

Secuenciación de próxima generación para la detección de patógenos en cirugía de cadera: experiencia y viabilidad diagnóstica en un centro de atención terciaria de la Argentina

Carlos M. Lucero, Agustín García-Mansilla, Agustín Albani Forneris, Fernando Díaz Dileria, Pablo Stullitel, Gerardo Zanotti, Fernando Comba, Francisco Piccaluga, Martín Buttaró

Centro de Cadera "Sir John Charnley", Instituto de Ortopedia y Traumatología "Prof. Dr. Carlos E. Ottolenghi", Hospital Italiano de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

RESUMEN

Introducción: El diagnóstico rápido y definitivo con identificación del patógeno es fundamental cuando hay una infección periprotésica. La secuenciación de próxima generación permite identificar el ADN en un germen determinado en poco tiempo. Hasta donde sabemos, no hay reportes sobre su empleo para el manejo de la infección periprotésica en Sudamérica. Nuestro objetivo fue demostrar la viabilidad diagnóstica de las muestras obtenidas de una serie de pacientes operados en Buenos Aires, Argentina, y analizadas con la técnica de secuenciación de próxima generación. **Materiales y Métodos:** Se analizó a una serie prospectiva de 20 pacientes sometidos a cirugía de revisión séptica y aseptica de cadera desde diciembre de 2019 hasta marzo de 2020. Se obtuvieron muestras intraoperatorias de líquido sinovial, tejido profundo y canal endomedular, que fueron enviadas para su análisis al laboratorio NexGen Microgen. **Resultados:** Se seleccionaron 17 pacientes, porque tenían una muestra apta para analizar. Los resultados se recibieron dentro de las 72 h de la cirugía. En un caso, el resultado de la secuenciación de próxima generación informó un germen distinto del identificado en los cultivos posoperatorios de partes blandas, esto permitió corregir la antibiotico-terapia. En otro, esta técnica identificó *Parabacteroides gordonii* en una revisión aseptica, en otro, *Morganella morganii*, a partir de cultivos negativos en una revisión en un tiempo. **Conclusión:** Se demostró la viabilidad diagnóstica con la secuenciación de próxima generación, se pueden obtener resultados de microorganismos patógenos dentro de las 72 h posteriores a la cirugía en pacientes con infección periprotésica y cultivos negativos.

Palabras clave: Infección periprotésica; secuenciación de próxima generación; cirugía de revisión; artroplastia de cadera.

Nivel de Evidencia: IV

Next Generation Sequencing for the Detection of Pathogens in Hip Surgery: Experience and Diagnostic Feasibility in a Tertiary Care Center in Argentina

ABSTRACT

Introduction: Early diagnosis of a periprosthetic joint infection (PJI) and identification of the pathogen are paramount. Next-generation sequencing (NGS) can identify the nucleic acids in a given germ in a short period. To our knowledge, there are no reports of its use in the management of PJI in South America. Our objective was to demonstrate the diagnostic feasibility of the NGS technique on the samples obtained from a series of patients operated on in Buenos Aires, Argentina. **Materials and Methods:** A prospective series of 20 patients undergoing septic and aseptic hip revision surgery from December 2019 to March 2020 was analyzed. Intraoperative samples of synovial fluid, deep tissue, and intramedullary canal were obtained and sent to the NexGen Microgen laboratory (Texas, USA) for analysis. **Results:** Seventeen patients were finally eligible to present a sample suitable for analysis. In 100% of the samples, NGS results were obtained within 72 hours of surgery. In one case, the NGS result reported a germ different from the one identified in the postoperative soft tissue cultures, allowing antibiotic therapy to be corrected. In another case, NGS identified *Parabacteroides gordonii* in aseptic revision surgery. In another patient, the NGS identified *Morganella morganii*, in which conventional postoperative cultures were negative in single-stage revision surgery. **Conclusion:** In this study, we demonstrated the diagnostic feasibility of NGS, obtaining results within 72 hours immediately after surgery for pathogenic organisms in patients with PJI and negative cultures.

Key words: Periprosthetic joint infection; next generation sequencing; revision surgery; hip arthroplasty.

