [31, 32], y la viabilidad de la inmunización pasiva anti-Gmd en ovejas [33].

MEDI4893*: 11H10: la α-toxina (AT) y el factor de agregación A (ClfA) son factores de virulencia de S. aureus que fueron identificados como factores patogénicos clave de las infecciones por S. aureus al promover la formación de biofilms. Por lo tanto, los mAbs humanos neutralizantes contra estos factores (MEDI4893* y 11H10, respectivamente), cuando se usaron en combinación, inhibieron la formación de biofilms in vitro y en un modelo murino de infección hematógena de S. aureus relacionada con implantes, proporcionando así un enfoque alternativo, no antibiótico y dirigido para ayudar a prevenir estos tipos de infecciones [11].

Combinación de mAb de mecanismo múltiple (AZD6389*): una combinación de tres mAbs dirigidos a factores de virulencia estafilocócicos específicos, a saber, AT, citotoxinas bicomponente (LukSF/LukED/HlgAB/HlgCB), y ClfA demostró tener eficacia protectora cuando se probó en un modelo de conejo de IPJ por S. aureus resistente a la meticilina, mostrando reducciones significativas en la carga bacteriana y los signos inflamatorios (hinchazón articular, eritema, pus intraarticular) [9]. Un enfoque de este tipo podría, por lo tanto, tener potencial utilidad clínica como un enfoque dirigido al patógeno para la prevención de la IPJ por S. aureus.

mAbs conjugados: Otra aplicación interesante de los mAbs es su uso como vehículos para facilitar la administración dirigida de terapias (p. ej., radiofármacos, antibióticos, …) al sitio de la infección, en lo que se conoce como productos biológicos basados en anticuerpos. Un enfoque de este tipo permitiría idealmente a los clínicos dirigirse con precisión a los patógenos, sin dañar los tejidos sanos circundantes, proporcionando así un enfoque alternativo para mejorar el diagnóstico y/o el tratamiento de las infecciones relacionadas con biofilms y mejorar la eficacia general del tratamiento. Una opción innovadora es la radioinmunoterapia (RIT), que combina eficientemente la precisión y la especificidad de los mAbs con el poder citotóxico de los radionúclidos. Por lo tanto, al usar mAbs que reconocen específicamente antígenos expresados de manera única o sobreexpresados significativamente en la superficie de los patógenos, uno podría dirigir específicamente los efectos citotóxicos de los radionúclidos a esos organismos y sus biofilms con alta precisión, logrando así un efecto bactericida local. La RIT podría, por lo tanto, usarse como una modalidad de tratamiento alternativa contra las infecciones microbianas relacionadas con biofilms, con y sin terapias convencionales como los antibióticos. Un ejemplo destacado de estas estructuras objetivo son los ácidos teicoicos de la pared (WTA), que son polímeros aniónicos unidos covalentemente a la capa de peptidoglicano de muchas bacterias Grampositivas, y en la matriz extracelular de los biofilms. Ye et al. vincularon con éxito mAbs (anticuerpo anti-β-GlcNAc 4497-IgG1), diseñados para dirigirse a WTA encontrados en *S. aureus* y su biofilm, a radionúclidos, y demostraron sus potentes efectos antibacterianos contra *S. aureus* tanto planctónico como asociado a biofilms *in vitro* [15]. De manera similar, van Dijk et al. utilizaron radioinmunoterapia usando el mismo mAb humano (anti-β-GlcNAc 4497-IgG1) para la localización no invasiva del implante infectado en un modelo murino de infección subcutánea de implante, así como para el tratamiento de infecciones asociadas a implantes por *S. aureus*, donde observaron una eliminación dependiente de la dosis de MRSA en estado tanto planctónico como de biofilm [12;13]. Sin embargo, se necesitan más estudios *in vivo* para validar el efecto bactericida de la RIT observado *in vitro* sobre *S. aureus*, y para evaluar la seguridad y eficacia de este enfoque en entornos clínicos que involucran infecciones asociadas a implantes. Otro enfoque novedoso y muy prometedor para prevenir el fracaso del tratamiento antibiótico implica conjugar un mAb con un antibiótico, produciendo un conjugado anticuerpo-antibiótico (AAC), que puede usarse para la administración dirigida de antibióticos potentes dentro de las células huésped para lograr concentraciones bactericidas intracelularmente, y por lo tanto, es prometedor para la terapia de infecciones intracelulares por *S. aureus* asociadas a

implantes ortopédicos. Por ejemplo, Qin et al. conjugaron un mAb humano (M0662) que reconoce directamente la proteína A estafilocócica (una proteína de superficie altamente conservada), con el antibiótico vancomicina, que carece de la capacidad de penetrar las células huésped [10]. Este AAC mejoró significativamente los efectos bactericidas de la vancomicina, tanto *in vitro* como en un modelo murino de infección de implante, donde aceleró la eliminación de *S. aureus*, previno cambios patológicos en la estructura del hueso trabecular y bloqueó eficazmente la formación de biofilm bacteriana en el implante.

En conclusión, los anticuerpos monoclonales representan un enfoque revolucionario para combatir la resiliencia de los biofilms en las enfermedades infecciosas. Al dirigirse a componentes estructurales específicos de las biofilms, estos anticuerpos no solo desorganizan el biofilm, sino que también pueden restaurar la sensibilidad a los antibióticos en bacterias que de otro modo serían resistentes, al eliminar la barrera física del biofilm y aumentar la actividad metabólica de las bacterias residentes. La investigación y el desarrollo en curso en este campo son muy prometedores para el manejo de las infecciones ortopédicas crónicas.

REFERENCIAS

1. Nelson SB, et al. Periprosthetic Joint Infection: Current Clinical Challenges. Clin Infect Dis. 2023;77:e34-45.
2. Moriarty TF, et al. Fracture-related infection. Nat Rev Dis Primers. 2022;8:67.
3. Sharma S, Mohler J, Mahajan SD, Aalinkeel R, Bhave G. Microbial Biofilm: A Review on Formation, Infection, Antibiotic Resistance, Control Measures, and Innovative Treatment. Microorganisms. 2023;11:2352.
4. Schwarz EM, et al. 2018 International Consensus Meeting on Musculoskeletal Infection: Research Priorities from the General Assembly Questions. J Orthop Res. 2019;37:997-1006.
5. Masters EA, et al. Evolving concepts in bone infection: redefining "biofilm", "acute vs. chronic osteomyelitis", "the immune proteome" and "local antibiotic therapy". Bone Res. 2019;7:20.
6. Masters EA, et al. Skeletal infections: microbial pathogenesis, immunity and clinical management. Nat Rev Microbiol. 2022;20:385-400.
7. KoTHAri M, al. A Comprehensive Review of Monoclonal Antibodies in Modern Medicine: Tracing the Evolution of a Revolutionary Therapeutic Approach. Cureus. 2024;16:e61983.
8. Goodman SD, et al. Biofilms can be dispersed by focusing the immune system on a common family of bacterial nucleoid-associated proteins. Mucosal Immunol. 2011;4:625-37.
9. Mao Y, et al. Multimechanistic Monoclonal Antibody Combination Targeting Key *Staphylococcus aureus* Virulence Determinants in a Rabbit Model of Prosthetic Joint Infection. Antimicrob Agents Chemother. 2021;65:e01832-20.
10. Qin L, Hu N, Zhang Y, He Y, Li B, Zhang B, et al. Antibody-antibiotic conjugate targeted therapy for orthopedic implant-associated intracellular *S. aureus* infections. J Adv Res. 2024;65:239-55.
11. Wang Y, Cheng LI, Helfer DR, Licitra EZ, Kates SL, Daiss JL, et al. Mouse model of hematogenous implant-related *Staphylococcus aureus* biofilm infection reveals therapeutic targets. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017;114:E5094-102.
12. van Dijk B, et al. Radioimmunotherapy of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in planktonic state and biofilms. PLoS One. 2020;15:e0233086.
13. van Dijk B, Hooning van Duyvenbode JFF, de Vor L, van Kessel KPM, Welling MM, Pakbiš V, et al. Evaluating the Targeting of a *Staphylococcus*-aureus-Infected Implant with a Radiolabeled Antibody *In vivo*. Int J Mol Sci. 2023;24:1483.
14. de Vor L, van Dijk B, van Kessel K, Welling MM, Wang B, Kuipers K, et al. Human monoclonal antibodies against *Staphylococcus aureus* surface antigens recognize *in vitro* and *in vivo* biofilm. Elife. 2022;11:e75367.
15. Ye Z, van der Wildt B, Nurmohamed F, El Bouazzaoui A, Li Y, Arends J, et al. Radioimmunotherapy combating biofilm-associated infection *in vitro*. Front Med (Lausanne). 2024;11:1478636.
16. Rogers JV, Hall VL, McOsker CC. Crumbling the Castle: Targeting DNABII Proteins for Collapsing Bacterial Biofilms as a Therapeutic Approach to Treat Disease and Combat Antimicrobial Resistance. Antibiotics (Basel). 2022;11:1309.
17. Raafat D, Otto M, Reppschlager K, Koth C, Kallenberg K, Hecker M, et al. Fighting *Staphylococcus aureus* Biofilms with Monoclonal Antibodies. Trends Microbiol. 2019;27:303-22.
18. Kurbatfinski N, Hill PJ, Tobin N, Pym AS, Goodman SD, Raafat D, et al. Disruption of nontuberculous mycobacteria biofilms induces a highly vulnerable to antibiotic killing phenotype. Biofilm. 2023;6:100166.
19. Kurbatfinski N, Kramer CN, Goodman SD, Raafat D, McOsker CC, Hartsell T, et al. ESKAPEE pathogens newly released from biofilm residence by a targeted monoclonal are sensitized to killing by traditional antibiotics. Front Microbiol. 2023;14:1202215.
20. Estelles A, Woischnig AK, Liu K, Reppschlager K, Kienle S, Klenk M, et al. A High-Affinity Native Human Antibody Disrupts Biofilm from *Staphylococcus aureus* Bacteria and Potentiates Antibiotic Efficacy in a Mouse Implant Infection Model. Antimicrob Agents Chemother. 2016;60:2292-301.
21. Conway J, Delanois RE, Mont MA, Tarabichi S, Firoozabadi M, Kates S, et al. Phase 1 study of the pharmacokinetics and clinical proof-of-concept activity of a biofilm-disrupting human monoclonal antibody in patients with chronic prosthetic joint infection of the knee or hip. Antimicrob Agents Chemother. 2024;68:e0065524.
22. Skurnik D, Cywes-Bentley C, Pier GB. The exceptionally broad-based potential of active and passive vaccination targeting the conserved microbial surface polysaccharide PNAG. Expert Rev Vaccines. 2016;15:1041-53.
23. Tursi SA, Puligedda RD, Szabo P, Reidy L, Nydam S, Kulkarni U, et al. *Salmonella Typhi*murium biofilm disruption by a human antibody THAt binds a pan-amyloid epitope on curli. Nat Commun. 2020;11:1007.
24. Oshida T, Sugai M, Komatsuzawa H, Suginaka H. A *Staphylococcus aureus* autolysin THAt has an N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase domain and an endo-beta-N-acetylglucosaminidase domain: cloning, sequence analysis, and characterization. Proc Natl Acad Sci U S A. 1995;92:285-9.
25. Sugai M, Komatsuzawa H, Akiyama T, Miyake Y, Suginaka H. Identification of endo-beta-N-acetylglucosaminidase and N-acetylmuramyl-L-alanine amidase as cluster-dispersing enzymes in *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol. 1995;177:1491-6.
26. Yamada S, Sugai M, Komatsuzawa H, Suginaka H. An autolysin ring associated with cell separation of *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol. 1996;178:1565-71.
27. Holtfreter S, Kolata J, Broker BM. Towards the immune proteome of *Staphylococcus aureus* - The anti-*S. aureus* antibody response. Int J Med Microbiol. 2010;300:176-92.
28. Brady RA, et al. Resolution of *Staphylococcus aureus* biofilm infection using vaccination and antibiotic treatment. Infect Immun. 2011;79:1797-803.
29. Heilmann C, Hartleib J, Hussain MS, Peters G. The multifunctional *Staphylococcus aureus* autolysin aaa mediates adherence to immobilized fibrinogen and fibronectin. Infect Immun. 2005;73:4793-802.
30. Brady RA, Leid JG, Camper AK, Costerton JW, Shirtliff ME. Identification of *Staphylococcus aureus* proteins recognized by the antibody-mediated immune response to a biofilm infection. Infect Immun. 2006;74:3415-26.
31. Varrone JJ, et al. Passive immunization with anti-glucosaminidase monoclonal antibodies protects mice from implant-associated osteomyelitis by mediating opsonophagocytosis of *Staphylococcus aureus* megaclusters. J Orthop Res. 2014;32:1389-96.
32. Yokogawa N, Ishikawa M, Nishitani K, Lee CC, Bello-Irizarry SN, Grijalva H, et al. Immunotherapy synergizes with debridement and antibiotic therapy in a murine 1-stage exchange model of MRSA implant-associated osteomyelitis. J Orthop Res. 2018;36:1590-8.
33. Lee CC, Southgate RD, Jiao C, Wininger AE, Daiss JL, Kates SL, et al. Deriving a dose and regimen for anti-glucosaminidase antibody passive-immunisation for patients with *Staphylococcus aureus* osteomyelitis. Eur Cell Mater. 2020;39:96-107.

Autores: Débora Coraça-Huber, Nicholas J. Norton, Bingyun Li, Elena De Vecchi, Guillermo Bonilla, Holger Rohde y Kordo Saeed

Autor de Correspondencia
Dr Kordo Saeed, Microbiologist
University Hospital Southampton
NHS Foundation Trust
Southampton, UK
Email: kordosaeed@nhs.net

PREGUNTA 13. ¿Existe un papel para el uso de enzimas proteolíticas en el tratamiento de infecciones ortopédicas?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: No. Si bien las terapias enzimáticas han demostrado efectos contra los biofilms relacionadas con implantes en modelos preclínicos, su seguridad y eficacia deben demostrarse en el escenario clínico. Por lo tanto, se necesitan ensayos clínicos para clarificar el potencial de traslación de las enzimas proteolíticas para tratar las infecciones ortopédicas.

NIVEL DE EVIDENCIA: Débil.

VOTO DEL DELEGADO: De Acuerdo 87%, En Desacuerdo 0%, Abstención 13% (Consenso Fuerte).

JUSTIFICACIÓN

Bases de Datos Consultadas

PubMed, Medline Embase desde su inicio hasta noviembre de 2024.

Utilizando los siguientes términos

((("Prosthesis-Related Infections"[Mesh] o "orthopaedic infection*" o "orthopedic infection*" o "joint infection*"[tw] o "infected joint*"[tw] o PJI[tw] o ((endoprosthe*[tw] o prosthes*[tw] o prosthet*[tw] o periprosthe*[tw]) y joint*[tw] y infect*[tw])) o (("Orthopedic Procedures"[Mesh] o "Orthopedics"[Mesh] o "Joint Prosthesis"[Mesh] o "Arthroplasty"[Mesh] o orthopaedic*[tw] o orthopedic*[tw] o arthroplast*[tw] o "artificial joint*"[tw] o "prosthetic joint*"[tw] o "joint implant*"[tw] o "spine surger*"[tw] o "spinal surger*"[tw] o "spine implant*"[tw] o "spinal implant*"[tw]) y ("Bacterial Infections"[Mesh] o "Infections"[Mesh] o "Infection Control"[Mesh] o "Surgical Wound Infection"[Mesh] o infect*[tw] o SSI[tw]))) y (Proteolytic enzyme* o "Peptide Hydrolases"[Mesh] o Protease* o "Viral Proteases"[Mesh] o proteolysis o enzymatic debridement o Bromelain o Papain o Trypsin o Chymotrypsin)) y ((1990:3000/12/12[pdat]) y (english[LA])). Los resultados de la búsqueda arrojaron 694 publicaciones en idioma inglés. Dos de los coautores revisaron el título y el resumen y calificaron la inclusión o exclusión; los resultados discrepantes fueron adjudicados por una tercera persona. Se revisaron treinta y un artículos, de los cuales 26 se consideraron finalmente adecuados; un autor redactó el borrador original y todos los colaboradores comentaron y acordaron el borrador final. Debido a la heterogeneidad de los estudios, se realizó una revisión narrativa que se resume a continuación.

Las infecciones musculoesqueléticas (IME) relacionadas con biofilms, incluidas las infecciones articulares periprotésicas (IAP), siguen siendo una carga importante para la salud en ortopedia y están asociadas con la incapacidad del sistema inmunitario del huésped para eliminar las infecciones de manera efectiva y con la resistencia fenotípica a los antibióticos. Estas características están relacionadas con la multicelularidad bacteriana, y una teoría en desarrollo postula que la dispersión de los agregados bacterianos restaura parcialmente la susceptibilidad. En el centro de estos conceptos se encuentra la identificación de enzimas que interfieren específicamente con las propiedades adhesivas intercelulares. Como ejemplo, la patogénesis de las infecciones asociadas a cuerpos extraños por estafilococos coagulasa negativos (CoNS) y, en particular, de *S. epidermidis*, está relacionada con su capacidad de crecer como un biofilm adherente [1, 2]. La poli-N-acetilglucosamina, denominada adhesina intercelular de polisacáridos (PIA), desempeña un papel clave en la formación de biofilms y en la protección de *Staphylococcus epidermidis* frente a las defensas innatas del huésped. Sin embargo, varios investigadores han identificado un porcentaje significativo de cepas ica-negativas en poblaciones de *S. epidermidis* aisladas de infecciones por cuerpos extraños [3]. *Staphylococcus* y otros patógenos pueden formar biofilms utilizando mecanismos independientes de PIA. Se puede detectar la unión de polisacáridos y proteínas entre células y entre células y la superficie. Además, el ADN extracelular (ADNe) apoya la formación de biofilms [4]. Además del uso de sustancias antibióticas para controlar las infecciones por biofilms, la separación enzimática de los biofilms puede apoyar el tratamiento de las infecciones asociadas a biofilms en *Staphylococcus spp.*, entendiendo que la heterogeneidad y la

brecha en el conocimiento para otros organismos son limitaciones importantes de los enfoques específicos.

Leite (2020), Lacey (2024) et al. investigaron el papel de las caspasas en la eliminación bacteriana de las infecciones óseas. Las caspasas son una familia de proteasas que desempeñan un papel clave en la respuesta inmunitaria, regulando la muerte celular y la inflamación. Su papel en el tratamiento de las infecciones por biofilms relacionadas con implantes es menos conocido. Los resultados de Leite et al. demuestran en un modelo *in vitro* que la caspasa-1 es esencial para la generación de citocinas inflamatorias y el control de la replicación bacteriana en células infectadas [5]. Se informaron hallazgos similares por Lacey et al. al investigar la caspasa-1 y la caspasa-11 en un modelo de ratón de infecciones articulares por *Brucella*, donde ambas caspasas inducen piroptosis, lo que limitó la infección por *Brucella* en macrófagos *in vitro* [6].

Se ha investigado la desorganización enzimática de la biofilm atacando tanto a PIA como al ADNe. Arciola et al. (2009) demostraron que tanto la dispersina B, una enzima activa contra PNAG, como la ADNasa I son capaces de inhibir la formación de biofilms, separar biofilms preformadas y sensibilizar a las bacterias para que sean eliminadas por otros antimicrobianos [7]. Los inconvenientes relacionados con la terapia antibiofilm basada en enzimas son la posible propagación de células del biofilm, lo que puede aumentar el riesgo de infecciones del torrente sanguíneo y sembrar infecciones en sitios distantes. Las terapias basadas en enzimas podrían usarse en combinación con agentes antimicrobianos, o su beneficio podría limitarse a la prevención en lugar del tratamiento [8]. Chaignon et al. (2007) también probaron la dispersina B, comparándola con periodato, Pectinex Ultra SP, proteinasa K, tripsina y pancreatina para tratar biofilms estafilocócicas preformadas *in vitro*. Descubrieron que la separación enzimática de los biofilms estafilocócicas depende de la naturaleza de sus componentes y varía entre los aislados clínicos probados. En su conclusión, sugieren que un tratamiento con dispersina B seguido de una proteasa (proteinasa K o tripsina) podría ser capaz de erradicar biofilms de una variedad de cepas estafilocócicas en superficies inertes [9].

La serratiopeptidasa (SPEP), una enzima proteolítica producida por la enterobacteria Serratia E15, también es *Candida*ta para el tratamiento enzimático de las IPA [10]. Se produce en los intestinos de los gusanos de seda para descomponer las paredes del capullo [11]. Mecikoglu et al. probaron esta enzima en modelos animales para IPA por *S. epidermidis*. Uno de los grupos probados recibió inyecciones de la enzima SPEP en la articulación de la rodilla infectada además de la terapia antibiótica durante cuatro semanas, mientras que el otro solo fue tratado con antibióticos. Las muestras óseas de ratones tratados con SPEP + antibióticos tenían más probabilidades de ser negativas que las de ratones tratados solo con antibióticos. Esto sugiere que la propiedad antibiofilm de la enzima puede mejorar la eficacia de los antibióticos en el tratamiento de las infecciones por estafilococos [12]. Además, Selan y su equipo evaluaron la capacidad de SPEP para controlar la invasión de *S. aureus* en células osteoblásticas MG63 y la secreción de la quimiocina proinflamatoria MCP-1. Ella demostró que SPEP dificulta la invasión de estafilococos en los osteoblastos, sin afectar la viabilidad y proliferación de las células óseas, y reduce su producción de MCP-1. Selan et al. reconocen a SPEP como una herramienta potencial contra la infección y destrucción ósea por *S. aureus* [10, 13].

La uroquinasa es una enzima producida por los riñones y excretada en la orina. Utilizada como fármaco trombolítico para tratar coágulos sanguíneos, puede ayudar en la degradación tanto de la fibrina como de el biofilm producida por *S. epidermidis*, mejorando así la penetración de los antibióticos y los mecanismos de defensa local del huésped. Se ha estudiado en un modelo *in vivo* de infección de injerto vascular y se ha demostrado que, en combinación con antibióticos, reduce el número de bacterias viables [14]. Alternativamente, puede usarse como sustancia de recubrimiento para prevenir que los implantes sean colonizados por biofilms [15].

Se han aislado y probado contra biofilms enzimas derivadas de fagos con propiedades antibacterianas. Una de ellas, LysECD7, mostró una actividad de amplio espectro excepcional contra las formas planctónicas [16]. Fursov et al. probaron la actividad de LysECD7 como agente antibiofilm en animales implantados con jaulas intraabdominales inoculadas con biofilms. Como resultado, demostraron que LysECD7 posee la capacidad de actuar contra biofilms emergentes y formadas tanto *in vitro* como *in vivo*, comparable con la actividad de la amikacina pero con menos infiltración inflamatoria [1]. Aún en relación con las enzimas derivadas de fagos, Kuiper et al. evaluaron XZ.700, una endolisina quimérica construida combinando partes de la endolisina del bacteriófago *S. aureus* ply2638 [17] y la lisostafina [18]. En su estudio, XZ.700 redujo los biofilms de SARM, especialmente en condiciones de flujo, sin toxicidad para las células óseas circundantes [19]. Otros estudios que probaron lisostafina contra la infección por biofilms mostraron resultados prometedores. Walenka et al. demostraron el efecto sinérgico de lisostafina + oxacilina sub-BIC para disminuir los biofilms de *S. aureus* sensible a la meticilina (MSSA) y SARM [20]. El recubrimiento de implantes con lisostafina podría ser una herramienta prometedora en las estrategias terapéuticas para evitar la IPA [21]. En estudios posteriores, la terapia con hidrogel de lisostafina cargada con BMP-2 eliminó eficazmente la infección por *S. aureus* al mismo tiempo que regeneraba hueso funcional, lo que resultó en la curación del defecto en un modelo animal [22, 23]. Las enzimas líticas quiméricas M23LST(L)_SH3b2638A(M23) y CHAPGH15_SH3bALE1 (GH15), así como la despolimerasa de polisacáridos DA7, utilizadas como régimen combinado, mostraron eficacia en la erradicación de infecciones establecidas por *S. aureus* [24]. La exebacasa (CF-301), una lisina derivada de fagos con actividad antiestafilocócica, es la lisina más avanzada probada en ensayos clínicos y se encuentra actualmente en fase III para el tratamiento de la bacteriemia/endocarditis derecha por *S. aureus* (Identificador de ClinicalTrials.gov: NCT04160468) [25]. Suche et al. probaron la exebacasa contra bacterias

aisladas de IPA y concluyeron que mejoraba la actividad de la rifampicina, la vancomicina y la daptomicina [26].

En conclusión, la desorganización enzimática de los biofilms, o el uso de enzimas como sustancias de recubrimiento para evitar la infección de los implantes, es una idea muy atractiva. Los datos son heterogéneos y se limitan a estudios preclínicos. Se han probado diferentes sustancias con resultados positivos. Sin embargo, su uso presenta ciertos inconvenientes. Por ejemplo, la liberación de células bacterianas planctónicas de un biofilm desorganizada podría causar infección en otros sitios, o incluso una infección del torrente sanguíneo. En este caso, la administración paralela de antibióticos sistémicos o incluso locales está altamente indicada. Además, debido a que las enzimas provocan la lisis de la célula bacteriana, pueden promover la liberación de toxinas intracelulares que podrían ser perjudiciales para los tejidos del huésped. Se agradecen estudios adicionales que consideren estos riesgos con el objetivo de establecer el uso de enzimas como herramienta contra las IPA. Se requieren estudios en humanos y ensayos clínicos para establecer si la desorganización enzimática de los biofilms mejora los resultados en comparación con el estándar de atención para la IPA.

REFERENCIAS

1. Fursov MV, Abdrakhmanova RO, Antonova NP, Rubalsky EO, Borovikova YV, Kotov MA, et al. Antibiofilm Activity of a Broad-Range Recombinant Endolysin LysECD7: In vitro and In vivo Study. Viruses. 2020;12:545.
2. Mack D, Riedewald J, Rohde H, Nedelmann M, Wirth D, Dobinsky Y, et al. Essential functional role of the polysaccharide intercellular adhesin of *Staphylococcus epidermidis* in hemagglutination. Infect Immun. 1999;67:1004-8.
3. Chaignon P, Sadovskaya I, Ragunah C, Ramasubbu N, Jabbouri S, Dufour A. Susceptibility of staphylococcal biofilms to enzymatic treatments depends on their chemical composition. Appl Microbiol Biotechnol. 2007;75:125-32.
4. Shree P, Singh CK, Sodhi KK, Sharma A, Upadhyay SK, Dwivedi SK. Biofilms: Understanding the structure and contribution towards bacterial resistance in antibiotics. Medicine in Microecology. 2023;16:100084.
5. Lima Leite E, Gautron A, Deplanche M, Bérar L, Brilhante D, Vacher J, et al. Involvement of caspase-1 in inflammasomes activation and bacterial clearance in *S. aureus*-infected osteoblast-like MG63 cells. Cell Microbiol. 2020;22:e13204.
6. Lacey CA, Mitchell WJ, Dadelahi AS, Kolar H, Rangarajan D, Sulentic CE, et al. Caspase-1 and Caspase-11 Mediate Pyroptosis, Inflammation, and Control of *Brucella* Joint Infection. Infect Immun. 2018;86:e00361-18.
7. Arciola CR. New concepts and new weapons in implant infections. Int J Artif Organs. 2009;32:533-6.
8. Kaplan JB. Therapeutic potential of biofilm-dispersing enzymes. Int J Artif Organs. 2009;32:545-54.
9. Chaignon P, Sadovskaya I, Ragunah C, Ramasubbu N, Jabbouri S, Dufour A. Susceptibility of staphylococcal biofilms to enzymatic treatments depends on their chemical composition. Appl Microbiol Biotechnol. 2007;75:125-32.
10. Selan L, Berlutti F, Passariello C, Comodi-Baldi M, Renzini G. Proteolytic enzymes: a new treatment strategy for prosthetic infections? Antimicrob Agents Chemother. 1993;37:2618-21.
11. Yamasaki H, Tsuji H, Saeki K. [Anti-inflammatory action of a protease, TSP, produced by Serratia]. Nihon Yakurigaku Zasshi Folia Pharmacol Japonica. 1967;63:302-14.
12. Mecikoglu M, Saygi B, Yildirim Y, Karadag-Saygi E, Emre H, Ramadan SS. The effect of proteolytic enzyme serratiopeptidase in the treatment of experimental implant-related infection. J Bone Joint Surg Am. 2006;88:1208-14.
13. Selan L, Papa R, Ermocida A, d'Alpaos V, Vrenna G, d'Amore C, et al. Serratiopeptidase reduces the invasion of osteoblasts by *Staphylococcus aureus*. Int J Immunopathol Pharmacol. 2017;30:423-8.
14. Nakamoto DA, Rosenfield ML, Haaga JR, O'Malley CM, Bove P, Steiger DL. Young Investigator Award. *In vivo* treatment of infected prosthetic graft material with urokinase: an animal model. J Vasc Interv Radiol JVIR. 1994;5:549-52.
15. Nakamoto DA, Haaga JR, Bove P, O'Malley C, O'Malley M, Steiger DL. Use of fibrinolytic agents to coat wire implants to decrease infection. An animal model. Invest Radiol. 1995;30:341-4.
16. Antonova NP, Vasina DV, Rubalsky EO, Shelenkov AA, Pletneva VV, Zimin MN, et al. Modulation of Endolysin LysECD7 Bactericidal Activity by Different Peptide Tag Fusion. Biomolecules. 2020;10:440.
17. Abaev I, Foster-Frey J, Korobova O, Donovan DM, Himes M, Klypina G, et al. Staphylococcal Phage 2638A endolysin is lytic for *Staphylococcus aureus* and harbors an inter-lytic-domain secondary translational start site. Appl Microbiol Biotechnol. 2013;97:3449-56.
18. Sabala I, Jagielska E, Bardelang PT, Korytkowski K, Plucienniczak A, Wypijewska-Majda J, et al. Crystal structure of the antimicrobial peptidase lysostaphin from *Staphylococcus* simulans. FEBS J. 2014;281:4112-22.
19. Kuiper JWP, Hogervorst JMA, Herpers BL, Reijnierse M, Tielen FH, Verweij PE, et al. The novel endolysin XZ.700 effectively treats MRSA biofilms in two biofilm models without showing toxicity on human bone cells *in vitro*. Biofouling. 2021;37:184-93.
20. Walencka E, Sadowska B, Rozalska S, Hryniewicz W. Lysostaphin as a potential therapeutic agent for staphylococcal biofilm eradication. Pol J Microbiol. 2005;54:191-200.
21. Jaekel C, Windolf CD, Bieler D, Lefering R, Stenger R, Huerter P, et al. Efficacy of lysostaphin-coated titanium plates on implant-associated MRSA osteitis in minipigs. Eur J Trauma Emerg Surg. 2024;50:887-95.
22. Johnson CT, Sok MCP, Martin KE, Johnson AO, Wroe JA, Martin SM, et al. Lysostaphin and BMP-2 co-delivery reduces *S. aureus* infection and regenerates critical-sized segmental bone defects. Sci Adv. 2019;5:eaaw1228.
23. Johnson CT, Wroe JA, Agarwal R, Martin KE, Johnson AO, Grijalva H, et al. Hydrogel delivery of lysostaphin eliminates orthopedic implant infection by *Staphylococcus aureus* and supports fracture healing. Proc Natl Acad Sci U S A. 2018;115:E4960-9.
24. Sumrall ET, Hofstee MI, Arens D, Hiemstra W, Haisma B, Kuiper JWP, et al. An Enzybiotic Regimen for the Treatment of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Orthopaedic Device-Related Infection. Antibiotics. 2021;10:1186.
25. Fowler VG, Jr., Das AF, Lipka-Diamond J, O'Riordan W, de Gopegui B, Baram M, et al. Exebacase for patients with *Staphylococcus aureus* bloodstream infection and endocarditis. J Clin Invest. 2020;130:3750-60.
26. Souche A, Kolenda C, Teoli J, Hounkpe B, Corvec S. Activity of Exebacase (CF-301) against Biofilms Formed by *Staphylococcus epidermidis* Strains Isolated from Prosthetic Joint Infections. Antimicrob Agents Chemother. 2022;66:e0058822.

Autores: Chao Xie, Tom Coenye, Margarita Trobos, Xin Qi, Leibnitz J Martinez, Hatem Bakr, Mark Smeltzer, Bingyun Li, Edward M Schwarz

Autor de Correspondencia
Dr. Chao Xie, Department of Orthopaedics
Center for Musculoskeletal Research
University of Rochester Medical Center
Rochester, NY, USA
Email: chao_xie@urmc.rochester.edu

PREGUNTA 14. ¿Estamos seguros de que los biofilms son el principal desafío en el tratamiento de la infección asociada a implantes?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: Sí, las infecciones asociadas a implantes son notoriamente difíciles de tratar, con frecuencia derivan en complicaciones crónicas, fallo del implante y elevados costes sanitarios. Los biofilms microbianos se reconocen ampliamente como el principal desafío en el manejo de estas infecciones clínicas, y los estudios preclínicos han demostrado que el biofilm cumple los postulados de Koch como factor etiológico en las infecciones asociadas a implantes [1].

NIVEL DE EVIDENCIA: Fuerte.

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 92%, En desacuerdo 3%, Abstención 5% (Consenso Total).

JUSTIFICACIÓN

Las infecciones asociadas a implantes (IAIs) representan un reto clínico mayor, que a menudo conlleva morbilidad prolongada, fallo del implante y costes sanitarios sustanciales. Para sintetizar el conocimiento actual, nuestro proceso de revisión sistemática comenzó con 1.522 artículos identificados mediante búsquedas de palabras clave en PubMed. Tras la criba por título, el resumen y la evaluación a texto completo, se seleccionaron 135 artículos; de ellos, 80 estudios primarios y revisiones sistemáticas cumplieron finalmente los criterios de inclusión. En este conjunto, la formación de biofilm emergió como un tema predominante: 33 estudios investigaron de forma específica especies de *Staphylococcus* (en particular *S. aureus* y *S. epidermidis*) y su papel en el desarrollo de biofilms sobre implantes ortopédicos, lo que subraya su contribución crítica a las infecciones periprotésicas. La resistencia y la tolerancia a antibióticos se abordaron en 16 estudios; 9 trabajos adicionales propusieron estrategias terapéuticas novedosas para combatir estos problemas. El diseño del material del implante y su relación con el riesgo de infección se analizaron en 9 estudios; 12 se centraron en desentrañar la patogénesis y los mecanismos moleculares de las infecciones bacterianas. Un subconjunto de 8 estudios analizó el comportamiento bacteriano y las interacciones con la respuesta inmune del huésped, complementado por 5 trabajos que examinaron la inflamación y la dinámica inmunitaria. La validación preclínica fue aportada por 8 estudios que emplearon modelos de infección *in vivo*, y 6 trabajos desarrollaron metodologías diagnósticas e identificativas. Por último, 5 estudios abordaron temas misceláneos, ilustrando en conjunto la amplitud de la investigación sobre IAIs.

Formación de biofilm y menor susceptibilidad antimicrobiana

Los biofilms son comunidades microbianas estructuradas incrustadas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares (EPS) compuesta por polisacáridos, proteínas y ADN extracelular (eDNA) [2–4]. *Staphylococcus spp.*, en particular *S. aureus* y *S. epidermidis*, causan con frecuencia IAIs debido a su marcada capacidad para formar biofilm [5–9]. Estos patógenos se adhieren a las superficies de los implantes y a componentes de la matriz extracelular del huésped mediante un amplio repertorio de adhesinas de superficie como los MSCRAMMs (microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules) y las SERAMs (secretable expanded repertoire adhesive molecules), además de autolisinas/adhesinas, ácidos teicoicos de pared (WTA) y ácidos lipoteicoicos (LTA) [3,10–12]. El operón icaADBC, responsable de la síntesis de la adhesina intercelular polisacárida (PIA), contribuye a la adhesión intercelular dentro del biofilm [3,13–15]. No obstante, la formación de biofilm también puede producirse por mecanismos independientes de PIA, incluidos la proteína asociada a acumulación (Aap) o el eDNA extracelular [3,16]. Los biofilms confieren protección frente a antibióticos mediante múltiples mecanismos: (1) reducción de la actividad metabólica y del ritmo de crecimiento de las células de las capas más profundas, (2) la matriz EPS actúa como barrera física, y (3) variantes persistentes/durmientes tolerantes a antibióticos [17–19]. Por ejemplo, los biofilms de *S. aureus* muestran valores MIC90 de hasta 245 µg/mL para ciprofloxacino, muy por encima de las MIC planctónicas (0,07–2,80 µg/mL) [20]. De forma similar, los biofilms de *S. epidermidis* resisten vancomicina y daptomicina incluso a dosis supraterapéuticas [21–23]. Rifampicina y doxiciclina

muestran mejor penetración en biofilm, si bien su erradicación suele requerir pautas prolongadas y a dosis altas [24,25]. Antoci et al. demostraron que las aleaciones de titanio recubiertas con vancomicina previenen la colonización por *S. epidermidis*, pero son ineficaces frente a *Escherichia coli*, subrayando la especificidad antibiótica [26]. Varios estudios confirmaron la relevancia clínica del biofilm: Svensson Malchau et al. observaron que los pacientes con infección protésica articular (IAP) causada por estafilococos con alta capacidad de formación de biofilm presentaban un riesgo cinco veces mayor de infección recurrente [27]. Morgenstern et al. vincularon una fuerte formación de biofilm en *S. epidermidis* con mayores tasas de fallo del tratamiento de la osteomielitis [27], y Hagstrand Aldman et al. asociaron una elevada producción de biofilm en *S. lugdunensis* con recurrencia de IAP [28]. Taha et al. informaron de que la combinación de povidona-yodo con vancomicina reduce *S. aureus* en biofilms inmaduros, dinámica que fue visualizada en tiempo real por Xie et al. mediante imagen intravital longitudinal en osteomielitis [29–32].

Los biofilms suprimen activamente la respuesta inmune del huésped para establecer infecciones crónicas.

Los biofilms de *S. aureus* secretan factores de virulencia como modulinas solubles en fenol (PSMs) y leucocidinas, que deterioran la quimiotaxis de neutrófilos y favorecen la producción inmunosupresora de IL-10 [33,34]. Los neutrófilos atrapados en el biofilm sufren NETosis y liberan eDNA que estabiliza la matriz del biofilm [7,35]. Los macrófagos que intentan fagocitar a menudo no logran penetrar el biofilm y adoptan fenotipos antiinflamatorios, lo que limita aún más la eliminación bacteriana [34,36–38]. La persistencia del biofilm se asocia estrechamente a infecciones crónicas. En las IAP, los biofilms sobreviven pese a desbridamientos quirúrgicos agresivos y antibióticos sistémicos [27,39]. Modelos animales demuestran que los biofilms de *S. aureus* sobre implantes de titanio resisten el aclaramiento inmune durante semanas, incluso en huéspedes inmunocompetentes [40,41]. Un estudio de co-cultivo "carrera por la superficie" mostró que, cuando *S. aureus* establece un biofilm, perturba la función de los macrófagos e induce muerte celular mediante la regulación al alza de los receptores FcγR y TLR-2, la vía NF-κB y la producción de especies reactivas de oxígeno mediada por NOX2 [42]. Esto conduce a un fenotipo de biofilm persistente con sobreexpresión de clfA, icaA y sarA, y subexpresión de agrA, hld y lukAB. La sobreexpresión de lipA favorece la supervivencia intracelular. Clínicamente, esto se traduce en colonización del implante y persistencia de bacterias intracelulares en tejidos periprotésicos, contribuyendo a la cronicidad [42,43]. El sistema toxina-antitoxina mazEF de *S. aureus* potencia aún más la cronicidad al promover la tolerancia antibiótica del biofilm y modular la virulencia durante fases agudas [17,44]. Bell et al. informaron de que los biofilms de *S. aureus* inducen ligandos de PD-1 y antagonista del receptor de IL-1 (IL-1RA), suprimiendo las respuestas de células T [33]. Nishitani et al., en un modelo murino de tibia, cuantificaron la maduración del biofilm y observaron picos de carga bacteriana entre los días 3 y 7 tras la implantación [40]. Morales-Laverde et al. identificaron la expresión específica de cepa de genes de adhesión (p. ej., clfA, fnbA) que modulan la formación de biofilm al potenciar la adherencia y agregación bacterianas, e influyen en la respuesta inmune del huésped, evadiendo la detección inmune y promoviendo la infección crónica [45].

La detección de bacterias asociadas a biofilm plantea retos diagnósticos significativos

Los métodos de cultivo convencionales a menudo tienen dificultades para detectar bacterias en biofilm debido a su naturaleza sésil y baja actividad metabólica [46,47]. Sin embargo, la sonicación de implantes explantados mejora la sensibilidad al desprender bacterias del biofilm, como demostró un estudio fundamental en el que los cultivos de fluido de sonicación detectaron el 78,5% de las IAP frente al 60,8% con cultivos tisulares [46]. Las técnicas moleculares como la PCR con espectrometría de masas (Ibis T5000) y sondas basadas en nucleasas (p. ej., AttoPolyT) permiten una detección rápida sin cultivo [48,49]. Por ejemplo, la sonda AttoPolyT se dirige a la actividad nucleasa de *S. aureus* y alcanza un 90% de precisión en muestras de líquido sinovial [49,50]. Más recientemente, se evaluó el uso de microcalorimetría isotérmica (IMC) para detectar microorganismos en muestras tisulares y líquido sinovial [51,52]. La precisión de la IMC fue al menos comparable a la del cultivo, pero proporciona resultados mucho más rápidos. Weaver et al. emplearon secuenciación metagenómica de lectura completa (whole-genome shotgun) para descubrir biofilms polimicrobianos en IAP, cuestionando el paradigma tradicional de monocultivo [50]. Zatorska et al. correlacionaron niveles elevados de eDNA en aislamientos clínicos de *S. aureus* con mayor formación de biofilm, sugiriendo el eDNA como marcador diagnóstico [7].

Estrategias terapéuticas

1) Antibióticos: Se están explorando métodos de sensibilidad específicos del biofilm como la concentración mínima inhibitoria de biofilm (MBIC) y la concentración mínima de erradicación de biofilm (MBEC) para guiar la terapia en IAP [53]. La rifampicina y la doxiciclina se prefieren para biofilms estafilocócicos por su penetración en la EPS [24,25,27,54], aunque la resistencia emerge rápidamente si se emplean en monoterapia. Combinaciones como rifampicina + vancomicina o daptomicina + linezolid muestran sinergia en modelos de biofilm estáticos y dinámicos [55–57].

2) Terapia con fagos: Los fagos interrumpen los biofilms al lisar las células bacterianas y degradar la EPS, y se están utilizando para infecciones de difícil tratamiento. Su uso en IAP ha sido revisado recientemente [58,59].

3) Terapias locales: (i) Recubrimientos antimicrobianos: superficies de titanio modificadas con vancomicina y recubrimientos con quitosano reducen la adhesión del biofilm [26,60,61]. (ii) Disruptores de biofilm: DNasa y EDTA degradan el eDNA y quelan iones metálicos, respectivamente, debilitando la estructura del biofilm [35,62,63]. (iii) Inducción electromagnética: un dispositivo

portátil que calienta implantes de titanio a 70 °C redujo los biofilms de *S. aureus* en 3–6 log10 UFC [64].

4) Inmunomodulación: La modulación de vías del huésped (p. ej., JAK/STAT) puede reducir la virulencia del biofilm. Turner et al. encontraron que el salicilato sódico inhibe el sistema agr de *S. aureus*, reduciendo la producción de toxinas [65]. Sun et al. desarrollaron recubrimientos de simvastatina-hidroxiapatita que inhiben la formación de biofilm y mejoran la osteogénesis en modelos de rata [66]. Ding et al. desarrollaron un sistema de nanopartículas que perturba el metabolismo del hierro bacteriano y potencia la eficacia de cefiderocol frente a biofilms de *P. aeruginosa* [67]. Modificaciones de biomateriales, como el recubrimiento vancomicina-povidona-yodo [29] y péptidos de camello, han mostrado eficacia contra biofilms estafilocócicos [68]. Intervenciones no antibióticas, incluida la calefacción electromagnética [64] y guías clínicas centradas en biofilm, ponen de relieve soluciones multidisciplinares [69].

Variabilidad y excepciones

Aunque los biofilms predominan en las IAIs, existen excepciones. 1) Patógenos no formadores de biofilm: *Escherichia coli* puede colonizar implantes mediante motilidad flagelar más que por biofilm [26]. Las variantes de colonia pequeña (SCVs) de *S. aureus* persisten intracelularmente, evadiendo antibióticos y células inmunes [34]. 2) Diferencias específicas de cepa: los aislamientos de *S. epidermidis* en IAP suelen portar icaADBC e IS256, mientras que las cepas comensales carecen de estos genes [6]. Fernandes y Dias describieron IAP por *Candida krusei* como un caso poco frecuente de biofilm no bacteriano [70]. Hagstrand Aldman et al. vincularon una elevada producción de biofilm en *S. lugdunensis* con recurrencias de IAP [28].

Implicaciones clínicas y de investigación

1) Modelos estandarizados: Los modelos *in vitro* actuales (p. ej., placas de microtitulación) pueden carecer de relevancia fisiológica. El uso de células y proteínas del huésped y de modelos dinámicos (p. ej., reactor de biofilm CDC) podría imitar mejores escenarios *in vivo* en los que las interacciones huésped-bacteria, el esfuerzo cortante y los gradientes de nutrientes son relevantes, mejorando la validez traslacional [71,72]. El empleo de modelos de biofilm basados en líquido sinovial (humano, animal o sintético) permite estudiar agregados de biofilm y aumentar aún más la relevancia fisiológica [73,74].

2) Medicina personalizada: La caracterización genómica de genes relacionados con biofilm (p. ej., ica, agr) podría guiar la terapia [9,13]. Chen et al. identificaron fnbA y clfA como predictores de la gravedad de IAP por *S. aureus* [75].

3) Innovación en biomateriales: Aleaciones de magnesio: los implantes degradables de magnesio inducen alcalinización local, inhibiendo biofilms de *P. aeruginosa* [76]. Superficies infundidas en líquido (LIS): recubrimientos LIS conjugados con quitosano repelen bacterias y, a la vez, favorecen la adhesión de osteoblastos [60].

4) Estrategias coadyuvantes, incluida la inmunoterapia: Vacunas antiestafilocócicas dirigidas a antígenos de biofilm (p. ej., PNAG) se hallan en fase preclínica [77]. Saeed et al. esbozaron guías de consenso ICM que priorizan la investigación dirigida al biofilm [78]. MacConnell et al. revisaron nuevos sistemas de irrigación (p. ej., XPERIENCE™) que combinan lavado pulsátil con antimicrobianos [47,69,79].

En conclusión, los biofilms constituyen el desafío central en las IAIs, impulsando la resistencia a antibióticos, la evasión inmune y la cronicidad. Aunque existen excepciones —como patógenos que no forman biofilm o la persistencia intracelular—, la preponderancia de la evidencia de 75 estudios respalda el predominio del biofilm. Son fundamentales los avances en diagnóstico (p. ej., sonicación, sondas nucleasa), terapias (p. ej., combinaciones fago-antibiótico, biomateriales) y enfoques personalizados (p. ej., perfiles genómicos) para mejorar los resultados. Las investigaciones futuras deben priorizar modelos fisiológicos estandarizados *in vivo*, diagnósticos rápidos y ensayos clínicos de agentes innovadores dirigidos al biofilm (incluidos los disruptores de biofilm). Como señalaron Giordano y Giannoudis, «La batalla contra el biofilm es una maratón, no un sprint», y requiere colaboración multidisciplinar para trasladar los avances de laboratorio al éxito clínico [80].

REFERENCIAS

1. Ehrlich GD, Arciola CR. From Koch's postulates to biofilm theory. The lesson of Bill Costerton. Int J Artif Organs. Oct 2012;35(10):695-9.
2. Arciola CR, Campoccia D, Speziale P, Montanaro L, Costerton JW. Biofilm formation in *Staphylococcus* implant infections. A review of molecular mechanisms and implications for biofilm-resistant materials. Biomaterials. 2012;33(26):5967-82.
3. Campoccia D, Montanaro L, Ravaioli S, Pirini V, Cangini I, Arciola CR. Exopolysaccharide production by *Staphylococcus epidermidis* and its relationship with biofilm extracellular DNA. Int J Artif Organs. 2011;34(9):832-9.
4. Kavanaugh JS, Flack CE, Lister J, et al. Identification of Extracellular DNA-Binding Proteins in the Biofilm Matrix. mBio. 2019;10(3)
5. Hellmark B, Söderquist B, Unemo M, Nilsdotter-Augustinsson Å. Comparison of *Staphylococcus epidermidis* isolated from prosthetic joint infections and commensal isolates in regard to antibiotic susceptibility, agr type, biofilm production, and epidemiology. Int J Med Microbiol. 2013;303(1):32-9.
6. Sánchez A, Benito N, Rivera A, et al. Pathogenesis of *Staphylococcus epidermidis* in prosthetic joint infections: Can identification of virulence genes differentiate between infecting and commensal strains? J Hosp Infect. 2020;
7. Zatorska B, Groger M, Moser D, Diab-Elschahawi M, Lusignani LS, Presterl E. Does Extracellular DNA Production Vary in Staphylococcal Biofilms Isolated From Infected Implants versus Controls? Clin Orthop Relat Res. 2017;475(8):2105-2113.
8. Yu S, Jiang B, Jia C, et al. Investigation of biofilm production and its association with genetic and phenotypic characteristics of OM (osteomyelitis) and non-OM orthopedic *Staphylococcus aureus*. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2020;19(1):10.
9. Santos INM, Kurihara MNL, Santos FF, et al. Comparative Phenotypic and Genomic Features of Staphylococci from Sonication Fluid of Orthopedic Implant-Associated Infections with Poor Outcome. Microorganisms. 2022;10(6)
10. Mirzaei B, Faridifar P, Shahmoradi M, et al. Genotypic and phenotypic analysis of biofilm formation *Staphylococcus epidermidis* isolates from clinical specimens. BMC Res Notes. 2020;13(1):114.
11. Foster CE, Kok M, Flores AR, et al. Adhesin genes and biofilm formation among pediatric *Staphylococcus aureus* isolates from implant-associated infections. PLoS One. 2020;15(6):e0235115.
12. Giormezis N, Kolonitsiou F, Foka A, et al. Coagulase-negative staphylococcal bloodstream and prosthetic-device-associated infections: the role of biofilm formation and distribution of adhesin and toxin genes. J Med Microbiol. 2014;63(Pt 11):1500-1508.
13. Post V, Wahl P, Uçkay I, et al. Phenotypic and genotypic characterisation of *Staphylococcus aureus* causing musculoskeletal infections. Int J Med Microbiol. 2014;304(5-6):565-76.
14. Lora-Tamayo J, Senneville É, Ribera A, et al. The Not-So-Good Prognosis of Streptococcal Periprosthetic Joint Infection Managed by Implant Retention: The Results of a Large Multicenter Study. Clin Infect Dis. 2017;64(12):1742-1752.
15. Pesset CM, Fonseca COD, Antunes M, et al. Biofilm formation by *Staphylococcus pseudintermedius* on titanium implants. Biofouling. 2024;40(1):88-97.
16. Zaborowska M, Tillander J, Brånemark R, Hagberg L, Thomsen P, Trobos M. Biofilm formation and antimicrobial susceptibility of staphylococci and enterococci from osteomyelitis associated with percutaneous orthopaedic implants. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2017;105(8):2630-2640.

17. Ma D, Mandell JB, Donegan NP, et al. The Toxin-Antitoxin MazEF Drives *Staphylococcus aureus* Biofilm Formation, Antibiotic Tolerance, and Chronic Infection. mBio. 2019;10(6)
18. Manasherob R, Mooney JA, Lowenberg DW, Bollyky PL, Amanatullah DF. Tolerant Small-colony Variants Form Prior to Resistance Within a *Staphylococcus aureus* Biofilm Based on Antibiotic Selective Pressure. Clin Orthop Relat Res. 2021;479(7):1471-1481.
19. Urish KL, DeMuth PW, Kwan BW, et al. Antibiotic-tolerant *Staphylococcus aureus* Biofilm Persists on Arthroplasty Materials. Clin Orthop Relat Res. 2016;474(7):1649-56.
20. Babushkina IV, Mamonova IA, Ulyanov VY, Gladkova EV, Shpinyak *SP*. Antibiotic Susceptibility of *Staphylococcus aureus* Plankton and Biofilm Forms Isolated in Implant-Associated Infection. Bull Exp Biol Med. 2021;172(1):46-48.
21. Koch JA, Pust TM, Cappellini AJ, et al. *Staphylococcus epidermidis* Biofilms Have a High Tolerance to Antibiotics in Periprosthetic Joint Infection. Life (Basel). 2020;10(11)
22. Reiter KC, Villa B, Paim T, de Oliveira CF, d'Azevedo PA. Inhibition of biofilm maturation by linezolid in meticillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates: comparison with other drugs. J Med Microbiol. 2013;62(Pt 3):394-399.
23. Daffinee KE, Piehl EC, Bleick C, LaPlante KL. Eradication of *Staphylococcus epidermidis* within Biofilms: Comparison of Systemic versus Supratherapeutic Concentrations of Antibiotics. Antimicrob Agents Chemother. 2023;67(6):e0010823.
24. Mandell JB, Orr S, Koch J, et al. Large variations in clinical antibiotic activity against *Staphylococcus aureus* biofilms of periprosthetic joint infection isolates. J Orthop Res. 2019;37(7):1604-1609.
25. Okae Y, Nishitani K, Sakamoto A, et al. Estimation of Minimum Biofilm Eradication Concentration (MBEC) on *In vivo* Biofilm on Orthopedic Implants in a Rodent Femoral Infection Model. Front Cell Infect Microbiol. 2022;12:896978.
26. Antoci V, Jr., Adams CS, Parvizi J, et al. The inhibition of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation by vancomycin-modified titanium alloy and implications for the treatment of periprosthetic infection. Biomaterials. 2008;29(35):4684-90.
27. Svensson Malchau K, Tillander J, Zaborowska M, et al. Biofilm properties in relation to treatment outcome in patients with first-time periprosthetic hip or knee joint infection. J Orthop Translat. 2021;30:31-40.
28. Hagstrand Aldman M, Thompson O, Påhlman LI. Biofilm formation is associated with poor outcome in prosthetic joint infections caused by *Staphylococcus* lugdunensis. Infect Dis (Lond). 2023;55(5):328-332.
29. Taha M, Arulanandam R, Chen A, Diallo JS, Abdelbary H. Combining povidone-iodine with vancomycin can be beneficial in reducing early biofilm formation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-sensitive *S. aureus* on titanium surface. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2023;111(5):1133-1141.
30. Xie C, Ren Y, Weeks J, et al. Longitudinal intravital imaging of the bone marrow for analysis of the race for the surface in a murine osteomyelitis model. J Orthop Res. Mar 2024;42(3):531-538.
31. Davidson DJ, Spratt D, Liddle AD. Implant materials and prosthetic joint infection: the battle with the biofilm. EFORT Open Rev. 2019;4(11):633-639.
32. Jørgensen NP, Meyer RL, Dagnæs-Hansen F, Fuursted K, Petersen E. A modified chronic infection model for testing treatment of *Staphylococcus aureus* biofilms on implants. PLoS One. 2014;9(10):e103688.
33. Bell RD, Cann EA, Mishra B, et al. Staphyloccocus aureus biofilm, in absence of planktonic bacteria, produces factors THAt activate counterbalancing inflammatory and immune-suppressive genes in human monocytes. J Orthop Res. 2024;42(11):2582-2592.
34. Josse J, Valour F, Maali Y, et al. Interaction Between Staphylococcal Biofilm and Bone: How Does the Presence of Biofilm Promote Prosthesis Loosening? Front Microbiol. 2019;10:1602.
35. Campoccia D, Ravaioli S, Mirzaei R, Bua G, Daglia M, Arciola CR. Interactions of Neutrophils with the Polymeric Molecular Components of the Biofilm Matrix in the Context of Implant-Associated Bone and Joint Infections. Int J Mol Sci. 2023;24(23)
36. Ricciardi BF, Muthukrishnan G, Masters E, Ninomiya M, Lee CC, Schwarz EM. *Staphylococcus aureus* Evasion of Host Immunity in the Setting of Prosthetic Joint Infection: Biofilm and Beyond. Curr Rev Musculoskelet Med. 2018;11(3):389-400.
37. Coraça-Huber DC, Kreidl L, Steixner S, Hinz M, Dammerer D, Fille M. Identification and Morphological Characterization of Biofilms Formed by Strains Causing Infection in Orthopedic Implants. Pathogens. 2020;9(8)
38. Lamret F, Varin-Simon J, Six M, et al. Human Osteoblast-Conditioned Media Can Influence *Staphylococcus aureus* Biofilm Formation. Int J Mol Sci. 2022;23(22)
39. Carli AV, Bhimani S, Yang X, et al. Quantification of Peri-Implant Bacterial Load and *in vivo* Biofilm Formation in an Innovative, Clinically Representative Mouse Model of Periprosthetic Joint Infection. J Bone Joint Surg Am. 2017;99(6):e25.
40. Nishitani K, Sutipornpalangkul W, de Mesy Bentley KL, et al. Quantifying the natural history of biofilm formation *in vivo* during the establishment of chronic implant-associated *Staphylococcus aureus* osteomyelitis in mice to identify critical pathogen and host factors. J Orthop Res. 2015;33(9):1311-9.
41. Vidlak D, Kielian T. Infectious Dose Dictates the Host Response during *Staphylococcus aureus* Orthopedic-Implant Biofilm Infection. Infect Immun. 2016;84(7):1957-1965.
42. Turner AB, Giraldo-Osorno PM, Douest Y, et al. Race for the surface between THP-1 macrophages and *Staphylococcus aureus* on various titanium implants with well-defined topography and wettability. Acta Biomater. Jan 1 2025;191:113-139.
43. Kates SL, Owen JR, Xie C, Ren Y, Muthukrishnan G, Schwarz EM. Vaccines: Do they have a role in orthopedic trauma? Injury. Nov 2024;55 Suppl 6:111631.
44. Mandell JB, Gish C, Cappellini AJ, et al. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* mazEF expression promotes infections by influencing cellular growth, antibiotic sensitivity, and formation of biofilms. Sci Rep. 2024;14(1):21269.
45. Morales-Laverde L, Trobos M, Echeverz M, Solano C, Lasa I. Functional analysis of intergenic regulatory regions of genes encoding surface adhesins in *Staphylococcus aureus* isolates from periprosthetic joint infections. Biofilm. 2022;4:100093.
46. Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ, et al. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. N Engl J Med. 2007;357(7):654-63.
47. Urish KL, DeMuth PW, Craft DW, Haider H, Davis CM, 3rd. Pulse lavage is inadequate at removal of biofilm from the surface of total knee arthroplasty materials. J Arthroplasty. 2014;29(6):1128-32.
48. Stoodley P, Conti SF, DeMeo PJ, et al. Characterization of a mixed MRSA/MRSE biofilm in an explanted total ankle arthroplasty. FEMS Immunol Med Microbiol. 2011;62(1):66-74.
49. Schoenmakers JWA, López-Álvarez M, FFA IJ, et al. A fluorogenic micrococcal nuclease-based probe for fast detection and optical imaging of *Staphylococcus aureus* in prosthetic joint and fracture-related infections. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2024;51(10):2988-2997.
50. Weaver AA, Hasan NA, Klaassen M, Karathia H, Colwell RR, Shrout JD. Prosthetic joint infections present diverse and unique microbial communities using combined whole-genome shotgun sequencing and culturing methods. J Med Microbiol. 2019;68(10):1507-1516.
51. Morgenstern C, Renz N, Cabric S, Maiolo E, Perka C, Trampuz A. Thermogenic diagnosis of periprosthetic joint infection by microcalorimetry of synovial fluid. BMC Musculoskelet Disord. Jun 3 2020;21(1):345.
52. Cichos KH, Ruark RJ, Ghanem ES. Isothermal microcalorimetry improves accuracy and time to bacterial detection of periprosthetic joint infection after total joint arthroplasty. J Clin Microbiol. Dec 19 2023;61(12):e0089323.
53. Tillander JAN, Rilby K, Svensson Malchau K, et al. Treatment of periprosthetic joint infections guided by minimum biofilm eradication concentration (MBEC) in addition to minimum inhibitory concentration (MIC): protocol for a prospective randomised clinical trial. BMJ Open. Sep 15 2022;12(9):e058168.
54. Lamret F, Colin M, Mongaret C, Gangloff SC, Reffuveille F. Antibiotic Tolerance of *Staphylococcus aureus* Biofilm in Periprosthetic Joint Infections and Antibiofilm Strategies. Antibiotics (Basel). 2020;9(9)
55. Siala W, Rodriguez-Villalobos H, Fernandes P, Tulkens PM, Van Bambeke F. Activities of Combinations of Antistaphylococcal Antibiotics with Fusidic Acid against Staphylococcal Biofilms in *In vitro* Static and Dynamic Models. Antimicrob Agents Chemother. 2018;62(7)
56. Kebriaei R, Lehman SM, Shah RM, et al. Optimization of Phage-Antibiotic Combinations against *Staphylococcus aureus* Biofilms. Microbiol Spectr. 2023;11(3):e0491822.
57. Lu Y, Cai WJ, Ren Z, Han P. The Role of Staphylococcal Biofilm on the Surface of Implants in Orthopedic Infection. Microorganisms. 2022;10(10)
58. Ferry T, Onsea J, Roussel-Gaillard T, Batailler C, Moriarty TF, Metsemakers WJ. Bacteriophage therapy in musculoskeletal infections: from basic science to clinical application. EFORT Open Rev. May 10 2024;9(5):339-348.
59. Yang S, Mukh AA, Abdelatif E, et al. Bacteriophage therapy as an innovative strategy for the treatment of Periprosthetic Joint Infection: a systematic review. Int Orthop. Nov 2024;48(11):2809-2825.
60. Villegas M, Zhang Y, Badv M, et al. Enhancing osseointegration and mitigating bacterial biofilms on medical-grade titanium with chitosan-conjugated liquid-infused coatings. Sci Rep. 2022;12(1):5380.
61. Jiang N, Wang BW, Chai YM, et al. Chinese expert consensus on diagnosis and treatment of infection after fracture fixation. Injury. 2019;50(11):1952-1958.
sub-inhibitory povidone-iodine concentrations against *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. J Orthop Res. 2010;28(9):1252-6.
63. Jacqueline C, Caillon J. Impact of bacterial biofilm on the treatment of prosthetic joint infections. J Antimicrob Chemother. 2014;69 Suppl 1:i37-40.
64. Enrique CG, Medel-Plaza M, Correa JJA, et al. Biofilm on total joint replacement materials can be reduced through electromagnetic induction heating using a portable device. J Orthop Surg Res. 2024;19(1):304.
65. Turner AB, Gerner E, Firdaus R, et al. Role of sodium salicylate in *Staphylococcus aureus* quorum sensing, virulence, biofilm formation and antimicrobial susceptibility. Front Microbiol. 2022;13:931839.
66. Sun T, Huang J, Zhang W, et al. Simvastatin-hydroxyapatite coatings prevent biofilm formation and improve bone formation in implant-associated infections. Bioact Mater. 2023;21:44-56.
67. Ding J, Wang X, Liu W, et al. Biofilm Microenvironment Activated Antibiotic Adjuvant for Implant-Associated Infections by Systematic Iron Metabolism Interference. Adv Sci (Weinh). 2024;11(17):e2400862.
68. Nowicka J, Janczura A, Pajączkowska M, et al. Effect of Camel Peptide on the Biofilm of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus* haemolyticus Formed on Orthopedic Implants. Antibiotics (Basel). 2023;12(12)
69. MacConnell AE, Levack AE, Brown NM. Biofilm and How It Relates to Prosthetic Joint Infection. Orthop Clin North Am. 2024;55(2):161-169.
70. Fernandes A, Dias M. The Microbiological Profiles of Infected Prosthetic Implants with an Emphasis on the Organisms which Form Biofilms. J Clin Diagn Res. 2013;7(2):219-23.
71. Tunney MM, Dunne N, Einarsson G, McDowell A, Kerr A, Patrick S. Biofilm formation by bacteria isolated from retrieved failed prosthetic hip implants in an *in*

vitro model of hip arthroplasty antibiotic prophylaxis. J Orthop Res. 2007;25(1):2-10.
72. Lamret F, Lemaire A, Lagoutte M, et al. Approaching prosthesis infection environment: Development of an innovative *in vitro Staphylococcus aureus* biofilm model. Biofilm. 2023;5:100120.
73. Gilbertie JM, Schnabel LV, Hickok NJ, et al. Equine or porcine synovial fluid as a novel *ex vivo* model for the study of bacterial free-floating biofilms THAt form in human joint infections. PLoS One. 2019;14(8):e0221012.
74. De Bleeckere A, van Charante F, Debord T, et al. A novel synthetic synovial fluid model for investigating biofilm formation and antibiotic susceptibility in prosthetic joint infections. Microbiol Spectr. Jan 7 2025;13(1):e0198024.
75. Chen P, Sun F, Feng W, Hong H, Li B, Song J. Pathogenic characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from arthroplasty infections. Int J Artif Organs. 2021;44(3):208-214.
76. Rahim MI, Babbar A, Lienenklaus S, Pils MC, Rohde M. Degradable magnesium implant-associated infections by bacterial biofilms induce robust localized and systemic inflammatory reactions in a mouse model. Biomed Mater. 2017;12(5):055006.
77. Masters EA, Trombetta RP, de Mesy Bentley KL, et al. Evolving concepts in bone infection: redefining "biofilm", "acute vs. chronic osteomyelitis", "the immune proteome" and "local antibiotic therapy". Bone Res. 2019;7:20.
78. Saeed K, McLaren AC, Schwarz EM, et al. 2018 international consensus meeting on musculoskeletal infection: Summary from the biofilm workgroup and consensus on biofilm related musculoskeletal infections. J Orthop Res. 2019;37(5):1007-1017.
79. Sequeira SB, Myntti MF, Lee J, Mont MA. An Overview of Research for the Application of a Novel Biofilm-Preventing Surgical Irrigation System for Total Joint Arthroplasty Procedures in Order to Reduce the Risk of Periprosthetic Infection. Surg Technol Int. 2024.
80. Giordano V, Giannoudis PV. Biofilm Formation, Antibiotic Resistance, and Infection (BARI): The Triangle of Death. J Clin Med. 2024;13(19)

Autores: Ali Parsa, Goran Bicanic, Dan Schlatterer, Antonio Spinarelli, Bolarinwa Akinola, Seung-Hoon Baek, Kang-il Kim, Chris Arts, Lincoln Liow, Javad Parvizi

Autor de Correspondencia
Javad Parvizi MD
Email: javadparvizi@gmail.com

PREGUNTA 15. ¿Son útiles los dispositivos de desbridamiento por ultrasonidos para la eliminación de Biofilm en infecciones ortopédicas?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: Los dispositivos de desbridamiento por ultrasonidos muestran potencial para el manejo de la infección crónica de heridas y de las infecciones asociadas al Biofilm. Si bien la evidencia preclínica es sólida en odontología, los datos clínicos son menos concluyentes especialmente para implantes ortopédicos ya que la evidencia es limitada, pero sugiere beneficios potenciales.

NIVEL DE EVIDENCIA: Débil.

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 95%, En desacuerdo 0%, Abstención 5% (Consenso Total).

JUSTIFICACIÓN

Las infecciones ortopédicas, en particular aquellas asociadas a implantes, plantean desafíos significativos debido a la formación de Biofilm [1,2]. Los Biofilms son comunidades microbianas complejas que se adhieren a las superficies y muestran resistencia a los antibióticos y a las respuestas inmunitarias del huésped [3–5]. Los dispositivos de desbridamiento por ultrasonidos han surgido como una posible solución para interrumpir los Biofilms, pero su eficacia sigue siendo objeto de debate [6,7]. Esta revisión sistemática sintetiza la evidencia procedente de los estudios cribados e incluidos para evaluar la utilidad de los dispositivos de desbridamiento por ultrasonidos en la eliminación de Biofilm en infecciones ortopédicas.

Métodos

Se realizó una búsqueda bibliográfica exhaustiva utilizando términos MeSH pertinentes para desbridamiento por ultrasonidos, Biofilm e infecciones ortopédicas, en PubMed/MedLine y Science Direct. De los 192 estudios identificados inicialmente, 45 cumplieron los criterios de inclusión tras el cribado de resúmenes. Se revisaron los textos completos y se seleccionaron 13 estudios para la revisión sistemática, y se identificó un estudio adicional en las referencias. Catorce estudios [8–21] incluidos en esta revisión evaluaron la eficacia de los dispositivos de desbridamiento por ultrasonidos para la eliminación del Biofilm en entornos preclínicos y clínicos. Se extrajeron datos sobre el diseño del estudio, los resultados y las limitaciones.

Resultados

Hemos resumido los resultados extraídos en la Tabla 1.

Cinco de los catorce estudios (35,7%) fueron estudios clínicos; el resto fueron *in vitro*. La mayoría de los estudios pertenecían a los ámbitos de Endodoncia y de la cirugía plástica y el manejo de heridas crónicas.

Estudios preclínicos

Se ha demostrado en numerosas investigaciones *in vitro* y en algunas *in vivo* que los dispositivos de desbridamiento por ultrasonidos rompen de forma eficaz los Biofilms producidos por patógenos comunes, como *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. Entre las principales conclusiones se encuentra que el ultrasonido de alta frecuencia alteró la estructura de los Biofilms, haciendo que las bacterias fueran más vulnerables a los antibióticos. Según ciertas investigaciones, los Biofilms pueden eliminarse de las superficies metálicas y óseas en >90% sin dañar gravemente los tejidos del huésped [22,23]. Los dispositivos de baja frecuencia y otras tecnologías ultrasónicas avanzadas demostraron una mejor penetración en superficies irregulares, lo cual es crucial para las aplicaciones ortopédicas. Aunque los resultados de los estudios clínicos fueron limitados, mostraron que el desbridamiento por ultrasonidos, cuando se utilizó junto con técnicas quirúrgicas convencionales, incrementó las tasas de aclaramiento de la infección en heridas crónicas y en infecciones alrededor de implantes [8,20–22]. Existe una brecha entre los estudios experimentales y los clínicos; pese a los resultados experimentales prometedores, los estudios clínicos siguen siendo limitados. En algunos estudios se ha demostrado que el desbridamiento por ultrasonidos reduce la morbilidad quirúrgica y preserva el tejido sano. El desbridamiento por ultrasonidos mostró una eficacia superior de eliminación de Biofilm y menores tiempos de tratamiento en modelos preclínicos. En la práctica clínica, los resultados fueron comparables, pero favorecieron los métodos ultrasónicos en casos específicos de Biofilms resistentes [21,22].

En conclusión, los dispositivos de desbridamiento por ultrasonidos muestran potencial para el manejo de la

infección crónica de heridas y de las infecciones asociadas al Biofilm. Si bien la evidencia preclínica en odontología es sólida, los datos clínicos son menos concluyentes; en particular, para el implante ortopédico esta evidencia es muy limitada, pero sugiere beneficios potenciales.

REFERENCIAS

1. Goh GS, Parvizi J. Diagnosis and treatment of culture-negative periprosthetic joint infection. The Journal of Arthroplasty. 2022 Aug 1;37(8):1488-93.
2. Hameister R, Lim CT, Lohmann CH, Wang W, Singh G. What is the role of diagnostic and therapeutic sonication in periprosthetic joint infections?. The Journal of Arthroplasty. 2018 Aug 1;33(8):2575-81.
3. Seta JF, Pawlitz PR, Aboona F, Weaver MJ, Bou-Akl T, Ren W, Markel DC. Efficacy of Commercially Available Irrigation Solutions on Removal of *Staphylococcus aureus* and Biofilm From Porous Titanium Implants: An *In vitro* Study. The Journal of Arthroplasty. 2024 Sep 1;39(9):S292-8.
4. Amanatullah D, Dennis D, Oltra EG, Gomes LS, Goodman SB, Hamlin B, Hansen E, Hashemi-Nejad A, Holst DC, Komnos G, Koutalos A. Hip and knee section, diagnosis, definitions: proceedings of international consensus on orthopedic infections. The Journal of arthroplasty. 2019 Feb 1;34(2):S329-37.
5. Fillingham Y, Greenwald AS, Greiner J, Oshkukov S, Parsa A, Porteous A, Squire MW. Hip and knee section, prevention, local antimicrobials: proceedings of international consensus on orthopedic infections. The Journal of Arthroplasty. 2019 Feb 1;34(2):S289-92.
6. Cooper AM, Shope AJ, Javid M, Parsa A, Chinoy MA, Parvizi J. Musculoskeletal infection in pediatrics: assessment of the 2018 International Consensus Meeting on Musculoskeletal Infection. JBJS. 2019 Dec 18;101(24):e133.
7. Urish KL, DeMuth PW, Craft DW, Haider H, Davis III CM. Pulse lavage is inadequate at removal of biofilm from the surface of total knee arthroplasty materials. The Journal of arthroplasty. 2014 Jun 1;29(6):1128-32.
8. Mori Y, Nakagami G, Kitamura A, Minematsu T, Kinoshita M, Suga H, Kurita M, Hayashi C, Kawasaki A, Sanada H. Effectiveness of biofilm-based wound care system on wound healing in chronic wounds. Wound Repair and Regeneration. 2019 Sep;27(5):540-7.
9. Teves A, Blanco D, Casaretto M, Torres J, Alvarado DE, Coaguila-Llerena H, Faria G, Jaramillo DE. Multispecies biofilm removal by XP-endo Finisher and passive ultrasonic irrigation: a scanning electron microscopy study. Australian Endodontic Journal. 2022 Apr;48(1):91-7.
10. Hoedke D, Kaulika N, Dommisch H, Schlafer S, Shemesh H, Bitter K. Reduction of dual-species biofilm after sonic-or ultrasonic-activated irrigation protocols: A laboratory study. International endodontic journal. 2021 Dec;54(12):2219-28.
11. Aust Endod J. 2019 Dec;45(3):317-324. Efficacy of laser and ultrasonic-activated irrigation on eradicating a mixed-species biofilm in human mesial roots.
12. Coaguila-Llerena H, Ordinola-Zapata R, Staley C, Dietz M, Chen R, Faria G. Multispecies biofilm removal by a multisonic irrigation system in mandibular molars. International endodontic journal. 2022 Nov;55(11):1252-61.
13. Joy J, Mathias J, Sagir VM, Babu BP, Chirayath KJ, Hameed H. Bacterial biofilm removal using static and passive ultrasonic irrigation. Journal of international oral health: JIOH. 2015 Jul;7(7):42.
14. Joy J, Mathias J, Sagir VM, Babu BP, Chirayath KJ, Hameed H. Bacterial biofilm removal using static and passive ultrasonic irrigation. Journal of international oral health: JIOH. 2015 Jul;7(7):42.
15. Donnermeyer D, Dust PC, Schäfer E, Bürklein S. Comparative analysis of irrigation techniques for cleaning efficiency in isthmus structures. Journal of Endodontics. 2024 May 1;50(5):644-50.
16. Gartenmann SJ, Thurnheer T, Attin T, Schmidlin PR. Influence of ultrasonic tip distance and orientation on biofilm removal. Clinical oral investigations. 2017 May;21:1029-36.
17. Russo A, Gatti A, Felici S, Gambardella A, Fini M, Neri MP, Zaffagnini S, Lazzarotto T. Piezoelectric ultrasonic debridement as new tool for biofilm removal from orthopedic implants: A study *in vitro*. Journal of Orthopaedic Research®. 2023 Dec;41(12):2749-55.
18. Bao P, Liu H, Yang L, Zhang L, Yang L, Xiao N, Shen J, Deng J, Shen Y. *In vitro* efficacy of Er: YAG laser-activated irrigation versus passive ultrasonic irrigation and sonic-powered irrigation for treating multispecies biofilms in artificial grooves and dentinal tubules: an SEM and CLSM study. BMC Oral Health. 2024 Feb 22;24(1):261.
19. Leonhardt Å, Bergström C, Krok L, Cardaropoli G. Healing following ultrasonic debridement and PVP-iodine in individuals with severe chronic periodontal disease: a randomized, controlled clinical study. Acta Odontologica Scandinavica. 2006 Jan 1;64(5):262-6.
20. Leonhardt Å, Bergström C, Krok L, Cardaropoli G. Microbiological effect of the use of an ultrasonic device and iodine irrigation in patients with severe chronic periodontal disease: a randomized controlled clinical study. Acta Odontologica Scandinavica. 2007 Jan 1;65(1):52-9.
21. Breuing KH, Bayer L, Neuwalder J, Orgill DP. Early experience using low-frequency ultrasound in chronic wounds. Annals of plastic surgery. 2005 Aug 1;55(2):183-7.

22. Messa IV CA, Chatman BC, Rhemtulla IA, Broach RB, Mauch JT, D'Angelantonio III AM, Fischer JP. Ultrasonic debridement management of lower extremity wounds: retrospective analysis of clinical outcomes and cost. Journal of Wound Care. 2019 May 1;28(Sup5):S30-40.
23. Saeed K, McLaren AC, Schwarz EM, Antoci V, Arnold WV, Chen AF, Clauss M, Esteban J, Gant V, Hendershot E, Hickok N. 2018 international consensus meeting on musculoskeletal infection: Summary from the biofilm workgroup and consensus on biofilm related musculoskeletal infections. Journal of Orthopaedic Research. 2019 May;37(5):1007-17.

Tabla 1. Estudios incluidos en la revisión búsqueda biliográfica.

Título	Año	País	Revista	LOE	Intervención	N	Resultados
1.Effectiveness of biofilm-based wound care system on wound healing in chronic wounds	2019	Japón	Wound Repair R egen	III	Ultrasonidos vs. cuidados basados en Biofilm vs. estándar		La mediana de la proporción de eliminación del biofilm fue del 38,9 % (rango intercuartílico, 12,9-68,0 %) para las úlceras por presión tratadas con cuidados estándar y del 65,2 % (41,1-78,8 %) para las tratadas con desbridamiento ultrasónico (p = 0,009
2. Multispecies biofilm removal by XP-endo Finisher and passive ultrasonic irrigation: A scanning electron microscopy study.	2022	EE. UU.	Aust Endod J	*In vitro*	XP-endo Finisher (XPF) frente a la irrigación ultrasónica pasiva (PUI) e irrigación convencional con jeringa (CSI), en la eliminación del biofilm mediante microscopio electrónico de barrido (SEM).	50	No hubo diferencias entre PUI y XPF (P > 0,05), y ambos grupos favorecieron una mayor eliminación de biofilm que CSI+4 % NaOCl y
3. Reduction of dual- species biofilm after sonic- or ultrasonic-activated irrigation protocols: A laboratory study.	2021	Alemania	Int Endod J	*In vitro*	Suero fisiológico Vs irrigación ultrasónica de los dientes tras un tratamiento de conducto radicular	240	La activación sónica de alta frecuencia resultó en una mayor reducción bacteriana frente a la activación ultrasónica en los grupos que recibieron únicamente protocolos de irrigación/activación; sin embargo, la irrigación con NaOCl y la activación ultrasónica también contribuyeron significativamente a la reducción bacteriana frente a los grupos de control.
4.Efficacy of laser and ultrasonic-activated irrigation on eradicating a mixed-species biofilm in human mesial roots.	2019	Australia	Aust Endod J	*In vitro*	Irrigación activada por láser (Er,Cr:YSGG) vs ultrasonidos para erradicar una biofilm de especies mixtas desarrollada en conductos radiculares con anatomía compleja.		La irrigación quimio-mecánica con láser y La irrigación activa por ultrasonidos redujeron significativamente la carga bacteriana de los sistemas de conductos radiculares complejos; sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos experimentales.
5.Multispecies biofilm removal by a multisonic irrigation system in mandibular molars.	2022	EE. UU.	Int Endod J	*In vitro*	Sistema GentleWave Vs irrigación ultrasónica pasiva (PUI) de los dientes mandibulares.	22	La reducción bacteriana en las raíces mesiales de los molares mandibulares preparados a 35,04 con PUI fue similares a las reaices preparadas a 20,06 con un sistema de activación de irrigación multisónica ..
6.Bacterial Biofilm Removal Using Static and Passive Ultrasonic Irrigation.	2015	India	J Int Iral Health	*In vitro*	Irrigación estática Vs irrigación ultrasónica pasiva (PUI) de los dientes maxilares extraídos.	24	El biofilm no pudo eliminarse por completo ni con instrumentos ultrasónicos pasivos ni con irrigación estática. Se comprobó que el PUI era más eficaz en la eliminación del colágeno, especialmente en la parte apical del conducto radicular.
7.Comparative Analysis of Irrigation Techniques for Cleaning Efficiency in Isthmus Structures.	2024	Alemania	J Endod	*In vitro*	Irrigación convencional con aguja Vs SAI-E Endo ActivatorIrrigación activada por ultrasonidos Vs LAI (láser Er:YAG) en la eliminación de biofilm del modelo de conducto radicular 3D	20	La irrigación activada por láser (LAI) se asoció con la mayor eliminación de hidrogel de todo el sistema del conducto radicular (P < 0,05), seguida de la SAI-E.
8.Influence of ultrasonic tip distance and orientation on biofilm removal.	2017	Suiza	Clin Oral Investig	*In vitro*	Eliminación mecánica de biofilms Vs La eliminación ultrasónica en diferentes orientaciones y distancias de la punta	6	El desprendimiento bacteriano dependía de la orientación y la distancia de la punta, especialmente cuando esta se aplicaba lateralmente, de forma similar a lo que ocurre en el entorno clínico.

9.Piezoelectric ultrasonic debridement as new tool for biofilm removal from orthopedic implants: A study in vitro.	2023	Italia	J Orthop Res	*In vitro*	Desbridamiento piezoeléctrico por ultrasonidos frente al lavado pulsátil (PL) para la eliminación de biofilms de implantes ortopédicos de acero inoxidable y polímeros.		La comparación entre los dos lavados/desbridamientos mostró una reducción de dos logaritmos de UFC/mL ($p < 0,001$ para cada material) de PUS frente a PL.
10.In vitro efficacy of Er:YAG laser- activated irrigation versus passive ultrasonic irrigation and sonic-powered irrigation for treating multispecies biofilms in artificial grooves and dentinal tubules: an SEM and CLSM study.	2024	China	BMC Oral Health	*In vitro*	Irrigación activada por láser YAG frente a irrigación ultrasónica pasiva e irrigación sónica para el tratamiento de biofilms multiespecies.	90	Las técnicas de irrigación activadas por láser YAG, junto con EDDY, demostraron una eficacia antibiofilm significativa en las ranuras artificiales apicales de los dientes.
11.Healing following ultrasonic debridement and PVP-iodine in individuals with severe chronic periodontal disease: a randomized, controlled clinical study.	2006	Suecia	Acta Odontol Scand	I	Ultrasonidos Vs. Yodo-PVP Vs. Solución salina	20	El desbridamiento ultrasónico con Odontogain es eficaz para controlar la infección en pacientes con periodontitis crónica grave. El yodo PVP no aporta ningún beneficio clínico adicional.
12.Microbiological effect of the use of an ultrasonic device and iodine irrigation in patients with severe chronic periodontal disease: a randomized controlled clinical study.	2007	Suecia	Acta Odontol Scand	I	Ultrasonidos Vs. PVP-yodo Vs. Solución salina	20	El uso de un dispositivo ultrasónico fue eficaz para reducir las bacterias periodontales putativas analizadas. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el ultrasónico + solución salina y el ultrasónico + PVP-yodo.
13. Early experience using low-frequency ultrasound in chronic wounds.	2005	EE. UU.	Ann Plast Surg	II	Desbridamiento ultrasónico de baja frecuencia (LFUD) realizado en 17 pacientes durante 8 meses, con un seguimiento mínimo de 3 meses.	17	El 88 % de las heridas se curaron (de forma primaria o on la ayuda de un injerto de piel) o experimentaron una reducción del tamaño de la herida de al menos el 50 %.
14.Ultrasonic debridement management of lower extremity wounds: retrospective analysis of clinical outcomes and cost	2019	EE. UU.	Journal of Wound Care	III	Se llevó a cabo una revisión retrospectiva de pacientes sometidos a tratamiento de heridas en las extremidades inferiores con desbridamiento ultrasónico directo, de baja frecuencia (22,5 kHz) y alta intensidad (~60 W/cm2).	51	El uso del desbridamiento ultrasónico directo, de baja frecuencia y alta intensidad es una terapia complementaria segura y fiable para el tratamiento de estas heridas.

Autores: Tom Coenye, Hao Shen, Jeroen Neyt, Alberto Carli, Holger Rohde, Noreen Hickok

Autor de Correspondencia
Prof. Dr. Tom Coenye
Laboratory of Pharmaceutical Mictobiology
Ghent University, Belgium
Email: tom.coenye@ugent.be

PREGUNTA 16. ¿Hay formación de biofilm en el líquido sinovial?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: La bibliografía disponible sugiere de manera contundente que el biofilm de diferentes especies de *Staphylococcus* se forman en el líquido sinovial *in vitro*. Aunque existen menos estudios sobre otras especies y/o sobre la formación de biofilms *in vivo*, la evidencia disponible sugiere firmemente que la mayoría de los patógenos responsables de infecciones articulares periprotésicas (IAP) pueden formar biofilms suspendidas en el líquido sinovial, también *in vivo*.

NIVEL DE EVIDENCIA: Fuerte.

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 97%, En desacuerdo 0%, Abstención 3% (Consenso Total).

JUSTIFICACIÓN

Un aspecto central en la patogénesis de las infecciones articulares periprotésicas (IAP) es la formación de biofilms microbianas, que constituyen comunidades estructuradas de microorganismos rodeados por una matriz extracelular autoproducida. Los microorganismos asociados a biofilm suelen mostrar una menor susceptibilidad a una amplia gama de agentes antimicrobianos y están protegidos frente a las respuestas inmunológicas. Como consecuencia, la erradicación de estas biofilms es difícil.

Históricamente, los microbiólogos y clínicos se han centrado en los biofilms adheridas a superficies (como las que se fijan a los implantes). Sin embargo, investigaciones recientes han destacado que los biofilms *in vivo* suelen presentarse en forma de agregados no adheridos a superficies, como ocurre en el tracto respiratorio de pacientes con infecciones pulmonares agudas y crónicas [1, 2]. Para responder a esta cuestión, se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica exhaustiva en PubMed y Scopus utilizando los términos "biofilm", "synovial fluid", "synovia" y "joint fluid". Inicialmente se identificaron 98 estudios potencialmente relevantes y únicos, que fueron revisados por dos evaluadores independientes; de ellos, 42 se incluyeron para su análisis.La posible formación de estos agregados de biofilm no asociados a superficies en líquido sinovial se ha estudiado en varios artículos *in vitro*. Sin embargo, la metodología y modelo empleado varía considerablemente entre los estudios, lo que dificulta las comparaciones. Se ha investigado la agregación en líquido sinovial humano, bovino, porcino y equino, tanto diluido como sin diluir [3-6], además de haberse desarrollado medios artificiales/sintéticos de líquido sinovial para el estudio de este fenómeno [7, 8]. La mayoría de los estudios realizados hasta ahora se han centrado en *Staphylococcus aureus*, donde la formación de biofilms suspendidos (agregación) se observó microscópicamente en la mayoría de las cepas estudiadas, tanto MRSA (Staphulococcus aureus Meticilin Resistente) como MSSA (Staphulococcus aureus Meticilin Sensible) [5; 8-10]. Este fenotipo también se describió en varias especies de estafilococos coagulasa-negativos, incluyendo *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus* lugdunensis y *Staphylococcus* capitis [4, 7, 8, 10]. Más recientemente, se ha demostrado que un espectro más amplio de microorganismos puede formar agregados en líquido sinovial, incluyendo Gram-negativos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis*; Gram-positivos como *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis* y *Cutibacterium acnes*; así como diferentes especies de *Candida* [3, 8, 10-12]. Actualmente, solo existe un número limitado de estudios *in vivo* que confirman la formación de biofilms en el líquido sinovial. El microscopio confocal aplicado a muestras clínicas de líquido sinovial de seis pacientes con IPP confirmada, proporcionó evidencia directa de la formación de biofilms *in vivo*, dado que se observaron agregados en muestras de pacientes infectados por *S. aureus* o *S. lugdunensis* (pero no en la muestra de un paciente infectado por *Prevotella bivia*) [13]. Utilizando material obtenido de IPP, el análisis por microscopía electrónica de barrido describió la morfología tanto de biofilms adheridas al implante como de agregados suspendidos [14], aunque no se informó del tamaño de los agregados. La evidencia indirecta de la formación de agregados suspendidos de biofilm de *S. aureus* en líquido sinovial proviene del estudio de muestras clínicas del mismo, de pacientes con IAP confirmada por *S. aureus*, donde se mostraban niveles elevados de anticuerpos contra un antígeno de biofilm de *S. aureus*, sugiriendo la presencia de biofilms en dichas muestras [15]. Otra evidencia indirecta procede del hallazgo de que la sensibilidad en la detección microbiológica de muestras clínicas de líquido sinovial aumentó significativamente tras realizar un pretratamiento con ditiotreitol, que favorece el desprendimiento bacteriano desde los agregados del biofilm [16]. Los datos sobre la susceptibilidad antimicrobiana de los agregados en líquido sinovial son limitados, pero sugieren que estos agregados de

tipo biofilm suspendida (similares a los biofilms adheridas a superficies) presentan una susceptibilidad drásticamente reducida a un amplio rango de antibióticos, al menos *in vitro* [5, 8, 17]. En cuanto a los mecanismos de agregación de biofilm, los datos experimentales se limitan a *S. aureus*. Varios estudios informan que la agregación de *S. aureus* está mediada por su unión a fibrinógeno y/o fibronectina [5, 14, 18, 19]. Asimismo, se ha observado que el ácido hialurónico contribuye a la formación de agregados de *S. aureus* en líquido sinovial [6, 14].

En conclusión, toda la evidencia disponible sugiere de manera contundente que la mayoría de los patógenos causantes de IAP son capaces de formar biofilms en el líquido sinovial, si bien el grado de formación y la morfología de estos biofilms (como el tamaño de los agregados) pueden variar entre los diferentes microorganismos. Los datos limitados actualmente disponibles indican que estos biofilms suspendidas muestran una susceptibilidad muy reducida a los agentes antimicrobianos, lo que podría influir en los resultados terapéuticos.

REFERENCIAS

1. Sauer K, Stoodley P, Goeres DM, et al. 2022. The biofilm life cycle: expanding the conceptual model of biofilm formation. Nat Rev Microbiol 20:608-620.
2. Kolpen M, Kragh KN, Enciso JB, et al. 2022. Bacterial biofilms predominate in both acute and chronic human lung infections. Thorax 77:1015-1022.
3. Gilbertie JM, Schnabel LV, Hickok NJ, et al. 2019. Equine or porcine synovial fluid as a novel ex vivo model for the study of bacterial free-floating biofilms THAt form in human joint infections. PLoS One 14:e0221012.
4. Perez K, Patel R. 2015. Biofilm-like aggregation of Staphylococcus epidermidis in synovial fluid. J Infect Dis 212:335-336.
5. Dastgheyb S, Parvizi J, Shapiro IM, et al. 2015. Effect of biofilms on recalcitrance of staphylococcal joint infection to antibiotic treatment. J Infect Dis 211:641-650.
6. Ibberson CB, Parlet CP, Kwiecinski J, et al. 2016. Hyaluronan Modulation Impacts Staphylococcus aureus Biofilm Infection. Infect Immun 84:1917-1929.
7. Stamm J, Weisselberg S, Both A, et al. 2022. Development of an artificial synovial fluid useful for studying Staphylococcus epidermidis joint infections. Front Cell Infect Microbiol 12:948151.
8. De Bleeckere A, van Charante F, Debord T, et al. 2024. A novel synthetic synovial fluid model for investigating biofilm formation and antibiotic susceptibility in prosthetic joint infections. Microbiol Spectr:e0198024.
9. Staats A, Burback PW, Eltobgy M, et al. 2021. Synovial Fluid-Induced Aggregation Occurs across Staphylococcus aureus Clinical Isolates and is Mechanistically Independent of Attached Biofilm Formation. Microbiol Spectr 9:e0026721.
10. Siddiqui H, Jasiak A, Doub JB. 2024. Do All Prosthetic Joint Infection Clinical Isolates Form Aggregates in Synovial Fluid THAt Are Resistant to Antibiotic Agents? Surg Infect (Larchmt) 25:71-76.
11. Macias-Valcayo A, Staats A, Aguilera-Correa JJ, et al. 2021. Synovial Fluid Mediated Aggregation of Clinical Strains of Four Enterobacterial Species. Adv Exp Med Biol 1323:81-90.
12. Haeberle AL, Greenwood-Quaintance KE, Zar S, et al. 2024. Genotypic and phenotypic characterization of Enterococcus faecalis isolates from periprosthetic joint infections. Microbiol Spectr 12:e0056524.
13. Bidossi A, Bottagisio M, Savadori P, et al. 2020. Identification and Characterization of Planktonic Biofilm-Like Aggregates in Infected Synovial Fluids From Joint Infections. Front Microbiol 11:1368.
14. Knott S, Curry D, Zhao N, et al. 2021. *Staphylococcus aureus* Floating Biofilm Formation and Phenotype in Synovial Fluid Depends on Albumin, Fibrinogen, and Hyaluronic Acid. Front Microbiol 12:655873.
15. Harro JM, Shirtliff ME, Arnold W, et al. 2020. Development of a Novel and Rapid Antibody-Based Diagnostic for Chronic *Staphylococcus aureus* Infections Based on Biofilm Antigens. J Clin Microbiol 58.
16. Drago L, Romano D, Fidanza A, et al. 2023. Dithiotreitol pre-treatment of synovial fluid samples improves microbiological counts in peri-prosthetic joint infection. Int Orthop 47:1147-1152.
17. Dastgheyb SS, Hammoud S, Ketonis C, et al. 2015. Staphylococcal persistence due to biofilm formation in synovial fluid containing prophylactic cefazolin. Antimicrob Agents Chemother 59:2122-2128.
18. Dastgheyb SS, Villaruz AE, Le KY, et al. 2015. Role of Phenol-Soluble Modulins in Formation of *Staphylococcus aureus* Biofilms in Synovial Fluid. Infect Immun 83:2966-2975.
19. Pestrak MJ, Gupta TT, Dusane DH, et al. 2020. Investigation of synovial fluid induced *Staphylococcus aureus* aggregate development and its impact on surface attachment and biofilm formation. PLoS One 15:e0231791.

Autores: Armita A Abedi, Turkia Rouk, Karan Goswami, Gerald J Atkins, Markus Rupp, Ernesto Muñoz-Mahamud, Dirk Bumann, Willem-Jan Metsemakers, Matthew J Dietz, Jesus Moreta, J. Parvizi

Autor de Correspondencia
Armita A Abedi, ICM fellow 2024
Department of Orthopedic Surgery and Traumatology,
Copenhagen University Hospital Bispebjerg, Denmark
Email: armita.armina.abedi@regionh.dk

PREGUNTA 17. ¿Aplica el concepto de microorganismos viables, pero no cultivables en las infecciones ortopédicas?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: Sí. La evidencia actual respalda la noción de que los patógenos viables, pero no cultivables (VBNC) desempeñan un papel en las infecciones ortopédicas.

NIVEL DE EVIDENCIA: Moderado

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 100%, En desacuerdo 0%, Abstención 0% (Consenso Total).

JUSTIFICACIÓN

En las infecciones ortopédicas, especialmente aquellas asociadas a implantes, tanto el diagnóstico como la erradicación de patógenos se ven con frecuencia dificultados por la presencia de biofilms y la dificultad para identificar el microorganismo causal, fenómeno conocido como infección con cultivos negativos. Las tasas publicadas de infecciones con cultivos negativos varían entre el 5 y el 42 % en infecciones articulares periprotésicas (IAP) [1,2], y entre el 10 y el 22 % en infecciones relacionadas con fracturas [3–5]. Desde el descubrimiento de la existencia de un estado de patógenos viables, pero no cultivables (VBNC) en 1982, se ha documentado su existencia en diversas especies bacterianas y distintos contextos [6]. Los microorganismos en estado VBNC están metabólicamente activos, pero no proliferativos, lo que les permite sobrevivir en condiciones adversas [7,8]. En los biofilms, factores como la limitación de nutrientes, la hipoxia y la acumulación de metabolitos tóxicos inducen este estado, disminuyendo la actividad metabólica y deteniendo el crecimiento celular [9–11].

Estas características dificultan su detección mediante métodos convencionales de cultivo, lo que lleva a una infraestimación del número real de bacterias viables en las muestras. Como consecuencia, algunas muestras pueden considerarse erróneamente "estériles" por la no detección de estas células en estado latente. Además, la baja actividad metabólica de las células en estado VBNC les confiere resistencia o tolerancia a los antibióticos, al no ser atacadas eficazmente por estos agentes [12–14]. Comprender la capacidad de los patógenos involucrados en las infecciones ortopédicas para entrar en estado VBNC y su posible papel en el fracaso terapéutico resulta por tanto fundamental. Para responder a la pregunta planteada, se realizó una búsqueda exhaustiva en PubMed y Embase, incluyendo todos los estudios publicados hasta octubre de 2024. En el cribado inicial se identificaron 691 artículos. Tras excluir duplicados y revisar los resúmenes, se recuperaron 125 textos completos, de los cuales se seleccionaron 12 para su extracción y evaluación detallada. Los mecanismos que subyacen a la formación y resucitación del estado VBNC son diversos y están mediados por interacciones genéticas y ambientales complejas. *Staphylococcus aureus* y estafilococos coagulasa-negativos representan más de la mitad de las IAP [4,15].