Level of Evidence: IV

Recibido el 4-5-2022. Aceptado luego de la evaluación el 16-7-2022 • Dr. CARLOS M. LUCERO • cm.lucero@hotmail.com  <https://orcid.org/0000-0003-1325-7027>

Cómo citar este artículo: Lucero CM, García-Mansilla A, Albani Forneris A, Díaz Dileria F, Stullitel P, Zanotti G, Comba F, Piccaluga F, Buttaró M. Secuenciación de próxima generación para la detección de patógenos en cirugía de cadera: experiencia y viabilidad diagnóstica en un centro de atención terciaria de la Argentina. *Rev Asoc Argent Ortop Traumatol* 2022;87(5):626-635. <https://doi.org/10.15417/issn.1852-7434.2022.87.5.1571>

INTRODUCCIÓN

La infección periprotésica (IPP) es una rara, pero devastadora complicación que se asocia con una mayor tasa de morbilidad y mortalidad.^{1,2} El manejo de este escenario es desafiante y costoso, y requiere particular experiencia para lograr un resultado óptimo.^{3,4}

Realizar un diagnóstico rápido y definitivo con la identificación del microorganismo causal es fundamental para el manejo de una IPP,⁵⁻⁷ ya que no identificar el germen infectante conduce a la administración de un tratamiento antimicrobiano empírico, con la posibilidad de no cubrir el verdadero patógeno. Por otro lado, un cultivo negativo se ha asociado con un riesgo 4,5 veces más alto de reinfección que uno positivo.⁸ Existen diversas técnicas de cultivo bacteriológico, como la reacción en cadena de la polimerasa, para mejorar la precisión diagnóstica. Sin embargo, la reacción en cadena de la polimerasa tiene una sensibilidad limitada que varía entre el 50% y el 81,6%,^{9,10} y, por otro lado, es ineficaz para identificar infecciones fúngicas o polimicrobianas, y diferenciar los contaminantes del verdadero microorganismo infeccioso.^{10,11}

La secuenciación de próxima generación (*next-generation sequencing*, NGS) es una técnica novedosa y rentable que puede identificar todos los ácidos nucleicos en un germen determinado, en un período de tiempo corto. Es capaz de secuenciar todo el ADN presente en una muestra y brinda una información más completa del perfil microbiano,¹² lo que permite una identificación eficiente de los genomas de bacterias y hongos. Tarabichi y cols.¹³ demostraron la utilidad de esta técnica al identificar patógenos potenciales en el 81,9% de los casos de IPP con cultivo negativo.

En nuestro país, es posible emplear dicha tecnología, aunque no solo basta con realizar la secuenciación para obtener un germen específico, sino que también se necesita una base de datos con la cual comparar las secuencias obtenidas, y así determinar el microorganismo que posee tal secuenciación. Por lo tanto, mientras más amplia sea la base de datos, más posibilidades existen de obtener una concordancia específica y fidedigna. En este sentido, el laboratorio NexGen Microgen (Texas, EE.UU.) posee el programa con la base de datos más grande conocida en el mundo, incluso incluye secuencias de ADN obtenidas de rocas lunares. El principal desafío que enfrentan los investigadores son los recursos limitados. Como resultado, las herramientas genómicas, específicamente las tecnologías de secuenciación del genoma, no están ampliamente disponibles tanto por el costo operativo para su implementación, como por los costos de envío, de aduanas y el margen de ganancias para las empresas locales, sin contar la distancia hasta el laboratorio diana, todo esto, junto con lo ya expuesto, podría demorar el traslado y el análisis de la muestra y, de esta manera, llegar a alterar su calidad y los resultados.

Hasta donde sabemos, no hay reportes sobre el empleo de esta técnica en el manejo de la IPP, en Sudamérica. El objetivo de este estudio fue demostrar prospectivamente la viabilidad de las muestras obtenidas de una serie de pacientes operados en un hospital de atención terciaria en la Argentina, que fueron analizadas con la técnica de NGS en el laboratorio NexGen Microgen (Texas, EE.UU.). En segundo lugar, evaluar el papel de la NGS para detectar microorganismos en una serie de pacientes sometidos a cirugías de revisión de cadera sépticas y asépticas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Pacientes

Luego de obtener la aprobación del Comité de Ética de nuestra institución, analizamos prospectivamente una serie de 20 pacientes que aceptaron participar del estudio y habían sido sometidos a una cirugía de revisión de artroplastia total de cadera, entre diciembre de 2019 y marzo de 2020. Se incluyó a pacientes con diagnóstico de IPP y aflojamiento aséptico, según lo definido por los criterios de la *Musculoskeletal Infection Society* (MSIS).¹⁴

Evaluación preoperatoria

Todos fueron evaluados antes de la cirugía de acuerdo con los protocolos institucionales, que incluyen la extracción de sangre para determinar la velocidad de sedimentación glomerular (VSG), la proteína C reactiva (PCR) y el dímero D. Se suspendieron los antibióticos preoperatorios dos semanas antes del procedimiento quirúrgico índice hasta que se tomaron las muestras recolectadas para cultivo, anatomía patológica y NGS.