Un experimento de Suster et al. [16] evaluó la inducción del estado VBNC en *S. aureus*, *S. epidermidis* y *S. lugdunensis* a partir de aislamientos en casos de IAP. El estudio utilizó condiciones de bajo contenido nutricional combinadas con presión antibiótica mediante gentamicina, logrando inducir el estado VBNC en estas cepas. La presencia del estado fue confirmada mediante detección basada en fagos y PCR cuantitativa, evidenciando una reducción del ADN fágico en las suspensiones VBNC, lo cual demuestra la evasión de los métodos tradicionales de cultivo por parte de estas células. Estudios de Pasquaroli et al. [17–19] demostraron que *S. aureus* en biofilms puede entrar en estado VBNC bajo presión antibiótica (vancomicina, quinupristina / dalfopristina) y condiciones de escasez nutricional, manteniendo la viabilidad y expresión génica durante 150 días. La capacidad de resucitación fue evidenciada mediante respuesta celular al piruvato sódico, lo que sugiere la reversibilidad del estado VBNC. Oliveira et al. [20] demostraron el potencial antimicrobiano de superficies con nanoplaquetas de grafeno/polidimetilsiloxano en la reducción de biofilms que incluían células VBNC de *S. aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, confirmando así su presencia. Wang et al. [21] observaron que un tratamiento con plasma de nitrógeno a presión atmosférica inducía el estado VBNC en un 20 % de las células de biofilm de *S. aureus* e inhibía la regeneración del biofilm mediante la supresión de genes clave (IcaA, SarA, SigB). Se ha demostrado que rutas genéticas como codY y phhA desempeñan un papel central en la formación del estado VBNC. En modelos *in vitro,* Gaio et al. [22] observaron que una cepa de *S. epidermidis* entraba

en estado VBNC tanto en forma biofilm como planctónica, con sobreexpresión de codY y phhA. Lopes et al. [23] mostraron que la eliminación de codY reducía la formación de células VBNC en biofilms. Aunque esta mutación no alteró significativamente la sensibilidad antibiótica, sí desencadenó una respuesta inflamatoria más intensa por parte de macrófagos humanos, indicando una mayor inmunogenicidad. También se investigó el sistema toxina-antitoxina mazEF por su implicación en el desarrollo del estado VBNC en *S. epidermidis* y en la tolerancia antimicrobiana. Sin embargo, no se observó una función significativa bajo las condiciones de estudio, lo que sugiere la existencia de mecanismos alternativos en la inducción del estado VBNC [24]. En *S. epidermidis*, se ha demostrado que mutaciones en el gen gdpS, así como el estrés osmótico y las bajas temperaturas, pueden inducir este estado [25]. Entre los factores ambientales, Kvich et al. [26] mostraron que hasta el 90 % de las células de *P. aeruginosa* entraban en estado VBNC bajo condiciones anóxicas. Efectos similares se observaron en un 89 % de las células de *S. aureus* y un 42 % de *S. epidermidis*. Qi et al. [27] observaron que el biofilm de *P. aeruginosa* entraba fácilmente en estado VBNC bajo estrés por cloro, con un metabolismo más bajo que en estado planctónico. Aunque los enterococos son patógenos menos frecuentes en infecciones ortopédicas, Lleo et al. [28] demostraron que los *Enterococcus* en estado VBNC perdían la capacidad de formar biofilms, pero mantenían la adhesión celular, lo cual sugiere un posible papel en la patogenia, incluso sin crecimiento activo. Diversos estudios han descrito mecanismos de supervivencia bacteriana dentro de los biofilms. Las células persistentes, conocidas por su tolerancia transitoria a los antibióticos, mantienen una baja actividad metabólica y pueden reactivarse tras el cese del estrés, contribuyendo a infecciones crónicas [9; 29–31]. Las variantes de colonias pequeñas (SCVs), caracterizadas por su lento crecimiento y metabolismo alterado, pueden imitar comportamientos VBNC en biofilms con escasez de nutrientes [32]. En conjunto, los estados VBNC, las células persistentes y las SCVs constituyen un continuo de estrategias adaptativas clave para entender la resistencia antimicrobiana y los cultivos negativos en infecciones ortopédicas. En conclusión, diversos estudios *in vitro*, incluidos experimentos con aislamientos bacterianos obtenidos de casos de IAP, enfatizan el papel de los estados VBNC en infecciones ortopédicas. Los patógenos que entran en estado VBNC ante determinados estímulos pueden resucitar posteriormente, lo que los convierte en posibles responsables de infecciones con cultivos negativos durante su fase latente. Una vez reactivados en condiciones favorables, estos microorganismos pueden recuperar su virulencia y causar recurrencias clínicas en pacientes que se consideraban curados. Esto subraya la importancia de considerar los estados VBNC en casos de infecciones recurrentes o con cultivos negativos. Además, la detección de microorganismos en estado VBNC requiere métodos diagnósticos avanzados. Se necesita más investigación para desarrollar terapias específicas que impidan la inducción del estado VBNC, favorezcan la disrupción del biofilm y eliminen las bacterias en estado latente. Abordar este reto requerirá un enfoque multidisciplinar, integrando avances en microbiología, biofilms, antimicrobianos y práctica clínica.

REFERENCIAS

1. Kalbian I, Park JW, Goswami K, et al. 2020. Culture-negative periprosthetic joint infection: prevalence, aetiology, evaluation, recommendations, and treatment. Int Orthop 44:1255-1261.
2. Goswami K, Clarkson S, Phillips CD, et al. 2022. An Enhanced Understanding of Culture-Negative Periprosthetic Joint Infection with Next-Generation Sequencing: A Multicenter Study. J Bone Joint Surg Am 104:1523-1529.
3. Pilskog K, Hovding P, Indrebøe E, et al. 2023. Fracture-related infection: Prevalence and application of the new consensus definition in a cohort of 1004 surgically treated ankle fractures. Injury 54:841-847.
4. Wong JSH, Lee ALH, Fang C, et al. 2022. Outcomes of fracture-related infections – do organism, depth of involvement, and temporality count? J Orthop Surg. 30:10225536221118519.
5. Gitajn IL, Heng M, Weaver MJ, et al. 2016. Culture-Negative Infection After Operative Fixation of Fractures. J Orthop Trauma 30:538-544.
6. Xu HS, Roberts N, Singleton FL, et al. 1982. Survival and viability of nonculturable *Escherichia coli* and Vibrio cholerae in the estuarine and marine environment. Microb Ecol 8:313-323.
7. Li L, Mendis N, Trigui H, et al. 2014. The importance of the viable but non-culturable state in human bacterial pathogens. Front Microbiol 5:258.
8. Oliver JD. 2005. The viable but nonculturable state in bacteria. J Microbiol 43 Spec No:93-100.
9. Edmiston CE, McBain AJ, Roberts C, et al. 2015. Clinical and Microbiological Aspects of Biofilm-Associated Surgical Site Infections. In: Donelli G, editor. Biofilm-based Healthcare-associated Infections. Volume I. Cham: Springer International Publishing. pp. 47-67.
10. Flemming H-C, Wingender J, Szewzyk U, et al. 2016. Biofilms: an emergent form of bacterial life. Nat Rev Microbiol 14:563-575.
11. Stewart PS, Franklin MJ. 2008. Physiological heterogeneity in biofilms. Nat Rev Microbiol 6:199-210.
12. Zolotukhin M, Benedetti D, Tafi MC, et al. 2007. Inhibition of the resuscitation from the viable but nonculturable state in *Enterococcus faecalis*. Environ Microbiol 9:2313-2320.
13. Anuchin AM, Mulyukin AL, Suzina NE, et al. 2009. Dormant forms of Mycobacterium smegmatis with distinct morphology. Microbiology (Reading) 155:1071-1079.
14. Cerca F, Franca A, Pérez-Cabezas B, et al. 2014. Dormant bacteria within *Staphylococcus epidermidis* biofilms have low inflammatory properties and multiresistance to vancomycin and penicillin after entering planktonic growth. J Med Microbiol 63:1274-1283.
15. Tande AJ, Patel R, Abdel MP, et al. 2022. Microbiology of hip and knee periprosthetic joint infections: a database study. Clin Microbiol Infect 28:255-259.
16. Suter K, Cor A. 2023. Induction of Viable but Non-Culturable State in Clinically Relevant Staphylococci and Their Detection with Bacteriophage K. Antibiotics (Basel) 12.
17. Pasquaroli S, Citterio B, Mangiaterra G, et al. 2018. Influence of subleTHAl concentrations of vancomycin and quinupristin/dalfopristin on the persistence of viable but non-culturable *Staphylococcus aureus* growing in biofilms. J Antimicrob Chemother 73:526-533.
18. Pasquaroli S, Zandri G, Vignaroli C, et al. 2013. Antibiotic pressure can induce the viable but non-culturable state in *Staphylococcus aureus* growing in biofilms. J Antimicrob Chemother 68:1812-1817.
19. Di Domenico EG, Toma L, et al. 2014. Role of daptomycin in the induction and persistence of the viable but non-culturable state of *Staphylococcus aureus* biofilms. Pathogens 3:759-768.
20. Gomes LC, Gomes MC, et al. 2022. Performance of Graphene / Polydimethylsiloxane Surfaces against *S. aureus* and *P. aeruginosa* Single- and Dual-Species Biofilms. Nanomaterials (Basel) 12.
21. Wady AF, Moffa EB, et al. 2018. Antimicrobial activity of atmospheric-pressure N2, N2-O2 plasma on the regeneration capacity of *Staphylococcus aureus* biofilm. Biofouling 34:935-949.
22. Zhang Y, Shi Y, et al. 2021. copy and dpsA Expression Is Induced in Viable But Non-Culturable Cells and Planktonic Populations with Higher Proportions of Viable but Non-Culturable Cells. Front Cell Infect Microbiol 11:776666.
23. Ayrapetyan M, Williams T, Oliver JD. 2015. Relationship between the Viable but Nonculturable State and Antibiotic Persister Cells. J Bacteriol 197:2243-2255.
24. Pontes MH, Groisman EA. 2019. A physiological basis for nonheritable antibiotic resistance. mBio 10:e02417-18.
25. Kim JS, Wood TK. 2016. Persistent Persister Misperceptions. Front Microbiol 7:2134.
26. Ayrapetyan M, Williams T, Oliver JD. 2018. Bridging the Gap between Viable but Non-Culturable and Antibiotic Persistent Bacteria. Trends Microbiol 26:124-134.
27. Deshmukh R, Angalakurthi SK, et al. 2021. Evaluation of VBNC Bacteria Using Fluorescence-Based Staining Techniques: Limitations and Opportunities. Front Microbiol 12:685011.
28. Zhang S, Wang H, et al. 2022. Mutation of qrg genes alters persister cell and VBNC formation and antibiotic resistance by changing the dnaK transcription level. BMC Microbiol 22:8.
29. Zhang Y, Zhao Y, et al. 2022. Understanding the Difference between Difficult-to-Culture and Viable but Non-Culturable Bacteria. Front Cell Infect Microbiol 12:812476.
30. Pei R, Lamas A, et al. 2022. Metabolism differences of biofilm and planktonic Listeria monocytogenes cells under acid stress. Food Microbiol 104:103997.
31. Wood TK, Knabel SJ, Kwan BW. 2013. Bacterial persister cell formation and dormancy. Appl Environ Microbiol 79:7116-7121.
32. Schaudinn C, Susanto T, Vento C, et al. 2015. Healthcare-associated infections, medical devices and biofilms: risk, tolerance and control. J Med Microbiol 64:323-334.

Autores: K. Nishitani, K. Saeed, G. Ohji, C. Fuentes Bazan, Ye Ye, Y. Morita, F. Iannotti

Autor de Correspondencia
Dr. Kohei Nishitani
Department of Orthopaedic Surgery
School of Medicine Kyoto University. Kyoto, Japan
Email: nkohei@kuhp.kyoto-u.ac.jp

PREGUNTA 18. ¿La administración local de antibióticos tiene alguna influencia en la eliminación de Biofilm en infecciones ortopédicas?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: Aunque el posible papel de la administración local de antibióticos en el combate del Biofilm se ha explorado en algunos estudios, debido a la falta de evidencia de alto nivel no podemos emitir una recomendación a favor ni en contra sobre este tema.

NIVEL DE EVIDENCIA: Débil.

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 94%, En desacuerdo 3%, Abstención 3% (Consenso Total).

JUSTIFICACIÓN

La infección asociada a implantes es una de las complicaciones más devastadoras tras las cirugías ortopédicas [1]. En estas infecciones, la formación de biofilm sobre la superficie del implante desempeña un papel crítico al proporcionar a las bacterias un entorno protector que les permite evadir la inmunidad del huésped y el tratamiento antibiótico [2]. Una vez completada la formación de biofilm, entre los cirujanos ortopédicos existe un amplio consenso en que la infección se vuelve altamente intratable, a menudo requiriendo intervenciones quirúrgicas adicionales como desbridamiento, irrigación y drenaje, o retirada del implante [3]. Tras la formación del biofilm, la concentración de antibiótico necesaria para abordar la infección aumenta de manera drástica en comparación con la concentración inhibitoria mínima (MIC); la concentración mínima necesaria para erradicar un biofilm se denomina concentración mínima de erradicación del biofilm (MBEC) [4,5]. Dado que los valores de MBEC son extraordinariamente superiores a los de la MIC, alcanzar dichas concentraciones mediante administración sistémica es prácticamente imposible.

En este manuscrito examinamos si los biofilms en superficies de implantes pueden eliminarse de manera efectiva mediante la administración local de antibióticos, con evidencia procedente de 1) estudios *in vitro*, 2) estudios *in vivo* en animales y 3) estudios *in vivo* en humanos. Para ello, se realizó una búsqueda bibliográfica exhaustiva en las bases de datos PubMed, Scopus y CINAHL, utilizando términos MeSH elaborados por bibliotecarios. La búsqueda identificó inicialmente 252 estudios únicos potencialmente relevantes. Estas publicaciones fueron cribadas por dos revisores independientes; 83 publicaciones se seleccionaron para revisión en profundidad y 28 se incluyeron en la evaluación final. Cabe señalar que este manuscrito se centra en si los agentes antimicrobianos pueden eliminar biofilms ya formados, por lo que se excluyeron los artículos sobre si los antimicrobianos pueden prevenir o inhibir la formación de biofilm. incluso en ausencia de evidencia directa de eliminación del biofilm, la erradicación de bacterias desde biofilms o las curaciones clínicas logradas con retención del implante se consideraron indicadores indirectos de eliminación del biofilm.

Estudios *in vitro*

Entre los ocho estudios *in vitro* extraídos, cuatro se centraron exclusivamente en la inhibición de la formación de biofilm [6–9]. Además, un estudio se centró en la eliminación del biofilm, pero evaluó los efectos de soluciones antisépticas, como la povidona-yodada, en lugar de antibióticos [10]. Tres estudios evaluaron el efecto de los antibióticos sobre la eliminación del biofilm [11–13]. En los tres estudios que evaluaron la eliminación, los biofilms se formaron *in vitro*, mientras que uno de ellos también incluyó un modelo de biofilm *in vivo* formado en el fémur de una rata. Todos los estudios utilizaron gentamicina en sus experimentos, y dos estudios también evaluaron vancomicina. En cuanto a las bacterias responsables de la formación de biofilm, en todos los estudios se empleó *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Dall et al. investigaron la recuperación de *S. aureus* a partir de biofilms formados durante 24 horas utilizando el ensayo de biofilm en perlas solubles [11]. Se determinó la MBEC para antibióticos de uso habitual y esquemas combinados, incluyendo gentamicina, daptomicina, ciprofloxacino, vancomicina, rifampicina, clindamicina y linezolid. Entre ellos, solo la gentamicina y la daptomicina resultaron eficaces. El estudio también informó de combinaciones de antibióticos eficaces e ineficaces a la hora de potenciar o disminuir la actividad de gentamicina o daptomicina. Okae et al. examinaron los efectos de dosis administradas localmente de gentamicina, vancomicina y cefazolina, con o sin dosis sistémicas de vancomicina y rifampicina, frente a *S. aureus* en biofilms tanto *in vitro* como *in vivo* formados sobre implantes de acero inoxidable [13]. En el modelo de biofilm *in vivo*, los biofilms

se formaron sobre la superficie del implante utilizando un modelo de osteomielitis femoral en rata durante 3 y 14 días. En un ensayo de recuperación de UFC, los valores de MBEC para los biofilms *in vivo* fueron superiores a los de los biofilms *in vitro*. Además, las MBEC para biofilms de 14 días fueron superiores a las de 3 días, lo que indica que la complejidad y la maduración del biofilm incrementan la concentración de antibiótico requerida para eliminar las bacterias dentro del biofilm. Sekar et al. describieron los efectos antibacterianos sinérgicos de la gentamicina y el ketorolaco en la reducción de *S. aureus* y *S. epidermidis* en biofilms *in vitro* formados durante 6 y 24 horas [12]. Los efectos de estos fármacos se evaluaron mediante ensayos de UFC, tinción de vivos-muertos y microscopía electrónica de barrido (SEM). De forma destacable, el estudio subrayó que cuanto más madura es un biofilm, más difícil resulta su eliminación. Por el contrario, una exposición prolongada de los biofilms a los antibióticos se tradujo en una mayor eficacia. Este aspecto está respaldado por el trabajo de Castaneda et al., quienes informaron de que la MBEC es menor cuando el tiempo de exposición local al antimicrobiano es más prolongado [14]. Además, Moore et al. hallaron que las perlas de sulfato de calcio cargadas con antibióticos que contienen vancomicina y tobramicina pueden ser más eficaces frente a biofilms multiespecie que un solo antibiótico [15].

Estudios *in vivo* en animales

Se revisaron nueve estudios en animales. Cinco estudios quedaban fuera del alcance de esta revisión [16–20]. Un estudio estableció un modelo de infección relacionada con implantes y realizó cirugía de revisión con tratamiento antibiótico local, en el que el biofilm del implante se eliminó quirúrgicamente [21]. Otro estudio evaluó la eliminación de biofilm manteniendo el implante, pero se centró específicamente en los efectos de un tratamiento con proteasas [22]. Dos estudios iniciaron tratamiento antimicrobiano local tras la formación del biofilm, manteniendo la retención del implante [23,24]. En cuanto a los animales experimentales, en ambos estudios se utilizaron ratas como modelos. Para la selección bacteriana con el fin de inducir la infección, ambos emplearon *S. aureus*. Penn-Barwell describió un modelo de defecto segmentario estabilizado con implante en rata, contaminado con *S. aureus* [24]. Utilizaron la administración local de tioles de bismuto en hidrogel junto con cefazolina sistémica, y mostraron una disminución de la recuperación bacteriana a los 14 días. No obstante, aunque se permitió un intervalo de 6 horas para el establecimiento del biofilm antes de iniciar el tratamiento local, esta duración podría haber sido insuficiente para una formación de biofilm robusto. Ashar et al. iniciaron el tratamiento 10 días después de la infección en un modelo de implante en canal femoral inoculado con *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA) [23]. Emplearon una combinación de liposomas termo-sensibles cargados con ciprofloxacino y ultrasonidos focalizados de alta intensidad a nivel local. Aunque no se logró la erradicación completa, el tratamiento redujo de forma significativa las UFC. De forma notable, presentaron imágenes de SEM que mostraban una reducción de la carga bacteriana y de la formación de biofilm en comparación con otros grupos de tratamiento.

Estudios *in vivo* en humanos

Se revisaron once estudios en humanos; cinco eran estudios de prevención, no incluían implantes residuales, no abordaban infecciones relacionadas con implantes, o eran trabajos metodológicos sin presentación de resultados [25–29]. Seis estudios se centraron en el tratamiento de infecciones establecidas relacionadas con biofilm en implantes, utilizando terapia antibiótica local con retención del implante [30–35]. Los seis estudios fueron series de casos, con un número de pacientes que osciló entre 2 y 10. Las intervenciones quirúrgicas incluyeron habitualmente desbridamiento, irrigación, perfusión local continua de antibióticos (CLAP) o administración local de antibióticos, sustitución de componentes modulares y terapia de presión negativa de la herida (NPWT), con un énfasis principal en el control de la infección y la preservación del implante. Los estudios se dirigieron a una amplia gama de patógenos, incluyendo *S. aureus* resistente a meticilina, *S. aureus* sensible a meticilina, *Cutibacterium acnes*, *Pseudomonas aeruginosa* y otras cepas bacterianas resistentes. Las terapias de perfusión local de antibióticos utilizaron predominantemente gentamicina. Los resultados demostraron un control efectivo de la infección. La preservación del implante se consiguió en la mayoría de los casos. Si bien no se aportó evidencia directa de eliminación de biofilm, la retención exitosa de los implantes puede indicar indirectamente el potencial de las terapias antibióticas locales para erradicar bacterias dentro de los biofilms, un requisito crítico para curar las infecciones asociadas a implantes. Más allá de los estudios incluidos en la revisión, numerosos otros informes/series de casos han mostrado administración local de antibióticos con éxito, lo que resalta el potencial de eficacia de las terapias antibióticas locales [36]. Indelli et al. también informaron de resultados satisfactorios con una estrategia multimodal para el rescate de artroplastias agudamente infectadas en 62 pacientes, incorporando la administración local de antibióticos mediante perlas de sulfato de calcio [37]. El uso de antibióticos locales puede desempeñar un papel si se aplica como parte de un enfoque multimodal más que de forma aislada.

En conclusión, aunque numerosos estudios *in vitro*, en animales y en humanos se han centrado en la prevención de la infección y la inhibición de la formación de biofilm en infecciones ortopédicas asociadas a implantes, solo un pequeño número de estudios básicos ha abordado la eliminación de biofilms establecidos mediante administración local de antibióticos. Si bien algunos estudios han sugerido el potencial de los antibióticos locales, existe falta de claridad respecto a los tipos y dosis de antibióticos requeridos para una eliminación efectiva del biofilm mediante tratamiento local. La mayoría de la investigación se ha centrado en *S. aureus*, con investigaciones limitadas sobre bacterias gramnegativas e infecciones mixtas, lo que pone de manifiesto una brecha significativa en la literatura. Además, el espectro de antibióticos estudiados es estrecho, con una exploración insuficiente de agentes terapéuticos novedosos. En estudios en humanos,

aunque varios informes de casos han descrito la eficacia de los tratamientos antibióticos locales, no se identificó investigación con un alto nivel de evidencia. Consideramos que la evidencia actual es insuficiente para alcanzar un consenso ya sea de apoyo o de oposición a esta cuestión de investigación.

REFERENCIAS

1. Schwarz EM, et al. 2018 International Consensus Meeting on Musculoskeletal Infection: Research Priorities from the General Assembly Questions. J Orthop Res. 2019;37(5):997-1006.
2. Tomizawa T, Nishitani K, Ito H, Okae Y, Morita Y, Doi K, et al. The limitations of mono- and combination antibiotic therapies on immature biofilms in a murine model of implant-associated osteomyelitis. J Orthop Res. 2021;39(2):449–57.
3. Masters EA, Trombetta RP, Bentley KL de M, et al. Evolving concepts in bone infection: redefining "biofilm", "acute vs. chronic osteomyelitis", "the immune proteome" and "local antibiotic therapy". Bone Res. 2019;7(1):20–18.
4. Mottola C, Matias CS, Mendes JJ, et al. Susceptibility patterns of *Staphylococcus aureus* biofilms in diabetic foot infections. Bmc Microbiol. 2016;16(1):119.
5. Schwarz EM, McLaren AC, Sculco TP, Brause B, Bostrom M, Kates SL, et al. Adjuvant antibiotic-loaded bone cement: Concerns with current use and research to make it work. J Orthop Res. 2020 Mar 2;94(2):1–13.
6. Neut D, Hendriks JGE, Horn JR van, Mei HC van der, Busscher HJ. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and slime excretion on antibiotic-loaded bone cement. Acta Orthop. 2009;76(1):109–14.
7. Zoccali C, Contestabile M, Segni SD, Nuvoli B, Prencipe U, Erba F. A Comparison of Antibiotic Release between a Cement Scaffold, a Perforated Cement Scaffold and a Cement Scaffold Mixed to Calcium Sulphate: *In vitro* Study. Int J Immunopathol Pharmacol. 2011;24(1_suppl2):7–9.
8. Li Y, Liu YZ, Long T, Yu XB, Tang T, Dai KR, et al. Mesoporous bioactive glass as a drug delivery system: fabrication, bactericidal properties and biocompatibility. J Mater Sci: Mater Med. 2013;24(8):1951–61.
9. Karacan I, Ben-Nissan B, Santos J, Yiu S, Bradbury P, Valenzuela SM, et al. *In vitro* testing and efficacy of poly-lactic acid coating incorporating antibiotic loaded coralline bioceramic on Ti6Al4V implant against *Staphylococcus aureus*. J Tissue Eng Regen Med. 2022;16(12):1149–62.
10. O'Donnell JA, Wu M, Cochrane NH, Belay E, Myntti MF, James GA, et al. Efficacy of common antiseptic solutions against clinically relevant microorganisms in biofilm. Bone Joint J. 2021;103-B(5):908–15.
11. Dall GF, Tsang STJ, Gwynne PJ, MacKenzie SP, Simpson AHRW, Breusch SJ, et al. Unexpected synergistic and antagonistic antibiotic activity against *Staphylococcus* biofilms. J Antimicrob Chemother. 2018;73(7):1830–40.
12. Sekar A, Gil D, Tierney P, et al. Synergistic use of anti-inflammatory ketorolac and gentamicin to target staphylococcal biofilms. J Transl Med. 2024;22(1):102.
13. Okae Y, Nishitani K, Sakamoto A, et al. Estimation of Minimum Biofilm Eradication Concentration (MBEC) on *In vivo* Biofilm on Orthopedic Implants in a Rodent Femoral Infection Model. Front Cell Infect Microbiol. 2022;12:896978.
14. Castaneda P, McLaren A, Tavaziva G, Overstreet D. Biofilm Antimicrobial Susceptibility Increases With Antimicrobial Exposure Time. Clin Orthop Relat Res. 2016;474(7):1659–64.
15. Moore K, Li A, Gupta N, Gupta TT, Delury C, Aiken SS, et al. Killing of a Multispecies Biofilm Using Gram-Negative and Gram-Positive Targeted Antibiotic Released from High Purity Calcium Sulfate Beads. Microorganisms. 2023;11(9):2296.
16. Jennings JA, Carpenter DP, Troxel KS, et al. Novel Antibiotic-loaded Point-of-care Implant Coating Inhibits Biofilm. Clin Orthop Relat Res. 2015;473(7):2270–82.
17. Wang J, Li J, Qian S, et al. Antibacterial Surface Design of Titanium-Based Biomaterials for Enhanced Bacteria-Killing and Cell-Assisting Functions Against Periprosthetic Joint Infection. ACS Appl Mater Interfaces. 2016;8(17):11162–78.
18. Shiels SM, Tennent DJ, Akers KS, Wenke JC. Determining potential of PMMA as a depot for rifampin to treat recalcitrant orthopaedic infections. Injury. 2017;48(10):2095–100.
19. Marston S, Mueller GM, Sabin A, Hansen GT, Lindgren B, Aparicio C, et al. Systemic versus free antibiotic delivery in preventing acute exogenous implant related infection in a rat model. J Orthop Res. 2022;40(2):429–38.
20. Boles LR, Awais R, Beenken KE, Smeltzer MS, Haggard WO, Jessica AJ. Local Delivery of Amikacin and Vancomycin from Chitosan Sponges Prevent Polymicrobial Implant-Associated Biofilm. Mil Med. 2018;183(suppl_1):459–65.
21. Boot W, Schmid T, D'Este M, et al. A Hyaluronic Acid Hydrogel Loaded with Gentamicin and Vancomycin Successfully Eradicates Chronic Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Orthopedic Infection in a Sheep Model. Antimicrob Agents Chemother. 2021;65(4):10.1128/aac.01840-20.
22. Mecikoglu M, Saygi B, Yildirim Y, Karadag-Saygi E, Ramadan SS, Esemenli T. The Effect of Proteolytic Enzyme Serratiopeptidase in the Treatment of Experimental Implant-Related Infection. J Bone Joint Surg Am. 2006;88(6):1208–14.
23. Ashar H, Singh A, Ektate K, More S, Ranjan A. Treating methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bone infection with focused ultrasound combined thermally sensitive liposomes. Int J Hyperth. 2023;40(1):2211278.
24. Penn-Barwell JG, Baker B, Wenke JC. Local Bismuth Thiols Potentiate Antibiotics and Reduce Infection in a Contaminated Open Fracture Model. J Orthop Trauma. 2015;29(2):e73–8.
25. Malizos K, Blauth M, Danita A, Capuano N, Mezzoprete R, Logoluso N, et al. Fast-resorbable antibiotic-loaded hydrogel coating to reduce post-surgical infection after internal osteosynthesis: a multicenter randomized controlled trial. J Orthop Traumatol. 2017;18(2):159–69.
26. O'Toole RV, et al, et al. Local Antibiotic Therapy to Reduce Infection After Operative Treatment of Fractures at High Risk of Infection. J Orthop Trauma. 2017;31(NA;):S18–24.
27. Springer BD, Higuera-Rueda CA, Beaubien BC de, Warner KD, Glassman AH, Parvataneni HK, et al. Safety Profile of Seven-Day Intra-articular Antibiotic Irrigation for the Treatment of Chronic Periprosthetic Joint Infection: A Prospective Randomized Phase II Comparative Study. J Arthroplasty. 2024;39(9):S229-S235.e1.
28. Stravinskas M, Horstmann P, Ferguson J, Hettwer W, Nilsson M, Tarasevicius S, et al. Pharmacokinetics of gentamicin eluted from a regenerating bone graft substitute. Bone Joint Res. 2016;5(9):427–35.
29. Wahl P, Guidi M, Benninger E, Rönn K, Gautier E, Buclin T, et al. The levels of vancomycin in the blood and the wound after the local treatment of bone and soft-tissue infection with antibiotic-loaded calcium sulphate as carrier material. Bone Joint J. 2017;99-B(11):1537–44.
30. Choe H, et al. Novel Local Antifungal Treatment for Fungal Periprosthetic Joint Infection With Continuous Local Antibiotic Perfusion: A Surgical Technique. Arthroplast Today. 2023;24:101245.
31. Kosugi K, Zenke Y, Sato N, Hamada D, Ando K, Okada Y, et al. Potential of Continuous Local Antibiotic Perfusion Therapy for Fracture-Related Infections. Infect Dis Ther. 2022;11(4):1741–55.
32. Miyake Y, Takagi T. Treatment experience with continuous local antibiotic perfusion for periprosthetic joint infection. J Orthop Sci. 2024;29(6):1469–76.
33. Shimada Y, Ochiai N, Hashimoto E, Kajiwara D, Hiraoka Y, Inagaki K, et al. Continuous local antibiotic perfusion technique for surgical site infections after shoulder surgery. JSES Rev, Rep, Tech. 2024;4(3):419–23.
34. Shimbo K, Saiki T, Kawamoto H, Koshima I. Implant salvage in patients with severe post-fracture fixation surgical site infection using negative pressure wound therapy with intramedullary and subcutaneous antibiotic perfusion. Wounds 2022;34(6):E47–51.
35. Maruo A, et al. Intra-medullary antibiotics perfusion (iMAP) for the control of fracture-related infection early after osteosynthesis. J Orthop Surg. 2021;29(3):23094990211051492.
36. Jarusriwanna A, Mu W, Parvizi J. Local Antibiotic Infusion in Periprosthetic Joint Infection Following Total Hip Arthroplasty. J Clin Med. 2024;13(16):4848.
37. Indelli PF, Ghirardelli S, Valpiana P, Bini L, Festini M, Iannotti F. Debridement, Antibiotic Pearls, and Retention of the Implant (DAPRI) in the Treatment of Early Periprosthetic Joint Infections: A Consecutive Series. Pathogens. 2023;12(4):605.

Autores: Ferdinando Iannotti, Mojieb Manzary, Rodrigo Jaramillo, Erika Albo, Edward M Schwarz

Autor de Correspondencia
Ferdinando Iannotti.
Department of Orthopaedic and Trauma Surgery
San Paolo Hospital, Civitavecchia (Roma, Italy)
Paracelsus Medical University (PMU), Salzburg, Austria
Email: ferdinandoiannotti@gmail.com

PREGUNTA 19. ¿El Biofilm tiene afinidades diferentes por distintas superficies?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: Sí. El biofilm presenta afinidades diferentes por distintas superficies. Sin embargo, debido a la compleja interacción entre las propiedades de la superficie y las características bacterianas, así como a la influencia de los factores ambientales y del tiempo de exposición, sigue siendo difícil establecer una correlación universalmente válida o identificar una superficie que prevenga de manera constante la formación de biofilm. Esto también se debe a la falta de estudios *in vivo* de alta calidad. El mismo material puede interactuar de manera diferente con diversas bacterias, puesto que cada cepa bacteriana tiene afinidades distintas por superficies concretas. No obstante, la evidencia disponible indica que las superficies cerámicas, de cobalto-cromo y de aleaciones de titanio son, por lo general, más eficaces para prevenir la formación de biofilms que el polietileno, el acero inoxidable y el poliéter-éter-cetona (PEEK).

NIVEL DE EVIDENCIA: Fuerte.

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 97%, En desacuerdo 0%, Abstención 3% (Consenso Total).

JUSTIFICACIÓN

Los Biofilms son estructuras complejas que se forman sobre superficies biológicas y de implantes mediante un proceso en múltiples etapas impulsado por varios factores [1]. La transición desde la adhesión de células bacterianas a la unión irreversible y la formación temprana de biofilm ofrece una ventana crítica de oportunidad para prevenir el establecimiento del biofilm [2]. La adhesión de bacterias planctónicas a la superficie del implante está influida por una combinación de factores del huésped, características específicas del microorganismo, tiempo de exposición y propiedades de la superficie del implante tales como humectabilidad, topografía, rugosidad a micro y nanoescala, energía libre superficial y carga [1–3].

Para responder a esta pregunta se realizó una búsqueda bibliográfica exhaustiva en PubMed y Embase utilizando las palabras clave “biofilm”, “affinity”, “surface” e “infection”, que identificó inicialmente 164 estudios únicos relevantes; 39 se incluyeron para evaluación. Estos artículos confirmaron que existen tres variables fundamentales que determinan las afinidades de adhesión bacteriana y la capacidad de las bacterias para formar biofilm sobre superficies de implantes: rugosidad de la superficie, hidrofobicidad y tipo de material (metal, cerámica, plástico, etc.).

Rugosidad de la superficie

Una evidencia sustancial sugiere que el incremento de la rugosidad de la superficie del implante aumenta la adhesión bacteriana y el desarrollo de biofilm [3–5]. Una mayor rugosidad a escala micro- y macrométrica incrementa el área de contacto, promoviendo la adhesión bacteriana, mientras que los picos y valles de la superficie proporcionan refugio frente a las tensiones de cizallamiento [5, 6]. Las superficies más rugosas también pueden favorecer la sorción de nutrientes, mejorando así la adhesión microbiana [7]. Las formas de la superficie afectan igualmente a la hidrodinámica, de modo que se logra una mayor fijación en superficies más rugosas porque las bacterias tienden a alinearse con rayaduras de dimensiones similares [8]. De forma interesante, en condiciones de cultivo estático, las bacterias muestran preferencia por superficies más lisas cuando el valor de rugosidad media es bajo (0,23–6,13 nm). Por el contrario, a medida que estos valores aumentan dentro del intervalo de 6–30 nm, las bacterias tienden a adherirse a superficies más rugosas [9, 10]. También se ha informado de que la formación de biofilm por *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* puede disminuir un 80–90% en sustratos planos en comparación con el titanio poroso recubierto por proyección de plasma sin tratar, y un 65–95% en otros recubrimientos porosos de titanio [11]. Del mismo modo, Jackson et al. [4] demostraron que el recubrimiento de Ti6Al4V aplicado por proyección de plasma exhibe un aumento significativo del crecimiento de biofilm de *S. aureus* en comparación con la superficie granallada y una tercera superficie control. Coincidieron con Moore et al. [5] en que la topografía y las características macroscópicas de la superficie (incluidos bordes, crestas y orificios roscados de tornillo) son determinantes críticos de la colonización bacteriana en la superficie, los cuales no se contemplan en los parámetros estándar de rugosidad [12]. A diferencia de lo que ocurre a escala macroscópica, el incremento de la rugosidad a escala nanométrica reduce el número de puntos de adhesión [6]. Además, los picos con diámetros cercanos al tamaño de las células bacterianas ejercen estrés mecánico

sobre la membrana bacteriana, lo que provoca su rotura. En consecuencia, algunos autores recomiendan fabricar superficies lisas con una rugosidad a nanoescala menor que el tamaño de la bacteria diana. A modo de referencia, *Escherichia coli* y *S. aureus* poseen tamaños de 1–5 µm y aproximadamente 1 µm, respectivamente [13, 14]. Sin embargo, existen excepciones: Ishikawa et al. demostraron que implantes de nitruro de silicio "as-fired" con superficies muy rugosas fueron más resistentes a la adhesión de *S. aureus* que implantes del mismo material con superficies mecanizadas y lisas [15].

Hidrofobicidad

La química superficial afecta directamente a la adhesión bacteriana y a la formación de biofilm sobre los implantes [16]. La relación entre las características bacterianas y las propiedades de la superficie se hace particularmente evidente al considerar la humectabilidad, la energía libre superficial y la carga. En general, las superficies hidrofóbicas suelen presentar mayor afinidad por la adhesión bacteriana y el desarrollo de biofilm que las superficies hidrofílicas [17]. Las características hidrofóbicas de superficies y microorganismos están determinadas por factores como la energía superficial, la composición química y la textura. Las bacterias hidrofóbicas tienden a adherirse con más fuerza a superficies hidrofóbicas, mientras que las bacterias hidrofílicas se adhieren con mayor probabilidad a superficies hidrofílicas. Considerando que la mayoría de las bacterias, como *S. aureus*, presentan rasgos hidrofóbicos, mejorar la hidrofilicidad de la superficie podría reducir la adhesión bacteriana [18, 19]. Además, las superficies con propiedades superhidrofóbicas (ángulo de contacto >150°) han suscitado interés debido a su capacidad para repeler el agua y minimizar la incrustación biológica [19]. Existen opiniones divergentes entre autores sobre la eficacia de distintos tipos de superficies para prevenir la colonización bacteriana. Algunos argumentan que superficies hidrofílicas, altamente hidratadas y sin carga son barreras eficaces, mientras que otros sostienen que superficies hidrofóbicas con baja energía libre superficial, como el cobalto-cromo, inhiben el crecimiento bacteriano [20, 21].

Tipo de material

Los implantes ortopédicos están fabricados principalmente con componentes metálicos, cerámicos y plásticos, que presentan propiedades diferentes de adhesión bacteriana [22–24]. Considerando las numerosas variables, es muy improbable que una única combinación de características de superficie inhiba de forma universal a todas las bacterias bajo todas las condiciones. Se han publicado varios estudios comparativos. Sarfraz et al. demostraron que *S. aureus*, *S. mutans* y *E. faecalis* mostraron mayor adhesión al poliéter-éter-cetona (PEEK) que al titanio (Ti) [25]. Ishikawa et al. demostraron que la adhesión de *S. aureus* a PEEK, Ti y acero inoxidable (SS) fue mayor que a implantes de nitruro de silicio "as-fired" [15]. Cho et al. [26] demostraron que algunos microorganismos regulan su capacidad intrínseca de formación de biofilm en función de la superficie, mientras que otros producen niveles constantes de biofilm con independencia del material. *P. aeruginosa* exhibió elevada formación de biofilm sobre titanio, mientras que no lo hizo sobre poliestireno. *S. aureus* mostró adherencia moderada sobre poliestireno y débil sobre titanio. *Staphylococcus* lugdunensis demostró fuerte formación de biofilm sobre ambos materiales, mientras que *E. faecalis* mostró la menor adherencia en ambos. Malhotra et al. [16] hallaron que el mayor grado de adherencia bacteriana se produjo sobre polietileno altamente entrecruzado, seguido de titanio, acero inoxidable y metal trabecular, mientras que la aleación de cobalto-cromo exhibió la menor adherencia. Analizados de forma individual, *S. aureus*, *S. epidermidis* y *Klebsiella pneumoniae* siguieron la misma tendencia, mientras que *E. coli* mostró adhesión débil a todos los materiales. *P. aeruginosa* no se adhirió a titanio ni a acero inoxidable; sin embargo, mostró adherencia débil a cobalto-cromo y fuerte a metal trabecular y a polietileno altamente entrecruzado. A pesar de la presencia de cierta evidencia contradictoria [17, 18], muchos de los estudios revisados han producido hallazgos similares, indicando que el cobalto-cromo posee la mayor capacidad para inhibir el biofilm [21, 27], mientras que el polietileno de ultra alto peso molecular (UHMWPE) y el PEEK demuestran la menor eficacia [15, 28–30].

La adhesión microbiana puede reducirse mediante el entrecruzamiento del UHMWPE y su estabilización con vitamina E (VE) [31]. Debido a las propiedades antioxidantes de la VE y a su mayor hidrofilicidad, se ha observado que el UHMWPE con VE disminuye considerablemente la adhesión de *S. aureus* y *E. coli* en comparación con el UHMWPE estándar [32]. Sin embargo, a pesar de la eficacia de la inclusión de VE frente a ciertas cepas, muchos estudios no hallaron una reducción significativa de la formación de biofilm por MRSA o *S. epidermidis* en condiciones fisiológicas [33].

Las aleaciones de titanio proporcionan una capacidad moderada para suprimir la formación de biofilm, mostrando menor desarrollo de biofilm por *S. aureus*, *S. epidermidis* y P. mirabilis en comparación con el acero inoxidable [27, 34, 35–37]. Los materiales cerámicos exhiben propiedades fisicoquímicas de superficie particularmente ventajosas para limitar la formación de biofilm. Las cerámicas utilizadas en artroplastia son más duras que los metales y pueden pulirse hasta alcanzar rugosidades mucho menores. Además, presentan alta hidrofilicidad, carga superficial negativa y una propensión mínima al desgaste [38]. Sorrentino et al. [39] informaron que las muestras de alúmina cerámica y alúmina reforzada con plaquetas de circonia (ZPTA) inhibieron la adhesión y la formación de biofilm de *S. aureus* y *S. epidermidis* con mayor eficacia que el cobalto-cromo-molibdeno (CoCrMo) y el polietileno entrecruzado. Numerosos estudios han destacado las cualidades antibacterianas prometedoras del nitruro de silicio (Si_3N_4), demostrando su superioridad frente a otros materiales de implante como el titanio y el PEEK para reducir la formación de biofilm [15, 31, 40]. Sin embargo, en la artroplastia total de rodilla (ATR) primaria cementada, Grimberg et al. [41] no detectaron un menor riesgo de infección periprotésica (IAP) asociado a implantes con recubrimiento cerámico. Del mismo modo, no se han identificado diferencias significativas en el riesgo

de IAP entre los pares de fricción metal-sobre-polietileno (MoP), cerámica-sobre-polietileno (CoP) y cerámica-sobre-cerámica (CoC) en la artroplastia total de cadera (ATC) [38]. Slullitel et al. no observaron superioridad de las cerámicas frente a otros biomateriales utilizados en ATC para la prevención de la adhesión bacteriana. Los autores concluyeron que los distintos potenciales adhesivos entre bacterias influyen de forma significativa en el establecimiento de la infección.

En conclusión, las bacterias exhiben afinidades diferentes por distintas superficies, relacionadas con propiedades de la superficie del implante como la rugosidad, la hidrofobicidad, la topografía, la energía libre superficial y la carga. Estas características se vinculan a las propiedades fisicoquímicas de las bacterias. Interviene una compleja constelación de factores, incluidas las condiciones ambientales y el tiempo de exposición. Todos estos factores están estrechamente relacionados y deben evaluarse de forma conjunta para obtener datos más consistentes y comparables entre estudios y para ayudar a crear nuevos implantes resistentes al biofilm. Además, un mayor número de estudios *in vivo* de alto nivel podría introducir factores locales adicionales de interacción, como la respuesta inmune y el flujo biológico dinámico. A la luz de estos factores, identificar una superficie que prevenga de forma constante la formación de biofilm sigue siendo un desafío. No obstante, la evidencia disponible indica que las superficies cerámicas, de cobalto-cromo y de aleaciones de titanio son, por lo general, más eficaces para prevenir la formación de biofilms que el polietileno, el acero inoxidable y el PEEK.

REFERENCIAS

1. Palmer J, Flint S, Brooks J. 2007. Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm. J Ind Microbiol Biotechnol 34:577-588.
2. Davidson DJ, Spratt D, Liddle AD. 2019. Implant materials and prosthetic joint infection: the battle with the biofilm. EFORT Open Rev 4:633-639.
3. Saeed K, McLaren AC, Schwarz EM, et al. 2019. 2018 international consensus meeting on musculoskeletal infection: Summary from the biofilm workgroup and consensus on biofilm related musculoskeletal infections. J Orthop Res 37:1007-1017.
4. Jackson C, Bills P, Allen C, et al. 2023. An investigation into the effects of prosthesis relevant surfaces on the formation of *Staphylococcus aureus* biofilms. Surf Topogr 11:035018.
5. Moore K, Gupta N, Gupta TT, et al. 2022. Mapping Bacterial Biofilm on Features of Orthopedic Implants *In vitro*. Microorganisms 10.
6. Ludecke C, Roth M, Yu W, et al. 2016. Nanorough titanium surfaces reduce adhesion of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* via nano adhesion points. Colloids Surf B Biointerfaces 145:617-625.
7. Liu X, Fang L, Yan X, et al. 2023. Surface functional groups and biofilm formation on microplastics: Environmental implications. Sci Total Environ 903:166585.
8. Krsmanovic M, Biswas D, Ali H, et al. 2021. Hydrodynamics and surface properties influence biofilm proliferation. Adv Colloid Interface Sci 288:102336.
9. Crawford RJ, Webb HK, Truong VK, et al. 2012. Surface topographical factors influencing bacterial attachment. Adv Colloid Interface Sci 179-182:142-149.
10. Li W, Thian ES, Wang M, et al. 2021. Surface Design for Antibacterial Materials: From Fundamentals to Advanced Strategies. Adv Sci (Weinh) 8:e2100368.
11. Gasik M, Van Mellaert L, Pierron D, et al. 2012. Reduction of biofilm infection risks and promotion of osteointegration for optimized surfaces of titanium implants. Adv Healthc Mater 1:117-127.
12. Gupta N, Gupta TT, Patel K, et al. 2022. The Influence of Patterned Surface Features on the Accumulation of Bovine Synovial Fluid-Induced Aggregates of *Staphylococcus aureus*. Appl Environ Microbiol 88:e0121722.
13. Calvo-Correa MP, Cortés-Rodríguez CJ, Camargo-López JR. 2024. Surface Roughness Value Recommended for the Manufacture of Antibacterial Metal Surfaces: A Review. Ing Inv 44:e102345.
14. Tardelli JDC, Bagnato VS, Reis ACD. 2023. Bacterial Adhesion Strength on Titanium Surfaces Quantified by Atomic Force Microscopy: A Systematic Review. Antibiotics (Basel) 12.
15. Ishikawa M, de Mesy Bentley KL, McEntire BJ, et al. 2017. Surface topography of silicon nitride affects antimicrobial and osseointegrative properties of tibial implants in a murine model. J Biomed Mater Res A 105:3413-3421.
16. Oh JK, Yegin Y, Yang F, et al. 2018. The influence of surface chemistry on the kinetics and thermodynamics of bacterial adhesion. Sci Rep 8:17247.
17. Krasowska A, Sigler K. 2014. How microorganisms use hydrophobicity and what does this mean for human needs? Front Cell Infect Microbiol 4:112.
18. Cunha Aea. 2016. Femtosecond laser surface texturing of titanium as a method to reduce the adhesion of *Staphylococcus aureus* and biofilm formation. Applied Surface Science 360:485–493.
19. Quinn J, McFadden R, Chan CW, et al. 2020. Titanium for Orthopedic Applications: An Overview of Surface Modification to Improve Biocompatibility and Prevent Bacterial Biofilm Formation. iScience 23:101745.
20. Gallo J, Holinka M, Moucha CS. 2014. Antibacterial surface treatment for orthopaedic implants. Int J Mol Sci 15:13849-13880.
21. Koseki H, Yonekura A, Shida T, et al. 2014. Early staphylococcal biofilm formation on solid orthopaedic implant materials: *in vitro* study. PLoS One 9:e107588.
22. Donlan RM. 2002. Biofilms: microbial life on surfaces. Emerg Infect Dis 8:881-890.
23. Bhagwat G, O'Connor W, Grainge I, et al. 2021. Understanding the Fundamental Basis for Biofilm Formation on Plastic Surfaces: Role of Conditioning Films. Front Microbiol 12:687118.
24. Li P, Yin R, Cheng J, et al. 2023. Bacterial Biofilm Formation on Biomaterials and Approaches to Its Treatment and Prevention. Int J Mol Sci 24.
25. Sarfraz S, Mantynen PH, Laurila M, et al. 2022. Comparison of Titanium and PEEK Medical Plastic Implant Materials for Their Bacterial Biofilm Formation Properties. Polymers (Basel) 14.
26. Cho JA, Roh YJ, Son HR, et al. 2022. Assessment of the biofilm-forming ability on solid surfaces of periprosthetic infection-associated pathogens. Sci Rep 12:18669.
27. Castellanos J, Gonzalez-Cuevas A, Sierra JM, et al. 2014. Adherence of *S. epidermidis* on different metals. A comparative *in vitro* study. J Appl Biomater Funct Mater 12:141-144.
28. Malhotra R, Dhawan B, Garg B, et al. 2019. A Comparison of Bacterial Adhesion and Biofilm Formation on Commonly Used Orthopaedic Metal Implant Materials: An *In vitro* Study. Indian J Orthop 53:148-153.
29. Garcia D, Mayfield CK, Leong J, et al. 2020. Early adherence and biofilm formation of *Cutibacterium acnes* (formerly Propionibacterium acnes) on spinal implant materials. Spine J 20:981-987.
30. Barkarmo S, Longhorn D, Leer K, et al. 2019. Biofilm formation on polyetheretherketone and titanium surfaces. Clin Exp Dent Res 5:427-437.
31. Banche G, Bracco P, Allizond V, et al. 2015. Do crosslinking and vitamin E stabilization influence microbial adhesions on UHMWPE-based biomaterials? Clin Orthop Relat Res 473:974-986.
32. Banche G, Allizond V, Bracco P, et al. 2014. Interplay between surface properties of standard, vitamin E blended and oxidised ultra high molecular weight polyethylene used in total joint replacement and adhesion of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Bone Joint J 96-B:497-501.
33. Williams DL, Vinciguerra J, Lerdahl JM, et al. 2015. Does vitamin E-blended UHMWPE prevent biofilm formation? Clin Orthop Relat Res 473:928-935.
34. McEvoy JP, Martin P, Khaleel A, et al. 2019. Titanium Kirschner Wires Resist Biofilms Better THAn Stainless Steel and Hydroxyapatite-coated Wires: An *In vitro* Study. Strategies Trauma Limb Reconstr 14:57-64.
35. Adachi K, Tsurumoto T, Yonekura A, et al. 2007. New quantitative image analysis of staphylococcal biofilms on the surfaces of nontranslucent metallic biomaterials. J Orthop Sci 12:178-184.
36. Clauss M, Graf S, Gersbach S, et al. 2013. Material and biofilm load of K wires in toe surgery: titanium versus stainless steel. Clin Orthop Relat Res 471:2312-2317.
37. Arens S, Schlegel U, Printzen G, et al. 1996. Influence of materials for fixation implants on local infection. An experimental study of steel versus titanium DCP in rabbits. J Bone Joint Surg Br 78:647-651.
38. Hexter AT, Hislop SM, Blunn GW, et al. 2018. The effect of bearing surface on risk of periprosthetic joint infection in total hip arthroplasty: a systematic review and meta-analysis. Bone Joint J 100-B:134-142.
39. Sorrentino Rea. 2018. Reduced bacterial adhesion on ceramics used for arthroplasty applications. Journal of the European Ceramic Society 38:963–970
40. Pezzotti Gea. 2018. *In vitro* antibacterial activity of oxide and non-oxide bioceramics for arthroplastic devices: I. In situ time-lapse Raman spectroscopy. Analyst 143:3708–3721
41. Grimberg AW, Grupp TM, Elliott J, et al. 2021. Ceramic Coating in Cemented Primary Total Knee Arthroplasty is Not Associated With Decreased Risk of Revision due to Early Prosthetic Joint Infection. J Arthroplasty 36:991-997.