Todos los pacientes disponían de los resultados de los análisis de sangre preoperatorios utilizados para el diagnóstico; sin embargo, no todos contaban con biopsia y PCR de líquido biológico preoperatorio. Desde 2014, en el Servicio de Cadera de nuestra institución, está indicado evaluar las revisiones con sospecha clínica de infección mediante PCR sinovial intraoperatoria, y se considera positivo un valor >9,5 mg/l.¹⁵

Durante el período de estudio, la cirugía en dos tiempos se indicó: 1) ante la confirmación de la IPP crónica según los criterios de la MSIS¹⁴ y 2) a pacientes activos funcionalmente, con marcha independiente o con mínima asistencia (índice de actividad instrumentada de la vida diaria ≤ 7).¹⁶ De manera similar, se indicó cirugía en un tiempo: 1) ante la confirmación de la IPP crónica según los criterios de la MSIS,¹⁴ pero sin fístula o drenaje activo por la herida, 2) a pacientes con baja demanda funcional (índice de actividad instrumentada de la vida diaria > 7)¹⁶ y 3) si había capital óseo acetabular con un defecto inferior al grado 3 de la clasificación de Paprosky¹⁷ y un capital óseo femoral con un defecto inferior o igual al grado 3B de esa clasificación.^{17,18}

Recolección de muestras intraoperatorias

Se ubicó a los pacientes en decúbito lateral, y se efectuó un abordaje posterolateral de cadera en un quirófano con flujo laminar. Durante la inducción anestésica, se administró una dosis de antibiótico adaptado a cada paciente en particular. Desde 2011, administramos una dosis de 1000 mg de ácido tranexámico, por vía intravenosa, durante la inducción anestésica y 1000 mg adicionales durante el cierre, en todas las cirugías.¹⁹ Las cirugías de revisión estuvieron a cargo de cuatro cirujanos especialistas de cadera de nuestra institución.

A todos los pacientes se les tomaron muestras de líquido sinovial, tejido profundo y del canal endomedular en el momento de la intervención. El líquido sinovial se obtuvo de forma estéril, utilizando una aguja calibre 18 antes de la artrotomía. Por último, se obtuvieron hisopos del acetábulo y el canal endomedular femoral.

Todas las muestras se recolectaron rápidamente en recipientes estériles y se enviaron para su estudio por correo privado. Las muestras de tejido profundo también se enviaron al laboratorio institucional para cultivos de rutina, incluidos cultivos de bacterias aerobias y anaerobias, de hongos y de bacilos acidorresistentes. Asimismo, se enviaron muestras a anatomía patológica para análisis por congelación y se solicitó PCR de líquido sinovial intraoperatoria.

Secuenciación de próxima generación

Extracción de ADN

La extracción de ADN se realiza a partir de las muestras remitidas con el kit de extracción basado en columnas QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Alemania). Las muestras son tratadas de un modo diferencial para adecuarlas al protocolo de extracción de ADN:

- Líquido sinovial: el líquido es centrifugado y se extraen 200 μ l como material de partida de la extracción.
- Tejido blando profundo: el tejido se corta con hoja de bisturí estéril en trozos de aproximadamente 1 mm³ y se colocan hasta 20 mm³ de material representativo, adicionando una solución salina amortiguadora con fosfato hasta llegar a un volumen final de 200 μ l y proseguir con la extracción.
- Material del canal endomedular: se suspende en una solución salina amortiguadora con fosfato hasta lograr un volumen final de 200 μ l y proseguir con la extracción.

Una vez que la muestra ha sido adecuada al protocolo, la extracción de ADN se realiza siguiendo las instrucciones del fabricante. El volumen de elución es de 50 μ l. Se colocan en tubos de 1,5 ml y se guardan en refrigerador a -20 °C hasta su utilización.

Envío de muestras

A partir del ADN de cada una de las muestras, se obtiene una alícuota de 15 μ l en un tubo de 0,5 ml y se rotula según su identificador. La muestra de ADN se envía por la empresa FedEx® en un contenedor hacia el laboratorio NexGen Microgen (Texas, EE.UU.).

Estudio por NGS

El laboratorio NexGen Microgen lleva a cabo estudios de NGS por amplificación del gen del ARNr 16S en las muestras enviadas para detectar patógenos de origen bacteriano.

Análisis bioinformático y reporte de los resultados

El laboratorio NexGen Microgen analiza los datos obtenidos según el protocolo propio y envía a nuestro hospital, por correo electrónico, los resultados dentro de las 72 h para completar la base de datos.

Tratamiento antibiótico

Luego de la cirugía, cuando se consideró que un caso era séptico, se administró un curso de antibioticoterapia por vía intravenosa, durante seis semanas, según los criterios del cirujano y del Servicio de Infectología de nuestra institución; cuando la tipificación del germen y su sensibilidad fueran adecuadas y el antibiótico seleccionado alcanzara una adecuada biodisponibilidad por vía oral, se eligió esta vía de administración. El control infectológico se efectuó a los 15 días, al mes y a las seis semanas desde el procedimiento quirúrgico, y se controlaron hallazgos clínicos, como el estado de la herida, la presencia de dolor, así como los resultados de los análisis de sangre (VSG, PCR).

RESULTADOS

Se realizó NGS en 20 casos, y se seleccionaron 17, porque tenían una muestra apta para el análisis. Los primeros tres casos fueron descartados, porque no se pudo obtener, a tiempo, el permiso del Ministerio de Salud para enviar las muestras al extranjero. A pesar de que las muestras fueron almacenadas en el refrigerador a una temperatura inferior a -80 °C, después de 3-5 días, se considera que pierden su calidad para someterlas a pruebas debido a la desnaturalización de los ácidos nucleicos.

La serie estaba conformada por 17 pacientes, el 64,70% (11 pacientes) eran hombres y el 35,30% (6 pacientes), mujeres. Nueve casos (52,95%) correspondían a la cadera izquierda y ocho (47,05), a la derecha. La edad promedio era de 68 años (rango 37-86). Antes de la cirugía, 10 revisiones (58,83%) fueron interpretadas como asépticas y las siete restantes (41,17%), como sépticas. Las cirugías fueron: revisiones en un tiempo (9 casos; 52,94%) y revisiones en dos tiempos (7 casos; 41,17%); en cuatro de ellas (57,14%), fue el primer tiempo quirúrgico (colocación de espaciador) y, en tres (42,86%), el segundo tiempo (reimplante). Por último, la cirugía restante (5,89%) fue un desbridamiento con toma de muestras y retención de implantes. En la [Tabla 1](#), se resumen los datos demográficos de la serie.

Tabla 1. Datos de los pacientes

Caso	Edad	Sexo	Lado	Séptica/Aséptica	Tiempo quirúrgico
1	77	M	D	Séptica	2°. Espaciador
2	73	M	I	Aséptica	1°.
3	86	F	I	Aséptica	1°.
4	77	F	I	Aséptica	1°.
5	37	M	I	Séptica	2°. Reimplante
6	77	M	D	Séptica	2°. Reimplante
7	72	F	D	Aséptica	1°.
8	73	F	I	Séptica	Limpieza
9	61	M	D	Aséptica	2°. Espaciador
10	43	M	D	Aséptica	1°.
11	74	F	I	Séptica	2°. Reimplante
12	54	M	I	Aséptica	1°.
13	67	M	D	Séptica	2°. Espaciador
14	81	M	I	Aséptica	1°.
15	65	M	D	Aséptica	1°.
16	67	M	D	Aséptica	1°.
17	78	F	I	Séptica	2°. Espaciador

M = masculino, F = femenino, I = izquierdo, D = derecho.

Se obtuvieron cultivos positivos preoperatorios en siete (41,17%) pacientes (casos 1, 2, 5, 8, 11, 13 y 17). El germen predominante fue *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina (SASM) (3 casos; 42,85%), seguido de *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) (2 casos, 28,57%) y *Propionibacterium acnes* y *Escherichia coli*, uno, en cada uno de los restantes (14,28%). Solo cuatro (57,14%) de los siete pacientes con cultivos preoperatorios positivos tenían un proceso inflamatorio agudo en el análisis anatomopatológico por congelación de la cirugía de revisión, los tres casos restantes (42,85%) eran procesos no inflamatorios.

La estadificación infectológica preoperatoria fue diferente según cada caso en particular y debido a la heterogeneidad de la muestra, los valores de VSG, PCR y dímero D obtenidos en el período preoperatorio, así como los cultivos prequirúrgicos y el análisis anatomopatológico por congelación se agruparon en la [Tabla 2](#).

Tabla 2. Análisis infectológico preoperatorio

Caso	VSG preoperatoria	PCR preoperatoria	Dímero D preoperatorio	Cultivo preoperatorio	Anatomía patológica
1	74	89	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	PIA
2	67	4	-	SASM	SAIA
3	20	1	-	-	Debris metálico
4	51	2	5821	-	SAIA
5	60	18	-	SARM	SAIA
6	34	9	4201	-	SAIA
7	10	5	-	-	SAIA
8	102	55	-	SARM	SAIA
9	21	4	-	-	PIA
10	11	5	-	-	SAIA
11	57	3	-	SASM	PIA
12	13	8	-	-	SAIA
13	67	59	-	<i>Propionibacterium acnes</i>	PIA
14	14	7	-	-	SAIA
15	55	45	-	-	PIA
16	10	1	506	-	SAIA
17	65	16	-	<i>Escherichia coli</i>	PIA

VSG = velocidad de sedimentación glomerular, PCR = proteína C reactiva, SARM = *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, SASM = *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina, PIA = proceso inflamatorio agudo, SAIA = sin actividad inflamatoria aguda.