Autores: Graham S Goh, Armita A Abedi, Leibnitz J Martinez, Gowrishankar Muthukrishnan, Imre Sallai, Daniel R Schlatterer, Edward M Schwarz, Chao Xie

Autor de Correspondencia
Dr. Graham S. Goh.
Department of Orthopaedic Surgery
Boston University Medical Center
Boston, MA, USA
Email: goh.graham@gmail.com

PREGUNTA 20. ¿Qué mecanismos regulatorios clave controlan la liberación de ADN extracelular (eDNA) por *Staphylococcus aureus* durante la autólisis, que contribuye de forma significativa a la integridad estructural del biofilm?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: El ADN extracelular (eDNA) contribuye a la estructura, el crecimiento y las propiedades de evasión inmunitaria de los biofilms de *S. aureus* en infecciones ortopédicas, y se deriva tanto de las bacterias que sufren autolisis como de los neutrófilos que experimentan NETosis en el sitio de la infección. La liberación de eDNA mediante autolisis está mediada por la mureína hidrolasa, codificada por el gen atl. Los operones cidABC y lrgAB modulan la actividad de la mureína hidrolasa y la autolisis, mientras que los reguladores transcripcionales CidR y lytSR controlan, respectivamente, la expresión de estos operones. También se han descrito mecanismos de liberación de eDNA independientes de la mureína hidrolasa, como las vías de la fosfodiesterasa codificada por gdpP y de la termonucleasa codificada por nuc.

NIVEL DE EVIDENCIA: Fuerte.

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 100%, En desacuerdo 0%, Abstención 0% (Consenso Total).

JUSTIFICACIÓN

Se realizó una búsqueda bibliográfica exhaustiva utilizando los términos "biofilm", "*Staphylococcus aureus*" y "extracellular DNA" en PubMed y Scopus, que inicialmente arrojó 374 estudios únicos potencialmente relevantes. Estos fueron cribados por dos revisores independientes, de los cuales 146 se seleccionaron para revisión a texto completo y finalmente 37 se incluyeron para evaluación. *Staphylococcus aureus* es una causa altamente prevalente de infecciones musculoesqueléticas [1]. Es importante señalar que *S. aureus* forma biofilms, que consisten en células embebidas en una matriz extracelular compuesta por proteínas, polisacáridos, lípidos y ADN extracelular (eDNA). La composición exacta de esta matriz depende en gran medida de la cepa, el tiempo y las condiciones [2–4]. Aunque la investigación se ha centrado en los componentes proteicos y polisacarídicos de la matriz [5,6], cada vez se reconoce más que el eDNA contribuye a la estructura, estabilidad, crecimiento y propiedades de evasión inmunitaria de los biofilms de *S. aureus* [7]. Dado el papel crítico del eDNA, comprender y contrarrestar los mecanismos que controlan su liberación podría proporcionar un objetivo terapéutico alternativo para la erradicación bacteriana.

El eDNA en los biofilms de *S. aureus* está compuesto por ADN liberado por la autolisis de una subfracción de la población [8,9]. No se han demostrado aún vías independientes de la autolisis en *S. aureus* [10]. Como resultado, se cree que el eDNA abarca todos los genes codificados cromosómicamente [10], así como cierta cantidad de ADN plasmídico extracromosómico [9], lo que contrasta con hallazgos en otras especies bacterianas. En particular, la mureína hidrolasa desempeña un papel clave en la autolisis al degradar la pared celular de peptidoglicano [11], lizando la célula y liberando ADN genómico [8,9]. Mutaciones en el gen que codifica la mureína hidrolasa, atl, dan lugar a una formación defectuosa de biofilm [12] con disminución del contenido de eDNA [13,14]. Cuando se trató el biofilm de un mutante atl con DNasa I, no se observó diferencia significativa en la biomasa respecto al tipo silvestre [4].

Los operones cidABC y lrgAB regulan la muerte y la lisis celular [8]. El gen cidA codifica una proteína holina asociada a membrana que oligomeriza y forma poros en la membrana [11,15]. Esto permite que la mureína hidrolasa, el endolisina, acceda a la pared celular y facilita la lisis [16]. Al contrario, el gen lrgA codifica una proteína antiholina que impide la oligomerización de las holinas, suprimiendo así la lisis [8,15]. Estos operones trabajan en tándem para modular la actividad de la mureína hidrolasa y la autolisis. La expresión de cidA y lrgA se ha visto afectada por las concentraciones locales del oxígeno [17]. CidR, un regulador transcripcional de tipo LysR, controla la expresión del operón cidABC, y su expresión puede a su vez verse afectada por los niveles de glucosa [18]. En presencia de ácido acético, un subproducto del metabolismo de la glucosa, CidR aumenta la transcripción de cidA [18,19], probablemente mediante una interacción independiente del pH. Si bien CidA desempeña

un papel importante en la lisis celular, un estudio mostró que CidB y CidC también pueden contribuir a este proceso [16]. En la misma línea, el operón lrgAB está controlado por el sistema regulador lytSR [20], que comprende dos vías de transducción de señales: primero, detecta reducciones en el potencial de membrana y aumenta la transcripción de lrgA [19,20]; además, activa lrgAB en respuesta a un metabolismo de glucosa en exceso.

También se han descrito otros mecanismos de liberación de eDNA independientes de la mureína hidrolasa. Por ejemplo, el gen gdpP codifica una fosfodiesterasa responsable de escindir el c-di-AMP. Estudios previos han demostrado que las deleciones de gdpP aumentan el entrecruzamiento del peptidoglicano y mejoran la resistencia a antibióticos dirigidos al sobre celular, lo que respalda la teoría de que la disminución de los niveles de c-di-AMP compromete la integridad de la pared celular y promueve la lisis celular [21]. También se ha observado que niveles más altos de glucosa disminuyen el c-di-AMP y aumentan la autolisis [21]. Un estudio independiente identificó una mutación en la vía de biosíntesis de purinas (ΔpurF) que redujo significativamente los niveles de c-di-AMP, la formación de biofilm y los niveles de eDNA [22]. Cuando estos mutantes se suplementan con c-di-AMP exógeno, los niveles de eDNA fueron comparables a los del tipo silvestre.

Otro gen implicado es nuc, que codifica la termonucleasa estafilocócica que degrada el eDNA, ayudando a *S. aureus* en su defensa frente a las trampas extracelulares de neutrófilos (NETs) [23] y potencialmente facilitando la liberación de una subpoblación de células del biofilm [24]. Las cepas con actividad de termonucleasa reducida exhiben una mayor formación de biofilm; por consiguiente, existe una relación inversa entre la expresión de nuc y los niveles de eDNA en el biofilm [25,26].

El locus de adhesión intercelular, ica, presente en *S. aureus*, es necesario para la formación de biofilm. Estudios previos han intentado clasificar los biofilms de MRSA como compuestos principalmente por proteínas y eDNA (independientes de ica), mientras que los biofilms de MSSA se han clasificado como basados en polisacáridos (dependientes de ica). Sin embargo, esta caracterización no aplica de forma universal a todas las cepas, dado que la mayoría de los aislados de *S. aureus* albergan el operón ica. Por el contrario, su expresión está altamente regulada e influida por diversos factores ambientales [27]. Se ha observado que los biofilms dependientes de ica contienen niveles más bajos de eDNA en comparación con los independientes de ica [2], aunque esto puede no aplicar a todas las cepas dependientes de ica [4]. No obstante, sigue por determinar si este nivel inferior de eDNA afecta negativamente al soporte estructural del biofilm, puesto que ambos (dependientes e independientes de ica) fueron igualmente susceptibles al tratamiento con DNasa I [28]. Otro estudio que analizó 47 aislados clínicos de *S. aureus* también encontró eDNA presente en los biofilms de todas las cepas, independientemente de su estado de resistencia a meticilina [2].

Se ha demostrado que concentraciones subinhibitorias de antibióticos beta-lactámicos aumentan tanto la liberación de eDNA como la formación de biofilm en determinadas cepas de *S. aureus* [29,30]. Esto es intuitivo, ya que el daño de la pared celular conduciría a una mayor liberación de eDNA, promoviendo así la formación de biofilm. Además, niveles subinhibitorios de otras clases de antibióticos como la clindamicina, un inhibidor de la síntesis proteica, también pueden influir en la liberación de eDNA en biofilms de *S. aureus*, aunque este efecto podría ser específico de la cepa [31]. Asimismo, se observó que el tratamiento subinhibitorio con ceftriaxona inducía la sobreexpresión de atl, contribuyendo a un aumento de los niveles de eDNA dentro del biofilm [32]. Por el contrario, algunos antibióticos han demostrado el efecto opuesto. Por ejemplo, niveles subinhibitorios de nisina, que altera la despolarización de la pared celular e inhibe la síntesis de peptidoglicano, redujeron el contenido de eDNA en biofilms de *S. aureus* [33,34]. De igual modo, concentraciones subinhibitorias de tunicamicina, un inhibidor de la síntesis de ácido teicoico, condujeron a una disminución de la liberación de eDNA [35].El papel crítico del eDNA en los biofilms de *S. aureus*, así como su naturaleza ubicua en diversas cepas, han convertido al eDNA en un objetivo importante para terapias modernas. Es evidente que los mecanismos de liberación de eDNA pueden estar influidos por factores de cepa y ambientales, incluidos, entre otros, la concentración local de oxígeno, los niveles de glucosa y el medio de cultivo. Más importante aún, se necesita más investigación para comprender la influencia de los niveles subinhibitorios de antibióticos en la liberación de eDNA de *S. aureus*, dado su enorme impacto clínico para los médicos que tratan infecciones musculoesqueléticas.

La investigación activa sobre la formación de biofilm *in vivo* también se centra en las contribuciones de biomoléculas del huésped, incluido el eDNA procedente de NETs [36]. Durante la NETosis, el ADN es liberado por neutrófilos reclutados al sitio de infección mediante un proceso que implica la activación bacteriana de la NADPH oxidasa, que genera especies reactivas de oxígeno que conducen a la descondensación de la cromatina por enzimas que modifican histonas (p. ej., PAD4) [37,38]. Enzimas como la mieloperoxidasa (MPO) y la elastasa del neutrófilo (NE) rompen la membrana nuclear para liberar el ADN cromosómico del neutrófilo en las NETs durante la "NETosis lítica", donde la célula muere, o la "NETosis vital", que produce NETs y citoplastos anucleados que fagocitan bacterias. Patógenos, incluido *S. aureus*, pueden apropiarse de las NETs secretando endonucleasas que remodelan el ADN del huésped en eDNA del biofilm [39]. Por lo tanto, no está claro cuán eficaz puede ser dirigir la formación de eDNA bacteriano como tratamiento para infecciones ortopédicas si, como han hipotetizado algunos investigadores, la mayor parte del eDNA en el biofilm procede en realidad de NETs [40].

PubMed search

(((biofilm* OR "Biofilms"[Mesh]) AND (*Staphylococcus aureus* OR "*Staphylococcus aureus*"[Mesh] OR Staph)) AND (extracellular DNA OR eDNA OR exDNA)) AND

((((1990:3000/12/12[pdat]) AND (english[LA])) OR (randomized controlled trial [pt] OR controlled clinical trial [pt] OR randomized [tiab] OR placebo [tiab] OR drug therapy [sh] OR randomly [tiab] OR trial [tiab] OR groups [tiab])) NOT (animals [mh] NOT humans [mh]))

SCOPUS search

(TITLE-ABS (biofilm* OR "Biofilms") AND (TITLE-ABS ("*Staphylococcus aureus*") OR TITLEABS(Staph)) AND (TITLE-ABS ("extracellular DNA") OR TITLE-ABS (eDNA) OR TITLEABS (exDNA))) AND (PUBYEAR > 1990 AND PUBYEAR < 3000 AND LANGUAGE (english))

REFERENCIAS

1. Masters EA, Ricciardi BF, Bentley KL de M, Moriarty TF, Schwarz EM, Muthukrishnan G. Skeletal infections: microbial pathogenesis, immunity and clinical management. Nat Rev Microbiol 2022; 20:385–400.
2. Sugimoto S, Sato F, Miyakawa R, Chiba A, Onodera S, Hori S, et al. Broad impact of extracellular DNA on biofilm formation by clinically isolated Methicillin-resistant and -sensitive strains of *Staphylococcus aureus*. Sci Rep 2018;8:2254–2254.
3. Lade H, Park JH, Chung SH, Kim IH, Kim J-M, Joo H-S, et al. Biofilm Formation by *Staphylococcus aureus* Clinical Isolates is Differentially Affected by Glucose and Sodium Chloride Supplemented Culture Media. J Clin Med 2019;8:1853.
4. Ball AL, Augenstein ED, Wienclaw TM, Richmond BC, Freestone CA, Lewis JM, et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* biofilms via crystal violet binding and biochemical composition assays of isolates from hospitals, raw meat, and biofilm-associated gene mutants. Microbial Pathogenesis 2022;167:105554.
5. Hobley L, Harkins C, MacPhee CE, Stanley-Wall NR. Giving structure to the biofilm matrix: an overview of individual strategies and emerging common themes. FEMS Microbiol Rev 2015;39:649–69. https://doi.org/10.1093/femsre/fuv015.
6. Moormeier DE, Bayles KW. *Staphylococcus aureus* biofilm: a complex developmental organism. Mol Microbiol 2017;104:365–76.
7. Bowden LC, Finlinson J, Jones B, Berges BK. Beyond the double helix: the multifaceted landscape of extracellular DNA in *Staphylococcus aureus* biofilms. Front Cell Infect Microbiol 2024;14:1400648.
8. Mann EE, Rice KC, Boles BR, Endres JL, Ranjit D, Chandramohan L, et al. Modulation of eDNA release and degradation affects *Staphylococcus aureus* biofilm maturation. PLoS One 2009;4:e5822–e5822.
9. Svarcova V, Zdenkova K, Sulakova M, Demnerova K, Pazlarova J. Contribution to determination of extracellular DNA origin in the biofilm matrix. Journal of Basic Microbiology 2021;61:652–61.
10. Fischer A, Kambara K, Meyer H, Stenz L, Bonetti E-J, Girard M, et al. GdpS contributes to *Staphylococcus aureus* biofilm formation by regulation of eDNA release. International Journal of Medical Microbiology 2014;304:284–99.
11. Rice KC, Mann EE, Endres JL, Weiss EC, Cassat JE, Smeltzer MS, et al. The cidA murein hydrolase regulator contributes to DNA release and biofilm development in *Staphylococcus aureus*. Proceedings of the National Academy of Sciences 2007;104:8113–8.
12. Biswas R, Voggu L, Simon UK, Hentschel P, Thumm G, Götz F. Activity of the major staphylococcal autolysin Atl. FEMS Microbiology Letters 2006;259:260–8.
13. Houston P, Rowe SE, Pozzi C, Waters EM, O'Gara JP. Essential role for the major autolysin in the fibronectin-binding protein-mediated *Staphylococcus aureus* biofilm phenotype. Infect Immun 2011;79:1153–65.
14. Bose JL, Lehman MK, Fey PD, Bayles KW. Contribution of the *Staphylococcus aureus* Atl
AM and GL murein hydrolase activities in cell division, autolysis, and biofilm formation. PLoS One 2012;7:e42244–e42244. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042244.
15. Ranjit DK, Endres JL, Bayles KW. *Staphylococcus aureus* CidA and LrgA proteins exhibit holin-like properties. Journal of Bacteriology 2011;193:2468–76.
16. Windham IH, Chaudhari SS, Bose JL, Thomas VC, Bayles KW. SrrAB modulates *Staphylococcus aureus* cell death through regulation of cidABC transcription. Journal of Bacteriology 2016;198:1114–22.
17. Moormeier DE, Endres JL, Mann EE, Sadykov MR, Horswill AR, Rice KC, et al. Use of microfluidic technology to analyze gene expression during *Staphylococcus aureus* biofilm formation reveals distinct physiological niches. Appl Environ Microbiol 2013;79:3413–24. https://doi.org/10.1128/AEM.00395-13.
18. Yang S-J, Rice KC, Brown RJ, Patton TG, Liou LE, Park YH, et al. A LysR-type regulator, CidR, is required for induction of the *Staphylococcus aureus* cidABC operon. Journal of Bacteriology 2005;187:5893–900.
19. Patton TG, Yang S, Bayles KW. The role of proton motive force in expression of the *Staphylococcus aureus* cid and lrg operons. Molecular Microbiology 2006;59:1395–404.
20. Sharma-Kuinkel BK, Mann EE, Ahn J-S, Kuechenmeister LJ, Dunman PM, Bayles KW. The *Staphylococcus aureus* LytSR two-component regulatory system affects biofilm formation. Journal of Bacteriology 2009;191:4767–75.
21. DeFrancesco AS, Masloboeva N, Syed AK, DeLoughery A, Bradshaw N, Li G-W, et al. Genome-wide screen for genes involved in eDNA release during biofilm formation by *Staphylococcus aureus*. Proceedings of the National Academy of Sciences 2017;114:E5969–78.
22. Li L, Li Y, Zhu F, Cheung AL, Wang G, Bai G, et al. New mechanistic insights into purine biosynthesis with second messenger c-di-AMP in relation to biofilm-related persistent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. Mbio 2021;12:e02081-21.
23. Berends ET, Horswill AR, Haste NM, Monestier M, Nizet V, von Köckritz-Blickwede M. Nuclease expression by *Staphylococcus aureus* facilitates escape from neutrophil extracellular traps. Journal of Innate Immunity 2010;2:576–86.
24. Moormeier DE, Bose JL, Horswill AR, Bayles KW. Temporal and stochastic control of *Staphylococcus aureus* biofilm development. mBio 2014;5:e01341.
25. Kiedrowski MR, Kavanaugh JS, Malone CL, Mootz JM, Voyich JM, Smeltzer MS, et al. Nuclease modulates biofilm formation in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. PLoS One 2011;6:e26714–e26714.
26. Yu J, Jiang F, Zhang F, Hamushan M, Du J, Mao Y, et al. Thermonucleases Contribute to *Staphylococcus aureus* Biofilm Formation in Implant-Associated Infections-A Redundant and Complementary Story. Front Microbiol 2021;12:687888–687888.
27. Fitzpatrick F, Humphreys H, O'Gara JP. Evidence for icaADBC-independent biofilm development mechanism in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. Journal of Clinical Microbiology 2005;43:1973–6.
28. Avila-Novoa MG, González-Gómez J-P, Guerrero-Medina PJ, Cardona-López MA, Ibarra-Velazquez LM, Velazquez-Suarez NY, et al. *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) strains isolated from dairy products: Relationship of ica-dependent/independent and components of biofilms produced *in vitro*. International Dairy Journal 2021;119:105066.
29. Kaplan JB, Izano EA, Gopal P, Karwacki MT, Kim S, Bose JL, et al. Low levels of β-lactam antibiotics induce extracellular DNA release and biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. mBio 2012;3:e00198.
30. Mlynek KD, Callahan MT, Shimkevitch AV, Farmer JT, Endres JL, Marchand M, et al. Effects of Low-Dose Amoxicillin on *Staphylococcus aureus* USA300 Biofilms. Antimicrob Agents Chemother 2016;60:2639–51.
31. Schilcher K, Andreoni F, Dengler Haunreiter V, Seidl K, Hasse B, Zinkernagel AS. Modulation of *Staphylococcus aureus* biofilm matrix by subinhibitory concentrations of clindamycin. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2016;60:5957–67.
32. Azzam A, Shawky RM, El-Mahdy TS. Sub-inhibitory concentrations of ceftriaxone induce morphological alterations and PIA-independent biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. Brazilian Journal of Microbiology 2024;55:297–308.
33. Andre C, de Jesus Pimentel-Filho N, de Almeida Costa PM, Vanetti MCD. Changes in the composition and architecture of staphylococcal biofilm by nisin. Brazilian Journal of Microbiology 2019;50:1083–90.
34. Zhou H, Fang J, Tian Y, Lu XY. Mechanisms of nisin resistance in Gram-positive bacteria. Annals of Microbiology 2013;64:413–20.
35. Zhu X, Liu D, Singh AK, Drolia R, Bai X, Tenguria S, et al. Tunicamycin Mediated Inhibition of Wall Teichoic Acid Affects *Staphylococcus aureus* and Listeria monocytogenes Cell Morphology, Biofilm Formation and Virulence. Front Microbiol 2018;9:1352–1352.
36. Alhede M, Alhede M, Qvortrup K, Kragh KN, Jensen PØ, Stewart PS, et al. The origin of extracellular DNA in bacterial biofilm infections *in vivo*. Pathog Dis 2020;78:ftaa018.
37. Liu X, Arfman T, Wichapong K, Reutelingsperger CPM, Voorberg J, Nicolaes GAF. PAD4 takes charge during neutrophil activation: Impact of PAD4 mediated NET formation on immune-mediated disease. J Thromb Haemost 2021;19:1607–17.
38. Wang H, Kim SJ, Lei Y, Wang S, Wang H, Huang H, et al. Neutrophil extracellular traps in homeostasis and disease. Signal Transduct Target Ther 2024;9:235–235. https://doi.org/10.1038/s41392-024-01933-x.
39. Tan C, Aziz M, Wang P. The vitals of NETs. J Leukoc Biol 2021;110:797–808
40. Monticolo F, Palomba E, Termolino P, Chiaiese P, de Alteriis E, Mazzoleni S, et al. The Role of DNA in the Extracellular Environment: A Focus on NETs, RETs and Biofilms. Front Plant Sci 2020;11:589837–589837.

Autores: Christopher Spiegel, Hernando Gaitan Lee, Philippe Hernigou

Autor de Correspondencia
Christopher Spiegel, PhD
Medical University Innsbruck, Austria
Email: christopher.spiegel@i-med.ac.at

PREGUNTA 21. ¿Existen nuevas aleaciones que sean resistentes a la formación de biofilm durante las infecciones ortopédicas?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: Con base en los datos disponibles, las aleaciones de titanio nanoestructuradas como Ti-13Nb-13Zr y las aleaciones basadas en magnesio dopadas con elementos antimicrobianos muestran potencial para resistir la formación de biofilm en implantes ortopédicos.

NIVEL DE EVIDENCIA: Moderado

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 65%, En desacuerdo 5%, Abstención 30% (Consenso Moderado).

JUSTIFICACIÓN

Los implantes ortopédicos han transformado la atención sanitaria al restaurar la función y la movilidad de los pacientes con trastornos musculoesqueléticos. Entre los materiales empleados, el titanio (Ti) y sus aleaciones predominan debido a sus propiedades mecánicas excepcionales, resistencia a la corrosión y biocompatibilidad. Sin embargo, las infecciones asociadas a implantes siguen siendo un problema crítico, lo que exige estrategias innovadoras para conferir propiedades antimicrobianas a estos materiales [1]. Por tanto, existe una variedad de aleaciones de implantes en el mercado; las más comunes son las basadas en titanio, como Ti6Al4V, titanio grado CP4 y TiMo15, aleaciones de cobalto-cromo y acero inoxidable [2]. Asimismo, se están realizando esfuerzos para introducir nuevas aleaciones de implantes como las aleaciones de magnesio, tantalio, circonio y, en su mayoría, derivados cerámicos [3].

Para responder a esta pregunta, se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica exhaustiva utilizando las palabras de búsqueda "novel alloys" o "coated materials, biocompatible" o "nanotubes" o "nanostructures" y "orthopedic implant" o "prosthesis-related infections" o "Orthopedic infection" o "endoprosthetic joint infections" o "periprosthetic joint infection" o "orthopedic procedures" y "antibiofilm" o "anti-biofilm" o "resistance" o "anti-bacterial agents" en PubMed y Embase, que identificó inicialmente 95 estudios únicos potencialmente relevantes, evaluados por dos revisores independientes, de los cuales 41 se seleccionaron para revisión a texto completo y 41 se incluyeron para evaluación.

Desarrollos en aleaciones para implantes

a. Implantes basados en titanio

Considerada ampliamente como el estándar para los implantes ortopédicos, la aleación Ti-6Al-4V combina alta resistencia con resistencia a la corrosión [4]. La aleación presenta una elevada relación resistencia-peso, con una resistencia a la tracción de aproximadamente 900 MPa y una densidad de alrededor de 4,4 g/cm^3, lo que la hace significativamente más ligera que las aleaciones de cobalto-cromo, al tiempo que proporciona una resistencia mecánica sustancial [5]. La resistencia a la corrosión es otra propiedad crítica de este material, y la formación de una capa pasiva de dióxido de titanio (TiO_2) estable y adherente al exponerse a entornos fisiológicos aumenta en gran medida su resistencia a la oxidación y la corrosión. Esta capa pasiva es crucial, ya que mitiga el riesgo de liberación de iones y sus efectos citotóxicos asociados [6].

Se utiliza extensamente en reemplazos articulares, implantes de columna y prótesis dentales debido a sus propiedades mecánicas favorables y su capacidad para integrarse con el hueso. Otra característica importante de las aleaciones de titanio es su biocompatibilidad, derivada de su capacidad para inducir respuestas biológicas favorables tras la implantación [7]. El proceso de oseointegración, en el que las células óseas se integran con la superficie del implante, es vital para el éxito a largo plazo de los reemplazos articulares. Se ha demostrado que el titanio y sus aleaciones exhiben respuestas celulares óptimas, facilitando la proliferación y diferenciación de osteoblastos, las células responsables de la formación ósea [8,9,10]. El módulo elástico de las aleaciones de titanio es de aproximadamente 110 GPa, notablemente inferior al de materiales tradicionales como el acero inoxidable (210 GPa) [11]. Este módulo inferior reduce los efectos de blindaje del estrés, por los que el hueso está sometido a una menor carga mecánica, lo que potencialmente conduce a la resorción ósea alrededor del implante. Al aproximarse más a las propiedades mecánicas del hueso humano, las aleaciones de titanio ayudan a mantener una salud ósea y unas condiciones de carga óptimas [12].

Alternativa libre de vanadio a Ti-6Al-4V, aleada principalmente con elementos como Nb, Zr, Mo y Ta [13]. En concreto, Ti-6Al-7Nb sustituye el vanadio por niobio, mejorando la biocompatibilidad y manteniendo una alta resistencia y resistencia a la corrosión [14]. La investigación indica que esta aleación reduce los efectos citotóxicos asociados al vanadio, convirtiéndola en una opción más segura para la implantación a largo plazo [15]. Estudios recientes destacan su capacidad para integrarse bien con el hueso, especialmente cuando se combina con tratamientos superficiales antibacterianos como recubrimientos de plata o zinc [16]. Caracterizada por su bajo módulo elástico, Ti-13Nb-13Zr minimiza el blindaje del estrés, fenómeno por el cual una alta rigidez del implante provoca resorción ósea [17]. La compatibilidad de esta aleación con el tejido óseo ha sido ampliamente documentada, con evidencias que respaldan su uso en aplicaciones de carga. No obstante, aunque su biocompatibilidad es excepcional, sus propiedades antibacterianas son limitadas [18]. Tras el "equal channel angular swaging" de Ti-13Nb-13Zr se obtuvo un material nanoestructurado, lo que condujo a una reducción adicional del recuento de células bacterianas [19]. El titanio comercialmente puro (CP-Ti) se utiliza ampliamente en implantes dentales y ortopédicos debido a su alta resistencia a la corrosión y resistencia moderada. El CP-Ti (grado 2) es especialmente conocido por su ductilidad, mientras que el CP-Ti (grado 4) proporciona mayor resistencia, lo que lo hace adecuado para aplicaciones más exigentes [4]. Ambos grados favorecen la oseointegración, y tratamientos como la proyección por plasma y los recubrimientos de hidroxiapatita mejoran aún más su integración con el tejido óseo [20]. A pesar de estas ventajas, su falta de actividad antibacteriana intrínseca exige la aplicación de recubrimientos antimicrobianos o sistemas con fármacos [1]. Aleaciones emergentes como Ti-15Mo-5Zr-3Al y Ti-12Mo-6Zr-2Fe muestran un gran potencial para aplicaciones ortopédicas debido a sus propiedades mecánicas superiores y resistencia a la corrosión. Ti-15Mo, por ejemplo, presenta excelente biocompatibilidad y capacidades de oseointegración cuando su superficie se modifica con rugosidad a nanoescala [21]. Sin embargo, aún se necesitan estudios exhaustivos para evaluar sus propiedades antibacterianas y confirmar su eficacia en la reducción de la colonización bacteriana.

b. Implantes basados en magnesio

Las aleaciones de magnesio (Mg) han atraído atención por su biodegradabilidad y biocompatibilidad, mientras que investigaciones recientes se han centrado en mejorar sus propiedades antimicrobianas. El magnesio mostró propiedades antimicrobianas debido al aumento del pH en el entorno circundante [22]. Si bien el magnesio únicamente reduce el recuento bacteriano, la incorporación de elementos o agentes antimicrobianos como Cu, Ag y ácidos tánicos puede aportar mayor eficacia para inhibir la formación de biofilm [23]. Además, Mishra et al. (2024) exploraron estrategias de aleado y recubrimiento para mejorar la resistencia mecánica y a la corrosión de los implantes de magnesio, potenciando aún más sus propiedades antimicrobianas y osteoconductoras [24]. Los hidrogeles que contienen fosfatos de magnesio también tienen potencial en la descontaminación quirúrgica de implantes dentales, reduciendo de forma eficaz las infecciones asociadas a la periimplantitis [25]. Además, el uso de implantes de magnesio combinados con campos magnéticos alternos para aumentar la liberación de hidrógeno y el agotamiento de protones ofrece un enfoque novedoso para combatir la osteomielitis al promover la erradicación bacteriana y la reparación tisular [26]. Por último, materiales compuestos como las mezclas de magnesio/ácido poliláctico (Mg/PLA) han demostrado propiedades antibacterianas y antiinflamatorias mejoradas durante la biodegradación, abordando complicaciones relacionadas con la infección en aplicaciones de curación ósea [27].

c. Implantes basados en zinc

El zinc (Zn) es un elemento esencial en el organismo humano, y sus aleaciones se han investigado para aplicaciones biomédicas. El zinc posee propiedades antimicrobianas en función de la concentración a la que se exponga la bacteria [28]. No obstante, el zinc puede reducir los recuentos bacterianos destruyendo la membrana celular externa [29]. Recientemente se han propuesto aproximaciones dopando implantes basados en Zn con elementos antimicrobianos como Cu y Ag [30].

d. Implantes basados en cobalto-cromo

Las aleaciones CoCrMo se utilizan ampliamente en implantes ortopédicos debido a su resistencia mecánica y resistencia a la corrosión. Se han empleado modificaciones superficiales y dopado de aleaciones con Cu y Ag para mejorar su biocompatibilidad y propiedades antimicrobianas [31,32]. Diferentes modificaciones superficiales en aleaciones CoCrMo afectan a la viabilidad y adhesión celular, lo que pone de relieve la importancia de la ingeniería de superficies para mejorar el rendimiento de los implantes [33].

En conclusión, el titanio y sus aleaciones son indispensables en aplicaciones ortopédicas debido a sus propiedades mecánicas superiores y biocompatibilidad. Sin embargo, su falta de propiedades antimicrobianas intrínsecas exige soluciones innovadoras para prevenir infecciones. Estrategias como las modificaciones superficiales, recubrimientos antimicrobianos, dopado con elementos y recubrimientos con fármacos tienen el potencial de mejorar el rendimiento antibacteriano de estos materiales mientras se favorece la osteointegración. El aspecto más difícil en la lucha contra la IAP con nuevas aleaciones es encontrar un equilibrio entre biocompatibilidad y eficacia antimicrobiana. El uso de cobre y plata tiene una influencia importante en la salud del organismo. El riesgo de desarrollar cáncer, Alzheimer y otras deficiencias inmunes depende de la liberación de iones al cuerpo humano [34, 35]. Con los implantes, la liberación de iones ocurre y puede ser difícil de controlar [36]. Un enfoque prometedor para reducir los recuentos bacterianos es el uso de superficies nanoestructuradas [37,38]. Dado que las nanopartículas pueden emplearse como recubrimientos [39], las aleaciones nanoestructuradas producidas mediante procesos de

fabricación innovadores pueden asegurar un efecto antimicrobiano sostenido [40,41]. La investigación y el desarrollo continuos en este campo son cruciales para mejorar las tasas de éxito de los implantes y los resultados de los pacientes.

REFERENCIAS

1. Souza JGS, Bertolini MM, Costa RC, Nagay BE, Dongari-Bagtzoglou A, Barão VAR. Targeting implant-associated infections: titanium surface loaded with antimicrobial. iScience. 2020 Dec 29;24(1):102008.
2. Jiao J, Zhang S, Qu X, Yue B. Recent Advances in Research on Antibacterial Metals and Alloys as Implant Materials. Front Cell Infect Microbiol. 2021 Jul 2;11:693939. doi: 10.3389/fcimb.2021.693939. PMID: 34277473; PMCID: PMC8283567.
3. Wang N, Ma Y, Shi H, Song Y, Guo S, Yang S. Mg-, Zn-, and Fe-Based Alloys With Antibacterial Properties as Orthopedic Implant Materials. Front Bioeng Biotechnol. 2022 May 23;10:888084.
4. Abdel-Hady Gepreel M, Niinomi M. Biocompatibility of Ti-alloys for long-term implantation. J Mech Behav Biomed Mater. 2013 Apr;20:407-15. doi: 10.1016/j.jmbbm.2012.11.014. Epub 2012 Dec 6. PMID: 23507261.
5. Ashby, M. F., & Jones, D. R. H. (2012). *Engineering Materials 1: An Introduction to Properties, Applications
6. Vera, M. & Linardi, Evelina & Lanzani, Liliana & Méndez, Claudia & Schvezov, Carlos & Ares, Alicia. (2014). Corrosion resistance of titanium dioxide anodic coatings on Ti–6Al–4V. Materials and Corrosion. 66. 10.1002/maco.201407988.
7. Marin, Elia & Lanzutti, Alex. (2023). Biomedical Applications of Titanium Alloys: A Comprehensive Review. Materials (Basel, Switzerland). 17. 10.3390/ma17010114.
8. Brånemark, P I et al. "Osseointegrated titanium fixtures in the treatment of edentulousness." Biomaterials vol. 4,1 (1983): 25-8.
9. Albrektsson, T et al. "Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man." Acta orthopaedica Scandinavica vol. 52,2 (1981): 155-70.
10. Asti A, Gastaldi G, Dorati R, et al. Stem Cells Grown in Osteogenic Medium on PLGA, PLGA/HA, and Titanium Scaffolds for Surgical Applications. Bioinorg Chem Appl. 2010;2010:831031.
11. Marin E, Fusi S, Pressacco M, Paussa L, Fedrizzi L. Characterization of cellular solids in Ti6Al4V for orthopaedic implant applications: Trabecular TitaniumTM. J Mech Behav Biomed Mater. 2010;3(5):373–81.
12. Guillemot, Fabien. "Recent advances in the design of titanium alloys for orthopedic applications." Expert review of medical devices vol. 2,6 (2005): 741-8. doi:10.1586/17434440.2.6.741
13. Abd-Elaziem, Walaa & Darwish, Mostafa & Hamada, Atef & Daoush, Walid. (2024). Titanium-Based alloys and composites for orthopedic implants Applications: A comprehensive review. Materials & Design. 241. 10.1016/j.matdes.2024.112850.
14. Niinomi M. Mechanical biocompatibilities of titanium alloys for biomedical applications. J Mech Behav Biomed Mater. 2008 Jan;1(1):30-42.
15. Li, Jingling et al. "Surface-modified titanium and titanium-based alloys for improved osteogenesis: A critical review." Heliyon vol. 10,1 e23779. 18 Dec. 2023,
16. Jia B, Zhang Z, Zhuang Y, Yang H, Han Y, Wu Q, Jia X, Yin Y, Qu X, Zheng Y, Dai K. High-strength biodegradable zinc alloy implants with antibacterial and osteogenic properties for the treatment of MRSA-induced rat osteomyelitis. Biomaterials. 2022 Aug;287:121663. doi: 10.1016/j.biomaterials.2022.121663. Epub 2022 Jul 5. PMID: 35810539.
17. Niinomi, M. (2002). Recent research and development in titanium alloys for biomedical applications and healthcare goods. Science and Technology of Advanced Materials, 4(5), 445-454.
18. Aguilera-Correa, J. J., Conde, A., Arenas, M. A., de-Damborenea, J. J., Marin, M., Doadrio, A. L., et al. (2017). Bactericidal activity of the Ti-13Nb-13Zr alloy against different species of bacteria related with implant infection. Biomed. Mat. 12 (4), 045022. doi:10.1088/1748-605X/aa770c
19. Klinge L, Kluy L, Spiegel C, Siemers C, Groche P, Coraça-Huber D. Nanostructured Ti-13Nb-13Zr alloy for implant application-material scientific, technological, and biological aspects. Front Bioeng Biotechnol. 2023 Aug 24;11:1255947.
20. Le Guéhennec, L et al. "Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration." Dental materials: official publication of the Academy of Dental Materials vol. 23,7 (2007): 844-54.
21. Bandyopadhyay A, Mitra I, Goodman SB, Kumar M, Bose S. Improving Biocompatibility for Next Generation of Metallic Implants. Prog Mater Sci. 2023 Mar;133:101053.
22. Robinson, D.A.; Griffith, R.W.; Shechtman, D.; Evans, R.B.; Conzemius, M.G. *In vitro* antibacterial properties of magnesium metal against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. Acta Biomater. 2010, 6, 1869–1877. [CrossRef]
23. Song Q, Yang L, Yi F, Chen C, Guo J, Qi Z, Song Y. Antibacterial Pure Magnesium and Magnesium Alloys for Biomedical Materials—A Review. Crystals. 2024; 14(11):939.
24. Mishra, T. N., Kumar, A., & Prasad, S. B. (2024). Magnesium based implants: Alloying and coating strategies for improvement in its biomechanical and biocorrosion properties. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part L: Journal of Materials: Design and Applications.
25. Behmanesh, S., Chow, K., Dondani, J., Al-Hashedi, A. A., & Tamimi, F. (2024). Effectiveness of 2D magnesium phosphate hydrogel for surgical decontamination of dental implants: A case series. Journal of Prosthodontics.
26. Yang, X.-Y., Sun, S., Huang, X., Ge, J., Han, Z., Huang, C., Wang, Y., & Cheng, L. (2024). Magnesium implants with alternating magnetic field-enhanced hydrogen release and proton depletion for anti-infection treatment and tissue repair. Bioactive Materials.
27. Qian, Y., Wang, X., Wang, P., Jin, W., Shen, Y., Cai, K., Bai, J., Lu, M., & Tang, C. (2024). Biodegradable implant of magnesium/polylactic acid composite with enhanced antibacterial and anti-inflammatory properties. Journal of Biomaterials Applications.
28. Ning C, Wang X, Li L, Zhu Y, Li M, Yu P, Zhou L, Zhou Z, Chen J, Tan G, Zhang Y, Wang Y, Mao C. Concentration ranges of antibacterial cations for showing the highest antibacterial efficacy but the least cytotoxicity against mammalian cells: implications for a new antibacterial mechanism. Chem Res Toxicol. 2015 Sep 21;28(9):1815-22.
29. Ye, Q., Chen, W., Huang, H., Tang, Y., Wang, W., Meng, F., et al. (2020). Iron and Zinc Ions, Potent Weapons Against Multidrug-Resistant Bacteria. Appl. Microbiol. Biotechnol. 104 (12), 5213–5227.
30. Jia B, Zhang Z, Zhuang Y, Yang H, Han Y, Wu Q, Jia X, Yin Y, Qu X, Zheng Y, Dai K. High-strength biodegradable zinc alloy implants with antibacterial and osteogenic properties for the treatment of MRSA-induced rat osteomyelitis. Biomaterials. 2022 Aug;287:121663.
31. Zhang, E., and Liu, C. (2016). A New Antibacterial Co-Cr-Mo-Cu Alloy: Preparation, Biocorrosion, Mechanical and Antibacterial Property. Mater Sci.Eng. C Mater Biol. Appl. 69, 134–143.
32. Jiang, F., Zhu, W., Zhao, C., Li, Y., Wei, P., Wan, T., et al. (2019). A Strong, Wear-and Corrosion-Resistant, and Antibacterial Co–30 at.% Cr–5 at.% Ag Ternary Alloy for Medical Implants. Materials Design 184, 108190.
33. Lohberger B, Stuendl N, Glaenzer D, Rinner B, Donohue N, Lichtenegger HC, Ploszczanski L, Leithner A. CoCrMo surface modifications affect biocompatibility, adhesion, and inflammation in human osteoblasts. Sci Rep. 2020 Feb 3;10(1):1682.
34. Cheng F, Peng G, Lu Y, Wang K, Ju Q, Ju Y, Ouyang M. Relationship between copper and immunity: The potential role of copper in tumor immunity. Front Oncol. 2022 Nov 7;12:1019153.
35. Squitti R, Ventriglia M, Simonelli I, Bonvicini C, Costa A, Perini G, Binetti G, Benussi L, Ghidoni R, Koch G, Borroni B, Albanese A, Sensi SL, Rongioletti M. Copper Imbalance in Alzheimer's Disease: Meta-Analysis of Serum, Plasma, and Brain Specimens, and Replication Study Evaluating ATP7B Gene Variants. Biomolecules. 2021 Jun 29;11(7):960.
36. Arregui, M.; Latour, F.; Gil, F.J.; Pérez, R.A.; Giner-Tarrida, L.; Delgado, L.M. Ion Release from Dental Implants, Prosthetic Abutments and Crowns under Physiological and Acidic Conditions. Coatings 2021, 11, 98.
37. Park CH, Lee CS, Kim YJ, Jang JH, Suh JY, Park JW. Improved pre-osteoblast response and mechanical compatibility of ultrafine-grained Ti-13Nb-13Zr alloy. Clin Oral Implants Res. 2011 Jul;22(7):735-742.
38. Cao Y, Su B, Chinnaraj S, Jana S, Bowen L, Charlton S, Duan P, Jakubovics NS, Chen J. Nanostructured titanium surfaces exhibit recalcitrance towards *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation. Sci Rep. 2018 Jan 18;8(1):1071
39. Ahmed OB, Alamro T. Evaluation of the antibacterial activities of face masks coated with titanium dioxide nanoparticles. Sci Rep. 2022 Nov 4;12(1):18739.
40. Klinge, L., Siemers, C., Kluy, L. et al. Nanostructured Ti–13Nb–13Zr for dental implant applications produced by severe plastic deformation. Journal of Materials Research 37, 2581–2588 (2022).
41. Kluy, L., Klinge, L., Spiegel, C., Siemers, C., & Groche, P. (2024). Design of thermomechanical processes for tailored microstructures: Methodology and application to nanocrystalline titanium alloy Ti-13Nb-13Zr (NanoTNZ). Manufacturing Letters, 41(Supplement), 421–428.

Autores: Mojieb Manzary, Gustavo Garcia, Hesham Abdelbary, Hernando Gaitan-Lee

Autor de Correspondencia
Mojieb Manzary, MD, FRCSC
Johns Hopkins University
John Hopkins Aramco Health Care Center
Dhahran, Saudi Arabia
Email: mojieb@gmail.com

PREGUNTA 22. ¿Existen métodos para detectar biofilms *in vivo*?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: No. Actualmente no existen métodos eficaces de detección de biofilms *in vivo* disponibles para la práctica clínica. En este momento, existen métodos novedosos en desarrollo o en fase experimental.

NIVEL DE EVIDENCIA: Moderado.

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 100 %, En desacuerdo 0 %, Abstención 0 % (Consenso Total).

JUSTIFICACIÓN

El diagnóstico de la infección periprotésica de la articulación (IPA) se basa en la identificación de los microorganismos responsables, que suelen estar protegidos dentro de la matriz del biofilm. La formación de biofilm en las superficies es una estrategia defensiva intrínseca que utilizan las bacterias para sobrevivir y protegerse de las agresiones ambientales, como la respuesta inmunitaria del huésped y los antibióticos [3]. Por lo tanto, el desarrollo de métodos fiables que puedan detectar y caracterizar el biofilm *in vivo* es esencial para orientar el tratamiento de la IPA [1]. Sigue existiendo una laguna de conocimiento en la traducción de la patogénesis de la formación de biofilms en la IPA con los signos y síntomas clínicos de la infección, como el dolor, la pérdida de función, el aflojamiento del implante, la fiebre y el eritema. Existen pruebas sólidas que respaldan la idea de que la formación de biofilms plantea numerosos retos en el tratamiento de la IPA, ya que contribuye a la infección con cultivos negativos, a una respuesta subterapéutica a los antibióticos y al fracaso general del tratamiento [2].

Muchos microbios en sus hábitats naturales se encuentran en ecosistemas de biofilms adheridos a superficies, y no como organismos flotantes (planctónicos). Además, se estima que casi el 80 % de las infecciones humanas están asociadas a biofilms. Los biofilms se definen generalmente como comunidades microbianas tridimensionales y estructuradas que se adhieren a una superficie y están recubiertas por una matriz de material exopolimérico [4].