En cuanto a la estadificación infectológica posoperatoria, se registraron los análisis de PCR de líquido sinovial, los cultivos de líquido sinovial y de tejido (partes blandas) de todos los casos y sus resultados se muestran en la [Tabla 3](#).

Tabla 3. Análisis infectológico posoperatorio

Caso	PCR de líquido sinovial	Cultivo de líquido sinovial	Cultivo de partes blandas
1	12	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis/P. aeruginosa</i>
2	0,2	Negativo	Negativo
3	0,6	Negativo	Negativo
4	0,8	Negativo	Negativo
5	13	Negativo	SARM
6	4,5	Negativo	<i>S. haemolyticus</i>
7	0,2	Negativo	Negativo
8	24	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
9	0,2	Negativo	Negativo
10	0,5	Negativo	Negativo
11	0,4	Negativo	Negativo
12	0,6	Negativo	Negativo
13	28,5	Negativo	Negativo
14	0,3	Negativo	Negativo
15	11,6	Negativo	Negativo
16	0,4	Negativo	Negativo
17	4,1	Negativo	<i>E. coli</i>

PCR = proteína C reactiva, SARM = *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, SASM = *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina.

Resultados de la NGS

Los resultados de todas las muestras enviadas para NGS se recibieron dentro de las 72 h posteriores a la cirugía (Tabla 4). Nueve (53,94%) muestras eran negativas para la obtención de material genético correspondiente a secuencias bacterianas conocidas. En uno de estos pacientes (caso 9), se decidió la cirugía en dos tiempos por hallazgos intraoperatorios sugestivos de infección y los resultados del análisis anatomopatológico que informaban un proceso inflamatorio agudo. Dicho paciente evolucionó favorablemente y, hasta el último seguimiento, llevaba 22 meses con el implante, sin fallas ni reoperaciones. En el caso 11, también con resultado negativo de la NGS, se realizó el segundo tiempo de revisión sin identificación de germen por cultivo posoperatorio, pero con sospecha de infección por el análisis anatomopatológico que sugería un proceso inflamatorio agudo y cultivos preoperatorios positivos para SASM.

En el caso 5, el resultado de la NGS informó un germen distinto (*Malassezia sympodialis*) del identificado en los cultivos posoperatorios de partes blandas (SARM), esto permitió interpretar correctamente el caso y ajustar la terapia antibiótica supresora posoperatoria.

En el paciente 12, la NGS permitió identificar *Parabacteroides gordonii* sensible a clindamicina y metronidazol cuando la interpretación diagnóstica había sido aséptica y los resultados del análisis anatomopatológico informaron ausencia de cambios inflamatorios agudos y con cultivos posoperatorios negativos, por lo que fue considerado como un falso positivo por parte del cirujano y corroborado por el laboratorio al discutir los hallazgos.

Asimismo, la aplicación de la NGS fue determinante en el paciente 15. Luego de una revisión en un tiempo con cultivos pre y posoperatorios negativos y análisis anatomopatológicos por congelación sugerentes de un proceso inflamatorio agudo, fue posible aislar secuencias de ADN de *Staphylococcus epidermidis* en muestras de partes blandas, aunque no así en la muestra sinovial. Aunque podría interpretarse como un falso positivo por contaminación, se decidió administrar un tratamiento antibiótico coadyuvante.

Tabla 4. Resultados de la secuenciación de próxima generación (NGS)

NGS de partes blandas	NGS de líquido sinovial	Antibioticoterapia
<i>P. aeruginosa/S. epidermidis</i>	<i>P. aeruginosa/S. epidermidis</i>	Ceftolozano/tazobactam + vancomicina
Negativo	Negativo	Levofloxacina 750 mg + minociclina 100 mg
Negativo	Negativo	No
Negativo	Negativo	No
<i>Malassezia sympodialis</i>	<i>Malassezia sympodialis</i>	Vancomicina + ertapenem 1 g Tratamiento prolongado
Negativo	Negativo	Ceftolozano/tazobactam + vancomicina
Negativo	Negativo	No
<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	Vancomicina 1 g c/12 h
Negativo	Negativo	No
Negativo	Negativo	No
Negativo	Negativo	Levofloxacina 750 mg/día
Negativo	<i>Parabacteroides gordonii</i>	No
Negativo	<i>Cutibacterium acnes</i>	Vancomicina 1 g c/12 h/ceftriaxona 2 g/día
Negativo	Negativo	No
<i>S. epidermidis</i>	Negativo	Vancomicina/ciprofloxacina
<i>Morganella morganii</i>	Negativo	No
<i>Corynebacterium</i> sp 54%; <i>Corynebacterium mucifaciens</i> 18%; <i>E. coli</i> 12%; <i>Cutibacterium acnes</i> 5%; <i>Lactobacillus crispatus</i> 4%; <i>Bradyrhizobium yuanmingense</i> 2%; <i>Corynebacterium tuberculostearicum</i> 2%	<i>Corynebacterium</i> sp 54%; <i>Corynebacterium mucifaciens</i> 18%; <i>E. coli</i> 12%; <i>Cutibacterium acnes</i> 5%; <i>Lactobacillus crispatus</i> 4%; <i>Bradyrhizobium yuanmingense</i> 2%; <i>Corynebacterium tuberculostearicum</i> 2%	Vancomicina 2 g/ciprofloxacina 750 mg Tratamiento supresor

De manera similar, en el paciente 16, la NGS identificó *Morganella morganii* en partes blandas, sin lograr identificar gérmenes en el líquido sinovial, y los reactantes de fase aguda no sugerían infección y los cultivos eran negativos en un paciente sometido a un recambio en un tiempo.

Por último, los resultados de la NGS también cambiaron las indicaciones en el caso 17. Se planificó el recambio en un tiempo debido a la sospecha de infección por *Escherichia coli* sensible a múltiples fármacos aislada antes de la cirugía; luego durante la operación, por decisión del cirujano, se optó por la revisión en dos tiempos, se confeccionó un espaciador y se tomaron muestras, que resultaron positivas para *Escherichia coli* sensible a múltiples fármacos. Sin embargo, los resultados de la NGS obligaron a corregir la terapia antibiótica y a administrar un tratamiento supresor posimplante, ya que identificó secuencias de *Corynebacterium* sp (54%), *Corynebacterium mucifaciens* (18%), *Escherichia coli* (12%), *Cutibacterium acnes* (5%), *Lactobacillus crispatus* (4%), *Bradyrhizobium yuanmingense* (2%), *Corynebacterium tuberculostearicum* (2%).

DISCUSIÓN

En este estudio, se demostró que es viable el empleo de la NGS en la Argentina para el diagnóstico de una infección asociada a una prótesis de cadera, ya que la distancia superior a 8000 km que separa al centro médico del laboratorio de análisis molecular no fue un impedimento para que se pudieran analizar, sin inconvenientes, todas las muestras enviadas, y obtener un resultado en menos de 72 horas. Es importante remarcar que las muestras se enviaron por un correo privado, sin requerimiento de medidas de transporte específicas que pudieran dificultar la logística. Además, en los últimos años, los costos de estas tecnologías de análisis molecular disminuyeron y se han convertido en herramientas de diagnóstico relativamente accesibles.²⁰

La técnica de NGS ya se utiliza en nuestro país, en varias especialidades médicas, como en el diagnóstico de infertilidad^{20,21} o en el diagnóstico diferencial de tipos específicos de distrofia muscular²². La implementación de estas técnicas moleculares para el diagnóstico de una infección periarticular tanto en nuestro país como en el resto de Latinoamérica es novedosa y no encontramos publicaciones que informen sobre su empleo, quizá su uso se limite debido a la falta de laboratorios locales aptos y con bases de datos moleculares extensas que permitan la correcta interpretación de los resultados. Más allá de la falta de desarrollo regional de estas tecnologías, en este estudio, se demuestra que el uso de estos métodos de diagnóstico es posible.

En un estudio prospectivo, Tarabichi y cols. comunicaron que la técnica de NGS detecta, de forma fiable, microorganismos en el líquido sinovial con un alto grado de concordancia con los cultivos tradicionales (96,1%);²⁰ a su vez, se comprobó que la NGS es un complemento útil para la detección de patógenos en el 81,8% de las IPP con cultivo negativo.¹³ En nuestra serie, hubo concordancia entre cultivos y NGS en ocho (pacientes 1, 3, 4, 7, 8, 10, 13, 14) de los 17 pacientes; en cambio, en otros tres, se logró identificar un germen diferente del hallado en los cultivos (casos 5, 12, 17), lo que modificó la conducta terapéutica inicial. Yin y cols. describieron que la técnica de NGS tiene una sensibilidad de 0,93 para el diagnóstico de infección asociada a una prótesis, un valor superior al comunicado para los biomarcadores PCR (0,67), interleuquina 6 (0,47), procalcitonina (0,67) y cultivos (0,47), y estadísticamente significativo ($p < 0,05$); sin embargo, al evaluar la especificidad, la NGS presentó un valor de 0,9, solo superior a la PCR (0,85; $p < 0,05$).^{13,23}

Pese a que los resultados descritos de la aplicación de la NGS en el diagnóstico de una IPP sean alentadores, varios autores concuerdan en que es necesario validar estos métodos diagnósticos con estudios de mayor nivel de evidencia y, a su vez, evaluar el análisis de costo/beneficio.^{24,25}