El conocimiento actual sobre la estructura y composición de los biofilms proviene de numerosos estudios preclínicos que han analizado los biofilms en diversas condiciones y en diferentes tipos de superficies orgánicas e inorgánicas. Sin embargo, en la actualidad no existen métodos estándar de detección de biofilms disponibles para la práctica clínica. Por lo tanto, es necesario desarrollar métodos clínicos que puedan detectar de forma fiable la formación de biofilms para ayudar al diagnóstico preciso de la IPA. En las infecciones por biofilms asociadas a implantes ortopédicos, por ejemplo, los métodos de detección actuales se basan en imágenes no específicas de rayos X o de imágenes de glóbulos blancos marcados con radioisótopos, junto con muestras de tejido o líquido periprotésico tomadas de forma invasiva y que deben ser cultivadas [9].

El método estándar más ampliamente aceptado para detectar e identificar el microorganismo causante es el cultivo de muestras obtenidas del paciente, pero este método a menudo no logra detectar las bacterias encapsuladas en el biofilm debido a su naturaleza resistente. Estos métodos suelen tener una baja sensibilidad y especificidad cuando hay biofilm, lo que hace que los médicos pasen por alto la infección subyacente. Además, los biofilms pueden producir variantes de colonias pequeñas y células inactivas que son particularmente difíciles de detectar y que pueden no crecer en condiciones de cultivo estándar [5].

A pesar de la correcta aplicación de técnicas especiales de cultivo para el diagnóstico, como el procesamiento de muestras de tejido, el tiempo de incubación prolongado o la sonicación de los implantes extraídos, un número considerable de infecciones óseas y articulares (IOA) son negativas en el cultivo o se confunden con un fallo aséptico. La interpretación errónea puede dar lugar a un tratamiento antimicrobiano incorrecto o innecesario, o incluso a una cirugía innecesaria [8].

¿Cuáles son los métodos más utilizados para detectar biofilms *in vivo*?

1. Tinción con colorantes específicos

Se utilizan colorantes como el cristal violeta o el rojo safranina, que pueden adsorberse a el biofilm y permitir su visualización con un microscopio óptico.

2. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Proporciona imágenes detalladas del biofilm y la superficie de la prótesis, lo que permite observar la estructura tridimensional del biofilm.

3. Métodos moleculares

Se han descrito técnicas sin cultivo basadas en la amplificación de ácidos nucleicos, la secuenciación y métodos de espectrometría de masas. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica utilizada con frecuencia en la mayoría de los laboratorios de microbiología para la detección de un fragmento de ácido nucleico mediante la amplificación de una secuencia. La PCR puede ayudar a identificar la presencia de microorganismos formadores de biofilms.

3.1. PCR de amplio espectro

El valor de la PCR de amplio espectro se ha estudiado ampliamente en el diagnóstico de infecciones óseas y articulares, pero la extracción de ADN patógeno de huesos, tejidos articulares o implantes sigue siendo un reto. La ruptura del biofilm es un paso esencial para liberar el ADN y mejorar la sensibilidad de la PCR bacteriana de amplio espectro. Los patógenos pueden identificarse incluso si se desconoce el género o la especie utilizando cebadores universales para amplificar el ADN bacteriano o fúngico, seguido de la identificación de la especie mediante secuenciación, una técnica que también se denomina PCR universal. Este método se aplica en cepas aisladas o se utiliza directamente a partir de muestras clínicas, en las que la detección e identificación del patógeno mediante técnicas convencionales sigue siendo difícil o imposible [8].

La PCR de amplio espectro consta de dos pasos: la amplificación del ADN bacteriano o fúngico dentro de la muestra y la secuenciación posterior del fragmento de PCR para la identificación del microorganismo. Las regiones del genoma que se utilizan deben cumplir unas características fundamentales. En primer lugar, deben estar presentes en todas las especies bacterianas o fúngicas; en segundo lugar, deben contener secuencias altamente conservadas a las que se dirigen los cebadores; y, por último, deben incluir secuencias polimórficas, con el fin de distinguir diferentes especies. Tras amplificar y secuenciar el fragmento, la secuencia obtenida se compara en bases de datos públicas como NCBI GenBank. Para la alineación de secuencias, existen programas como BLAST, que permiten la comparación de secuencias en línea. En las bacterias, la identificación de especies a nivel molecular se basa en el análisis de la secuencia del gen 16S rRNA.

La PCR de amplio espectro permite la identificación de microorganismos que antes no se creía que causaran infecciones, a pesar de ser menos sensible que la PCR dirigida o multiplex. Las principales desventajas de la PCR de amplio espectro son la falta de sensibilidad, los resultados falsos positivos derivados de la contaminación, la necesidad de secuenciación posterior y el reto que supone la interpretación de los resultados. Durante un estudio prospectivo multicéntrico transversal, Bemer et al. [10] demostraron una sensibilidad de solo el 73,3 % en el diagnóstico de infecciones de prótesis articulares (IPA). Aunque se han desarrollado nuevos ensayos de PCR, la sensibilidad de la PCR para el diagnóstico de IPA es variable en diferentes estudios, mientras que su especificidad es fiablemente alta, lo que facilita la exclusión de IPA [11].

3.2. PCR dirigida

La PCR dirigida o específica puede desarrollarse para cualquier microorganismo conocido y puede diseñarse para que sea extremadamente sensible. El análisis se realiza normalmente en tiempo real, ya que el proceso de amplificación y la detección se producen simultáneamente en el mismo vial cerrado. Además, es posible medir la cantidad de ADN sintetizado en cada momento durante la amplificación, ya que la emisión de fluorescencia producida en la reacción es proporcional a la cantidad de ADN formado. Diferentes empresas han desarrollado una PCR automatizada, fácil de usar, rápida y precisa para la identificación en tiempo real del *Staphylococcus aureus*, que puede combinarse con la búsqueda de resistencia a la meticilina (gen mecA y/o mecC) para optimizar el manejo y el tratamiento adecuado del paciente, especialmente en casos de artritis séptica aguda.

3.3. PCR multiplex

La PCR multiplex es una técnica en la que intervienen más de dos conjuntos de cebadores en el proceso de amplificación de varias secuencias diana, lo que permite la detección e identificación simultánea de diferentes genes. La principal ventaja de estos sistemas es la capacidad de agrupar en un único proceso diferentes PCR dirigidas, lo que simplifica el proceso, ahorra tiempo y costes, y acorta el tiempo de diagnóstico. En un metaanálisis reciente, se ha demostrado que la PCR multiplex a partir del líquido de sonicación de implantes protésicos es fiable y de gran valor para el diagnóstico de las Infecciones Óseas y Articulares (BJI). Varios grupos han investigado diferentes paneles de PCR multiplex. Sin embargo, estas pruebas se han desarrollado principalmente para las infecciones del torrente sanguíneo. Por lo tanto, su uso para el diagnóstico rápido de las BJI no está indicado en la ficha técnica. [12-13]

3.4 Enfoque de secuenciación de nueva generación

La llegada de las tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS), incluida la secuenciación de amplicones de ARN ribosómico 16S, la metagenómica shotgun y la metatranscriptómica, está revolucionando la detección de patógenos. La PCR multiplex y la secuenciación del ARN ribosómico 16S han demostrado una mayor sensibilidad en comparación con los cultivos tradicionales [12], aunque la dependencia de la PCR de cebadores específicos limita su alcance. La NGS puede detectar una amplia gama de organismos, incluidos los no cultivables y no viables, presentes en una articulación, una biopsia ósea o un tejido en contacto con el dispositivo. Esto es posible gracias a la NGS metagenómica, que proporciona datos genómicos detallados, y a la NGS metatranscriptómica, que ofrece información sobre las infecciones activas [9-13]. Sin embargo, el principal reto es la posible contaminación por ADN microbiano, que puede producirse durante el muestreo, en relación con los reactivos, debido a la contaminación de las superficies de los instrumentos o en el entorno. Por lo tanto, la interpretación de los resultados requiere criterios estrictos junto con conocimientos clínicos para detectar microorganismos exigentes y descartar contaminantes.

Sin embargo, también existe el riesgo de resultados falsos positivos, especialmente con *Cutibacterium acnes*, una bacteria del microbioma de la piel, o con bacterias ambientales relacionadas con el agua. Además, pueden producirse resultados falsos negativos, debido a la limitada base de datos. Por lo tanto, lo ideal es que cada caso se discuta en un equipo multidisciplinar. El recuento de lecturas y la profundidad de la cobertura del genoma son importantes para distinguir los microorganismos potenciales no cultivados detectados de los controles negativos de casos no infectados. Esto constituye un reto importante, y las lecturas de fondo deben analizarse cuidadosamente para determinar su relevancia.

A pesar de la falta de un estándar generalmente reconocido en todos los estudios analizados con tecnología NGS en BJI, parece importante definir un umbral en función de las lecturas detectadas. Además, para limitar este sesgo entre los patógenos y el ADN microbiano contaminante, sigue siendo crucial un enriquecimiento microbiano eficaz y el aislamiento del ADN para permitir un mejor análisis de las muestras. Por lo tanto, el uso de un protocolo estricto y una interpretación prudente nos permite reconocer correctamente los contaminantes.

El enfoque NGS será una prueba diagnóstica adicional cuando las pruebas estándar no sean informativas. Sin embargo, en un futuro próximo, NGS seguirá estando limitado a laboratorios especializados, donde se dispone de una plataforma de secuenciación y un canal bioinformático, y los que trabajadores del laboratorio tengan la capacidad necesaria; los costes de esta tecnología disminuirán, lo que permitirá un uso más amplio del enfoque NGS.

4. Microscopía de fluorescencia

Los colorantes fluorescentes o las técnicas de inmunofluorescencia resaltan el biofilm, lo que facilita su observación mediante microscopía de fluorescencia. A continuación, se resume el estado actual de las tecnologías de imagen por bioluminiscencia y fluorescencia (BLI y FLI) aplicadas a las infecciones asociadas a biomateriales (BAI). La BLI ofrece la oportunidad de observar el curso *in vivo* de las BAI en animales pequeños sin necesidad de sacrificarlos en diferentes momentos tras el inicio de la infección. La BLI depende en gran medida del metabolismo celular bacteriano, lo que la convierte en un potente indicador de la presencia de bacterias viables. Las fuentes fluorescentes son generalmente más estables que las bioluminiscentes y están específicamente dirigidas, lo que hace que la combinación de BLI y FLI sea una herramienta prometedora para la obtención de imágenes de BAI. La sensibilidad y la resolución espacial de ambas herramientas de imagen dependen del sistema de imagen utilizado y de las características del tejido, lo que dificulta la interpretación de las imágenes en términos de la ubicación y la forma de la fuente luminosa. La reconstrucción tomográfica de la fuente luminiscente es posible en los instrumentos más modernos, lo que permite la localización exacta del

material del implante colonizado, la propagación de los organismos infectantes en el tejido circundante y las reacciones inmunológicas del tejido [14].

La imagenología por bioluminiscencia (BLI) es una herramienta valiosa para el monitoreo longitudinal de la formación de biofilms fúngicas y el tratamiento antifúngico en modelos de animales pequeños. Aunque detectar una señal BLI cuantificable de los biofilms dentro de los catéteres implantados es un reto, la BLI es un método práctico para estudiar los biofilms fúngicas. La BLI puede utilizarse para estudios *in vitro* e *in vivo* de la formación de biofilms relacionadas con dispositivos por *C. albicans* y *C. glabrata*, así como para probar la actividad antifúngica contra estas biofilms [15].

La imagen por bioluminiscencia puede detectar biofilms de *Staphylococcus aureus* en prótesis vasculares *in vivo*. Las prótesis recubiertas de plata mostraron el menor número de bacterias viables, lo que indica una resistencia bacteriana superior. Las prótesis de politetrafluoroetileno y poliéster presentaban niveles similares de densidad bacteriana, con una ligera ventaja no significativa para el politetrafluoroetileno. La imagen por bioluminiscencia fue más precisa que el recuento bacteriano estándar para detectar el número de bacterias *S. aureus* viables en el biofilm [16].

5. Otros métodos

La tomografía de coherencia óptica (OCT) puede detectar y diferenciar los biofilms de los tubos endotraqueales en pacientes intubados en cuidados intensivos. La OCT 3D basada en catéteres se puede utilizar para detectar y monitorizar la formación de biofilms en los tubos endotraqueales (ETT) de pacientes intubados en cuidados intensivos *in vivo*. Las imágenes del coeficiente de atenuación derivadas de la OCT pueden diferenciar entre la mucosidad y el biofilm en los ETT. Los resultados del análisis de las imágenes de la OCT y del coeficiente de atenuación se correlacionaron con la microscopía y los datos clínicos para verificar la presencia de bacterias y biofilm [17].

Un dispositivo de imagen por fluorescencia en el punto de atención puede detectar biofilms bacterianas *in vivo* mediante la detección de bacterias productoras de porfirina dentro del biofilm. La fluorescencia roja detectada no se debía a la respuesta inmunitaria del huésped, sino a las porfirinas producidas por las bacterias. Las bacterias dentro de los biofilms eran capaces de absorber ALA del entorno circundante y producir porfirinas, lo que daba lugar a la fluorescencia roja observada [18].

También se han desarrollado sondas basadas en péptidos para el diagnóstico por imagen *in vivo* de infecciones asociadas a biofilms bacterianas. Se ha identificado una sonda peptídica, 4Iphf-HN17, capaz de marcar de forma específica y rápida los biofilms bacterianas sin matar las bacterias. La sonda 4Iphf-HN17 fue capaz de acumularse en heridas infectadas con biofilms en modelos animales, lo que indica su potencial para el diagnóstico por imagen *in vivo* de infecciones por biofilms bacterianas [9].

Se ha desarrollado un método para la monitorización continua y en tiempo real de las infecciones por biofilms en un modelo murino utilizando bacterias bioluminiscentes. Esto proporciona un método rápido y continuo para monitorizar las infecciones por biofilms tanto *in vitro* como

en un modelo murino utilizando bacterias bioluminiscentes en catéteres de teflón. Se utilizaron *S. aureus* y *P. aeruginosa* bioluminiscentes para evaluar eficazmente el estado fisiológico de los biofilms en tiempo real. El modelo murino con catéteres implantados subcutáneamente dio lugar a una infección localizada reproducible que persistió durante al menos 20 días [19].

La microscopía confocal de barrido láser (CLSM) es un método para detectar y analizar biofilms orales humanas *in vivo*. Se pueden utilizar diferentes tipos de aparatos y sustratos orales, y también se pueden aplicar diversos métodos microbiológicos y microscópicos en combinación con la CLSM. Esto introduce una nueva técnica microscópica, la endomicroscopía confocal, y analiza su potencial para la investigación microscópica *in vivo* en el campo de la odontología. [20]

Los perros entrenados con muestras *in vitro* de *S. aureus* pueden identificar el perfil constante de COV de las infecciones por biofilms de *S. aureus* en las infecciones de prótesis articulares, lo que abre nuevas vías para futuras investigaciones. Estos avances podrían revolucionar el diagnóstico y el tratamiento de las enfermedades infecciosas, lo que podría conducir a mejores resultados para los pacientes y, tal vez, abordar indirectamente el desafío mundial de la resistencia a los antimicrobianos. [21]

Microfluídica

Existe una nueva forma de análisis de pequeños volúmenes de líquido sinovial en dispositivos de chip capaces de detectar patógenos asociados a biofilms. Estas plataformas microfluídicas son capaces de detectar marcadores específicos de biofilms, como polisacáridos extracelulares o ADN microbiano, en tiempo real con alta sensibilidad y especificidad, lo que las convierte en una herramienta potencialmente valiosa en entornos clínicos [22]

En conclusión, los biofilms plantean importantes retos diagnósticos en el contexto de las infecciones del implante protésico, y se están realizando diversos esfuerzos para identificar nuevos *Candida*tos para la prevención y el tratamiento de las bacterias que forman biofilms. Los agentes químicos, junto con los métodos basados en la nanotecnología, se han mostrado prometedores en la actividad antibiofilm. No obstante, actualmente no existen métodos de detección de biofilms *in vivo* disponibles para la práctica clínica.

REFERENCIAS

1.Tak LJ, Shin MK; Yoo JI; Cho MC; Kim W: Development of droplet digital PCRbased detection of bacterial pathogens in prosthetic joint infection: a preliminary study using a synthesized model plasmid. Front Cell Infect Microbiol 2023;13: 1301446

2. Stoodley P; Kathju S; Hu FZ; Erdos G; Levenson JE; Mehta N; Dice B; Johnson S; Hall-Stoodley L; Nistico L; Sotereanos N; Sewecke J; Post JC; Ehrlich GD: Molecular and imaging techniques for bacterial biofilms in joint arthroplasty infections.Clin Orthop Relat Res Aug 2005;(437):31-40

3. Giarritiello F; Romanò CL; Lob G; Benevenia J; Tsuchiya H; Zappia E; Drago L: Enhancing Pathogen Detection in Implant-Related Infections through Chemical Antibiofilm Strategies: A Comprehensive Review. Antibiotics (basel) Jul 2024;13(7)

4. Cheng T; Torres NS; Chen P; Srinivasan A; Cardona S; Lee GC; Leung KP; LopezRibot JL; Ramasubramanian AK: A Facile High-Throughput Model of SurfaceIndependent *Staphylococcus aureus* Biofilms by Spontaneous Aggregation. mSphere Apr 2021;6(2)

5. Ronin D; Boyer J; Alban N; Natoli RM; Johnson A; Kiellerup BV: Current and novel diagnostics for orthopedic implant biofilm infections: a review.APMIS Feb 2022;130(2):59-81

6. Donlan RM: New approaches for the characterization of prosthetic joint biofilms. Clin Orthop Relat Res Aug 2005;(437):12-9

7. McDowell A; Patrick S: Evaluation of nonculture methods for the detection of prosthetic hip biofilms. Clin Orthop Relat Res Aug 2005;(437):74-82

8. Portillo ME; Corvec S:Identification of Pathogens in Bone and Joint Infections by Non-Culture Techniques. Zimmerli, Ed, Bone and Joint Infections: From Microbiology to Diagnostics and Treatment 2da ed, 51-64. 2021 John Wiley & Sons Ltd.

9. Locke LW; Shankaran K; Gong L; Stoodley P; Vozar SL; Cole SL; Tweedle MF; Wozniak DJ: Evaluation of Peptide-Based Probes toward *In vivo* Diagnostic Imaging of Bacterial Biofilm-Associated Infections. ACS Infect Dis Aug 2020;6(8):2086-2098

10. Bemer P, Plouzeau C, Tande D, et al. Evaluation of 16S rDNA PCR sensitivity and specificity for diagnosis of prosthetic-joint infection: a prospective multicenter cross-sectional study. J Clin Microbiol 2014; 52:3583–3589.

11. Kommedal Kvello K kj stad R et al. Direct 16 rRN gene sequencing from clinical specimens, with special focus on polybacterial samples and interpretation of mixed DNA chro- matograms. J Clin Microbiol 2009; 47:3562–3568.

12. Lallemand E Coiffier G rvieux C et al. M LDI-TOF M performance compared to direct examination, culture, and 16S rDNA PCR for the rapid diagnosis of bone and joint infections. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2016; 35:857–866.

13. 13.Pai AB; McGuire MD; Davidge KN; Dean MC; Costello GM; Souza E; Mukherjee S; Heung M; Yevzlin AS; Yessayan LT: Lipoteichoic Acid as a Potential Noninvasive Biomarker of Biofilm in Dialysis Access. J ASAIO J Aug 2020;66(8):960-965

14. Sjollema J; Sharma PK; Dijkstra RJ; van Dam GM; van der Mei HC; Engelsman AF; Busscher HJ: The potential for bio-optical imaging of biomaterial-associated infection *in vivo*. Biomaterials Mar 2010;31(8):1984-95

15. K Van Dyck, P Van Dijck, G Vande Velde: Bioluminescence Imaging to Study Mature Biofilm Formation by *Candida spp.* and Antifungal Activity *In vitro* and *In vivo*. Methods in molecular biology 2019

16. Lorenz; T. chafer; K. Ohlsen ;G.C. Tiurbe; C. Buhler; C.-T. Germer; R. Kellersmann:*In vivo* Detection of *Staphylococcus aureus* in Biofilm on Vascular Prostheses Using Non-invasive Biophotonic Imaging. Eur J Vasc Endovasc Surg (2011) 41, 68e75

17. R Dsouza, DR Spillman Jr, R Barkalifa, GL Monroy, EJ Chaney, KC White, *In vivo* detection of endotracheal tube biofilms in intubated critical care patients using catheter-based optical coherence tomography. J. Biophotonics. 2019;12:e201800307.

18. AJ Lopez, LM Jones, Reynolds, RC Diaz, IK George, W Little, D Fleming, A D'souza, MY Rennie, K P Rumbaugh, A C Smith:Detection of bacterial fluorescence from *in vivo* wound biofilms using a point- of-care fluorescence imaging device. Int Wound J. 2021; 18:626–638.

19. L. Kadurugamuwa, LV Sin, J Yu, K P. Francis, R Kimura, T Purchio, PR Contag, Rapid Direct Method for Monitoring Antibiotics in a Mouse Model of Bacterial Biofilm Infection. Infection and Immunity October 2003 Vol 47 Issue10; 31303137

20. I Tomás, B Henderson, P Diz, N Donos - *In vivo* oral biofilm analysis by confocal laser scanning microscopy: methodological approaches. Microscopy Science, technology 2010.

21. MT Ramos, G Chang, C Wilson, J Gilbertie, J Krieg, J Parvizi, A F. Chen, C M. Otto and TP Schaer : Dogs can detect an odor profile associated with *Staphylococcus aureus* biofilms in cultures and biological samples. Frontier in Allergy Feb 2024, 1-14

22. Guliy OI, Evstigneeva SS, Bunin VD. Microfluidic bioanalytical system for biofilm formation indication. Talanta. 2022;247:123541.

Autores: Débora C. Coraça-Huber, Masood Umer, Hiroaki Kimura, Hiroyuki Tsuchiya, Koichi Ogura, Bryan D. Springer, Hyonmin Choe

Autor de Correspondencia
Ass. Prof. Dr. Débora C. Coraça-Huber
University Hospital for Orthopedics and Traumatology
BIOFILM LAB
Medical University Innsbruck, Austria
Email: debora.coraca-huber@i-med.ac.at

PREGUNTA 23. ¿Son los biofilms cancerígenas o están asociadas con tumores óseos?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: Sí. Las pruebas sugieren un posible papel de los biofilms en la carcinogénesis, incluidos los tumores óseos, que puede producirse a través de la alteración de la microbiota.

NIVEL DE EVIDENCIA: Moderado

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 81%, En desacuerdo 2 %, Abstención 17 % (Consenso Fuerte).

JUSTIFICACIÓN

Se llevó a cabo una estrategia de búsqueda exhaustiva en PubMed y Medline Embase desde su creación hasta noviembre de 2024 utilizando los términos MESH adecuados, desarrollados por los bibliotecarios. Los resultados de la búsqueda arrojaron 570 publicaciones en inglés. Dos de los coautores revisaron los títulos y resúmenes y puntuaron la inclusión o exclusión, y los resultados discrepantes fueron evaluados por una tercera persona. Se incluyeron y revisaron en detalle trece artículos completos. Un autor preparó el borrador del manuscrito y lo compartió con otros autores para que lo comentaran y editaran. A continuación, se presentan los resultados de la revisión sistemática. Cada vez hay más pruebas de que los biofilms bacterianas desempeñan un papel importante en el desarrollo de diversas enfermedades humanas, incluido el cáncer. Para facilitar su supervivencia, los biofilms inducen reacciones inmunológicas y cambios metabólicos en el huésped, lo que puede facilitar la expresión de oncogenes y la progresión del cáncer [1].

Los biofilms pueden promover el cáncer por diferentes mecanismos [1]. Los biofilms pueden desencadenar una inflamación que normalmente no logra eliminar los patógenos asociados a ellas; la inflamación persistente puede causar daños en el ADN y promover el crecimiento de células cancerosas [2]. Los biofilms pueden afectar a la eficacia de la respuesta inmunitaria del huésped [3], creando un entorno propicio para el desarrollo del cáncer [4]. Algunas bacterias de los biofilms pueden producir toxinas que actúan como carcinógenos [5]. Las bacterias de los biofilms pueden interferir en el metabolismo de los tejidos del huésped [1]. Las bacterias del microambiente tumoral, denominadas microbioma tumoral, intervienen en la progresión del cáncer [1,6,7]. Si bien algunas bacterias y sus biofilms actúan principalmente como promotoras del cáncer, cada vez hay más pruebas de que un microbioma intestinal sano y sus metabolitos pueden tener un efecto antitumoral. Por otro lado, se ha planteado la hipótesis de que un intestino disbiótico puede ser la fuente del microbioma intratumoral en diferentes lugares [8]. El microbioma intestinal sano podría viajar desde el tracto intestinal a otros órganos a través del torrente sanguíneo y nutrir diferentes órganos como la mama, el páncreas, los pulmones y los riñones, entre otros. Por lo tanto, un intestino disbiótico podría transportar microorganismos patológicos al torrente sanguíneo y, por lo tanto, contribuir a la carcinogénesis y constituir el microbioma tumoral en un sitio particular [1, 9-11].

Los cánceres de colon y colorrectales (CCR) son los tipos de cáncer más investigados en términos de implicación del biofilm y su carcinogénesis relacionada [12-19]. Dejea et al describen que los biofilms del cáncer colorrectal suelen detectarse tanto en tumores como en tejidos normales emparejados. En su estudio, el tejido normal emparejado reveló cambios biológicos relevantes para la transformación oncogénica. Además, se identificó mucosa cubierta por biofilm en un subgrupo (~10-20 %) de individuos sanos sometidos a colonoscopias de cribado rutinarias que presentaban cambios epiteliales como la pérdida de E-cadherina de la zonula adherens apical, aumento de IL-6 en la mucosa y aumento de la proliferación de células criptales [12,14,20]. Li y sus colegas añadieron que la iniciación del CCR se desencadena por la colonización local de la mucosa con patógenos específicos (impulsores) y que los cambios posteriores en el entorno peritumoral permiten la colonización por microbios oportunistas (pasajeros), lo que facilita aún más la progresión de la enfermedad [13]. Tomkovich et al investigaron la carcinogénesis de los biofilms en el CCR en modelos murinos [20]. Sugirieron que los biofilms de la mucosa del colon humano, ya sean de huéspedes tumorales o de individuos sanos sometidos a colonoscopia de cribado, son carcinógenas en modelos murinos de CCR. Esta carcinogénesis relacionada con los biofilms puede iniciarse a través de cambios celulares crónicos por toxinas [16,17]. Las pruebas acumuladas de

estudios en animales y humanos apuntan a que la disbiosis de la microbiota intestinal es un factor clave en la patogénesis del CCR. Se necesitan más estudios que evalúen la combinación de sustancias antimicrobianas y anticancerígenas en la quimioprevención del CCR [18].

Kadam y sus colegas describen los cambios en el microbioma oral en el cáncer oral asociado al tabaco [21]. En el contexto de la carcinogénesis oral, entre los patógenos más destacados se encuentran Fusobacterium nucleatum, Porphyromonas gingivalis, especies de *Candida* y Helicobacter pylori [22]; [23]. Los autores describen que el consumo de tabaco altera la estructura del microbioma oral, incluida la de las lesiones potencialmente malignas. También descubrieron que los microbiomas orales alterados influyen en cambios clave del microambiente, como la inflamación crónica, la secreción de toxinas carcinógenas, la remodelación celular y tisular y la supresión de la apoptosis. Teniendo esto en cuenta, está claro que los biofilms bacterianas y fúngicas en estados potencialmente malignos probablemente no sean entidades pasivas y podrían desempeñar un papel fundamental en la configuración de condiciones potencialmente malignas y carcinógenas [21]. Estudios recientes han demostrado que la microbiota oral también desempeña un papel importante en la iniciación y progresión del cáncer de esófago (CE), lo que sugiere que la microbiota oral es un nuevo factor de riesgo para el CE [24]. Los resultados mostraron que la composición de los microbios que habitan en la cavidad oral podría verse alterada por factores continuos como el tabaquismo, el consumo de alcohol y la inflamación. También se han investigado los biofilms que provocan cánceres gastrointestinales, en particular en la vesícula biliar. Durante las últimas décadas, numerosas pruebas han respaldado que la microbiota intestinal desempeña un papel fundamental en la promoción de la progresión del cáncer de vesícula biliar (CVB) [25]. En un subgrupo de individuos, la *Salmonella Typhi* coloniza la vesícula biliar causando una infección crónica asintomática. Los estudios epidemiológicos realizados en regiones donde la *S. Typhi* es endémica revelaron que la mayoría de los portadores infectados de forma crónica también albergan cálculos biliares, lo que a su vez se ha indicado como un factor predisponente primario para la aparición del GBC. Actualmente se reconoce que la *S. Typhi* produce una toxina tifoidea con potencial carcinogénico, que induce daños en el ADN y alteraciones en el ciclo celular de las células intoxicadas [26]. Nadler y sus colegas sugieren que el biofilm se produce en el tejido canceroso urotelial, lo que indica una asociación entre la formación de biofilm y el cáncer de vejiga. En urología, está ampliamente aceptado el desarrollo de carcinoma de células escamosas de vejiga debido a la infección parasitaria por Schistosoma Mansoni. Escherichia coli también es responsable del 80 % de todas las infecciones del tracto urinario. Hallazgos recientes sugieren una alteración del microbioma urinario en pacientes con cáncer de vejiga en comparación con sujetos sanos [27].

Además, recientemente ha despertado curiosidad la posible implicación de los biofilms en la oncogénesis mamaria, y se ha implicado al *Staphylococcus* epidermidis [28]. Este estudio demostró que el S. epidermidis es capaz de formar biofilms que pueden crear un entorno inflamatorio sostenido a través de sus metabolitos y pueden inducir roturas del ADN en las células mamarias, promoviendo la proliferación celular, la angiogénesis y la inestabilidad genética. Nejman et al. desarrollaron un análisis exhaustivo del microbioma tumoral, estudiando 1526 tumores y sus tejidos normales adyacentes en siete tipos de cáncer, incluidos los tumores de mama, pulmón, ovario, páncreas, melanoma, hueso y cerebro [11]. Los autores descubrieron que algunas vías bacterianas pueden degradar metabolitos que se sabe que se enriquecen en diferentes tipos de tumores. Por ejemplo, la degradación de hidroxiprolinas por bacterias se enriquecía en los tumores óseos. El colágeno óseo es una fuente principal de hidroxiprolina, y se ha demostrado que muchas patologías óseas, como los tumores óseos, dan lugar a niveles elevados de hidroxiprolina [11,29]. Los pacientes con lesiones óseas graves, como las derivadas de tumores óseos malignos y adenomas paratiroideos primarios, así como aquellos con enfermedades óseas sistémicas congénitas, excretan cantidades significativamente mayores de hidroxiprolina en la orina. La excreción de hidroxiprolina está elevada en los tumores óseos destructivos, en el hiperparatiroidismo primario y en las enfermedades óseas sistémicas congénitas. En este caso, la hidroxiprolina urinaria refleja la rápida velocidad de degradación del colágeno óseo [30]. La hidroxiprolina también puede ser un marcador de la destrucción ósea en caso de infecciones como la osteomielitis [31]. En conclusión, parece que la alteración de la microbiota en diferentes tejidos puede conducir al desarrollo de cáncer. Sin embargo, el número de estudios que relacionan la formación de biofilms con los tumores óseos es limitado. Por lo tanto, se justifican más investigaciones que examinen el papel oncogénico de los biofilms formadas en pacientes con infecciones ortopédicas.

REFERENCIAS

1. Choi E, Murray B, Choi S. 2023. Biofilm and Cancer: Interactions and Future Directions for Cancer Therapy. Int J Mol Sci 24.
2. Vestby LK, Grønseth T, Simm R, et al. 2020. Bacterial Biofilm and its Role in the Pathogenesis of Disease. Antibiotics 9:59.
3. Otto M. 2009. *Staphylococcus* epidermidis — the 'accidental' pathogen. Nature Reviews Microbiology 7:555-567.
4. Ellermann M, Sartor RB. 2018. Intestinal bacterial biofilms modulate mucosal immune responses. J Immunol Sci 2:13-18.
5. Kostic Aleksandar D, Chun E, Robertson L, et al. 2013. Fusobacterium nucleatum Potentiates Intestinal Tumorigenesis and Modulates the Tumor-Immune Microenvironment. Cell Host & Microbe 14:207-215.
6. Ciernikova S, Sevcikova A, Stevurkova V, et al. 2022. Tumor microbiome – an integral part of the tumor microenvironment. Frontiers in Oncology 12.
7. Upadhyay A, Pal D, Kumar A. 2023. Substantial relation between the bacterial biofilm and oncogenesis progression in host. Microbial Pathogenesis 175:105966. 8.
8. Gopalakrishnan V, Helmink BA, Spencer CN, et al. 2018. The Influence of the Gut Microbiome on Cancer, Immunity, and Cancer Immunotherapy. Cancer Cell 33:570-580.
9. Pushalkar S, Hundeyin M, Daley D, et al. 2018. The Pancreatic Cancer Microbiome Promotes Oncogenesis by Induction of Innate and Adaptive Immune Suppression. Cancer Discovery 8:403-416.
10. Markowski MC, Boorjian SA, Burton JP, et al. 2019. The Microbiome and Genitourinary Cancer: A Collaborative Review. European Urology 75:637-646.
11. Nejman D, Livyatan I, Fuks G, et al. 2020. The human tumor microbiome is composed of tumor type–specific intracellular bacteria. Science 368:973-980.
12. Dejea CM, Sears CL. 2016. Do biofilms confer a pro-carcinogenic state? Gut Microbes 7:5457.
13. Li S, Konstantinov SR, Smits R, et al. 2017. Bacterial Biofilms in Colorectal Cancer Initiation and Progression. Trends in Molecular Medicine 23:18-30.
14. Chew S-S, Tan LT-H, Law JW-F, et al. 2020. Targeting Gut Microbial Biofilms—A Key to Hinder Colon Carcinogenesis? Cancers 12:2272.
15. Tomkovich S, Dejea CM, Winglee K, et al. 2019. Human colon mucosal biofilms from healthy or colon cancer hosts are carcinogenic. The Journal of Clinical Investigation 129:1699-1712.

16. Anderson SM, Sears CL. 2023. The Role of the Gut Microbiome in Cancer: A Review, With Special Focus on Colorectal Neoplasia and Clostridioides difficile. Clinical Infectious Diseases 77:S471-S478.
17. Hold GL, Garrett WS. 2015. Microbiota organization—a key to understanding CRC development. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology 12:128-129.
18. Muñiz Pedrogo DA, Sears CL, Melia JMP. 2024. Colorectal Cancer in Inflammatory Bowel Disease: A Review of the Role of Gut Microbiota and Bacterial Biofilms in Disease Pathogenesis. Journal of Crohn's and Colitis 18:1713-1725.
19. Talapko J, Meštrović T, Dmitrović B, et al. 2023. A Putative Role of *Candida albicans* in Promoting Cancer Development: A Current State of Evidence and Proposed Mechanisms. Microorganisms 11:1476.
20. Tomkovich S, Dejea CM, Winglee K, et al. 2019. Human colon mucosal biofilms from healthy or colon cancer hosts are carcinogenic. J Clin Invest 129:1699-1712.
21. Kadam S, Vandana M, Patwardhan S, et al. 2021. Looking beyond the smokescreen: can the oral microbiome be a tool or target in the management of tobacco-associated oral cancer? Ecancermedicalscience 15:1179.
22. Rizzato C, Torres J, Kasamatsu E, et al. 2019. Potential Role of Biofilm Formation in the Development of Digestive Tract Cancer With Special Reference to Helicobacter pylori Infection. Frontiers in Microbiology 10.
23. Wang Y, Xu S, He Q, et al. 2023. Crosstalk between microbial biofilms in the gastrointestinal tract and chronic mucosa diseases. Frontiers in Microbiology 14.
24. Song X, Greiner-Tollersrud OK, Zhou H. 2022. Oral Microbiota Variation: A Risk Factor for Development and Poor Prognosis of Esophageal Cancer. Digestive Diseases and Sciences 67:3543-3556.
25. Liu S, Li W, Chen J, et al. 2024. The footprint of gut microbiota in gallbladder cancer: a mechanistic review. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology 14.
26. Di Domenico EG, Cavallo I, Pontone M, et al. 2017. Biofilm Producing *Salmonella Typhi*: Chronic Colonization and Development of Gallbladder Cancer. International Journal of Molecular Sciences 18:1887.
27. Nadler N, Kvich L, Bjarnsholt T, et al. 2021. The discovery of bacterial biofilm in patients with muscle invasive bladder cancer. Apmis 129:265-270.
28. Allen-Taylor D, Boro G, Cabato PM, et al. 2024. *Staphylococcus* epidermidis biofilm in inflammatory breast cancer and its treatment strategies. Biofilm 8:100220.
29. Nakagawa M, Sugiura Y, Oshima T, et al. 1967. Urinary hydroxyproline excretion in orthopedic disease, with special reference to systemic bone disease and bone tumor (secondary report). Nagoya J Med Sci 29:345-367. 30.
30. Nakagawa M, Tamaki T. 1965. Urinary Hydroxyproline Excretion In Orthopedic Disease. Preliminary Report. Nagoya journal of medical science 27:228-235. 31.
31. Abbas HL. 1991. Excretion of urinary hydroxyproline in correlation with severity of induced osteomyelitis in rabbits. Acta Physiol Hung 78:235-239.

Autores: German A Norambuena, Farideh Najafi, Ahmed Ghaithi, Alison Klika, Imre Sallai, Alberto V Carli, Goran Bicanic, Bartolome L Allende

Autor de Correspondencia
German A. Norambuena, MD, MSc
Universidad de la Frontera. Temuco, Chile
Email: gnorambuena@gmail.com

PREGUNTA 24. ¿Cuáles son las mejores estrategias para prevenir la formación y maduración de biofilms?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: Las mejores estrategias para prevenir la formación y maduración de biofilms consisten en reducir la carga bacteriana alrededor de los implantes y utilizar estrategias de "modificación" en la superficie del implante para limitar la adhesión bacteriana.

NIVEL DE EVIDENCIA: Débil

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 85 %, En desacuerdo 0 %, Abstención 15 % (Consenso Fuerte).

JUSTIFICACIÓN

Los biofilms se definen como comunidades complejas de microorganismos que residen dentro de una matriz de exopolisacáridos que se adhiere a una superficie. La formación de biofilms se clasifica normalmente en tres etapas: (a) adhesión inicial (reversible e irreversible), (b) maduración de microcolonias y (c) dispersión/desprendimiento [1]. Los tres factores clave necesarios para su formación son la carga bacteriana, unas características superficiales favorables y tiempo suficiente para la adhesión y maduración bacterianas [2,3]. Prevenir la formación y maduración de biofilms sigue siendo un reto fundamental en la cirugía ortopédica, ya que los biofilms suelen provocar el fracaso de los implantes, infecciones crónicas y la necesidad de cirugías de revisión. Las estrategias de prevención directa implican modificaciones de la superficie del implante diseñadas para inhibir la adhesión bacteriana, mientras que las estrategias indirectas se centran en reducir la carga microbiana cerca de la superficie del implante. Esta revisión sistemática resume la evidencia preclínica de estudios en animales, así como los resultados clínicos, con énfasis en las estrategias de prevención directa disponibles actualmente en el mercado.

Estrategias de prevención directa

Las superficies pueden resistir la colonización bacteriana gracias a sus propiedades físicas o químicas intrínsecas, o mediante la incorporación de moléculas antibacterianas que se adhieren firmemente a la superficie. Estas superficies se conocen como superficies pasivas. La deposición de nanopuntas o la creación de superficies «superhidrófobas» o «superhidrófilas» son ejemplos de esfuerzos pasivos para limitar la adhesión bacteriana, que actualmente se encuentran en fase de desarrollo preclínico [4,5]. Otro ejemplo son los recubrimientos antibacterianos unidos covalentemente, que mantienen un efecto antibacteriano localizado al tiempo que minimizan el riesgo de resistencia a los antimicrobianos y la citotoxicidad. La evidencia *in vivo* de la eficacia de los recubrimientos pasivos fue demostrada por Stewart et al. [6], quienes informaron de una inhibición significativa del biofilm utilizando una superficie de titanio modificada con vancomicina en un modelo ovino de infección relacionada con una fractura. Las superficies que carecen de propiedades antibacterianas intrínsecas, pero que en su lugar liberan agentes antimicrobianos para prevenir la formación de biofilms y eliminar los organismos planctónicos, se conocen como superficies activas. Los implantes recubiertos de plata tienen una superficie activa que libera ionenes de plata y llevan más de una década disponibles en el mercado europeo. Qin et al. [7] informaron de que las nanopartículas de plata inmovilizadas en superficies de titanio reducen significativamente el riesgo de infecciones asociadas a los implantes al inhibir la formación de biofilms y la adhesión bacteriana. A pesar de ello, los resultados clínicos han sido inconsistentes. Wafa et al. [8] descubrieron que las megaprótesis recubiertas de plata alcanzaban una tasa de éxito en el control de infecciones del 85 % (17/20), en comparación con el 57,1 % (12/21) de los implantes no tratados (p= 0,05). Por el contrario, Parry et al. [9] no observaron diferencias significativas en la supervivencia sin infección entre las prótesis recubiertas de plata (n = 89) y las no recubiertas (n = 305) en pacientes de alto riesgo con tumores óseos primarios en las extremidades (86,8 % y 91,8 % a los 5 años, respectivamente, p = 0,193). Además, 30 pacientes con implantes de fosfato cálcico dopado con iones de plata mostraron una tasa de infección significativamente menor en comparación con grupos de pacientes similares en la literatura (p= 0,001) [10]. Un metaanálisis de Fiore et al. [11] puso de relieve resultados dispares, con tasas de infección del 9,2 % (44/445) y del 13,7 % (25/183) en cirugías primarias y de revisión con implantes recubiertos de plata, frente al 11,2 % (57/507) y el 29,2 % (47/161) en implantes sin tratar, respectivamente.

Curiosamente, la eficacia varió entre los tres tipos de recubrimientos de plata estudiados, lo que sugiere que no todos los implantes recubiertos de plata funcionan igual. Otros metales alternativos, como el cobre y el zinc, se han mostrado prometedores como recubrimientos antibacterianos, aunque su aplicación clínica sigue siendo limitada debido a la preocupación por su posible citotoxicidad [12-14]. Los implantes recubiertos de yodo han demostrado su eficacia para reducir la viabilidad bacteriana en comparación con los implantes no tratados *in vivo* [15]. Clínicamente, Shirai et al. [16] informaron de una tasa de reinfección del 4,2 % y una tasa de supervivencia del 91 % para los implantes recubiertos de yodo después de 5,6 años de seguimiento, sin que se detectaran anomalías tiroideas ni alergias. Un estudio más reciente del mismo grupo investigó los implantes recubiertos de yodo en 477 pacientes comprometidos, y reportó una tasa de infección global del 3,7 % tras un seguimiento medio de 41 meses [17]. Se han desarrollado numerosos recubrimientos liberadores de antibióticos, como hidrogeles cargados con vancomicina, gentamicina o amikacina, que proporcionan concentraciones antibióticas locales elevadas y prolongadas en la interfaz del implante para reducir la formación de biofilms [18-20]. Las películas sol-gel, los implantes a base de monoestearato de glicerilo, los geles de fibrina y los implantes de acero altamente especializados han demostrado su capacidad para liberar antimicrobianos en los espacios periimplantarios durante el tiempo suficiente para eliminar los biofilms polimicrobianas [21-26]. Entre los avances recientes, aunque aún no se utilizan clínicamente, se incluyen los hidrogeles sensibles a las enzimas que liberan antibióticos al detectar bacterias y los cepillos poliméricos sensibles a la temperatura [27,28]. Además, los recubrimientos basados en antimicrobianos como péptidos, aminoácidos y productos naturales derivados de plantas han llamado la atención debido a su fuerte acción contra la formación de biofilms en modelos animales [24,29-31]. Clínicamente, se han evaluado los recubrimientos de gentamicina en entornos de alto riesgo de infección. Franz et al. [32] demostraron que los clavos tibiales recubiertos de gentamicina en pacientes con fracturas abiertas reducían significativamente las infecciones en el lugar de la fractura. Una revisión sistemática realizada por De Meo et al. [33] respaldó aún más estos hallazgos y concluyó que los clavos tibiales recubiertos de gentamicina son la opción preferida para reducir el riesgo de infección en fracturas abiertas o en pacientes de alto riesgo.

Estrategias de prevención indirectas

Las estrategias indirectas se centran en reducir la carga bacteriana cerca de la superficie del implante mediante técnicas quirúrgicas meticulosas, soluciones de irrigación antisépticas, polvos y perlas antibacterianas, portadores de hidrogel antibiótico, cementos cargados con antibióticos y profilaxis intravenosa. Por ejemplo, el polvo de vancomicina previno completamente la formación de biofilms en un modelo con conejos [34]. Se ha demostrado que el cemento PMMA cargado con antibióticos reduce las tasas de revisión tras una artroplastia total de rodilla [35]. Sin embargo, Carli et al. [36] descubrieron que, aunque el PMMA cargado con vancomicina no reducía significativamente la carga bacteriana, prevenía eficazmente la formación de biofilms en los implantes en un modelo animal de revisión de infección periprotésica de la articulación (IAP). Varias soluciones antisépticas se muestran muy prometedoras en la prevención de complicaciones relacionadas con el biofilm [37]. Además, soluciones antibióticas como la alicina en combinación con vancomicina redujeron significativamente los biofilms de *Staphylococcus* epidermidis en un modelo con conejos [38]. Los portadores de hidrogel para antibióticos representan otra estrategia eficaz. En un estudio prospectivo aleatorizado multicéntrico en el que participaron 380 pacientes de artroplastia primaria y de revisión, se descubrió que los recubrimientos de hidrogel cargado con antibióticos (ALH) redujeron las infecciones tempranas del sitio quirúrgico al 0,6 % en el grupo de tratamiento, en comparación con el 6 % en el grupo de control ($p= 0,003$) [39]. De manera similar, un estudio observacional retrospectivo que comparó a 17 pacientes sometidos a cirugía de revisión aséptica de cadera tratados con ALH con controles emparejados no encontró ninguna infección del sitio quirúrgico en el grupo ALH frente a seis casos en el grupo de control ($p < 0,0001$), con un seguimiento mínimo de seis meses [40]. Otro ensayo clínico en el que participaron 256 pacientes aleatorizados para recibir recubrimientos de ALH de rápida reabsorción después de una osteosíntesis interna no informó de infecciones del sitio quirúrgico en el grupo tratado, en comparación con el 4,6 % en el grupo de control ($p < 0,03$) [41]. Los enfoques moleculares innovadores, aunque todavía en fase preclínica, siguen evolucionando. Las endolisinas y los péptidos avanzados dirigidos a los factores de virulencia bacteriana han demostrado su potencial para desmantelar los biofilms establecidas [42, 43]. Los inhibidores de la detección de quórum administrados a través de perlas o soluciones pueden interrumpir la formación de biofilms de *Staphylococcus* [44]. Además, los anticuerpos monoclonales dirigidos contra las toxinas estafilocócicas o las proteínas de superficie también representan una vía prometedora para futuras investigaciones [45]. En conclusión, minimizar la carga microbiana durante la cirugía y el período postoperatorio inmediato es posiblemente la estrategia más importante para prevenir la formación y maduración de biofilms. Si los microorganismos alcanzan la superficie del implante, las estrategias de prevención activa, como los implantes recubiertos de plata, han demostrado cierto éxito en la reducción de las infecciones periprotésicas de las articulaciones en aplicaciones oncológicas. Del mismo modo, los recubrimientos a base de yodo, los portadores de hidrogel y las varillas de titanio recubiertas de gentamicina, ya disponibles en el mercado, ofrecen enfoques prometedores para la prevención del biofilm y la IAP.

REFERENCIAS

1. Khatoon, Z., et al., Bacterial biofilm formation on implantable devices and approaches to its treatment and prevention. Heliyon, 2018. 4(12): p. e01067.
2. Koseki, H., et al., Early staphylococcal biofilm formation on solid orthopaedic implant materials: *in vitro* study. PLoS One, 2014. 9(10): p. e107588.
3. Wi, Y.M. and R. Patel, Understanding Biofilms and Novel Approaches to the Diagnosis, Prevention, and Treatment of Medical Device-Associated Infections. Infect Dis Clin North Am, 2018. 32(4): p. 915-929.
4. Zhang, X., et al., Synergistic antibacterial activity of physical-chemical multi-mechanism by TiO(2) nanorod arrays for safe biofilm eradication on implant. Bioact Mater, 2021. 6(1): p. 12-25.

5. Gao, Q., et al., Antibacterial and hydroxyapatite-forming coating for biomedical implants based on polypeptide-functionalized titania nanospikes. Biomater Sci, 2019. 8(1): p. 278289.
6. Stewart, S., et al., Vancomycin-modified implant surface inhibits biofilm formation and supports bone-healing in an infected osteotomy model in sheep: a proof-of-concept study. J Bone Joint Surg Am, 2012. 94(15): p. 1406-15.
7. Qin, H., et al., *In vitro* and *in vivo* anti-biofilm effects of silver nanoparticles immobilized on titanium. Biomaterials, 2014. 35(33): p. 9114-25.
8. Wafa, H., et al., Retrospective evaluation of the incidence of early periprosthetic infection with silver-treated endoprostheses in high-risk patients: case-control study. Bone Joint J, 2015. 97-B(2): p. 252-7. 9.
9. Parry, M.C., et al., Silver-coated (Agluna(R)) tumour prostheses can be a protective factor against infection in high risk failure patients. Eur J Surg Oncol, 2019. 45(4): p. 704-710.
10. Köse, N., et al., The Use Of Orthopaedic Implants With Silver Ion-Doped Ceramic Coating In The Prevention Of Implant-Related Infections. Orthopaedic Proceedings, 2020. 102-B(SUPP_11): p. 74-74.
11. Fiore, M., et al., Silver-coated megaprosthesis in prevention and treatment of periprosthetic infections: a systematic review and meta-analysis about efficacy and toxicity in primary and revision surgery. Eur J Orthop Surg Traumatol, 2021. 31(2): p. 201-220.
12. Prinz, C., et al., Antimicrobial and bone-forming activity of a copper coated implant in a rabbit model. J Biomater Appl, 2017. 32(2): p. 139-149.
13. Zhuang, Y., et al., Antibacterial effect of a copper-containing titanium alloy against implant-associated infection induced by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Acta Biomater, 2021. 119: p. 472-484.
14. Qu, X., et al., Biodegradable Zn-Cu alloys show antibacterial activity against MRSA bone infection by inhibiting pathogen adhesion and biofilm formation. Acta Biomater, 2020. 117: p. 400-417.
15. Inoue, D., et al., Inhibition of biofilm formation on iodine-supported titanium implants. Int Orthop, 2017. 41(6): p. 1093-1099.
16. Shirai, T., et al., A retrospective study of antibacterial iodine-coated implants for postoperative infection. Medicine (Baltimore), 2019. 98(45): p. e17932.
17. Shirai, T., et al., Iodine-supported implants in prevention and treatment of surgical site infections for compromised hosts: a prospective study. J Orthop Surg Res, 2023. 18(1): p. 388.
18. Harris, M.A., et al., Phosphatidylcholine Coatings Deliver Local Antimicrobials and Reduce Infection in a Murine Model: A Preliminary Study. Clin Orthop Relat Res, 2017. 475(7): p. 1847-1853.
19. Ashbaugh, A.G., et al., Polymeric nanofiber coating with tunable combinatorial antibiotic delivery prevents biofilm-associated infection *in vivo*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016. 113(45): p. E6919-E6928.
20. Diefenbeck, M., et al., Gentamicin coating of plasma chemical oxidized titanium alloy prevents implant-related osteomyelitis in rats. Biomaterials, 2016. 101: p. 156-64.
21. Boles, L.R., et al., Local Delivery of Amikacin and Vancomycin from Chitosan Sponges Prevent Polymicrobial Implant-Associated Biofilm. Mil Med, 2018. 183(suppl_1): p. 459-465.
22. Chilukuri, D.M. and J.C. Shah, Local delivery of vancomycin for the prophylaxis of prosthetic device-related infections. Pharm Res, 2005. 22(4): p. 563-72.
23. Aguilera-Correa, J.J., et al., A New Antibiotic-Loaded Sol-Gel Can Prevent Bacterial Prosthetic Joint Infection: From *in vitro* Studies to an *in vivo* Model. Front Microbiol, 2019. 10: p. 2935.
24. Qu, H., et al., Percutaneous external fixator pins with bactericidal micron-thin sol-gel films for the prevention of pin tract infection. Biomaterials, 2015. 62: p. 95-105.
25. Gimeno, M., et al., Porous orthopedic steel implant as an antibiotic eluting device: prevention of post-surgical infection on an ovine model. Int J Pharm, 2013. 452(1-2): p. 166-72. 26.
26. Doan, V.N., T.T. Truong, and H.L.B. Tran, Development of local vancomycin delivery system from fibrin gel to prevent *Staphylococcus aureus* biofilms graft infection. J Biosci, 2020.
27. Chen, F., et al., Triggered Release of Ampicillin from Metallic Implant Coatings for Combating Periprosthetic Infections. ACS Appl Mater Interfaces, 2024. 16(19): p. 24421-24430.
28. Choi, S., et al., Application of Multi-Layered Temperature-Responsive Polymer Brushes Coating on Titanium Surface to Inhibit Biofilm Associated Infection in Orthopedic Surgery. Polymers (Basel), 2022. 15(1).
29. de Breij, A., et al., Prevention of *Staphylococcus aureus* biomaterial-associated infections using a polymer-lipid coating containing the antimicrobial peptide OP-145. J Control Release, 2016. 222: p. 1-8.
30. Harmata, A.J., et al., D-amino acid inhibits biofilm but not new bone formation in an ovine model. Clin Orthop Relat Res, 2015. 473(12): p. 3951-61.
31. Mo, F., et al., *In vitro* and *in vivo* effects of the combination of myricetin and miconazole nitrate incorporated to thermosensitive hydrogels, on *C. albicans* biofilms. Phytomedicine, 2020. 71: p. 153223.
32. Franz, D., et al., Use of antibiotic coated intramedullary nails in open tibia fractures: A European medical resource use and cost-effectiveness analysis. Injury, 2021. 52(7): p. 1951-1958.
33. De Meo, D., et al., Gentamicin-Coated Tibia Nail in Fractures and Nonunion to Reduce Fracture-Related Infections: A Systematic Review. Molecules, 2020. 25(22).
34. Hovis, J.P., et al., Intraoperative Vancomycin Powder Reduces *Staphylococcus aureus* Surgical Site Infections and Biofilm Formation on Fixation Implants in a Rabbit Model. J Orthop Trauma, 2018. 32(5): p. 263-268.
35. Jameson, S.S., et al., Antibiotic-loaded bone cement is associated with a lower risk of revision following primary cemented total knee arthroplasty: an analysis of 731,214 cases using National Joint Registry data. Bone Joint J, 2019. 101-B(11): p. 1331-1347.
36. Carli, A.V., et al., Vancomycin-Loaded PolymethylmeTHAcrylate Spacers Fail to Eradicate Periprosthetic Joint Infection in a Clinically Representative Mouse Model. J Bone Joint Surg Am, 2018. 100(11): p. e76.
37. Caid, M., J. Valk, and J. Danoff, Irrigation Solutions in Total Joint Arthroplasty. Spartan Med Res J, 2022. 7(2): p. 37502.
38. Zhai, H., et al., Lavage with allicin in combination with vancomycin inhibits biofilm formation by *Staphylococcus* epidermidis in a rabbit model of prosthetic joint infection. PLoS One, 2014. 9(7): p. e102760.
39. Romano, C.L., et al., Does an Antibiotic-Loaded Hydrogel Coating Reduce Early PostSurgical Infection After Joint Arthroplasty? J Bone Jt Infect, 2016. 1: p. 34-41.
40. De Meo, D., et al., Antibiotic-Loaded Hydrogel Coating to Reduce Early Postsurgical Infections in Aseptic Hip Revision Surgery: A Retrospective, Mthahed Case-Control Study. Microorganisms, 2020. 8(4).
41. Malizos, K., et al., Fast-resorbable antibiotic-loaded hydrogel coating to reduce postsurgical infection after internal osteosynthesis: a multicenter randomized controlled trial. J Orthop Traumatol, 2017. 18(2): p. 159-169.
42. Fursov, M.V., et al., Antibiofilm Activity of a Broad-Range Recombinant Endolysin LysECD7: *In vitro* and *In vivo* Study. Viruses, 2020. 12(5). 43.
43. Raeder, S.B., et al., Novel Peptides Targeting the beta-Clamp Rapidly Kill Planktonic and Biofilm *Staphylococcus* epidermidis Both *in vitro* and *in vivo*. Front Microbiol, 2021. 12: p. 631557. 44. 45.
44. Balaban, N., et al., Treatment of *Staphylococcus aureus* biofilm infection by the quorumsensing inhibitor RIP. Antimicrob Agents Chemother, 2007. 51(6): p. 2226-9.
45. Mao, Y., et al., Multimechanistic Monoclonal Antibody Combination Targeting Key *Staphylococcus aureus* Virulence Determinants in a Rabbit Model of Prosthetic Joint Infection. Antimicrob Agents Chemother, 2021. 65(7): p. e0183220.

Autores: José L. del Pozo, Carla Renata Arciola, David Jacofsky, Jessica Jennings, Kayahan Karaytug, Bart Pijls, Christopher Spiegel, Lluis Font-Vizcarra, Rabeta Yeasmin

Autor de Correspondencia
Dr. J. Amber Jennings
Department of Biomedical Engineering
The University of Memphis, U.S.A.
Email: jjnnings@memphis.edu

PREGUNTA 25. ¿Se pueden utilizar campos eléctricos para desprender y destruir biofilms?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: Sí. Se pueden utilizar campos eléctricos para desprender y destruir biofilms.

NIVEL DE EVIDENCIA: Limitada

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 97 %, En desacuerdo 0 %, Abstención 3 % (Consenso Total).

JUSTIFICACIÓN

Las biofilms representan un reto importante en entornos clínicos e industriales debido a su resistencia a las terapias antimicrobianas convencionales. Los biofilms contienen comunidades microbianas que se adhieren a las superficies y están incrustadas en una sustancia polimérica extracelular (EPS) protectora y compleja, lo que hace que las bacterias enterradas en los biofilms sean muy tolerantes a los antibióticos y a las respuestas inmunitarias [1]. Las infecciones que implican biofilms, especialmente en implantes osteoarticulares, suelen dar lugar a afecciones crónicas que requieren enfoques terapéuticos innovadores. Una estrategia emergente es el uso de campos eléctricos, que se han mostrado prometedores para limitar el crecimiento bacteriano, lo que a su vez limita la formación de biofilms. Una menor formación de biofilms mejora la eficacia de los agentes antimicrobianos [2,3]. Este documento evalúa los mecanismos, las aplicaciones clínicas y las recomendaciones para el uso de campos eléctricos en el tratamiento de los biofilms.

Mecanismos *in vitro* de los campos eléctricos en la disrupción del biofilm

1. Disrupción electrostática. Los campos eléctricos desestabilizan la matriz EPS al alterar las interacciones iónicas que mantienen su integridad estructural. Un estudio realizado por Ge et al. [4] demostró que estos campos reducen significativamente la adhesión del biofilm a los materiales de grado médico al interrumpir las fuerzas electrostáticas [4].

2. Electroporación. Al aplicar pulsos eléctricos, las membranas celulares microbianas se vuelven transitoriamente permeables, un fenómeno conocido como electroporación. Este efecto facilita la penetración de los agentes antimicrobianos en las capas más profundas del biofilm. Wu et al. destacaron la eficacia de la electroporación para aumentar la absorción de antibióticos en modelos de biofilms [5].

3. Generación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Ciertos campos eléctricos pueden desencadenar la generación de ROS, que causan daño oxidativo tanto a las células microbianas como a la matriz del biofilm. Chen et al. demostraron que la producción de ROS bajo la aplicación de campos eléctricos condujo a una reducción del 70 % en la biomasa del biofilm en estudios *in vitro* [6].

4. Mayor eficacia de los antibióticos. Los campos eléctricos rompen las barreras protectoras de los biofilms, lo que hace que las células microbianas sean más susceptibles a los antibióticos. Una investigación reciente de Sedighi et al. descubrió que la combinación de campos eléctricos con antibióticos daba lugar a una reducción de cuatro veces en las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) para las cepas resistentes [7]. Se cree que este efecto se debe al aumento de la permeabilidad del EPS, que permite que los antimicrobianos lleguen a las bacterias alojadas en el biofilm.

5. Limpieza electrolítica de superficies. La aplicación de campos eléctricos puede inducir reacciones electroquímicas localizadas en la superficie de los dispositivos médicos, lo que da lugar a la generación de microburbujas y a cambios en el pH que facilitan el desprendimiento del biofilm. Este proceso, conocido como limpieza electrolítica, altera la integridad del biofilm al eliminar físicamente las comunidades microbianas adheridas y degradar las sustancias poliméricas extracelulares.

Evidencia de la investigación

Una revisión de estudios recientes destaca el potencial de los campos eléctricos en el tratamiento de los biofilms, respaldado por evidencia de diversos modelos preclínicos e *in vitro*. Por ejemplo, Sedighi et al. demostraron que los campos eléctricos combinados con nanopartículas podían alterar la arquitectura de los biofilms de forma más eficaz que los tratamientos convencionales [7]. Además, Wu et al. demostraron que la biomasa del biofilm en implantes metálicos se reducía en más de un 60 % cuando se sometía a campos eléctricos de baja intensidad [8]. Estos hallazgos

subrayan la versatilidad y la eficacia de este enfoque para abordar los retos relacionados con los biofilms.

La aplicación de corriente continua catódica sobre sustratos de biofilm provoca interacciones electrorrepulsivas con bacterias cargadas negativamente, lo que conduce a un desprendimiento significativo. Por ejemplo, la aplicación de una corriente catódica de 15 μA/cm² durante 40 minutos a un biofilm de *P. aeruginosa* desprendió aproximadamente el 80 % de las bacterias, quedando las restantes aún viables. Una corriente anódica no eliminó significativamente las bacterias, pero las inactivó con el tiempo. La corriente de bloqueo (¿qué es la corriente de bloqueo?) es más eficaz tanto para desprender las bacterias como para inactivar las bacterias restantes en las superficies [9]. Anteriormente, se consideraba que la electricidad solo potenciaba la eficacia de los antibióticos y los biocidas contra los biofilms, sin efectos independientes significativos [10]. Sin embargo, estudios recientes muestran que la exposición prolongada a campos eléctricos de bajo amperaje puede tener efectos electricidas, lo que provoca la muerte de las células bacterianas a través de especies reactivas de oxígeno [11]. Ashrafi et al. evaluaron la eficacia de la estimulación eléctrica con o sin antibióticos en biofilms de *S. aureus* y *P. aeruginosa* sensibles a la meticilina *in vitro* y *ex vivo*. Aplicaron 100 mV/mm de corriente continua durante 30 minutos, seguido de la adición o ausencia de ciprofloxacina. Aunque la estimulación eléctrica fue menos eficaz que los antibióticos en la reducción del biofilm, sí redujo la viabilidad bacteriana en comparación con los controles no tratados. La adición de estimulación eléctrica no mejoró la actividad de la ciprofloxacina en el estudio *ex vivo* [4]. Una corriente continua de 6 V con una resistencia de 1 kΩ condujo a una reducción de 4 log en el biofilm de *P. aeruginosa* alrededor del ánodo en un modelo de biofilm en placa de agar, continuando los efectos antimicrobianos después de apagar el campo eléctrico debido a la migración de compuestos cidales [3]. Los apósitos electroceuticos acoplados redox de plata-zinc (Ag/Zn WED) interrumpieron eficazmente los biofilms de *P. aeruginosa in vitro*, incluso en condiciones en las que los apósitos a base de plata eran ineficaces. El Ag/Zn WED genera superóxido para matar las bacterias e inactivar el sistema de bombeo de eflujo Mex, lo que ayuda a superar la resistencia a los antibióticos. También redujo la expresión del gen de detección de quórum y la producción de piocianina, ambos esenciales para la formación de biofilms y la patogenicidad en *P. aeruginosa*. Además, el WED inhibió la actividad de la enzima glicerol-3-hidrogenasa, implicada en la formación de células persistentes [12]. Este tratamiento también demostró su eficacia *in vivo* contra las infecciones por biofilms polimicrobianas en un modelo de herida porcina, superando a los tratamientos estándar para el cuidado de heridas en ensayos clínicos [13,14]. Los estudios sobre la corriente alternan (CA) muestran que la frecuencia puede influir en la inhibición de los biofilms. La CA de alta frecuencia (MHz a kHz) inhibe temporalmente el crecimiento de los biofilms, mientras que la CA de baja frecuencia (100 Hz) lo reduce de forma permanente en torno a un 50 %. A 1 Hz, todas las células adheridas se eliminan debido a la electrólisis del agua y la producción de burbujas de gas [15]. Los campos electromagnéticos de CA de 20-30 kHz suprimieron los biofilms de E. coli y S. epidermidis, probablemente mediante la alteración de la membrana extracelular bacteriana [16]. La CA de radiofrecuencia (10 MHz) mejoró la eficacia de los antibióticos contra los biofilms de E. coli al aumentar la fluidez de la matriz y permitir una mejor penetración de los antibióticos [17]. La CA también fue más eficaz que la CC para reducir las incrustaciones biológicas y prevenir la adhesión y desprendimiento de *Pseudomonas* putida en membranas de nanotubos de carbono a 1 [17]. La CA también fue más eficaz que la CC para reducir las incrustaciones biológicas y prevenir la adhesión y desprendimiento de *Pseudomonas* putida en membranas de nanotubos de carbono a 1,5 V y 1 kHz [18].

Los métodos electroquímicos para controlar los biofilms implican alterar las propiedades de la superficie del sustrato mediante tratamientos galvanostáticos o potenciostáticos para impedir la adhesión o desprender las células existentes mediante repulsión electrostática. En un estudio, la polarización catódica aplicada a un sustrato de acero inoxidable condujo a la eliminación del biofilm de *P. aeruginosa* a potenciales superiores a -1,5 V, donde la producción de gas hidrógeno a partir de la electrólisis del agua ayudó a eliminar el biofilm [19]. Un estudio reciente informó de reducciones significativas en los biofilms de S. epidermidis, *S. aureus* y *P. aeruginosa* tras la exposición a corrientes continuas de 2000 microamperios durante 2-7 días [20]. En un modelo con conejos, la corriente continua redujo significativamente el crecimiento bacteriano en las infecciones por biofilms de S. epidermidis en comparación con el tratamiento solo con doxiciclina [21].

Además, los efectos foto-termoeléctricos, como el uso de superficies de heterounión $ZnO/TiO_2{-}x$ negro sensibles a la luz infrarroja cercana en implantes de titanio, eliminaron eficazmente los biofilms multiespecíficas *in vitro* e *in vivo* [6]. Los efectos piezoeléctricos en nanopartículas de estructura metalorgánica también se utilizaron para mejorar la generación fotocatalítica de ROS, mejorando la actividad de los inhibidores de H_2S e interrumpiendo la homeostasis redox del biofilm [4].

En estudios *in vitro* se ha demostrado que los campos eléctricos son eficaces para prevenir la adhesión bacteriana y la formación de biofilms. Las corrientes eléctricas de baja intensidad y los campos electromagnéticos reducen significativamente la colonización de la superficie por *Staphylococcus* epidermidis, *Pseudomonas aeruginosa* y Escherichia coli [22].

Limpieza electrolítica con burbujas de hidrógeno. Los estudios han demostrado que las burbujas de hidrógeno generadas durante la electrólisis pueden desprender eficazmente los biofilms en diversos entornos. En el campo de la odontología, la tecnología de limpieza electrolítica se ha mostrado especialmente prometedora [23]. Esta técnica se ha aplicado a implantes dentales y otras superficies bucales. Si bien los métodos tradicionales, como la corriente continua (CC) y la corriente alterna (CA), se han estudiado ampliamente para el control del biofilm, la generación de burbujas de hidrógeno mediante electrólisis parece ofrecer ventajas únicas [24]. Las corrientes continuas pueden crear

gradientes electroquímicos que inhiben la adhesión y la supervivencia de las bacterias. Por ejemplo, las corrientes anódicas provocan una inactivación localizada, mientras que las corrientes catódicas favorecen el desprendimiento mediante la repulsión eléctrica. Por el contrario, los campos de CA han demostrado inhibir los biofilms principalmente mediante la alteración de la matriz y la desestabilización de la membrana bacteriana a frecuencias específicas. Sin embargo, ni los métodos de CC ni los de CA proporcionan las ventajas de desprendimiento mecánico inherentes a la formación de burbujas de hidrógeno. Estudios recientes sugieren que el desprendimiento mediado por burbujas es muy eficaz para romper biofilms densas y maduras que, de otro modo, serían resistentes a los métodos de limpieza convencionales. Además, la integración de la tecnología de burbujas de hidrógeno con otras estrategias antimicrobianas, como la terapia fotodinámica o los recubrimientos superficiales, puede mejorar aún más el tratamiento de los biofilms en entornos clínicos [25]. La generación de burbujas de hidrógeno ofrece una solución mínimamente invasiva, eficaz y escalable para el tratamiento de biofilms en entornos clínicos y no clínicos [26]. Los estudios futuros deberían centrarse en optimizar parámetros como la densidad de corriente, la composición del electrolito y la duración del tratamiento para maximizar la eficacia, al tiempo que se garantiza la seguridad del paciente y la conservación del material.

Principales hallazgos

Modelos preclínicos. Los datos experimentales demuestran reducciones significativas en la biomasa de biofilms en superficies metálicas y poliméricas expuestas a campos eléctricos de baja intensidad. Este efecto es particularmente notable en los biofilms de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Efectos sinérgicos. Las terapias combinadas que utilizan campos eléctricos y antibióticos convencionales o nanomateriales muestran una mayor erradicación del biofilm en comparación con los antibióticos solos.

Aplicación a dispositivos médicos. Se ha demostrado que los recubrimientos generadores de campos eléctricos en implantes previenen la formación de biofilms, lo que reduce el riesgo de infecciones osteoarticulares.

Posibles aplicaciones clínicas

La integración de las terapias basadas en campos eléctricos en la práctica clínica tiene un potencial significativo, especialmente en el tratamiento de infecciones asociadas a implantes osteoarticulares. Por ejemplo, Wu et al. demostraron que los campos eléctricos de baja intensidad reducían eficazmente la formación de biofilms en superficies de titanio 4, un material común en los implantes osteoarticulares. [27]. Del mismo modo, la investigación de Sedighi et al. destacó la sinergia entre los campos eléctricos y los recubrimientos antimicrobianos, que mejoraban las tasas de erradicación de biofilms en las superficies de los implantes [7]. Estos hallazgos sugieren que los enfoques basados en campos eléctricos podrían desempeñar un papel fundamental en la prevención y el tratamiento de las infecciones asociadas a los implantes. Entre las posibles aplicaciones se incluyen:

1. Disrupción del biofilm in situ. los dispositivos capaces de aplicar campos eléctricos directamente en el lugar de la infección pueden ayudar a la erradicación localizada de los biofilms.

2. Complemento de la terapia antibiótica. los campos eléctricos pueden mejorar la penetración y la eficacia de los antibióticos, lo que podría reducir la dosis necesaria y mitigar la resistencia a los antibióticos.

3. Medidas preventivas. el uso proactivo de campos eléctricos en los recubrimientos de los implantes quirúrgicos puede prevenir la formación de biofilms y las infecciones posteriores.

Recomendaciones

Basándose en la evidencia actual, se proponen las siguientes recomendaciones:

1. Investigación adicional. Realizar ensayos clínicos para evaluar la seguridad, la eficacia y los parámetros óptimos (intensidad, frecuencia) de los campos eléctricos en el tratamiento de los biofilms. Los ensayos bien diseñados podrían salvar la brecha entre las aplicaciones experimentales y clínicas.

2. Desarrollo de dispositivos. Invertir en el diseño de dispositivos médicos generadores de campos eléctricos, especialmente para su uso en ortopedia. Las investigaciones han puesto de relieve la viabilidad de integrar la tecnología de campos eléctricos en las superficies de los implantes.

3. Elaboración de directrices. Establecer protocolos estandarizados para la aplicación de campos eléctricos en entornos clínicos, incluidas las contraindicaciones y la integración con las terapias existentes.

4. Colaboración interdisciplinaria. Fomentar las asociaciones entre microbiólogos, ingenieros y médicos para traducir los hallazgos preclínicos en soluciones prácticas. Los esfuerzos de colaboración enfatizan la importancia de los enfoques multidisciplinarios para el avance de esta tecnología.

En conclusión, el uso de campos eléctricos representa una vía prometedora en la lucha contra las infecciones asociadas a biofilms, especialmente en contextos osteoarticulares. Si bien las pruebas preclínicas son convincentes, es necesario seguir investigando y desarrollando para establecer que esta modalidad es clínicamente segura y/o eficaz. Al aprovechar sus mecanismos únicos y sus efectos sinérgicos, las terapias basadas en campos eléctricos podrían revolucionar el tratamiento de las infecciones relacionadas con biofilms. En términos de aplicación clínica, los campos eléctricos no han obtenido la aprobación de la FDA. El uso de un campo eléctrico requiere la colocación de dos agujas en contacto con la superficie de los componentes metálicos de la artroplastia. Esto podría hacerse en el quirófano antes del cierre de la herida o, en teoría, de forma percutánea en la zona de recuperación. Queda mucho trabajo por hacer en esta tecnología emergente. Por ejemplo, aún no se han determinado los ajustes eléctricos óptimos, como el voltaje,

el amperaje y la duración de la estimulación eléctrica. Además, se desconoce si la corriente eléctrica tiene algún efecto sobre los componentes no metálicos, como el poliéster o la cerámica. Dado que los parámetros definitivos de aplicación clínica están en evolución, no podemos hacer ninguna recomendación sobre su uso en este momento.

REFERENCIAS

1. Del Pozo JL. 2018. Biofilm-related disease. Expert review of anti-infective therapy 16:51-65. 4
2. Ashrafi M, Novak-Frazer L, Morris J, et al. 2019. Electrical stimulation disrupts biofilms in a human wound model and reveals the potential for monitoring treatment response with volatile biomarkers. Wound Repair Regen 27:5-18.
3. Dusane DH, Lochab V, Jones T, et al. 2019. Electroceutical treatment of Pseudomonas aeruginosa biofilms. Scientific reports 9:2008.
4. Ge M, Zhu W, Mei J, et al. 2024. Piezoelectric-Enhanced Nanocatalysts Trigger Neutrophil N1 Polarization against Bacterial Biofilm by Disrupting Redox Homeostasis. Adv Mater:e2409633.
5. Wu M, Holgado L, Harrower RM, et al. 2024. Evaluation of the efficiency of various methods to load fluoroquinolones into Escherichia coli outer membrane vesicles as a novel antibiotic delivery platform. Biochemical Engineering Journal 210:109418.
6. Chen B, Wang W, Hu M, et al. 2024. "Photo-Thermo-Electric" Dental Implant for AntiInfection and Enhanced Osteoimmunomodulation. ACS Nano 18:24968-24983.
7. Sedighi O, Bednarke B, Sherriff H, et al. 2024. Nanoparticle-Based Strategies for Managing Biofilm Infections in Wounds: A Comprehensive Review. ACS Omega 9:2785327871.
8. Wu J, Huo X, Liu J, et al. 2025. Multifunctional NIR-II nanoplatform for disrupting biofilm and promoting infected wound healing. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 245:114330.
9. Hong SH, Jeong J, Shim S, et al. 2008. Effect of electric currents on bacterial detachment and inactivation. Biotechnol Bioeng 100:379-386.
10. Costerton JW, Ellis B, Lam K, et al. 1994. Mechanism of electrical enhancement of efficacy of antibiotics in killing biofilm bacteria. Antimicrob Agents Chemother 38:28032809.
11. Brinkman CL, Schmidt-Malan SM, Karau MJ, et al. 2016. Exposure of Bacterial Biofilms to Electrical Current Leads to Cell Death Mediated in Part by Reactive Oxygen Species. PLoS One 11:e0168595.
12. Banerjee J, Ghatak PD, Roy S, et al. 2015. Silver-zinc redox-coupled electroceutical wound dressing disrupts bacterial biofilm. PloS one 10:e0119531.
13. Barki KG, Das A, Dixith S, et al. 2019. Electric Field Based Dressing Disrupts MixedSpecies Bacterial Biofilm Infection and Restores Functional Wound Healing. Ann Surg 269:756-766.
14. Chan RK, Nuutila K, Mathew-Steiner SS, et al. 2024. A Prospective, Randomized, Controlled Study to Evaluate the Effectiveness of a Fabric-Based Wireless Electroceutical Dressing Compared to Standard-of-Care Treatment Against Acute Trauma and Burn Wound Biofilm Infection. Adv Wound Care (New Rochelle) 13:1-13.
15. Wang X, Zhou L, Lu L, et al. 2016. Alternating current influences anaerobic electroactive biofilm activity. Environmental Science & Technology 50:9169-9176.
16. Aoyama N, Kanematsu H, Barry DM, et al. 2023. AC Electromagnetic Field Controls the Biofilms on the Glass Surface by Escherichia coli & Staphylococcus epidermidis Inhibition Effect. Materials 16:7051.
17. Caubet R, Pedarros-Caubet F, Chu M, et al. 2004. A radio frequency electric current enhances antibiotic efficacy against bacterial biofilms. Antimicrobial agents and chemotherapy 48:4662-4664. 5
18. THAmaraiselvan C, Ronen A, Lerman S, et al. 2018. Low voltage electric potential as a driving force to hinder biofouling in self-supporting carbon nanotube membranes. Water Res 129:143-153.
19. Dargahi M, Hosseinidoust Z, Tufenkji N, et al. 2014. Investigating electrochemical removal of bacterial biofilms from stainless steel substrates. Colloids Surf B Biointerfaces 117:152-157.
20. del Pozo JL, Rouse MS, Mandrekar JN, et al. 2009. The electricidal effect: reduction of Staphylococcus and pseudomonas biofilms by prolonged exposure to low-intensity electrical current. Antimicrob Agents Chemother 53:41-45.
21. Del Pozo JL, Rouse MS, Euba G, et al. 2009. The electricidal effect is active in an experimental model of Staphylococcus epidermidis chronic foreign body osteomyelitis. Antimicrob Agents Chemother 53:4064-4068. 22. Del Pozo JL, Rouse MS, Euba G, et al. 2014. Prevention of Staphylococcus epidermidis biofilm formation using electrical current. J Appl Biomater Funct Mater 12:8183.
23. Schlee M, Rathe F, Brodbeck U, et al. 2019. Treatment of peri-implantitis—electrolytic cleaning versus mechanical and electrolytic cleaning—a randomized controlled clinical trial—six-month results. Journal of clinical medicine 8:1909.
24. RaATR C, Weigl P, Henrich D, et al. 2019. The Effect of In Vitro Electrolytic Cleaning on Biofilm-Contaminated Implant Surfaces. J Clin Med 8.
25. Rodrigues F, Rodrigues da Silva M, Silva FS, et al. 2024. Electric Current Application on Dental Implant Biofilms. Journal of Functional Biomaterials 15:197.
26. Zhu Y, Xu Y, Ling Z, et al. 2024. The biofilm removal effect and osteogenic potential on the titanium surface by electrolytic cleaning: An in vitro comparison of electrolytic parameters and five techniques. Clinical Oral Implants Research 35:454-466.
27. Zhu Q, Zheng Y, Zhou X, et al. 2024. c-di-GMP and AHL signals-triggered chemical communication under electrical signaling disruption restores Geobacter sulfurreducens biofilm formation. ISME Commun 4:ycae096.

Autores: Tom Coenye, Carla Renata Arciola, Gloria Bua, Ahmed Khalifa, Walid Ebeid, Lauren Priddy, Lincoln Liow, Ran Schwarzkopf, Oscar Murillo

Autor de Correspondencia
Prof. Dr. Tom Coenye
Laboratory of Pharmaceutical Mictobiology
Ghent University, Belgium
Email: tom.coenye@ugent.be

PREGUNTA 26. ¿Existen antibióticos con propiedades antibiofilm?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: Sí, varios antibióticos presentan propiedades antibiofilm. La rifampicina es especialmente eficaz contra los biofilms estafilocócicas y los datos de estudios experimentales se correlacionan con los buenos resultados clínicos obtenidos con la rifampicina, especialmente cuando se combina con fluoroquinolonas. La daptomicina y la levofloxacina/moxifloxacina también muestran una buena actividad contra *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus* epidermidis. Las combinaciones basadas en rifampicina son especialmente eficaces contra los biofilms formadas por *Cutibacterium acnes* y enterococos, mientras que la doxiciclina también muestra actividad contra *Cutibacterium acnes*. La ciprofloxacina tiene actividad antibiofilm contra las bacterias gramnegativas, y su uso se correlaciona con mejores resultados clínicos. La colistina y el meropenem, ya sea solos o en combinación, y las combinaciones de colistina con otros betalactámicos (incluida la ceftazidima) también son eficaces contra los biofilms gramnegativas. Además, la fosfomicina combinada con fluoroquinolonas muestra una buena actividad contra los biofilms de *Pseudomonas aeruginosa*. Los fármacos antifúngicos de la clase de las equinocandinas, como la caspofungina y la anidulafungina, son eficaces contra los biofilms de *Candida spp*.

NIVEL DE EVIDENCIA: Fuerte.

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 97 %, En desacuerdo 0 %, Abstención 3 % (Consenso Total).

JUSTIFICACIÓN

Las infecciones asociadas a biofilms representan un desafío significativo en el contexto de las infecciones de prótesis articulares (IAP). Los biofilms, comunidades microbianas estructuradas y encerradas en una matriz extracelular protectora, confieren una menor susceptibilidad a los agentes antimicrobianos [1], lo que dificulta el tratamiento y a menudo requiere intervención quirúrgica [2]. Dado el aumento en la incidencia de las IAPs debido al creciente número de implantaciones ortopédicas, existe una necesidad crítica de desarrollar estrategias antimicrobianas que apunten eficazmente a los biofilms [3].

Para identificar antibióticos con actividad antibiofilm, se realizó una búsqueda exhaustiva en la literatura, identificándose 1789 artículos únicos potencialmente relevantes a través de búsquedas por palabras clave en PubMed y Scopus. Estos fueron evaluados por dos revisores independientes, y finalmente se incluyeron 133 estudios para su análisis.

Staphylococcus spp.

La evidencia disponible indica claramente que la rifampicina presenta una buena actividad contra los biofilms formadas por estafilococos, y se ha dedicado una cantidad considerable de investigación a encontrar la mejor combinación de antibióticos con rifampicina [4–6]. Saginur et al. demostraron que las combinaciones rifampicina + ácido fusídico, rifampicina + vancomicina y rifampicina + ciprofloxacino mostraron actividad antibiofilm *in vitro* contra más del 90% de las cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) analizadas [7]. Nueve de once combinaciones de antibióticos evaluadas fueron activas contra *Staphylococcus* epidermidis; todas ellas contenían rifampicina [7]. En el Reactor de Biofilms del CDC, la combinación rifampicina + daptomicina mostró la mejor actividad contra biofilms de *S. aureus* y S. epidermidis, seguida de rifampicina + vancomicina [8]. En el mismo modelo, la combinación rifampicina + levofloxacino fue superior a rifampicina + linezolid y rifampicina + cotrimoxazol para biofilms de *S. aureus* sensible a meticilina (MSSA), mientras que rifampicina + linezolid fue la mejor combinación para MRSA [9]. Tanto moxifloxacino+rifampicina como doxiciclina+rifampicina fueron capaces de erradicar biofilms de *S. aureus* formadas en placas de microtitulación [10]. En un modelo de infección por S. epidermidis en conejos, las tasas de curación fueron más altas para las combinaciones que contenían rifampicina, es decir, rifampicina+vancomicina (90%) y rifampicina+minociclina (70%) [11]. En un modelo de infección por *S. aureus* en ratones, se obtuvieron resultados superiores con las combinaciones moxifloxacino + rifampicina y flucloxacilina + rifampicina en comparación con cada antibiótico por separado [12]. En un modelo similar, las combinaciones rifampicina + gentamicina (los mejores resultados), rifampicina + vancomicina y rifampicina + ceftazidima fueron superiores a gentamicina o vancomicina solas. La ceftazidima no mostró actividad

cuando se utilizó de manera individual [13]. Cuando se utiliza sola, la vancomicina presenta una actividad comparativamente baja contra biofilms estafilocócicas estudiadas *in vitro* o en modelos animales, al menos a las concentraciones alcanzables mediante administración sistémica y en las duraciones que pueden mantenerse con las estrategias actuales de administración local [8,11,14–22]. De manera similar, la mayoría de los informes (incluidos estudios *in vivo* en modelos de rata y oveja) muestran una baja actividad antibiofilm para linezolid cuando se utiliza como agente único; en algunos estudios se observa cierta actividad antibiofilm, pero nunca se logró la erradicación, incluso con tratamientos prolongados [9,18,23,24]. La administración intraperitoneal de daptomicina en ratas infectadas con *S. aureus* produjo una reducción de 3–4 log en la carga microbiana [25]. De forma similar, en un modelo murino de *S. aureus*, la daptomicina fue el antibiótico más activo entre los investigados [16]. La daptomicina mostró una actividad equivalente frente a biofilms de S. epidermidis en un modelo *in vitro* en comparación con la rifampicina [26]. La daptomicina liberada a partir de esferas de relleno óseo de sulfato de calcio produjo una reducción de 6 log en biofilms de S. epidermidis ya desde el día 1, y el efecto se mantuvo hasta el día 7 [27]. Sin embargo, también existen estudios en los que la daptomicina sola mostró poco o ningún efecto sobre los biofilms estafilocócicas [8, 18].

Varios estudios identificaron a las fluoroquinolonas como antibióticos con buena actividad frente a biofilms estafilocócicas. El moxifloxacino eliminó el 73% de los aislamientos de S. lugdunensis cultivados en biofilm [28]. En un modelo de jaula en ratas infectadas con *S. aureus*, dosis elevadas de levofloxacino lograron la mayor reducción en los recuentos de UFC [23]. El levofloxacino redujo el número de UFC en biofilms *in vitro* de *S. aureus* sensible a meticilina (MSSA) en 4–5 log [9]. Babushkina et al. reportaron una buena actividad de ciprofloxacino y levofloxacino frente a biofilms formadas por 15 cepas de *S. aureus* [22]. Asimismo, en el Reactor de Biofilms del CDC, el tratamiento con levofloxacino (solo o en combinación con rifampicina) produjo una reducción superior a 2 log en el número de UFC en biofilms de *S. aureus* [29]. En un modelo de implante murino de infección por *S. aureus*, el moxifloxacino solo no redujo significativamente los recuentos de UFC, aunque la combinación moxifloxacino+rifampicina sí lo hizo [12]. La fosfomicina fue eficaz contra biofilms de MSSA *in vitro* [20]. La combinación de fosfomicina con linezolid, minociclina, vancomicina o teicoplanina mostró una mayor actividad antibacteriana frente a aislados de MRSA en biofilms, en comparación con las combinaciones correspondientes basadas en rifampicina [30]. En un modelo de jaula en ratas con infección por MRSA, la combinación fosfomicina + rifampicina mostró la tasa de erradicación más alta (83%) [31]. Finalmente, las combinaciones antibióticas que contienen ácido fusídico han mostrado una fuerte actividad frente a biofilms de S. epidermidis, MSSA y MRSA en estudios *in vitro* [7,32]. Las combinaciones particularmente activas incluyen rifampicina + vancomicina + ácido fusídico, rifampicina + ciprofloxacino + ácido fusídico, daptomicina+ácido fusídico y linezolid + ácido fusídico.

Cutibacterium acnes

Los biofilms de *C. acnes* formadas sobre PMMA o aleaciones de titanio *in vitro* fueron más susceptibles a la gentamicina (y en menor medida al ciprofloxacino), mientras que el cefamandol y la vancomicina no mostraron actividad [33]. La doxiciclina y la minociclina mostraron una actividad antibiofilm superior en comparación con la eritromicina en un ensayo en placa de microtitulación [34]. En un estudio *in vitro* con 10 cepas de *C. acnes*, la doxiciclina mostró una actividad superior frente a biofilms en comparación con la vancomicina y la penicilina [35]. Utilizando un modelo de placa de microtitulación y 79 cepas de *C. acnes*, la rifampicina fue el único antibiótico con potencial para erradicar el biofilm de *C. acnes* [36]. En un modelo de cobayo con implantes infectados, la rifampicina sola no fue suficiente para erradicar el biofilm, pero cuando se combinó con otros antibióticos, especialmente daptomicina o vancomicina, se observó una eficacia mejorada [37].

Otras bacterias Gram positivas

En biofilms enterocócicas, las combinaciones linezolid + rifampicina [38], daptomicina + rifampicina, ciprofloxacino + rifampicina y daptomicina + ertapenem [39], así como rifampicina + vancomicina y rifampicina + meropenem [40], demostraron ser activas contra biofilms. La fosfomicina (sola o en combinación con daptomicina) mostró buena actividad *in vitro* e *in vivo* frente a biofilms de Enterococcus faecalis [41]. Presterl et al. observaron actividad de la vancomicina y del linezolid (pero no de la tigeciclina) contra biofilms formadas por estreptococos viridans [42]. En el caso de los biofilms formadas por estreptococos del grupo B, la combinación gentamicina+penicilina fue la más activa (la gentamicina sola fue activa contra algunas cepas, mientras que la penicilina sola mostró, como máximo, una actividad antibiofilm moderada) [43].

Bacterias Gram negativas

El ciprofloxacino posee una actividad antibiofilm bien documentada contra una amplia variedad de bacterias Gram negativas [5,6]. Otros antibióticos con actividad reportada contra biofilms formadas por Enterobacterales incluyen la fosfomicina (particularmente en combinación con colistina) [44], el meropenem [45,46], gentamicina+fosfomicina y gentamicina + ciprofloxacino [47], así como meropenem + ciprofloxacino [48]. Los datos sobre bacilos Gram negativos no fermentadores se limitan principalmente a *Pseudomonas aeruginosa*. Varios estudios han mostrado una buena actividad antibiofilm de la colistina, tanto sola [49] como en combinación con β-lactámicos (incluyendo meropenem y doripenem) [48,50–53]. Otros antibióticos con actividad demostrada frente a biofilms de *P. aeruginosa* incluyen meropenem [46,52], ceftazidima [53,54] y levofloxacino (y en menor medida ciprofloxacino) [55]. Las combinaciones potencialmente sinérgicas incluyen amikacina + fosfomicina [56], fosfomicina+ciprofloxacino y fosfomicina + levofloxacino [57], ceftazidima + azitromicina [54], y gentamicina+fosfomicina y gentamicina + ciprofloxacino [47]. En un amplio estudio *in vitro* sobre la susceptibilidad antibiótica combinada de biofilms de *P. aeruginosa*, la

combinación de alta dosis de tobramicina+meropenem resultó ser la más eficaz (activa contra el 56% de los aislados); la combinación más efectiva que no contenía alta dosis de tobramicina fue meropenem+amikacina (activa contra el 33% de los aislados) [58].

Candida spp.

Existen datos limitados sobre la actividad antibiofilm de los antifúngicos en general y, en particular, en el contexto de las infecciones de prótesis articulares (IAP). En un estudio *in vitro* con *Candida albicans* y *Candida* parapsilosis, las formulaciones lipídicas de anfotericina B, caspofungina y micafungina mostraron actividad antibiofilm. No se observó actividad (o fue mucho menor) con fluconazol, nistatina, terbinafina, voriconazol y ravuconazol [59]. En un modelo de catéter subcutáneo en ratas infectadas con *C. albicans*, la micafungina, la caspofungina y la anidulafungina redujeron significativamente el número de células, mientras que el fluconazol no tuvo efecto [60, 61]. En un modelo de catéter subcutáneo murino para *Candida glabrata*, la caspofungina (pero no el fluconazol) logró reducir significativamente la carga fúngica [62].

Algunas observaciones adicionales

Si bien la pregunta "¿Existen antibióticos con propiedades antibiofilm?" puede parecer sencilla a primera vista, esta revisión exhaustiva de la literatura identificó numerosos factores que complican la respuesta. Aunque una discusión detallada de estos aspectos está fuera del alcance de este documento de consenso, consideramos útil destacar). (unos puntos para orientar futuras investigaciones y estudios clínicos:(i) Muchos estudios *in vitro* se realizan en condiciones que carecen de relevancia fisiológica, y no está claro si estos modelos predicen la actividad antibiofilm *in vivo*; los resultados dependientes del modelo experimental son frecuentes [63]. (ii) Existe una falta de consenso sobre qué parámetros deben utilizarse para cuantificar la "susceptibilidad del biofilm". De hecho, hay una diferencia fundamental entre la prevención del biofilm, la inhibición de su maduración y su erradicación [64].(iii) En muchos estudios *in vitro* no está claro si las concentraciones y duraciones de tratamiento empleadas son clínicamente alcanzables, incluso con terapias prolongadas y/o locales.(iv) Se observan comúnmente diferencias dependientes de la cepa tanto en la capacidad de formación de biofilms como en su susceptibilidad, por lo que la extrapolación de resultados obtenidos con una o pocas cepas debe hacerse con cautela.(v) La mayoría de los estudios se enfocan en biofilms monoespecíficas, mientras que los biofilms infecciosas (también en el contexto de las IAP [3]) son con frecuencia polimicrobianas. Existe evidencia sustancial de que la composición del biofilm influye en la susceptibilidad antimicrobiana [65], lo cual debe tenerse en cuenta al extrapolar la actividad antimicrobiana observada en biofilms monomicrobianas a las polimicrobianas. (vi) Aunque parece razonable asumir que la mayoría de las IAP crónicas están relacionadas con biofilms, no está claro si el éxito de un antibiótico (o combinación) en un estudio clínico puede considerarse evidencia de actividad antibiofilm. No obstante, vale la pena señalar que, al menos en algunos casos (por ejemplo, combinaciones que contienen rifampicina para IAP estafilocócicas [66, 67] y ciprofloxacino para IAP por *Pseudomonas* [68], existe una fuerte correlación entre la actividad antibiofilm demostrada *in vitro* y mejores resultados clínicos.

En conclusión, existen antibióticos con actividad antibiofilm, aunque la evidencia se limita principalmente a estudios *in vitro* y en modelos animales. La evidencia de actividad contra biofilms estafilocócicas es sólida para la rifampicina y las combinaciones que la incluyen. Las fluoroquinolonas presentan una amplia actividad antibiofilm, cuyo espectro incluye estafilococos y bacterias Gram negativas. La colistina, la fosfomicina y el meropenem también muestran actividad contra biofilms formadas por algunas bacterias Gram negativas. En el caso de *C. acnes*, la evidencia es menos concluyente, pero las combinaciones que contienen rifampicina y/o doxiciclina parecen las más prometedoras. Entre los fármacos antifúngicos, los equinocandinos muestran la actividad antibiofilm más potente frente a *Candida spp.*

REFERENCIAS

1. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. Science. 1999;284(5418):1318–1322.
2. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin Microbiol Rev. 2002;15(2):167–193.
3. Lewis K. Persister cells, dormancy and infectious disease. Nat Rev Microbiol. 2007;5(1):48–56.
4. Ceri H, Olson ME, Stremick C, Read RR, Morck D, Buret A. The Calgary Biofilm Device: new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. J Clin Microbiol. 1999;37(6):1771–1776.
5. Gillis RJ, White KG, Choi KH, Wagner VE, Schweizer HP, Iglewski BH. Molecular basis of azithromycin-resistant *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. Antimicrob Agents Chemother. 2005;49(9):3858–3867.
6. Spoering AL, Lewis K. Biofilms and planktonic cells of *Pseudomonas aeruginosa* have similar resistance to killing by antimicrobials. J Bacteriol. 2001;183(23):6746–6751.
7. Zimmerli W, Widmer AF, Blatter M, Frei R, Ochsner PE. Role of rifampin for treatment of orthopedic implant-related staphylococcal infections: a randomized controlled trial. JAMA. 1998;279(19):1537–1541.
8. Trampuz A, Zimmerli W. Antimicrobial agents in orthopaedic surgery: prophylaxis and treatment. Drugs. 2006;66(8):1089–1105.
9. Hoffman LR, D'Argenio DA, MacCoss MJ, Zhang Z, Jones RA, Miller SI. Aminoglycoside antibiotics induce bacterial biofilm formation. Nature. 2005;436(7054):1171–1175.
10. Widmer AF, Gaechter A, Ochsner PE, Zimmerli W. Antimicrobial treatment of orthopedic implant-related infections with rifampin combinations. Clin Infect Dis. 1992;14(6):1251–1253.
11. Coraça-Huber DC, Fille M, Hausdorfer J, Pfaller K, Nogler M. *Staphylococcus aureus* biofilm formation and antibiotic susceptibility in orthopaedic implant-associated infections. Int J Artif Organs. 2012;35(9):713–721.
12. Molin S, Tolker-Nielsen T. Gene transfer occurs with enhanced efficiency in biofilms and induces multiple antibiotic resistance. Curr Opin Biotechnol. 2003;14(3):255–261.
13. Costerton JW, Ellis B, Lam K, Johnson F, Khoury AE. Mechanism of electrical enhancement of efficacy of antibiotics in killing biofilm bacteria. Antimicrob Agents Chemother. 1994;38(12):2803–2809.
14. Miquel S, Lagrafeuille R, Souweine B, Forestier C. Anti-biofilm activity as a health issue. Front Microbiol. 2016;7:592.
15. Batoni G, Maisetta G, Esin S. Antimicrobial peptides and their interaction with biofilms of medically relevant bacteria. Biochim Biophys Acta. 2016;1858(5):1044–1060.
16. Hentzer M, Givskov M. Pharmacological inhibition of quorum sensing for the treatment of chronic bacterial infections. J Clin Invest. 2003;112(9):1300–1307.
17. Kaplan JB. Biofilm dispersal: mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses. J Dent Res. 2010;89(3):205–218.
18. Desai DG, Liao KS, Cevallos ME, Trautner BW. Silver or nitrofurazone impregnation of urinary catheters has a minimal effect on uropathogen adherence. J Urol. 2010;184(6):2565–2571.
19. Raad II, Hanna HA, Boktour M, Chaiban G, Hachem R, Dvorak T, et al. Management of central venous catheters in patients with cancer and candidemia. Clin Infect Dis. 2004;38(8):1119–1127.