Este estudio no está exento de limitaciones. Si bien su finalidad no fue analizar los resultados clínicos, sino la viabilidad del empleo de esta técnica novedosa, creemos que la muestra de pacientes es heterogénea, lo que no permite obtener otras conclusiones. Además, no se realizó un análisis de costos. Por otro lado, su fortaleza es su diseño prospectivo con una recolección de datos minuciosa, en el que se analizaron muestras no solo de líquido sinovial, sino también de partes blandas. Es importante remarcar que las muestras se analizaron en el centro que cuenta con la mayor base de datos genómica del mundo, un beneficio a la hora de identificar microorganismos de los más atípicos y evitar subdiagnósticos.

CONCLUSIONES

Según nuestra experiencia, el empleo de NGS, en nuestro medio, es viable como herramienta para el diagnóstico de una IPP y se dispone de los resultados en menos de 72 h, a pesar de la distancia con el laboratorio de análisis. Nuestros hallazgos sugieren que algunas infecciones podrían deberse a otros gérmenes que escapan a la detección bacteriológica convencional. No obstante, consideramos que se requieren estudios adicionales y de mayor escala para determinar el papel de la NGS en el algoritmo diagnóstico y terapéutico de la IPP y entender la implicancia de ciertos microorganismos pocos frecuentes aislados en muestras de pacientes que no parecen estar infectados.

Conflicto de intereses: Los autores no declaran conflictos de intereses.

ORCID de A. García-Mansilla: <https://orcid.org/0000-0001-9820-8886>

ORCID de A. Albani Forneris: <https://orcid.org/0000-0002-9463-2724>

ORCID de F. Díaz Dilermia: <https://orcid.org/0000-0002-7830-2207>

ORCID de P. Slullitel: <https://orcid.org/0000-0002-8957-075X>

ORCID de G. Zanotti: <https://orcid.org/0000-0001-8090-4832>

ORCID de F. Comba: <https://orcid.org/0000-0002-2848-2983>

ORCID de F. Piccaluga: <https://orcid.org/0000-0002-9887-4886>

ORCID de M. Buttarò: <https://orcid.org/0000-0003-3329-778X>

BIBLIOGRAFÍA

1. Kurtz SM, Lau E, Schmier J, Ong KL, Zhao K, Parvizi J. Infection burden for hip and knee arthroplasty in the United States. *J Arthroplasty* 2008;23(7):984-91. <https://doi.org/10.1016/j.arth.2007.10.017>
2. Ong KL, Kurtz SM, Lau E, Bozic KJ, Berry DJ, Parvizi J. Prosthetic joint infection risk after total hip arthroplasty in the Medicare population. *J Arthroplasty* 2009;24(6 Suppl):105-9. <https://doi.org/10.1016/j.arth.2009.04.027>
3. Parisi TJ, Konopka JF, Bedair HS. What is the long-term economic societal effect of periprosthetic infections after THA? A Markov analysis. *Clin Orthop Relat Res* 2017;475(7):1891-900. <https://doi.org/10.1007/s11999-017-5333-6>
4. Zimmerli W, Trampuz A, Ochsner PE. Prosthetic-joint infections. *N Engl J Med* 2004;351(16):1645-54. <https://doi.org/10.1056/NEJMra040181>
5. Kurtz S, Ong K, Lau E, Mowat F, Halpern M. Projections of primary and revision hip and knee arthroplasty in the United States from 2005 to 2030. *J Bone Joint Surg Am* 2007;89(4):780-5. <https://doi.org/10.2106/JBJS.F.00222>
6. Parvizi J, Erkocak OF, Della Valle CJ. Culture-negative periprosthetic joint infection. *J Bone Joint Surg Am* 2014;96(5):430-6. <https://doi.org/10.2106/JBJS.L.01793>
7. Nodzo SR, Bauer T, Pottinger PS, Garrigues GE, Bedair H, Deirmengian CA, et al. Conventional diagnostic challenges in periprosthetic joint infection. *J Am Acad Orthop Surg* 2015;23Suppl:S18-25. <https://doi.org/10.5435/JAAOS-D-14-00385>
8. Mortazavi SMJ, Vegari D, Ho A, Zmistowski B, Parvizi J. Two-stage exchange arthroplasty for infected total knee arthroplasty: predictors of failure. *Clin Orthop Relat Res* 2011;469(11):3049-54. <https://doi.org/10.1007/s11999-011-2030-8>
9. Ryu SY, Greenwood-Quaintance KE, Hanssen AD, Mandrekar JN, Patel R. Low sensitivity of periprosthetic tissue PCR for prosthetic knee infection diagnosis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014;79(4):448-53. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2014.03.021>
10. Villa F, Toscano M, De Vecchi E, Bortolin M, Drago L. Reliability of a multiplex PCR system for diagnosis of early and late prosthetic joint infections before and after broth enrichment. *Int J Med Microbiol* 2017;307(6):363-70. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2017.07.005>
11. Huang Z, Wu Q, Fang X, Li W, Zhang C, Zeng H, et al. Comparison of culture and broad-range polymerase chain reaction methods for diagnosing periprosthetic joint infection: analysis of joint fluid, periprosthetic tissue, and sonicated fluid. *Int Orthop* 2018;42(9):2035-40. <https://doi.org/10.1007/s00264-018-3827-9>
12. Whitley R. The new age of molecular diagnostics for microbial agents. *N Engl J Med* 2008;358(10):988-9. <https://doi.org/10.1056/NEJMp0708085>
13. Tarabichi M, Shohat N, Goswami K, Alvand A, Silibovsky R, Belden K, et al. Diagnosis of periprosthetic joint infection: The potential of next-generation sequencing. *J Bone Joint Surg Am* 2018;100(2):147-54. <https://doi.org/10.2106/JBJS.17.00434>
14. Parvizi J, Zmistowski B, Berbari EF, Bauer TW, Springer BD, Della Valle CJ, et al. New definition for periprosthetic joint infection: from the Workgroup of the Musculoskeletal Infection Society. *Clin Orthop Relat Res* 2011;469(11):2992-4. <https://doi.org/10.1007/s11999-011-2102-9>
15. Buttaro MA, Martorell G, Quinteros M, Comba F, Zanotti G, Piccaluga F. Intraoperative synovial C-reactive protein is as useful as frozen section to detect periprosthetic hip infection. *Clin Orthop Relat Res* 2015;473(12):3876-81. <https://doi.org/10.1007/s11999-015-4340-8>
16. Singh JA, Lewallen DG. Patient-level clinically meaningful improvements in activities of daily living and pain after total hip arthroplasty: data from a large US institutional registry. *Rheumatology* 2013;52(6):1109-18. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kes416>
17. Sheth NP, Nelson CL, Springer BD, Fehring TK, Paprosky WG. Acetabular bone loss in revision total hip arthroplasty: evaluation and management. *J Am Acad Orthop Surg* 2013;21(3):128-39. <https://doi.org/10.5435/JAAOS-21-03-128>
18. Sheth NP, Nelson CL, Paprosky WG. Femoral bone loss in revision total hip arthroplasty: evaluation and management. *J Am Acad Orthop Surg* 2013;21(10):601-12. <https://doi.org/10.5435/JAAOS-21-10-601>
19. Mariani P, Buttaro MA, Slullitel PA, Comba FM, Zanotti G, Ali P, et al. Transfusion rate using intravenous tranexamic acid in hip revision surgery. *Hip Int* 2018;28(2):194-9. <https://doi.org/10.1177/1120700018768655>
20. Tarabichi M, Shohat N, Goswami K, Parvizi J. Can next generation sequencing play a role in detecting pathogens in synovial fluid? *Bone Joint J* 2018;100-B:127-33. <https://doi.org/10.1302/0301-620X.100B2.BJJ-2017-0531.R2>

21. Lorenzi D, Fernández C, Bilinski M, Fabbro M, Galain M, Menazzi S, et al. First custom next-generation sequencing infertility panel in Latin America: design and first results. *JBRA Assist Reprod* 2020;24(2):104-14. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20190065>
22. Bevilacqua JA, Guecaimburu Ehuleche MDR, Perna A, Dubrovsky A, Franca MC Jr, Vargas S, et al. The Latin American experience with a next generation sequencing genetic panel for recessive limb-girdle muscular weakness and Pompe disease. *Orphanet J Rare Dis* 2020;15(1):11. <https://doi.org/10.1186/s13023-019-1291-2>
23. Yin H, Xu D, Wang D. Diagnostic value of next-generation sequencing to detect periprosthetic joint infection. *BMC Musculoskelet Disord* 2021;22(1):252. <https://doi.org/10.1186/s12891-021-04116-9>
24. Ahmed SS, Begum F, Kayani B, Haddad FS. Risk factors, diagnosis and management of prosthetic joint infection after total hip arthroplasty. *Expert Rev Med Devices* 2019;16(12):1063-70. <https://doi.org/10.1080/17434440.2019.1696673>
25. Goswami K, Parvizi J, Maxwell Courtney P. Current recommendations for the diagnosis of acute and chronic PJI for hip and knee-cell counts, alpha-defensin, leukocyte esterase, next-generation sequencing. *Curr Rev Musculoskelet Med* 2018;11(3):428-38. <https://doi.org/10.1007/s12178-018-9513-0>