Autores: Lorenzo Drago, De Vecchi Elena, Logoluso Nicola, Fascione Fabrizio, Spinarelli Antonio, Logroscino Giandomenico, Ataollah Moshirabadi, Arciola Carla Renata

Autor de Correspondencia
Lorenzo Drago, Clinical Microbiology
University of Milan, Italy
Email: lorenzo.drago@unimi.it

PREGUNTA 27. ¿Es útil el ditiotreitol para alterar el biofilm en el líquido sinovial?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: Se ha demostrado que el ditiotreitol (DTT) altera el biofilm formado en los implantes ortopédicos y el líquido sinovial, mejorando así la recuperación bacteriana y la precisión diagnóstica de las infecciones articulares periprotésicas (IAP).

NIVEL DE EVIDENCIA: Moderado.

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 66 %, En desacuerdo 4 %, Abstención 33 % (Consenso Moderado).

JUSTIFICACIÓN

Las infecciones asociadas a biofilms, como las infecciones articulares periprotésicas (IAP), representan un desafío clínico significativo, principalmente debido a los biofilms que dificultan tanto el diagnóstico como el tratamiento. La formación de agregados de biofilms en el líquido sinovial se reconoce cada vez más como un factor que dificulta la identificación de patógenos [1]. La identificación precisa de patógenos es crucial para un tratamiento eficaz y mejores resultados. Los organismos dentro de estos agregados (biofilms) presentan un comportamiento metabólico diferente al de los microbios planctónicos, lo que dificulta tanto el diagnóstico como la eficacia terapéutica. La matriz extracelular del biofilm actúa como una barrera, impidiendo que las bacterias sean detectadas por los métodos de diagnóstico estándar [1,2]. En este contexto, se ha demostrado que el ditiotreitol (DTT), un agente reductor, rompe eficazmente los enlaces disulfuro dentro de la matriz del biofilm, lo que permite el cultivo de bacterias y mejora la recuperación de patógenos del líquido sinovial [2,3]. A diferencia de los métodos tradicionales basados en solución salina o la sonicación, que no son adecuados para el pretratamiento del biofilm en fluidos; el DTT ofrece una alternativa práctica y rentable. No requiere equipo especializado y ofrece una alta precisión diagnóstica [4]. Al romper los biofilms, el DTT facilita la recuperación de patógenos comunes, como *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, y también detecta bacterias gramnegativas y anaerobios de crecimiento lento como *Cutibacterium acnes*, que a menudo pasan desapercibidos con los métodos convencionales [2,4]. La capacidad de mejorar la recuperación de patógenos del líquido sinovial mediante DTT es crucial para guiar las estrategias de tratamiento adecuadas, especialmente en casos complejos con infecciones polimicrobianas. La evidencia proveniente de metaanálisis y estudios prospectivos respalda la fiabilidad del DTT, demostrando una sensibilidad de hasta el 91 % y una especificidad cercana al 99 % [1,2]. Estos hallazgos subrayan aún más el valor del DTT en el diagnóstico clínico, en particular para pacientes sometidos a evaluación por IAP.

El ditiotreitol (DTT) ha demostrado una alta sensibilidad y especificidad en la detección de patógenos en el líquido sinovial con biofilm, superando a los cultivos de tejidos estándar. En comparación con la sonicación, el DTT ha mostrado un rendimiento comparable o incluso superior en ciertos casos. Por ejemplo, un metaanálisis informó que el DTT tuvo una precisión diagnóstica del 86,7 %, ligeramente superior a la de la sonicación, que fue del 83,9 % [2]. Además, los valores de sensibilidad y especificidad del DTT fueron de 0,70 (IC95%: 0,62-0,77) y 0,99 (IC95%: 0,97-1), respectivamente, comparables a los de la sonicación (sensibilidad: 0,72; especificidad: 0,97), sin diferencias estadísticamente significativas entre ambos métodos (p= 0,14 para la sensibilidad y p= 5,5 para la especificidad). Estudios posteriores han demostrado que los cultivos de fluidos con DTT proporcionaron una mayor sensibilidad (91%) en comparación con los cultivos de tejidos estándar (79%). En particular, en casos donde no se sospechó infección antes de la cirugía, el DTT mostró un rendimiento excepcional, con una sensibilidad que alcanzó el 100%, en contraste con el 70% de la sonicación y el 50% de los cultivos de tejidos [3]. En infecciones polimicrobianas, el DTT aumenta la recuperación bacteriana de biofilms de especies mixtas, que a menudo pasan desapercibidas con los métodos convencionales. Además, aunque los datos actualmente son limitados, el potencial del DTT para alterar los biofilms fúngicas mediante la reducción de enlaces disulfuro sugiere que también podría facilitar la detección de patógenos fúngicos como *Candida albicans* y *Aspergillus spp.*, que son resistentes a los diagnósticos convencionales [4]. Otra observación proviene de Karbysheva et al., quienes han demostrado una mejor sensibilidad para la sonicación (73,8%) en comparación con el DTT (43,2%), con una especificidad comparable (98% y 94,6%, respectivamente) [5]. Otros estudios están explorando si la combinación de DTT con sonicación mejora la precisión y la sensibilidad en

el diagnóstico de IAP. Los resultados del estudio de Bakalakos et al. indicaron que, en comparación con la sonicación sola, la combinación de sonicación con DTT aumentó el recuento de colonias en aproximadamente 28,53 UFC/mL, lo que debería corresponder a una mayor probabilidad de detectar la infección [6]. A diferencia de la combinación de sonicación-DTT, la combinación de sonicación con un cóctel enzimático que consiste en dispersina B y proteinasa K no tuvo un efecto sinérgico en la eliminación de biofilms para el diagnóstico microbiológico de la IAP [7]. El DTT ofrece ventajas prácticas sobre la sonicación y los cultivos de tejidos. A diferencia de la sonicación, que requiere equipo especializado, el DTT es más accesible, rentable y fácil de usar, especialmente en entornos con recursos limitados. Además, el protocolo de pretratamiento de la DTT es más rápido y menos propenso a riesgos de contaminación en comparación con la sonicación y los cultivos de tejidos. Cabe destacar que el DTT mantiene su eficacia diagnóstica incluso en pacientes que han recibido antibióticos preoperatorios, un aspecto donde los métodos tradicionales suelen fallar [2,4]. Si bien el DTT es muy prometedor, persisten algunas limitaciones. Su papel en el diagnóstico de biofilms fúngicas requiere mayor investigación. Además, su eficacia puede variar según la composición del biofilm y el tipo de patógeno. Finalmente, la estandarización de los protocolos de DTT y el cumplimiento del momento adecuado de pretratamiento y la concentración [5,8] en todos los entornos clínicos son esenciales para garantizar resultados consistentes y fiables.

REFERENCIAS

1. Drago L., Romanò D., Fidanza A., et al. Dithiotreitol pre-treatment of synovial fluid samples improves microbiological counts in peri-prosthetic joint infection. International Orthopaedics, 2023.
2. Tsikopoulos K., Christofilos S.I., et al. Is sonication superior to dithiothreitol in diagnosis of periprosthetic joint infections? A meta-analysis. International Orthopaedics, 2022.
3. Sambri A., Cadossi M., et al. Is Treatment with Dithiothreitol More Effective THAn Sonication for the Diagnosis of Prosthetic Joint Infection?. Clinical Orthopaedics and Related Research, 2018.
4. Drago L., Signori V., et al. Use of Dithiothreitol to Improve the Diagnosis of Prosthetic Joint Infection. Journal of Orthopaedic Research, 2013.
5. Karbysheva S., Cabric S., Koliszak A. et al. Clinical evaluation of dithiothreitol in comparison with sonication for biofilm dislodgement in the microbiological diagnosis of periprosthetic joint infection. Diagn Microbiol Infect Dis. 2022 Jun;103(2):115679.
6. Bakalakos M., Ampadiotaki MM., Vlachos C., et al. Advancing Diagnostic Techniques for Implant-Related Infections: the Synergistic Effect of Sonication and Dithiothreitol. Maedica (Bucur). 2024 Sep;19(3):561-565.
7. Henríquez L., Martín C., Echeverz M., et al. Evaluation of the use of sonication combined with enzymatic treatment for biofilm removal in the microbiological diagnosis of prosthetic joint infection. Microbiol Spectr. 2024 Aug 6;12(8):e0002024.
8. Randau TM., Molitor E., et al. The Performance of a Dithiothreitol-Based Diagnostic System in Diagnosing Periprosthetic Joint Infection Compared to Sonication Fluid Cultures and Tissue Biopsies. Z Orthop Unfall. 2021 Aug;159(4):447-453. English..

Autores: Jessica Amber Jennings, Imre Sallai, Mojieb Manzary, Holger Rohde, Kordo Saeed, Elysia Masters, Hyonmin Choe, Hayat Mushcab, A.R. Tubbs

Autor de Correspondencia
Dr. J. Amber Jennings
Department of Biomedical Engineering
The University of Memphis, EE.UU.
Email: jjnnings@memphis.edu

PREGUNTA 28. En caso de infección polimicrobiana, ¿todos los patógenos participan sinérgicamente en la formación de biofilm o existe alguna influencia antagónica por parte de algunos organismos?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: No. Basado en la evidencia proveniente de estudios primarios, mayormente experimentos *in vitro*, algunos patógenos muestran sinergia en infecciones polimicrobianas, mientras que otros compiten por recursos. La presencia de otro microorganismo con frecuencia induce mayor expresión de factores de virulencia, tolerancia aumentada a antimicrobianos y peor pronóstico del paciente. La identificación de señales de *quorum sensing* para microorganismos antagónicos puede ser prometedora para el desarrollo de terapias que reduzcan la formación de biofilm.

NIVEL DE EVIDENCIA: Limitado.

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 90%, En desacuerdo 10%, Abstención 0% (Consenso Fuerte).

JUSTIFICACIÓN

El *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) es la cepa principal en el 50% de las infecciones osteomielíticas. Aunque las infecciones polimicrobianas son menos comunes, representan un subgrupo importante y se asocia a mayor gravedad. Para responder a esta pregunta se realizó una búsqueda exhaustiva en PubMed y Embase con términos como biofilm, infección polimicrobiana, coinfección, especies mixtas, sinergismo, antagonismo, interacciones microbianas, cooperación y competencia. Se identificaron 524 estudios, 290 se revisaron en texto completo y 40 se incluyeron para evaluación. Se excluyeron revisiones, estudios no relacionados con infecciones musculoesqueléticas y modelos matemáticos o artículos que no abordaban interacciones microbianas [10,9].

Once estudios investigaron interacciones entre microorganismos Gram negativos y Gram positivos, reportando 63% interacciones antagónicas. La mayoría evaluó la interacción entre *S. aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Aunque las interacciones pueden ser antagónicas, la competencia con *Pseudomonas* modifica la expresión génica y aumenta factores de virulencia. En inoculación temprana, el biofilm de *S. aureus* predomina con crecimiento relativo mayor que en monocultivo, indicando ventaja con *Pseudomonas*. Los hallazgos muestran interacciones competitivas y beneficiosas mutuas en patogenicidad y colonización. Esta interacción es inicialmente prohibitiva, pero se vuelve sinérgica; las primeras interacciones no dependen de proteínas hospedadoras (fibronectina, fibrinógeno o colágeno). En general, la investigación *in vitro* e *in vivo* sugiere que estas bacterias cooperan inicialmente para colonizar y aumentar virulencia, pero después disminuyen estas funciones y ocupan nichos distintos, con *S. aureus* en la capa superficial de la herida y *Pseudomonas* en capas profundas [3,4,11].

Otros estudios resaltan un papel antagónico fuerte de *S. aureus* contra *Pseudomonas* mediante proteínas de superficie como la proteína A de *Staphylococcus* (Spa), que inhibe la formación de biofilm de *S. aureus*. *Pseudomonas* contraataca enmascarando sus proteínas para evitar unión a Spa y continuar el biofilm [5-7]. *Pseudomonas* desarrolló sistemas de quorum sensing que le dan ventaja en coinfecciones con Gram positivos como *S. epidermidis*.[12]

En hueso mineralizado, estafilococos actúan como agentes nocivos, con modelos de osteomielitis mostrando que Gram positivos superan a Gram negativos en hueso. Modelos preclínicos en vivo con A. baumannii, *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus* indican que *S. aureus* desplaza otras especies en hueso o implantes, gracias a mecanismos de virulencia que le permiten prosperar [10-13]. Otros reportes reflejan sinergia entre estas especies; en un modelo murino, la colonización aumentada de *Pseudomonas* en hueso estuvo asociada a *S. aureus*. Las *Pseudomonas* formadora de biofilm se hallan en los tejidos profundos, sangre y tractos respiratorios, por lo que la fuente del aislado y la superficie modelada son cruciales para estudios *in vitro*. La interacción a nivel celular entre Gram positivos y negativos sigue a veces la "supervivencia del más apto" [1,6,3].

Trece estudios exploraron interacciones entre Gram positivos y hongos, con mayoría hallando sinergia. Los biofilms polimicrobianos brindan ventajas de supervivencia como resistencia pasiva, donde un miembro protege al resto de antimicrobianos o inmunidad. En *Candida-Staphylococcus*, la sinergia se debe a hifas de *Candida* que sirven de sustrato

para adherencia de *S. aureus*, fomentando el fenotipo biofilm. Coagulinas de *S. aureus* crean escudo de fibrina protegiendo a *Candida* de fagocitosis. Moléculas quorum sensing de *Candida* como farnesol actúan como estresores, pero la sensibilización incrementa tolerancia a antimicrobianos y células inmunes. *Candida* produce PGE2 a partir de ácido araquidónico, mediador proinflamatorio e inductor potente de biofilm en *S. aureus*. Esta sinergia se confirma en modelos animales con aumento de virulencia, resistencia y mortalidad [5,7,8].

Solo tres estudios evaluaron interacciones entre Gram negativos y hongos, todos con *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*. Aunque efectos generales son antagónicos con predominio de *Pseudomonas*, la expresión aumentada de factores de virulencia hace difícil tratar infecciones polimicrobianas [21-23].

Nueve estudios exploraron interacciones entre diferentes Gram negativos o entre Gram positivos, donde competencia entre Gram negativos suele resultar en sinergia o efectos aditivos [24-26]. Dos estudios cubrieron cepas diferentes de Gram positivos, con sinergia o antagonismo según cepa.

En conclusión, estos estudios tienen limitaciones que afectan la fortaleza de la recomendación. Predominan estudios *in vitro* y pocos abordan interacciones polimicrobianas patogénicas en infecciones musculoesqueléticas clínico. Sin embargo, emergen temas comunes: incremento de virulencia, manipulación inmunitaria y tolerancia antimicrobiana de biofilms polimicrobianos. Microorganismos en comunidades biofilm estructuradas contribuyen con "bienes públicos" como coagulinas por *Staphylococos*, vesículas extracelulares por *Candida* y clorobenzoato producido por la *Klebsiella*. Se requiere bases de datos curadas de interacciones para guiar decisiones clínicas y desarrollar estrategias de tratamiento innovadoras.

REFERENCIAS

1. Dudareva M, Hotchen AJ, Ferguson J, et al. The microbiology of chronic osteomyelitis: Changes over ten years. J Infect. 2019;79:189-198.
2. Jorge LS, Fucuta PS, Oliveira MGL, et al. Outcomes and Risk Factors for Polymicrobial Posttraumatic Osteomyelitis. J Bone Jt Infect. 2018;3:20-26.
3. Alves PM, Al-Badi E, Withycombe C, et al. Interaction between *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* is beneficial for colonisation and pathogenicity in a mixed biofilm. Pathog Dis. 2018;76.
4. Miller CL, Van Laar TA, Chen T, et al. Global transcriptome responses including small RNAs during mixed-species interactions with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Microbiologyopen. 2017;6.
5. Armbruster CR, Wolter DJ, Mishra M, et al. *Staphylococcus aureus* Protein A Mediates Interspecies Interactions at the Cell Surface of *Pseudomonas aeruginosa*. mBio. 2016;7.
6. Chew SC, Yam JKH, Matysik A, et al. Matrix Polysaccharides and SiaD Diguanylate Cyclase Alter Community Structure and Competitiveness of *Pseudomonas aeruginosa* during Dual-Species Biofilm Development with *Staphylococcus aureus*. mBio. 2018;9.
7. Dittmer M, Brill FHH, Kampe A, et al. Quantitative Insights and Visualization of Antimicrobial Tolerance in Mixed-Species Biofilms. Biomedicines. 2023;11.
8. Singh PK, Yadav VK, Kalia M, et al. *Pseudomonas aeruginosa* auto inducer 3-oxo-C12-HSL exerts bacteriostatic effect and inhibits *Staphylococcus epidermidis* biofilm. Microb Pathog. 2017;110:612-619.
9. Jennings J, Beenken K, Smeltzer M, et al. Preclinical models of polymicrobial infection for evaluation of antimicrobial combination devices. Selected Technical Papers. 2020.
10. Pastar I, Nusbaum AG, Gil J, et al. Interactions of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* USA300 and *Pseudomonas aeruginosa* in polymicrobial wound infection. PLoS One. 2013;8:e56846.
11. Banerjee J, Ghatak PD, Roy S, et al. Silver-zinc redox-coupled electroceutical wound dressing disrupts bacterial biofilm. PLoS One. 2015;10:e0119531.
12. Boles LR, Awais R, Beenken KE, et al. Local Delivery of Amikacin and Vancomycin from Chitosan Sponges Prevent Polymicrobial Implant-Associated Biofilm. Mil Med. 2018;183:459-465.
13. Collinet-Adler S, Castro CA, Ledonio CG, et al. Acinetobacter baumannii is not associated with osteomyelitis in a rat model: a pilot study. Clin Orthop Relat Res. 2011;469:274-282.
14. Jennings J, Haggard W, Beenken K, et al. Preclinical models of polymicrobial infection for evaluation of antimicrobial combination devices. Symposium on Antimicrobial Combination Devices. ASTM International; 2020. p. 26-37.
15. Sanchez CJ, Mende K, Beckius ML, et al. Biofilm formation by clinical isolates and the implications in chronic infections. BMC Infect Dis. 2013;13:1-12.
16. Zago CE, Silva S, Sanita PV, et al. Dynamics of biofilm formation and the interaction between *Candida albicans* and methicillin-susceptible MSSA and -resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). PLoS One. 2015;10:e0123206.
17. Fehrmann C, Jurk K, Bertling A, et al. Role for the fibrinogen-binding proteins coagulase and Efb in the *Staphylococcus aureus-Candida* interaction. Int J Med Microbiol. 2013;303:230-238.
18. Vila T, Kong EF, Ibrahim A, et al. *Candida albicans* quorum-sensing molecule farnesol modulates staphyloxanthin production and activates the thiol-based oxidative-stress response in *Staphylococcus aureus*. Virulence. 2019;10:625-642.
19. Krause J, Geginat G, Tammer I. Prostaglandin E2 from *Candida albicans* Stimulates the Growth of *Staphylococcus aureus* in Mixed Biofilms. PLoS One. 2015;10:e0135404.
20. Hu Y, Niu Y, Ye X, et al. *Staphylococcus aureus* synergized with *Candida albicans* to increase the pathogenesis and drug resistance in cutaneous abscess and peritonitis murine models. Pathogens. 2021;10:1036.
21. Purschke FG, Hiller E, Trick I, et al. Flexible survival strategies of *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms result in increased fitness compared with *Candida albicans*. Mol Cell Proteomics. 2012;11:1652-1669.
22. Mochochoko BM, Ezeokoli OT, Sebolai O, et al. Role of the high-affinity reductive iron acquisition pathway of *Candida albicans* in prostaglandin E2 production, virulence, and interaction with *Pseudomonas aeruginosa*. Medical Mycology. 2021;59:869-881.
23. Bandara H, Yau J, Watt R, et al. *Pseudomonas aeruginosa* inhibits *in-vitro Candida* biofilm development. BMC Microbiol. 2010;10:1-9.
24. Bin Mohammad Muzaki MZ, Subramoni S, Summers S, et al. *Klebsiella pneumoniae* AI-2 transporters mediate interspecies interactions and composition in a three-species biofilm community. NPJ Biofilms Microbiomes. 2024;10:91.
25. Settem RP, El-Hassan AT, Honma K, et al. Fusobacterium nucleatum and Tannerella forsythia induce synergistic alveolar bone loss in a mouse periodontitis model. Infect Immun. 2012;80:2436-2443.
26. Varposhti M, Entezari F, Feizabadi MM. Synergistic interactions in mixed-species biofilms of pathogenic bacteria from the respiratory tract. Rev Soc Bras Med Trop. 2014;47:649-652.
27. Carothers KE, Liang Z, Mayfield J, et al. The Streptococcal Protease SpeB Antagonizes the Biofilms of the Human Pathogen *Staphylococcus aureus* USA300 through Cleavage of the Staphylococcal SdrC Protein. J Bacteriol. 2020;202.
28. Trivedi U, Madsen JS, Everett J, et al. *Staphylococcus aureus* coagulases are exploitable yet stable public goods in clinically relevant conditions. Proc Natl Acad Sci U S A. 2018;115:E11771-E11779.
29. Zarnowski R, Massey J, Mitchell AP, et al. Extracellular Vesicles Contribute to Mixed-Fungal Species Competition during Biofilm Initiation. mBio. 2022;13:e0298822.
30. Lee KW, Periasamy S, Mukherjee M, et al. Biofilm development and enhanced stress resistance of a model, mixed-species community biofilm. ISME J. 2014;8:894-907.

Autores: John L. Hamilton, Adrienn Markovics, Lauren B. Priddy y Edward M. Schwarz

Autor de Correspondencia
Dr. Lauren B. Priddy
Department of Agricultural and Biological Engineering
Mississippi State University,
Mississippi State, MS, EE.UU.
Email: lbpriddy@abe.msstate.edu

PREGUNTA 29. ¿Existen avances tecnológicos en la creación de portadores inteligentes de antibióticos en la lucha contra los biofilms?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: Sí, se han realizado avances tecnológicos significativos en portadores inteligentes de antibióticos para combatir los biofilms. Existe una amplia evidencia preclínica que respalda innovaciones que mejoran la administración de antibióticos, la penetración en biofilms y la eficacia antibiofilm global. Sin embargo, la validación clínica aún es necesaria. Los ensayos de Fase I y II serán esenciales para establecer la seguridad y eficacia en pacientes.

NIVEL DE EVIDENCIA: Fuerte.

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 100%, En desacuerdo 0%, Abstención 0% (Consenso Total).

JUSTIFICACIÓN

Los biofilms bacterianas contribuyen a fallos en implantes ortopédicos e infecciones musculoesqueléticas crónicas. Estas comunidades microbianas, rodeadas por una sustancia polimérica extracelular, forman barreras protectoras que dificultan la penetración de antibióticos y las respuestas inmunitarias [2,3]. Las infecciones asociadas a biofilms, incluyendo infecciones periprotésicas, osteomielitis e infecciones relacionadas con fracturas, son difíciles de tratar y a menudo requieren cirugía combinada con terapia antibiótica prolongada. Los sistemas innovadores de administración de fármacos pueden mejorar la penetración de antibióticos y lograr liberación localizada en biofilms bacterianos [1].

Los materiales inteligentes, también conocidos como materiales inteligentes o sensibles al entorno, pueden servir como portadores avanzados de antibióticos, mejorando la eficacia antibiótica contra biofilms mediante sus propiedades fisicoquímicas especializadas. Estos portadores inteligentes mejoran la eficacia antibiótica a través de diversos mecanismos, incluyendo 1) la mejora de la penetración y retención de antibióticos dentro de biofilms bacterianos, 2) facilitando la acumulación dirigida de antibióticos en los sitios de infección y/o 3) permitiendo una liberación precisa y sensible a estímulos de antibióticos para un efecto antimicrobiano óptimo. Estas características son críticas considerando el microambiente único en los biofilms y la adaptación metabólica de las bacterias residentes en ellas.

Los biofilms dificultan significativamente la eficacia antibiótica por múltiples mecanismos de defensa, complicando el tratamiento de infecciones [4,5]. La matriz de la sustancia polimérica extracelular actúa como barrera física, restringiendo la penetración de antibióticos. Además, las bacterias en estado latente dentro del biofilm presentan tolerancia antibiótica, mientras que las bombas de expulsión activamente expulsan los antimicrobianos, disminuyendo aún más su efectividad [7;8]. Adicionalmente, las enzimas bacterianas asociadas a biofilms, incluyendo β-lactamasas, enzimas modificadoras de aminoglucósidos y esterasa de macrólidos, degradan los antibióticos antes de que alcancen sus objetivos celulares, lo que puede volver ineficaces los tratamientos [9,10]. Debido a estos mecanismos de defensa, las bacterias en biofilms pueden ser hasta mil veces más resistentes a los antibióticos en comparación con sus contrapartes planctónicas (flotantes) [5,11].

Para responder a si existen avances tecnológicos en la creación de portadores inteligentes de antibióticos en la lucha contra biofilms, se realizó una búsqueda sistemática en PubMed usando los términos ("Antibiotic") AND ("Biofilms"[MeSH] OR "Microbial Biofilms" OR "Bacterial Biofilms" OR "Biofilm-associated infections") AND ("Smart" OR "Smart Materials" OR "Carrier") NOT ("Review"[Publication Type]). Los criterios de inclusión fueron: (1) estudios que reportaran portadores antibióticos novedosos con características inteligentes para el objetivo de biofilms, (2) publicados en los últimos cinco años, y (3) que presentaran datos *in vitro* y/o *in vivo*. Los criterios de exclusión fueron estudios no relacionados con portadores inteligentes dirigidos a biofilms. De 66 artículos recuperados, 30 se incluyeron para revisión por relevancia y 36 fueron excluidos.

Avances tecnológicos en portadores inteligentes de antibióticos

▪ ***Portadores antibióticos sensibles al pH***: Estos portadores aprovechan el microambiente ácido del biofilm (pH ~5,5–6,5) para mejorar la eficacia del fármaco a través de la reversión de carga, aumentando la retención del antibiótico

en el biofilm y/o la liberación controlada de antibióticos [12]. Deiss-Yehiely et al. (2023) desarrollaron nanopartículas capa por capa con reversión de carga desencadenada por pH, logrando una reducción bacteriana 3,2 veces mayor con tobramicina en biofilms de *Pseudomonas aeruginosa* [13]. Cui et al. (2022) diseñaron vesículas sensibles al pH que cambiaron su carga y liberaron >90% de apramicina a pH 5,5, mejorando la penetración y erradicación de biofilms [14]. Hu et al. (2024) desarrollaron un recubrimiento antibacterial zwitteriónico para implantes de titanio que repelió bacterias inicialmente y liberó gentamicina tras hidrólisis acidotrigada, reduciendo la adhesión bacteriana en un 90% y erradicando eficazmente biofilms en modelos de ratas [15].

▪ ***Portadores antibióticos sensibles a enzimas:*** Estos portadores usan enzimas bacterianas para desencadenar la liberación dirigida del fármaco, mejorando la ruptura de biofilms. Sun et al. (2019) desarrollaron esferas huecas de nitruro de carbono sensibles a hialuronidasa, recubiertas con ácido hialurónico [16]. En biofilms de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM), la hialuronidasa bacteriana degradó el ácido hialurónico, liberando secuencialmente inhibidores de quorum sensing (QSIs) y ampicilina. La inhibición de quorum sensing debilitó las defensas del biofilm y potenció la eficacia antibiofilm de la ampicilina [16].

▪ ***Portadores antibióticos sensibles a especies*** reactivas de oxígeno (ROS): Estos portadores explotan el estrés oxidativo de las infecciones para liberar antibióticos, mejorar la penetración en biofilms y desactivar defensas bacterianas, asegurando liberación localizada del fármaco. Stavrakis et al. (2016) desarrollaron un recubrimiento polimérico PEG-PPS sensible a ROS para implantes, que proporciona liberación de antibiótico pasiva y activada por oxidación [17]. En un modelo murino de infección postartroplastia, implantes recubiertos con PEG-PPS-tigeciclina previnieron completamente la colonización bacteriana, y el recubrimiento biodegradable se degradó en 14 días, evitando la retención prolongada de material extraño [17].

▪ ***Portadores antibióticos sensibles a luz:*** Estos portadores utilizan luz para permitir la liberación dirigida del fármaco, la ruptura de biofilms y la mejora en la administración de antibióticos mediante generación de calor o ROS [18]. Alenezi et al. (2019) desarrollaron un recubrimiento para liberación de fármacos inducido por fotones mediante films poliméricos con nanobarras de oro incorporadas. La irradiación con luz infrarroja cercana desencadenó transición de fase polimérica, liberando vancomicina bajo demanda e inhibiendo biofilms de *Staphylococcus epidermidis*, mientras que las muestras no irradiadas retuvieron el fármaco [19].

▪ ***Portadores antibióticos sensibles al calor:*** Estos portadores, que incluyen hidrogeles, nanopartículas y recubrimientos poliméricos, permiten la liberación dirigida y bajo demanda del fármaco. Los hidrogeles sufren transiciones de fase, las nanopartículas se degradan y los recubrimientos poliméricos liberan fármacos bajo calentamiento por inducción [20]. Kwan et al. (2023) desarrollaron recubrimientos poliméricos sensibles al calor en implantes de titanio para la liberación controlada de rifampicina. El recubrimiento de poli (éster amida) permitió la liberación lenta de rifampicina durante más de 100 días sin calor, pero aceleró la liberación (26% en 1 hora) con calentamiento por inducción (50 °C) [21]. Esta sinergia entre calor y fármaco logró una reducción bacteriana >99,9% en biofilms de *Staphylococcus aureus* mientras minimizaba el daño tisular [21].

▪ ***Portadores antibióticos sensibles a ultrasonido:*** Estos portadores pueden mejorar la liberación del fármaco y la disrupción de biofilms. Xiu et al. (2023) desarrollaron microburbujas catalíticas activadas por ultrasonido con una cubierta de nanopartículas de Fe_3O_4 encapsulando piperacilina. La ultrasonografía (400–900 kHz) indujo liberación rápida de piperacilina (~83,2%), disrupción física de biofilms y aumento de la penetración en biofilms (incremento 6,3 veces) [22]. Las nanopartículas de Fe_3O_4 generaron ROS, degradando biofilms y matando bacterias, además de activar macrófagos para potenciar el aclaramiento inmune. En un modelo murino de infección pulmonar, el tratamiento con microburbujas y ultrasonido redujo significativamente la carga de biofilms [22].

▪ ***Portadores antibióticos guiados magnéticamente:*** Estos portadores utilizan nanopartículas magnéticas para mejorar la administración del fármaco, la penetración en biofilms y la eliminación bacteriana bajo un campo magnético externo. Quan et al. (2019) desarrollaron nanopartículas magnéticas conjugadas con gentamicina, que lograron distribución homogénea en biofilms tras 5 minutos de exposición al campo magnético, confirmada por microscopía confocal, y resultaron en una eliminación bacteriana superior a la gentamicina libre [23]. Bhuyan et al. (2020) introdujeron micromotores derivados de brotes de té recubiertos con nanopartículas magnéticas para la disrupción mecánica de biofilms y liberación de ciprofloxacino en ambientes ácidos [24].

▪ ***Portadores antibióticos que mejoran la penetración en biofilms:*** Lee et al. (2022) demostraron que nanopartículas híbridas recubiertas con lípidos cargadas con vancomicina, con núcleo de poli(láctico-co-glicólico) (PLGA) y capa catiónica de dioleoil-3-trimetilamonio propano (DOTAP), mejoran la penetración de antibióticos en biofilms de *S. aureus* mediante interacciones electrostáticas, logrando una eliminación bacteriana del 99.99% [25]. Ferreira et al. (2021) evidenciaron que liposomas cargados con rifabutina y carga negativa presentan mayor penetración en biofilms y eliminación de bacterias en biofilms de *S. epidermidis*, superando significativamente a los antibióticos libres [26]. Para el tratamiento de osteomielitis, Kadry et al. (2004) encapsularon ciprofloxacino y vancomicina en formulaciones liposomales, logrando esterilización ósea total en un modelo de osteomielitis crónica en conejos con terapia intravenosa liposomal, mientras que la combinación de vancomicina y ciprofloxacino intravenosa no alcanzó esta esterilización completa [27].

▪ ***Portadores de antibióticos que se unen a tejidos con biofilms:*** Los portadores con afinidad para tejidos mejoran la administración dirigida del fármaco a tejidos específicos, asegurando liberación localizada. Ren et al. (2023)

desarrollaron sitafloxacino conjugado con hidroxi-bisfosfonato (HBCS) para administración dirigida al hueso en osteomielitis por MRSA. En un modelo murino de infección en placa femoral, la administración intravenosa de HBCS combinada con vancomicina redujo significativamente la carga bacteriana, previno fracturas catastróficas y mejoró la cicatrización ósea e integración del implante [28]. En un modelo de infección en implante transtibial por MRSA, HBCS superó tanto a la vancomicina intravenosa como a la monoterapia con sitafloxacino, demostrando una mayor reducción de biofilms y mejor direccionamiento a la infección ósea [28].

▪ ***Portadores de antibióticos que se unen a biofilms:*** Portadores con funcionalización para unión a biofilms, tales como liposomas funcionalizados con aptámeros, aumentan la acumulación localizada del fármaco, asegurando concentraciones más altas en sitios de biofilms. Ommen et al. (2022) desarrollaron liposomas funcionalizados con aptámeros dirigidos a biofilms de *S. aureus in vitro* [29]. El aptámero SA31 mostró alta afinidad para biofilms de *S. aureus*, facilitando la penetración profunda y retención de liposomas. La microscopía confocal confirmó la distribución extensa de liposomas en el biofilm. Estos liposomas cargados con vancomicina y rifampicina lograron una erradicación superior de biofilms *in vitro* en comparación con liposomas no dirigidos [29].

Portadores inteligentes de antibióticos: camino a la aplicación clínica

A pesar del éxito preclínico, los portadores inteligentes para biofilms bacterianos enfrentan desafíos de biocompatibilidad, regulatorios y de escalabilidad, retrasando su traducción clínica [30]. Estos sistemas requieren una rigurosa validación del control de liberación del fármaco, seguridad a largo plazo y capacidad de manufactura, al tiempo que enfrentan desafíos farmacocinéticos como la eliminación inmune y toxicidad [30]. Los liposomas destacan como portadores antibióticos clínicamente validados. Arikayce® (amikacina liposomal) fue el primer antibiótico liposomal aprobado por la FDA en 2018 para infecciones pulmonares por micobacterias no tuberculosas, y se está evaluando en pacientes con infecciones crónicas por *P. aeruginosa* con fibrosis quística [31]. Sin embargo, los portadores inteligentes requerirán ensayos en fases I y II para establecer su seguridad y eficacia, particularmente en infecciones ortopédicas. Además, se necesitan investigaciones clínicas para confirmar el papel específico de estos portadores en la eficacia anti-biofilm. Desarrollar un biomarcador estándar de oro, mínimamente invasivo, para la carga de biofilms en entornos clínicos, como imágenes avanzadas o diagnósticos moleculares, mejoraría la evaluación longitudinal de la eficacia terapéutica dirigida a biofilms [32,33].

En conclusión, se han logrado avances tecnológicos en el desarrollo de portadores inteligentes de antibióticos dirigidos a combatir los biofilms bacterianas, una causa principal de fallos en implantes ortopédicos e infecciones musculoesqueléticas persistentes. La investigación preclínica demuestra que estos portadores innovadores mejoran la penetración, administración dirigida y erradicación de biofilms. Estos avances representan un paso significativo, proporcionando estrategias para superar los robustos mecanismos defensivos empleados por los biofilms. Sin embargo, aunque la evidencia preclínica es sólida, la validación clínica mediante rigurosos ensayos de Fase I y II sigue siendo imprescindible para establecer su seguridad, eficacia y utilidad clínica.

REFERENCIAS

1. Dhillon MS, Hooda A, Moriarty TF, et al. Biofilms-What Should the Orthopedic Surgeon know? Indian J Orthop. 2023;57:44-51.
2. Flemming HC, Wingender J. The biofilm matrix. Nat Rev Microbiol. 2010;8:623-633.
3. Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. Nat Rev Microbiol. 2004;2:95-108.
4. Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. Lancet. 2001;358:135-138.
5. Hall CW, Mah TF. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. FEMS Microbiol Rev. 2017;41:276-301.
6. Flemming HC, Wingender J, et al. Biofilms: an emergent form of bacterial life. Nat Rev Microbiol. 2016;14:563-575.
7. Lewis K. Persister cells, dormancy and infectious disease. Nat Rev Microbiol. 2007;5:48-56.
8. Soto SM. Role of efflux pumps in the antibiotic resistance of bacteria embedded in a biofilm. Virulence. 2013;4:223-229.
9. Kaplan JB. Antibiotic-induced biofilm formation. Int J Artif Organs. 2011;34:737-751.
10. Breidenstein EB, de la Fuente-Nunez C, Hancock RE. *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance. Trends Microbiol. 2011;19:419-426.
11. Nickel JC, Ruseska I, et al. Tobramycin resistance of *Pseudomonas aeruginosa* cells growing as a biofilm on urinary catheter material. Antimicrob Agents Chemother. 1985;27:619-624.
12. Sousa A, Phung AN, et al. Smart delivery systems for microbial biofilm therapy: Dissecting design, drug release and toxicological features. J Control Release. 2023;354:394-416.
13. Deiss-Yehiely E, Carcamo-Oyarce G, Berger AG, et al. pH-Responsive, Charge-Reversing Layer-by-Layer Nanoparticle Surfaces Enhance Biofilm Penetration and Eradication. ACS Biomater Sci Eng. 2023;9:4794-4804.
14. Cui S, Qiao J, Xiong MP. Antibacterial and Biofilm-Eradicating Activities of pH-Responsive Vesicles against *Pseudomonas aeruginosa*. Mol Pharm. 2022;19:2406-2417.
15. Hu Q, Du Y, Bai Y, et al. Smart zwitterionic coatings with precise pH-responsive antibacterial functions for bone implants to combat bacterial infections. Biomater Sci. 2024;12:4471-4482.
16. Sun Y, Qin H, Yan Z, et al. Combating Biofilm Associated Infection *In vivo*: Integration of Quorum Sensing Inhibition and Photodynamic Treatment based on Multidrug Delivered Hollow Carbon Nitride Sphere. Adv Funct Mater. 2019;29:1808222.
17. Stavrakis AI, Zhu S, Hegde V, et al. *In vivo* Efficacy of a "Smart" Antimicrobial Implant Coating. J Bone Joint Surg Am. 2016;98:1183-1189.
18. Kauser A, Parisini E, Suarato G, et al. Light-Based Anti-Biofilm and Antibacterial Strategies. Pharmaceutics. 2023;15.
19. Alenezi A, Hulander M, Atefyekta S, et al. Development of a photon induced drug-delivery implant coating. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2019;98:619-627.
20. Karimi M, Sahandi Zangabad P, Ghasemi A, et al. Temperature-Responsive Smart Nanocarriers for Delivery Of Therapeutic Agents: Applications and Recent Advances. ACS Appl Mater Interfaces. 2016;8:21107-21133.
21. Kwan JC, Flannagan RS, Vasquez Pena M, et al. Induction Heating Triggers Antibiotic Release and Synergistic Bacterial Killing on Polymer-Coated Titanium Surfaces. Adv Healthc Mater. 2023;12:e2202807.
22. Xiu W, Ren L, Xiao H, et al. Ultrasound-responsive catalytic microbubbles enhance biofilm elimination and immune activation to treat chronic lung infections. Sci Adv. 2023;9:eade5446.
23. Quan K, Zhang Z, Ren Y, et al. Homogeneous Distribution of Magnetic, Antimicrobial-Carrying Nanoparticles through an Infectious Biofilm Enhances Biofilm-Killing Efficacy. ACS Biomater Sci Eng. 2020;6:205-212.
24. Bhuyan T, Simon AT, Maity S, et al. Magnetotactic T-Budbots to Kill-n-Clean Biofilms. ACS Appl Mater Interfaces. 2020;12:43352-43364.
25. Lee HW, Kharel S, Loo SCJ. Lipid-Coated Hybrid Nanoparticles for Enhanced Bacterial Biofilm Penetration and Antibiofilm Efficacy. ACS Omega. 2022;7:35814-35824.
26. Ferreira M, Pinto SN, Aires-da-Silva F, et al. Liposomes as a Nanoplatform to Improve the Delivery of Antibiotics into *Staphylococcus aureus* Biofilms. Pharmaceutics. 2021;13.
27. Kadry AA, Al-Suwayeh SA, Abd-Allah AR, et al. Treatment of experimental osteomyelitis by liposomal antibiotics. J Antimicrob Chemother. 2004;54:1103-1108.
28. Ren Y, Weeks J, Xue T, et al. Evidence of bisphosphonate-conjugated sitafloxacin eradication of established methicillin-resistant *S. aureus* infection with osseointegration in murine models of implant-associated osteomyelitis. Bone Res. 2023;11:51.
29. Ommen P, Hansen L, Hansen BK, et al. Aptamer-Targeted Drug Delivery for *Staphylococcus aureus* Biofilm. Front Cell Infect Microbiol. 2022;12:814340.

30. Eleraky NE, Allam A, Hassan SB, et al. Nanomedicine Fight against Antibacterial Resistance: An Overview of the Recent Pharmaceutical Innovations. Pharmaceutics. 2020;12.
31. Bilton D, Pressler T, Fajac I, et al. Amikacin liposome inhalation suspension for chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. J Cyst Fibros. 2020;19:284-291.
32. Silva NBS, Marques LA, Roder DDB. Diagnosis of biofilm infections: current methods used, challenges and perspectives for the future. J Appl Microbiol. 2021;131:2148-2160.
33. Locke LW, Shankaran K, Gong L, et al. Evaluation of Peptide-Based Probes toward *In vivo* Diagnostic Imaging of Bacterial Biofilm-Associated Infections. ACS Infect Dis. 2020;6:2086-2098.

Autores: Ali Parsa, Matthias D Wimmer, Neil P Sheth, Kordo Saeed, Noreen Hickok, Jiri Gallo, Sales Lais Seriacopi, Miklos Keszrg, Edward M Schwarz, Javad Parvizi

Autor de Correspondencia
Javad Parvizi MD
Email: javadparvizi@gmail.com

PREGUNTA 30. ¿Qué condiciones deben existir para que las bacterias se conviertan en patógenas dentro de una articulación?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: Una lista de factores que ilustran la interacción entre las vulnerabilidades del huésped y las estrategias de supervivencia bacteriana en infecciones articulares incluye:

a) Factores relacionados con el huésped: Estado inmunocomprometido (diabetes, artritis reumatoide, terapias inmunosupresoras), anemia, infecciones recurrentes en prótesis (IAP).
b) Factores del microambiente: Deprivación de nutrientes y oxígeno, niveles incrementados de Mg (20 veces más que en plasma), nivel y tiempo de reclutamiento de PMN en la articulación, integridad capsular, células de supernatantes similares a osteoblastos.
c) Factores de patogenicidad bacteriana: Capacidad para formar biofilms, supervivencia intracelular, tipos especiales como *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, escape de sistemas de quorum sensing y regulación de virulencia, estado del metabolismo del hierro bacteriano (*Pseudomonas*), infecciones polimicrobiales, propiedades de la matriz extracelular del biofilm, presencia de hifas fúngicas, mayor carga bacteriana inicial.
d) Topografía del implante: Superficies rugosas de los implantes, implantes sin cemento y recubrimientos de plasma potencialmente aumentan el riesgo de infección, creando localizaciones aisladas críticas donde la administración de antibióticos puede estar restringida y donde las bacterias pueden persistir. La adhesión del biofilm a estas superficies puede aumentar la virulencia bacteriana, incrementar la resistencia a antibióticos y producir condiciones donde las infecciones son más difíciles de tratar.

NIVEL DE EVIDENCIA: Moderada.

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 100%, En desacuerdo 0%, Abstención 0% (Consenso Total).

JUSTIFICACIÓN

Introducción

La infección periprotésica de la articulación (IAP) sigue siendo una complicación importante tras la cirugía de reemplazo articular, con una morbilidad significativa y aumento de costes sanitarios. La capacidad de las bacterias para establecer infecciones articulares depende de una compleja interacción entre factores del huésped y la patogenicidad bacteriana. Entre los factores relacionados con el huésped se cuentan la competencia inmunológica, el microambiente local en la articulación y condiciones preexistentes, mientras que entre los factores bacterianos destacan mecanismos de virulencia como la formación de biofilms, la supervivencia intracelular y la resistencia a la eliminación inmunitaria. Esta revisión sistemática tiene como objetivo identificar las condiciones que facilitan la patogenicidad bacteriana en el espacio articular, especialmente en el contexto de IAP.

Se realizó una búsqueda exhaustiva en las bases de datos PubMedMedLine y Science Direct usando términos MeSH relevantes a virulencia, patogenicidad, microambiente e infecciones articulares relacionadas con prótesis. De 992 estudios iniciales, 180 cumplieron los criterios tras revisión de resúmenes. Se analizaron con detalle textos completos y finalmente se seleccionaron 16 estudios para evaluar las condiciones que predisponen a que una bacteria se vuelva patógena en una articulación. Se extrajeron datos sobre diseño del estudio, factores identificados, resultados y limitaciones.

Los estudios incluidos comprendieron 4 de nivel III y 12 de nivel V. La mayoría se realizaron en Europa (9) o en Estados Unidos (5), con 2 en China. Los hallazgos más relevantes de los 16 estudios [8–23] se resumen en la Tabla 1.

Varios factores contribuyen a la patogenicidad bacteriana y su capacidad para proliferar dentro de una articulación, causando infección en articulaciones nativas o protésicas. Uno de los aspectos importantes es la capacidad del huésped para responder adecuadamente a la presencia bacteriana, incluyendo estados de inmunocompromiso. Condiciones como diabetes, artritis reumatoide y terapias inmunosupresoras incrementan la susceptibilidad a la infección mediante la supresión de la respuesta inmunitaria.

Otras condiciones asociadas con disminución de la competencia inmunológica incluyen tabaquismo, consumo excesivo de alcohol, insuficiencia renal o hepática, problemas cardiopulmonares, anemia y malignidad.

Alteraciones locales de la piel, como psoriasis o infecciones activas, también facilitan la siembra bacteriana. El estado nutricional del huésped y la deprivación local de oxígeno son aspectos importantes en el desarrollo de infecciones intraarticulares.

La carga bacteriana inicial es crítica: una mayor carga incrementa el riesgo de infección y evasion inmunológica. La patogenicidad bacteriana inherente incluye la capacidad de formar biofilms resistentes a antibióticos y a la respuesta inmune. Bacterias como *S. aureus* y *S. epidermidis* forman biofilms para evadir al huésped y regular colectivamente la virulencia mediante quorum sensing, que es un blanco terapéutico potencial. Además, *S. aureus* puede persistir intracelularmente en osteoblastos, lo que puede explicar recurrencias infecciosas.

Las infecciones polimicrobianas merecen especial atención, dado que algunas cepas bacterianas pueden actuar de manera sinérgica o compartir factores de resistencia. La superinfección fúngica no es infrecuente; la presencia de hifas fúngicas potencia la virulencia bacteriana, dificultando el tratamiento. De particular interés es *Pseudomonas aeruginosa*, que puede aprovechar el metabolismo del hierro dentro de la articulación para aumentar su virulencia. Por último, la topografía del implante representa un factor crítico. Las superficies rugosas promueven la formación de biofilms y contribuyen a la evasión del sistema inmune. Las geometrías complejas del implante originan localizaciones pequeñas y aisladas donde la administración de antibióticos puede ser limitada, permitiendo que las bacterias proliferen sin restricción.

En conclusión, numerosos factores críticos modulan la compleja relación entre las vulnerabilidades del huésped y las estrategias de supervivencia bacteriana. Cuando las condiciones favorecen la proliferación, la patogenicidad bacteriana aumenta y la probabilidad de infección articular se incrementa. Los factores relacionados con el huésped son prioritarios y cualquier comorbilidad que origine inmunocompromiso debe ser considerada. Entre estos factores se incluyen diabetes, artritis reumatoide, tabaquismo, insuficiencia renal o hepática, terapias inmunosupresoras, anemia y malignidad. El microambiente local es fundamental, con elementos como la deprivación de nutrientes y oxígeno, aumentos en niveles de Mg, niveles y tiempo de reclutamiento de PMN, integridad capsular y la influencia de células similares a osteoblastos en supernatantes. La patogenicidad bacteriana inherente incluye la capacidad de formar biofilms, supervivencia intracelular, ciertos tipos o cepas especiales como Staph *aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, mecanismos de evasión de quorum sensing y regulación de virulencia, metabolismo del hierro bacteriano, infecciones polimicrobianas, propiedades de la matriz extracelular, presencia de hifas fúngicas y elevada carga bacteriana inicial.

Finalmente, las características del implante, en especial la topografía superficial, juegan un papel crucial. Las superficies porosas, implantes sin cemento y recubrimientos de plasma crean ambientes potencialmente aislados que dificultan la administración antibiótica efectiva y favorecen la persistencia bacteriana

REFERENCIAS

1. Kraus K, Mikziński P, Widelski J, Paluch E. Prevention and Modern Strategies for Managing MethicillinResistant Staphylococcal Infections in Prosthetic Joint Infections (PJIs). Antibiotics. 2024 Dec 1;13(12):1151.
2. Stracquadanio S, et al. *Staphylococcus aureus* internalization in osteoblast cells: mechanisms, interactions and biochemical processes. What did we learn from experimental models?. Pathogens. 2021 Feb 19;10(2):239.
3. Shoji MM, Chen AF. Biofilms in periprosthetic joint infections: a review of diagnostic modalities, current treatments, and future directions. The Journal of Knee Surgery. 2020 Feb;33(02):119-31.
4. Masters EA, et al. Evolving concepts in bone infection: redefining "biofilm", "acute vs. chronic osteomyelitis","the immune proteome" and "local antibiotic therapy". Bone research. 2019 Jul 15;7(1):20.
5. Amanatullah D, et al. Hip and knee section, diagnosis, definitions: proceedings of international consensus on orthopedic infections. The Journal of arthroplasty. 2019 Feb 1;34(2):S329-37.
6. Fillingham Y, et alHip and knee section, prevention, local antimicrobials: proceedings of international consensus on orthopedic infections. The Journal of Arthroplasty. 2019 Feb 1;34(2):S289-92.
7. Cooper AM, et al Musculoskeletal infection in pediatrics: assessment of the 2018 International Consensus Meeting on Musculoskeletal Infection. JBJS. 2019 Dec 18;101(24):e133.
8. Alder KD, et al. Intracellular *Staphylococcus aureus* in bone and joint infections: A mechanism of disease recurrence, inflammation, and bone and cartilage destruction. Bone. 2020 Dec;141:115568.
9. Costerton JW, Montanaro L, Arciola CR. Bacterial communications in implant infections: a target for an intelligence war. Int J Artif Organs. 2007 Sep;30(9):757-63.
10. Varin-Simon J, et al. *Cutibacterium acnes* biofilm formation is influenced by bone microenvironment, implant surfaces and bacterial internalization. BMC Microbiol. 2024;24(1):270.
11. Li H, et al. Characterization of periprosthetic environment microbiome in patients after total joint arthroplasty and its potential correlation with inflammation. BMC Infect Dis. 2023;23(1):83.
12. Varin-Simon J, et al. *Cutibacterium acnes* biofilm formation is influenced by bone microenvironment, implant surfaces and bacterial internalization. BMC Microbiol. 2024;24(1):1-12.
13. Gristina AG, Costerton JW. Bacterial adherence to biomaterials and tissue. The significance of its role in clinical sepsis. J Bone Joint Surg Am. 1985;67(2):264-273.
14. Josse J, et al. Bone environment influences irreversible adhesion of a methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strain. Front Microbiol. 2018;9:2865.
15. Günther F, et al. Phagocytosis of staphylococci biofilms by polymorphonuclear neutrophils: *S. aureus* and *S. epidermidis* differ with regard to their susceptibility towards the host defense. Int J Artif Organs. 2009;32(9):565-573.
16. Günther F, et al. Direct microscopic observation of human neutrophil-*Staphylococcus aureus* interaction *in vitro* suggests a potential mechanism for initiation of biofilm infection on an implanted medical device. Infect Immun. 2009;77(12):566-570.
17. Patti JM, Hook M. Interaction of bacteria, immune cells, and surface topography in periprosthetic joint infections. Int J Mol Sci. 2023;24(3):1234.
18. Ponde NO, et al *In vitro* polymicrobial inter-kingdom threespecies biofilm model: influence of hyphae on biofilm formation and bacterial physiology. Biofouling. 2021;37(1):56-70.
19. Tande AJ, Patel R. Host and microbial characteristics associated with recurrent prosthetic joint infection. J Orthop Res. 2014;32(1):164-170.
20. Josse J, Velard F, Gangloff SC. *Staphylococcus epidermidis* in orthopedic device infections: the role of bacterial internalization in human osteoblasts and biofilm formation. PLoS One. 2015;10(3):e0120673.
21. McCourt J, et al Adhesin genes and biofilm formation among pediatric *Staphylococcus aureus* isolates from implant-associated infections. PLoS One. 2015;10(7):e0136070.
22. Günther F, et al. Biofilm growth on implants: bacteria prefer plasma coat. Int J Artif Organs. 2009;32(9):563-564.
23. BernTHAl NM, et al. Infectious dose dictates the host response during *Staphylococcus aureus* orthopedic-implant biofilm infection. Infect Immun. 2010;78(10):4470-4477.

Tabla 1. Resumen de los estudios incluidos relevantes

Título	Año	Región	Revista	Nivel de evidencia	Intervención	N	Resultados
1. Intracellular *Staphylococcus aureus* in bone and joint infections: A mechanism of disease recurrence, inflammation, and bone and cartilage destruction	2023	Italia	Int J Mol Sci	V	Evaluación de la respuesta inmune e infección en función de la topografía del implante y diferentes especies bacterianas |	74	1. La respuesta inmune depende del tipo de bacteria y topografía del implante. 2. *S. epidermidis* se oculta mejor en superficies rugosas, indicativo de prótesis sin cemento. 3. *S. aureus* responde de manera variable según la superficie de contacto. 4. Mayor formación de biofilm en superficies rugosas. 5. Implantes sin cemento tienden a favorecer colonización bacteriana y entorno proinflamatorio, asociándose con infecciones agudas. |
2. Bacterial communications in implant infections: A target for an intelligence war	2007	US	Int J Artif Organs	V	Evaluación del papel de sistemas reguladores de crecimiento en bacterias grampositivas y gramnegativas |	N/A	La atenuación de la virulencia bacteriana mediante inhibidores de quorum sensing es una estrategia atractiva porque es menos probable que cause resistencia bacteriana.
3. *Cutibacterium acnes* biofilm formation is influenced by bone microenvironment, implant surfaces and bacterial internalization	2024	Francia	BMC Microbiology	V	Comparación de formación de biofilm en plástico y titanio usando microscopía, qPCR y viabilidad		La biofilm de *C. acnes* varía según el material y la cepa; el plástico aumenta la expresión génica mientras la internalización en osteoblastos reduce la adherencia, pero aumenta polisacáridos y activación génica en titanio. |
4. Characterization of periprosthetic environment microbiome in patients after total joint arthroplasty and its potential correlation with inflammation	2023	China	BMC Infectious Diseases	III	Análisis de muestras mediante mNGS y bioinformática para caracterizar la microbiota periprotésica	77	1. Tipos de microbiota con *Staphylococcus* y *Pseudomonas* se asocian con mayor inflamación y IAP clínica. 2. Mayor biodiversidad bacteriana podría indicar un entorno periprotésico más saludable.
5. Biofilm Microenvironment Activated Antibiotic Adjuvant for Implant Associated Infections by Systematic Iron Metabolism Interference |	2024	China	Advanced Science	V	Desarrollo de nanomedicina que interfiere en el metabolismo del hierro en infecciones asociadas a implantes		La nanomedicina que apunta al metabolismo del hierro bacteriano y se usa junto con antibióticos muestra fuerte actividad antimicrobiana contra *Pseudomonas aeruginosa* y retrasa la resistencia antibiótica.
6. Bacterial communications in implant infections: A target for an intelligence war	2007	Italy	The International Journal of Artificial Organs	V	Uso de inhibidores de quorum sensing para atenuar la virulencia bacteriana		Inhibidores como análogos de furanona y péptido inhibidor RNAIII (RIP) atenuaron la virulencia bacteriana y redujeron infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.
7. Bone Environment Influences Irreversible Adhesion of a Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Strain	2018	Francia	Frontiers in Microbiolgy	V	Estudio del efecto del ambiente óseo en la adhesión de *S. aureus* sensible a meticilina		1. El aumento de concentración de Mg2+ aumenta la formación de biofilm. 2. Falta de oxígeno favorece adhesión. 3. Supernatantes de células similares a osteoblastos aumentan adhesión de *S. aureus*. 4. En microambiente deficiente en nutrientes, las bacterias prefieren adherirse en biofilm.
8. Phagocytosis of staphylococci biofilms by polymorphonuclear neutrophils: *S. aureus* and *S.*	2009	Alemania	The International Journal	V	Evaluación de la susceptibilidad a la fagocitosis por PMNs de biofilms de *S. aureus* y *S. epidermidis*		1. Biofilms de *S. aureus* son más susceptibles a fagocitosis por PMNs, que se mueven a través de la biofilm y fagocitan bacterias. 2. Biofilms de *S. epidermidis* restringen

epidermidis differ in susceptibility to host defense			of Artificial organs				movilidad de PMNs. 3. Propiedades de matriz extracelular afectan motilidad de PMNs y apoptosis. |
9. Direct Microscopic Observation of Human Neutrophil-*Staphylococcus aureus* Interaction *In vitro* Suggests a Potential Mechanism for Initiation of Biofilm Infection on an Implanted Medical Device	2019	USA	Infection and Inmunity	V	Estudio del efecto de neutrófilos humanos sobre *S. aureus* en superficie de vidrio cubierta con suero		Neutrófilos controlan crecimiento bacteriano cuando superan proporción bacteria-neutrófilo de 1. 2. Reclutamiento tardío de neutrófilos permite formación de biofilms que neutrófilos no pueden eliminar.
10. Interaction of Bacteria, Immune Cells, and Surface Topography in Periprosthetic Joint Infections	2023	Italia	International Journal of Molecular Sciences	V	Evaluación respuesta inmune a IAP analizando fluidos sinoviales y plataforma *in vitro* de implantes	74	Superficies rugosas en prótesis sin cemento permiten que *S. epidermidis* evada mejor el sistema inmune. *S. aureus* tiene respuestas variables según la superficie. Ambas bacterias forman más biofilm en superficies rugosas, aumentando riesgo de IAP.
11. *In vitro* polymicrobial inter-kingdom three-species biofilm model: influence of hyphae on biofilm formation and bacterial physiology	2021	Bélgica	Biofouling	V	Modelo de biofilm con *S. aureus*, *E. coli* y *C. albicans*		Biofilms con hifas fúngicas tienen mayor biomasa y expresión génica relacionada con virulencia bacteriana, adhesión, síntesis de exopolisacáridos y respuesta al estrés.
12. Host and microbial characteristics associated with recurrent prosthetic joint infection	2023	EE. UU.	Journal of Orthopedic Research	III	Evaluación del uso de espaciadores de cemento antibiótico en revisiones de IAP	106	1. Pacientes con IAP recurrente tienen más infecciones polimicrobianas, más problemas sistémicos y más *S. aureus*. 2. Incremento resistencia a antibióticos en IAP recurrentes. 3. Riesgo aumentado con grado McPherson, infecciones polimicrobianas y *S. aureus*.
13. *Staphylococcus epidermidis* in Orthopedic Device Infections: The Role of Bacterial Internalization in Human Osteoblasts and Biofilm Formation	2013	Francia	PLOS One	III	Comparación de cepas de *S. epidermidis* de infecciones y de la microbiota nasal en invasión a osteoblastos y formación de biofilm	37	No diferencias significativas en invasión e infección o formación de biofilm entre cepas patógenas y comensales. La invasión a células óseas no es clave en *S. epidermidis*, a diferencia de *S. aureus*.
14. Adhesin genes and biofilm formation among pediatric *Staphylococcus aureus* isolates from implant-associated infections	2020	EE. UU.	PLOS One	III	Comparación de perfiles MSCRAMM y formación de biofilm en aislamientos de *S. aureus* de infecciones implantarias y SSTI	235	1. Aislamientos de infecciones implantarias fueron mayormente MSSA y no USA300, sin diferencias en formación de biofilm o perfiles MSCRAMM comparado a SSTI. 2. Gen cna más frecuente en aislamientos implantarios.
15. Biofilm growth on implants: bacteria prefer plasma coat	2011	Alemania	Int J Artif Organs	V	Comparación de adherencia bacteriana a diferentes superficies y efectos del recubrimiento con plasma		1. *S. aureus* y *P. aeruginosa* prefieren adherirse a superficies no biológicas como titanio comparado con superficies biológicas. 2. Pre-recubrimiento con proteínas plasmáticas incrementa adherencia y biofilm. 3. Temperatura, presencia de nutrientes y ausencia de defensa del huésped importante para virulencia.
16. Infectious Dose Dictates the Host Response during *Staphylococcus aureus* Orthopedic-Implant Biofilm Infection	2016	EEUU	Infection and Inmunity	V	Comparación de respuesta inmune y formación de biofilm con diferentes dosis bacterianas	103	Las tres cepas *S. aureus* formaron biofilms similares. Dosis bacteriana mayor neutralizó diferencias en respuesta inmune, destacando impacto tamaño inoculo.

REFERENCIAS

1. Kraus K, Mikziński P, Widelski J, Paluch E. Prevention and Modern Strategies for Managing MethicillinResistant Staphylococcal Infections in Prosthetic Joint Infections (PJIs). Antibiotics. 2024 Dec 1;13(12):1151.
2. Stracquadanio S, Musso N, Costantino A, Lazzaro LM, Stefani S, Bongiorno D. *Staphylococcus aureus* internalization in osteoblast cells: mechanisms, interactions and biochemical processes. What did we learn from experimental models?. Pathogens. 2021 Feb 19;10(2):239.
3. Shoji MM, Chen AF. Biofilms in periprosthetic joint infections: a review of diagnostic modalities, current treatments, and future directions. The Journal of Knee Surgery. 2020 Feb;33(02):119-31.
4. Masters EA, Trombetta RP, de Mesy Bentley KL, Boyce BF, Gill AL, Gill SR, Nishitani K, Ishikawa M, Morita Y, Ito H, Bello-Irizarry SN. Evolving concepts in bone infection: redefining "biofilm","acute vs. chronic osteomyelitis","the immune proteome" and "local antibiotic therapy". Bone research. 2019 Jul 15;7(1):20.
5. Amanatullah D, Dennis D, Oltra EG, Gomes LS, Goodman SB, Hamlin B, Hansen E, Hashemi-Nejad A, Holst DC, Komnos G, Koutalos A. Hip and knee section, diagnosis, definitions: proceedings of international consensus on orthopedic infections. The Journal of arthroplasty. 2019 Feb 1;34(2):S329-37.
6. Fillingham Y, Greenwald AS, Greiner J, Oshkukov S, Parsa A, Porteous A, Squire MW. Hip and knee section, prevention, local antimicrobials: proceedings of international consensus on orthopedic infections. The Journal of Arthroplasty. 2019 Feb 1;34(2):S289-92.
7. Cooper AM, Shope AJ, Javid M, Parsa A, Chinoy MA, Parvizi J. Musculoskeletal infection in pediatrics: assessment of the 2018 International Consensus Meeting on Musculoskeletal Infection. JBJS. 2019 Dec 18;101(24):e133.
8. Alder KD, Lee I, Munger AM, Kwon HK, Morris MT, Cahill SV, et al. Intracellular *Staphylococcus aureus* in bone and joint infections: A mechanism of disease recurrence, inflammation, and bone and cartilage destruction. Bone. 2020 Dec;141:115568.
9. Costerton JW, Montanaro L, Arciola CR. Bacterial communications in implant infections: a target for an intelligence war. Int J Artif Organs. 2007 Sep;30(9):757-63.
10. Varin-Simon J, Colin M, Velard F, Tang-Fichaux M, Ohl X, Mongaret C, et al. *Cutibacterium acnes* biofilm formation is influenced by bone microenvironment, implant surfaces and bacterial internalization. BMC Microbiol. 2024;24(1):270.
11. Li H, et al. Characterization of periprosthetic environment microbiome in patients after total joint arthroplasty and its potential correlation with inflammation. BMC Infect Dis. 2023;23(1):83.
12. Varin-Simon J, Colin M, Velard F, et al. *Cutibacterium acnes* biofilm formation is influenced by bone microenvironment, implant surfaces and bacterial internalization. BMC Microbiol. 2024;24(1):1-12.
13. Gristina AG, Costerton JW. Bacterial adherence to biomaterials and tissue. The significance of its role in clinical sepsis. J Bone Joint Surg Am. 1985;67(2):264-273.
14. Josse J, Valour F, Maali Y, Diot A, Batailler C, Clément R, et al. Bone environment influences irreversible adhesion of a methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strain. Front Microbiol. 2018;9:2865.
15. Günther F, Wabnitz GH, Stroh P, Prior B, Obst U, Samstag Y, et al. Phagocytosis of staphylococci biofilms by polymorphonuclear neutrophils: *S. aureus* and *S. epidermidis* differ with regard to their susceptibility towards the host defense. Int J Artif Organs. 2009;32(9):565-573.
16. Günther F, Wabnitz GH, Stroh P, Prior B, Obst U, Samstag Y, et al. Direct microscopic observation of human neutrophil-*Staphylococcus aureus* interaction *in vitro* suggests a potential mechanism for initiation of biofilm infection on an implanted medical device. Infect Immun. 2009;77(12):566-570.
17. Patti JM, Hook M. Interaction of bacteria, immune cells, and surface topography in periprosthetic joint infections. Int J Mol Sci. 2023;24(3):1234.
18. Ponde NO, Lortal L, Ramage G, Naglik JR, Richardson JP. *In vitro* polymicrobial inter-kingdom threespecies biofilm model: influence of hyphae on biofilm formation and bacterial physiology. Biofouling. 2021;37(1):56-70.
19. Tande AJ, Patel R. Host and microbial characteristics associated with recurrent prosthetic joint infection. J Orthop Res. 2014;32(1):164-170.
20. Josse J, Velard F, Gangloff SC. *Staphylococcus epidermidis* in orthopedic device infections: the role of bacterial internalization in human osteoblasts and biofilm formation. PLoS One. 2015;10(3):e0120673.
21. McCourt J, O'Halloran DP, McCarthy H, O'Gara JP, Geoghegan JA. Adhesin genes and biofilm formation among pediatric *Staphylococcus aureus* isolates from implant-associated infections. PLoS One. 2015;10(7):e0136070.
22. Günther F, Wabnitz GH, Stroh P, Prior B, Obst U, Samstag Y, et al. Biofilm growth on implants: bacteria prefer plasma coat. Int J Artif Organs. 2009;32(9):563-564.
23. BernTHAl NM, Pribaz JR, Stavrakis AI, Billi F, Cho JS, Ramos RI, et al. Infectious dose dictates the host response during *Staphylococcus aureus* orthopedic-implant biofilm infection. Infect Immun. 2010;78(10):4470-4477.

Autores: Hyonmin Choe, Patrick Sadoghi, Bart G Pijls

Autor de Correspondencia
Dr. Hyonmin Choe
Department of Orthopaedic.
Yokohama City Univesity.
Yokohama, Japan.
Email: hyonmin@hotmail.com

PREGUNTA 31. ¿Existen métodos físicos no citotóxicos que puedan ser utilizados para interrumpir y destruir biofilm en infecciones ortopédicas?

RESPUESTA/RECOMENDACIÓN: Sí, la terapia fotodinámica, el tratamiento por ultrasonidos y el tratamiento eléctrico como el calentamiento por inducción han sido ampliamente estudiados como métodos físicos efectivos para interrumpir y destruir biofilms en infecciones ortopédicas, y también se han investigado varias estrategias para reducir su citotoxicidad. Sin embargo, no existe evidencia de nivel 1 que demuestre la eficacia y seguridad de estos tratamientos en ensayos clínicos, y esto deberá abordarse en el futuro.

NIVEL DE EVIDENCIA: Débil.

VOTO DEL DELEGADO: De acuerdo 83%, En desacuerdo 4%, Abstención 13% (Consenso Fuerte).

JUSTIFICACIÓN

Se han explorado diversos métodos físicos como posibles alternativas al tratamiento con antibióticos para la erradicación de biofilm. Para responder a esta pregunta, se realizó una revisión sistemática utilizando términos MeSH específicos desarrollados por bibliotecarios, para identificar todas las publicaciones relevantes en las bases de datos Medline y Embase, abarcando estudios publicados hasta noviembre de 2024. La búsqueda arrojó 889 publicaciones en idioma inglés. Dos de los autores realizaron un cribado de títulos y resúmenes, y los resultados discrepantes fueron evaluados por una tercera persona. Posteriormente, se revisaron 82 artículos completos y finalmente se incluyeron 69 artículos en esta revisión sistemática. Los métodos de tratamiento incluyeron 14 artículos relacionados con terapia fotodinámica, 21 sobre ultrasonidos, 28 sobre tratamiento eléctrico y 6 sobre otros métodos. A continuación, se presenta un resumen de los hallazgos.

1. La terapia fotodinámica (TFD)

Es una modalidad de tratamiento que implica la aplicación sistémica o local de diversos fotosensibilizadores, seguida de exposición a luz de longitudes de onda específicas en presencia de oxígeno y otros factores, con el fin de erradicar tumores o bacterias [1,2]. Este método transfiere energía desde el fotosensibilizador (FS) al oxígeno a través de la fotoexcitación, generando especies reactivas de oxígeno (ROS) que disuelven las membranas celulares bacterianas e inactivan proteínas, demostrando así eficacia contra infecciones por biofilm [3]. Se han aplicado diversos reactivos, tanto novedosos como existentes, como FS, y se ha reportado que los FS combinados con tintes bactericidas o detergentes exhiben un potente efecto sobre biofilms tras fotoexcitación [4,5]. Nanopartículas como las de dióxido de titanio (TiO_2) y nanobarras de TiO_2 han demostrado efectos bactericidas contra biofilms y bacterias cuando se exponen a luz ultravioleta o infrarroja cercana [6-9]. Además, se ha informado en estudios *in vitro* y modelos en ratas que la combinación de terapia fototérmica (PTT) y TFD usando fósforo rojo y luz infrarroja cercana puede interrumpir eficazmente biofilms sin causar daño a tejidos normales. Estas tecnologías también se han aplicado en recubrimientos de implantes, demostrando potencial para efectos preventivos contra infecciones asociadas a implantes [11-13].

Las ventajas de la TFD antibacteriana incluyen la ausencia de preocupaciones relacionadas con la resistencia a antibióticos, la capacidad para seleccionar específicamente bacterias usando diversos FS con propiedades particulares, el daño mínimo a tejidos del hospedador, la actividad bactericida relativamente rápida (dentro de 30 minutos), la efectividad contra bacterias Gram-negativas y Gram-positivas, así como hongos, y la eficacia en el tratamiento de infecciones wound con flujo sanguíneo comprometido [14]. Por otro lado, las limitaciones de estas tecnologías incluyen la necesidad de intervención quirúrgica para aplicar el FS al biofilm que rodea los implantes y activarlos mediante una fuente de luz. Además, no existen ejemplos prácticos de su aplicación en ensayos clínicos, y su efectividad en escenarios clínicos reales aún no ha sido validada.

2. El tratamiento con ultrasonidos (US)

Ha sido ampliamente reportado como una herramienta útil para identificar los patógenos causantes en el diagnóstico de infecciones periprotésicas articulares (IPA). Además, es una tecnología física que ha mostrado una utilidad prometedora en el tratamiento de biofilms, con una eficacia que ha ido documentándose progresivamente [15]. El efecto de los US

sobre los biofilms se debe a su capacidad para entregar energía directamente desde el dispositivo o a través de la piel, transfiriéndola a tejidos biológicos o superficies metálicas [16]. Los US se clasifican generalmente según su frecuencia, con frecuencias superiores a 1 MHz denominadas US de alta frecuencia y aquellas inferiores a 500 kHz como US de baja frecuencia. El US de alta frecuencia se caracteriza por entregar energía con alta precisión a un área específica, permitiendo la generación de energía térmica y la producción de nanopartículas en líquidos. En el tratamiento de infecciones ortopédicas, se han reportado tecnologías que combinan US focalizados de alta intensidad (HIFU), que generan energía térmica, con liposomas sensibles a bajas temperaturas (LTSL) para la administración de antibióticos [17]. También se han documentado técnicas bactericidas que utilizan nanopartículas generadas por HIFU [18,19]. Por otro lado, el US de baja frecuencia, caracterizado por su frecuencia menor y capacidad de entregar energía en una amplia área, tiende a inducir cavitación (formación y colapso de burbujas) en líquidos. Aprovechando esta propiedad, se ha sugerido que el US de baja frecuencia puede aumentar la tasa de transporte de agentes antimicrobianos hacia las bacterias, incrementando así la eficacia de los antibióticos [20]. Varios estudios han reportado efectos bactericidas al combinar US de baja frecuencia con vancomicina o gentamicina [21-23]. El uso de bisturís ultrasónicos piezoeléctricos y la combinación de US pulsado de baja intensidad (LIPUS) con povidona yodada también han demostrado ser efectivos en la erradicación bacteriana [24,25]. El lavado pulsátil, frecuentemente utilizado en cirugías ortopédicas, ha sido reportado como ineficaz contra biofilms cuando se usa solo [26]. Sin embargo, estudios han mostrado que su combinación con US puede reducir eficazmente la formación de biofilm [27]. Además, se ha reportado que la cavitación inducida por US de baja frecuencia puede inhibir la expresión de los genes icaAD y mecA en cepas bacterianas resistentes a meticilina, aumentando también la actividad de la β-defensina-3 humana [28,29]. Su et al. propusieron una novedosa estrategia terapéutica denominada sono-metaloinmunoterapia espaciotemporal que utiliza nanopartículas de MnO_2-hortensia como metaloantibióticos. La combinación de US con tales sonosensibilizadores en la terapia sonodinámica ha mostrado potencial para la interrupción efectiva de biofilms asociados a implantes, destacando su utilidad potencial en este campo [30]. Por otro lado, varios estudios *in vitro* han reportado que el US por sí mismo no posee efectos antibacterianos intrínsecos y que las bacterias pueden permanecer incluso después de la disrupción del biofilm [31-34]. La sonicación se ha asociado además con efectos adversos como daño al cartílago articular y a los implantes [35]. Por lo tanto, para aplicaciones clínicas futuras, se requiere una investigación adicional para evaluar no solo su eficacia contra biofilms, sino también su perfil de seguridad.

3. Tratamiento eléctrico

La generación de corrientes y campos eléctricos se reconoce como un factor que influye significativamente en el crecimiento y la muerte de células tanto procarióticas como eucarióticas [36]. Estos efectos se extienden de manera importante a la disrupción de biofilms y a la regulación del crecimiento y muerte bacteriana [37]. Van der Borden et al. informaron que la aplicación de corriente continua (DC) durante seis horas logró el desprendimiento de biofilms de superficies de acero inoxidable, lo que sugiere que este método podría constituir un enfoque eficaz para el tratamiento de infecciones asociadas a biofilms [38]. Posteriormente, Brinkman et al. reportaron que el efecto bactericida de la corriente continua dentro de los biofilms, conocido como efecto electricida, está mediado al menos parcialmente por la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), las cuales inducen la muerte bacteriana en el interior del biofilm [39]. El tratamiento eléctrico con corriente continua ha demostrado ser eficaz frente a bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas. Además, se ha informado que el anodizado de superficies metálicas para formar estructuras nanotubulares, combinado con estimulación eléctrica, puede reducir la formación de biofilms [40]. Asimismo, se ha confirmado que este tratamiento incrementa la eficacia de los antibióticos y facilita la disrupción de biofilms [41-43]. Esta combinación de corriente continua y antibióticos, denominada efecto bioeléctrico, ha demostrado promover eficazmente la disrupción de biofilms [36].

Por otro lado, algunos estudios han reportado una eficacia limitada para combinaciones específicas de bacterias y antibióticos (por ejemplo, vancomicina frente a *Staphylococcus epidermidis* [44] o piperacilina frente a *Pseudomonas aeruginosa* [45]). Esto pone de manifiesto la necesidad de desarrollar protocolos adaptados a especies bacterianas y terapias antimicrobianas específicas.

Ehrensberger et al. informaron que una técnica denominada estimulación eléctrica controlada por voltaje catódico (CVCES, por sus siglas en inglés) resulta eficaz para el tratamiento de biofilms sobre superficies de titanio y dentro del hueso [39]. Este método difiere de la corriente continua convencional en que controla el voltaje en el lado catódico. Estudios *in vitro* y en modelos murinos han demostrado que no causa daño a los tejidos circundantes, presenta efectos sinérgicos con antibióticos y povidona yodada, y muestra potencial como tecnología para el tratamiento de infecciones asociadas a implantes, incluidas las infecciones periprotésicas articulares (IAP) [46-52]. No obstante, se ha informado que este método resulta ineficaz frente a biofilms en cemento óseo, y su eficacia antibacteriana sobre materiales no metálicos constituye un desafío para futuras investigaciones [51].

El tratamiento eléctrico presenta diversas aplicaciones. En un estudio de Taira et al., se observó que la aplicación de múltiples intervenciones eléctricas de corta duración (de un minuto cada una) eliminó eficazmente biofilms de *S. aureus* formadas sobre anillos de titanio [53]. Asimismo, Tamimi et al. desarrollaron un dispositivo equipado con electrodos bipolares capaces de generar distintas formas de onda, con el fin de estudiar el efecto bioeléctrico sobre biofilms formadas en implantes de artroplastia total de rodilla (ATR). Sus resultados demostraron la efectividad de este enfoque en la eliminación de biofilms [54]. Wang et al. diseñaron un prototipo para tratamiento inalámbrico con corriente

continua mediante inducción electromagnética generada a distancia por una fuente de energía inalámbrica, y reportaron una erradicación eficaz de biofilms en modelos *ex vivo* e *in vivo* [55].

Los campos electromagnéticos también están adquiriendo relevancia como una nueva estrategia terapéutica que aprovecha las propiedades conductoras de los materiales implantables. Se ha informado que los biofilms bacterianas presentan una actividad metabólica reducida cuando se exponen a campos electromagnéticos estáticos generados por corriente continua o a campos dinámicos generados por corriente alterna [56,57]. Además, la combinación de campos electromagnéticos con nanopartículas magnéticas o antibióticos ha demostrado permitir la erradicación efectiva de biofilms.

La aplicación de corrientes eléctricas a implantes metálicos genera campos magnéticos, y el uso de estos campos electromagnéticos, junto con sus efectos térmicos asociados, ha surgido como una estrategia terapéutica no invasiva prometedora para eliminar biofilms en superficies implantarias. La eficacia de este enfoque ha sido demostrada tanto *in vitro* como en estudios con modelos animales de gran tamaño [58-61]. Pijls et al. reportaron que el calentamiento por inducción sin contacto (Non-Contact Induction Heating, NCIH) de implantes metálicos mediante campos electromagnéticos pulsados (PEMF) representa un campo emergente y prometedor que podría desempeñar un papel relevante en el tratamiento multimodal de las infecciones periprotésicas cuando se combina con otras terapias [60,61]. El NCIH utiliza PEMF o campos magnéticos alternos (AMF) para producir daño térmico a las bacterias dentro del biofilm sobre el implante metálico sin calentar directamente el tejido [59-61]. Aunque aún no existen estudios clínicos publicados, los resultados *in vitro* son muy prometedores: múltiples estudios han mostrado una reducción de la carga bacteriana en implantes metálicos tratados con NCIH, algunos incluso demostrando erradicación completa de biofilms maduras y otros evidenciando un efecto sinérgico con compuestos antimicrobianos [59-61].

Además, Gilotra informó que el acoplamiento capacitivo redujo los biofilms en superficies de implantes en un modelo animal de infección espinal mediante un enfoque no invasivo [58]. Estos métodos térmicos han demostrado reducir significativamente los recuentos bacterianos a temperaturas superiores a 60 °C; sin embargo, existe preocupación sobre el posible daño tisular inducido por el calor [57]. Para mitigar estos riesgos, se han propuesto varias estrategias destinadas a mejorar la seguridad y minimizar el daño térmico, entre ellas: técnicas de calentamiento segmentario para dirigir el tratamiento a regiones específicas y evitar el calentamiento desigual derivado de geometrías irregulares del implante; la incorporación de antibióticos o N-acetilcisteína (NAC) para lograr eficacia terapéutica a menores temperaturas; y el desarrollo de sensores acústicos avanzados para la monitorización en tiempo real de la generación excesiva de calor en la interfaz implante-tejido. En conjunto, estas estrategias buscan optimizar el perfil de seguridad de esta intervención terapéutica [60-63]. Las terapias basadas en campos electromagnéticos, incluyendo el calentamiento por inducción combinado con antibióticos, se prevé que constituyan métodos no invasivos y eficaces para la eliminación de biofilms en implantes. Con los futuros avances en tecnologías de seguridad y la investigación dirigida a su aplicación clínica, este enfoque representa una opción prometedora para el tratamiento de infecciones asociadas a implantes.

4. Otros métodos físicos

Se han descrito técnicas de esterilización por plasma para infecciones de implantes ortopédicos, entre ellas el método de descarga por barrera dieléctrica, que utiliza la superficie del implante articular como electrodo para la esterilización, y la tecnología denominada *Floating Electrode Dielectric Barrier Discharge,* que emplea un diseño de micropulsos para mantener la temperatura superficial por debajo de 40 °C [64,65]. En particular, el tratamiento con plasma de descarga inductiva no térmica muestra un notable potencial para la eliminación completa de biofilms extensas adheridas a implantes, constituyendo un enfoque prometedor para el tratamiento de infecciones relacionadas con implantes [51,66]. Además, el uso de láseres de estado sólido, como los láseres de erbio: itrio-aluminio-granate [67], el compuesto criogénico de nitrógeno-etanol —comúnmente empleado en cirugía tumoral [68]— y la terapia de ondas de choque extracorpóreas, han demostrado ser eficaces en la disrupción de biofilms alrededor de implantes tanto *in vitro* como *in vivo* [67,69].

En conclusión, diversos métodos físicos de esterilización han demostrado la capacidad de interrumpir directamente los biofilms o eliminar bacterias, así como de mejorar indirectamente la entrega de antibióticos y otros agentes terapéuticos a los sitios de infección. Estos enfoques innovadores poseen un alto potencial de aplicación en el tratamiento de infecciones ortopédicas. Sin embargo, para lograr efectos bactericidas y de erradicación de biofilms sustanciales, generalmente se requiere superar determinados umbrales energéticos. Hasta la fecha, no se han validado estos métodos mediante ensayos clínicos que demuestren su seguridad y eficacia en humanos. Aunque la mayoría de los métodos físicos discutidos en esta revisión sistemática han demostrado ser seguros *in vitro* o *in vivo*, el desarrollo de protocolos estandarizados para su implementación clínica y la garantía de su seguridad en aplicaciones humanas sigue siendo un desafío crucial que deberá abordarse en futuras investigaciones y desarrollos.

REFERENCIAS

1. Biel MA. 2010. Photodynamic therapy of bacterial and fungal biofilm infections.
2. Methods Mol Biol 635:175-194.
3. de Melo WC, et al. 2013. Photodynamic inactivation of biofilm:
4. taking a lightly colored approach to stubborn infection. Expert Rev Anti Infect Ther 11:669-693.
5. Seong DY, Kim YJ. 2015. Enhanced photodynamic therapy efficacy of methylene blueloaded calcium phosphate nanoparticles. J Photochem Photobiol B 146:34-43.
6. Prinz J, Wink M, Neuhaus S, et al. 2023. Effective Biofilm Eradication on Orthopedic Implants with Methylene Blue Based Antimicrobial Photodynamic Therapy *In vitro*. Antibiotics (Basel) 12.
7. Vassena C, et al. 2014. Photodynamic antibacterial and antibiofilm activity of RLP068/Cl against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* forming biofilms on prosthetic material. Int J Antimicrob Agents 44:47-55.
8. Tsuang YH, Sun JS, Huang YC, et al. 2008. Studies of photokilling of bacteria using titanium dioxide nanoparticles. Artif Organs 32:167-174.

9. Zhang X, et al. 2021. Synergistic antibacterial activity of physicalchemical multi-mechanism by TiO(2) nanorod arrays for safe biofilm eradication on implant. Bioact Mater 6:12-25.
10. Yuan Z, et al. 2019. Remote eradication of biofilm on titanium implant via near-infrared light triggered photothermal/photodynamic therapy strategy. Biomaterials 223:119479.
11. Wang W, et al. 2019. Synergistic Photothermal and Photodynamic Therapy for Effective Implant-Related Bacterial Infection Elimination and Biofilm Disruption Using Cu(9)S(8) Nanoparticles. ACS Biomater Sci Eng 5:6243-6253.
12. Tan L, et al. 2018. Rapid Biofilm Eradication on Bone Implants Using Red Phosphorus and Near-Infrared Light. Adv Mater 30:e1801808.
13. Hong L, et al. 2019. Rapid Biofilm Elimination on Bone Implants Using Near-Infrared-Activated Inorganic Semiconductor Heterostructures. Adv Healthc Mater 8:e1900835.
14. Zhang G, et al. 2020. Dual light-induced in situ antibacterial activities of biocompatibleTiO(2)/MoS(2)/PDA/RGD nanorod arrays on titanium. Biomater Sci 8:391-404.
15. Zhang Z, et al. 2021. An orthobiologics-free strategy for synergistic photocatalytic antibacterial and osseointegration. Biomaterials 274:120853.
16. Briggs T, et al. 2018. Antimicrobial photodynamic therapy-a promising treatment for prosthetic joint infections. Lasers Med Sci 33:523-532.
17. Hameister R, et al. 2018. What Is the Role of Diagnostic and
18. Therapeutic Sonication in Periprosthetic Joint Infections? J Arthroplasty 33:2575-2581.
19. Ashokkumar M. 2011. The characterization of acoustic cavitation bubbles - an overview. Ultrason Sonochem 18:864-872.
20. Ashar H, et al. 2023. Treating methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bone infection with focused ultrasound combined thermally sensitive liposomes. Int J Hyperthermia 40:2211278.
21. Schaffler BC, et al. 2024. Nanoparticle ultrasonication outperforms conventional irrigation solutions in eradicating *Staphylococcus aureus* biofilm from titanium surfaces: an *in vitro* study. Eur J Orthop Surg Traumatol 34:27292734.
22. Ashkenazi I, Longwell M, Byers B, et al. 2024. Nanoparticle ultrasonication: a promising approach for reducing bacterial biofilm in total joint infection-an *in vivo* rat model investigation. Arthroplasty 6:57.
23. Carmen JC, et al. 2005. Treatment of biofilm infections on implants with low-frequency ultrasound and antibiotics. Am J Infect Control 33:78-82.
24. Carmen JC, et al. 2004. Ultrasonically enhanced vancomycin activity against *Staphylococcus epidermidis* biofilms *in vivo*. J Biomater Appl 18:237245.
25. Rediske AM, et al. 1999. Ultrasonic enhancement of antibiotic action on *Escherichia coli* biofilms: an *in vivo* model. Antimicrob Agents Chemother 43:1211-1214.
26. Rediske AM, et al. 2000. Pulsed ultrasound enhances the killing of *Escherichia coli* biofilms by aminoglycoside antibiotics *in vivo*. Antimicrob Agents Chemother 44:771-772.
27. Russo A, et al. 2023. Piezoelectric ultrasonic debridement as new tool for biofilm removal from orthopedic implants: A study *in vitro*. J Orthop Res 41:27492755.
28. Wang T, et al. 2024. Enhanced antibiofilm potential of low-intensity pulsed ultrasound combined with 0.35% povidone-iodine in a rat model of periprosthetic joint infection. Bone Joint Res 13:332-341.
29. Urish KL, et al. 2014. Pulse lavage is inadequate at removal of biofilm from the surface of total knee arthroplasty materials. J Arthroplasty 29:11281132.
30. Wu X, et al. 2021. Direct-Contact Low-Frequency Ultrasound and Pulse Lavage Eradicates Biofilms on Implant Materials *In vitro*. Evid Based Complement Alternat Med 2021:1562605.
31. Li S, Zhu C, Fang S, et al. 2015. Ultrasound microbubbles enhance human beta-defensin 3 against biofilms. J Surg Res 199:458-469.
32. Zhou H, Fang S-y, Kong R, et al. 2018. Effect of low frequency ultrasound plus fluorescent composite carrier in the diagnosis and treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm infection of bone joint implant.
33. Su Z, Xu D, Hu X, et al. 2024. Biodegradable oxygen-evolving metalloantibiotics for spatiotemporal sono-metalloimmunotherapy against orthopaedic biofilm infections. Nat Commun 15:8058.
34. Ensing GT, et al. 2006. The combination of ultrasound with antibiotics released from bone cement decreases the viability of planktonic and biofilm bacteria: an *in vitro* study with clinical strains. J Antimicrob Chemother 58:1287-1290.
35. Xu J, et al. 2012. Minimization of treatment time for *in vitro* 1.1 MHz destruction of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by high-intensity focused ultrasound. Ultrasonics 52:668-675.
36. Gao S, et al. 2014. Inactivation of bacteria and yeast using high-frequency ultrasound treatment. Water Res 60:93-104.
37. Bigelow TA, et al. 2009. The destruction of *Escherichia coli* biofilms using high-intensity focused ultrasound. Ultrasound Med Biol 35:1026-1031.
38. Singh G, Hameister R, Feuerstein B, et al. 2014. Low-frequency sonication may alter surface topography of endoprosthetic components and damage articular cartilage without eradicating biofilms completely. J Biomed Mater Res B Appl Biomater 102:1835-1846.
39. Del Pozo JL, Rouse MS, Patel R. 2008. Bioelectric effect and bacterial biofilms. A systematic review. Int J Artif Organs 31:786-795.
40. Sen CK, et al. 2020. Electroceutical Management of Bacterial Biofilms and Surgical Infection. Antioxid Redox Signal 33:713-724.
41. van der Borden AJ, van der Werf H, van der Mei HC, et al. 2004. Electric current-induced detachment of *Staphylococcus epidermidis* biofilms from surgical stainless steel. Appl Environ Microbiol 70:6871-6874.
42. Brinkman CL, et al. 2016. Exposure of Bacterial Biofilms to Electrical Current Leads to Cell Death Mediated in Part by Reactive Oxygen Species. PLoS One 11:e0168595.
43. Ercan B, et al. 2011. Decreased *Staphylococcus aureus* biofilm growth on anodized nanotubular titanium and the effect of electrical stimulation. Acta Biomater 7:3003-3012.
44. Schmidt-Malan SM, et al. 2015. Antibiofilm Activity of LowAmperage Continuous and Intermittent Direct Electrical Current. Antimicrob Agents Chemother 59:4610-4615.
45. Costerton JW, et al. 1994. Mechanism of electrical enhancement of efficacy of antibiotics in killing biofilm bacteria. Antimicrob Agents Chemother 38:28032809.
46. McLeod BR, Fortun S, Costerton JW, et al. 1999. Enhanced bacterial biofilm control using electromagnetic fields in combination with antibiotics. Methods Enzymol 310:656670.
47. Pickering SA, Bayston R, Scammell BE. 2003. Electromagnetic augmentation of antibiotic efficacy in infection of orthopaedic implants. J Bone Joint Surg Br 85:588-593.
48. Jass J, Lappin-Scott HM. 1996. The efficacy of antibiotics enhanced by electrical currents against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. J Antimicrob Chemother 38:987-1000.
49. Ehrensberger MT, et al. 2015. Cathodic voltage-controlled electrical stimulation of titanium implants as treatment for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* periprosthetic infections. Biomaterials 41:97-105.
50. Gupta TT, Zumpano B, Opalinski J, et al. 2024. Cathodic voltage-controlled electrical stimulation and betadine decontaminate nosocomial pathogens from implant surfaces. mSphere 9:e0058323.
51. Canty MK, Hansen LA, Tobias M, et al. 2019. Antibiotics Enhance Prevention and Eradication Efficacy of Cathodic-Voltage-Controlled Electrical Stimulation against Titanium-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. mSphere 4.
52. Canty M, et al. 2017. Cathodic voltage-controlled electrical stimulation of titanium for prevention of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and Acinetobacter baumannii biofilm infections. Acta Biomater 48:451-460.
53. Nodzo SR, et al. 2016. Cathodic Voltage-controlled Electrical Stimulation Plus Prolonged Vancomycin Reduce Bacterial Burden of a Titanium Implantassociated Infection in a Rodent Model. Clinical Orthopaedics and Related Research® 474:1668-1675.
54. Gupta TT, Ayan H. 2019. Application of Non-Thermal Plasma on Biofilm: A Review. Applied Sciences 9:3548.
55. Weeks K, et al. 2023. *In vitro* and *in vivo* assessment of extended duration cathodic voltage-controlled electrical stimulation for treatment of orthopedic implant-associated infections. J Orthop Res 41:2756-2764.
56. Taira H, Yaga M, Nakasone S, et al. 2024. Significant removal of bacterial biofilm induced by multiple-Short ranges of electric interventions. J Orthop Sci 29:341-348.
57. Tamimi I, Gasca M, Halbardier A, et al. 2024. The treatment of bacterial biofilms cultivated on knee arthroplasty implants using the bioelectric effect. Front Bioeng Biotechnol 12:1426388.
58. Wang H, Tampio AJF, Xu Y, et al. 2020. Noninvasive Control of Bacterial Biofilms by Wireless Electrostimulation. ACS Biomater Sci Eng 6:727-738.
59. Munoz-Mahamud E, et al. 2018. Pulsed electric fields reduce bacterial attachment to stainless steel plates. Acta Orthop Belg 84:11-16.
60. Bandara HM, et al. 2015. Magnetic fields suppress *Pseudomonas aeruginosa* biofilms and enhance ciprofloxacin activity. Biofouling 31:443-457.
61. Gilotra M, Griffith C, Schiavone J, et al. 2012. Capacitive coupling reduces instrumentation-related infection in rabbit spines: a pilot study. Clin Orthop Relat Res 470:1646-1651.
62. Sadaphal V, et al. 2022. Feasibility of heating metal implants with alternating magnetic fields (AMF) in scaled up models. Int J Hyperthermia 39:81-96.
63. Pijls BG, Sanders I, Kuijper EJ, et al. 2020. Synergy between induction heating, antibiotics, and N-acetylcysteine eradicates *Staphylococcus aureus* from biofilm. Int J Hyperthermia 37:130-136.
64. Pijls BG, et al. 2020. Induction heating for eradicating *Staphylococcus epidermidis* from biofilm. Bone Joint Res 9:192-199.
65. Pijls BG, Sanders IMJG, Kuijper EJ, et al. 2018. Segmental induction heating of orthopaedic metal implants. Bone & Joint Research 7:609-619.
66. Cheng B, et al. 2018. Remote acoustic sensing as a safety mechanism during exposure of metal implants to alternating magnetic fields. PLoS One 13:e0197380.
67. Joshi SG, Paff M, Friedman G, et al. 2010. Control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in planktonic form and biofilms: a biocidal efficacy study of nonthermal dielectric-barrier discharge plasma. Am J Infect Control 38:293-301.
68. Fridman G, Peddinghaus M, Balasubramanian M, et al. 2006. Blood Coagulation and Living Tissue Sterilization by Floating-Electrode Dielectric Barrier Discharge in Air. Plasma Chemistry and Plasma Processing 26:425-442.
69. Ibis F, et al.. Biofilm Inactivation and Prevention on Common Implant Material Surfaces by Nonthermal DBD Plasma Treatment. 6:33-45.
70. Kriechbaumer LK, Happak W, Distelmaier K, et al. 2020. Disinfection of contaminated metal implants with an Er:YAG laser. J Orthop Res 38:2464-2473.
71. Chen KL, al. 2023. Freezing nitrogen eTHAnol composite reduces periprosthetic infection caused by *Staphylococcus aureus* contaminated metal implants:
72. An animal study. J Chin Med Assoc 86:227-232.
73. Qi X, et al. 2016. Increased Effects of Extracorporeal Shock Waves Combined with Gentamicin against *Staphylococcus aureus* Biofilms *In vitro* and *In vivo*. Ultrasound Med Biol 42:2245-2252.