



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

FÁRMACOS Y NANOMATERIALES PARA EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES ÓSEAS (II)

Autor: Leticia Moreno Arrieta

Tutor: Sandra Sánchez Salcedo

Fecha:Junio 2019

Índice

1. Resumen.....	2
2. Introducción y Antecedentes	2
2.1. Definición osteomielitis y artritis séptica.....	2
2.2. Formación del biofilm.....	2
2.2.1. Adherencia.....	3
2.2.2. Crecimiento.....	3
2.2.3. Maduración.....	3
2.3. Microorganismos causantes.....	4
3. Objetivo.....	5
4. Metodología.....	5
5. Resultado y discusión.....	5
5.1. Identificación de microorganismos causantes.....	5
5.2. Prevención de la formación del biofilm.....	7
5.3. Biomateriales y Fármacos utilizados.....	8
5.3.1. Biocerámicas.....	9
5.3.2. Biopolímeros.....	14
5.3.3. Biomateriales compuestos.....	16
5.3.4. Zwitterion.....	18
6. Conclusiones.....	19
7. Bibliografía.....	19

1. RESÚMEN

Las infecciones osteoarticulares son frecuentes y suponen una carga financiera importante para el sistema sanitario. Generalmente son producidas por bacterias u hongos, pero pueden llegar a producirse por micobacterias y parásitos. Para llevar a cabo un tratamiento se tendrá en cuenta la evolución, etiología y la respuesta inmunitaria del huésped. Es muy importante llevar a cabo un diagnóstico precoz para evitar morbilidad y mortalidad, mediante exámenes de imágenes, para evitar llegar a formas graves como son osteomielitis, artritis séptica e infecciones de tejidos blandos. Estos microorganismos pueden penetrar de diversas formas, incluyendo heridas, prótesis, viajes y contactos con animales. Se suele llevar a cabo un tratamiento médico-quirúrgico combinado con antibióticos, pudiendo utilizar diferentes biomateriales (solos o combinados con antibióticos), como los vidrios bioactivos, la Hidroxiapatita, cementos y estructuras de Zwitterion para la prevención, o bien la administración de antibióticos, únicamente en etapas tempranas, para conseguir paliar la infección; teniendo en cuenta que la combinación de diferentes biomateriales suele tener mejores resultados que su utilidad por separado, ya que se produce una sinergia entre ambos. Este trabajo consta de la explicación de infecciones osteoarticulares, la formación del biofilm, los microorganismos causantes y todo lo dirigido a evitar que se produzca la infección mediante la utilización de fármacos, biomateriales o ambos.

Palabras clave: osteomielitis, infección ósea, artritis séptica, *S. aureus*, *S.epidermidis*, biomateriales.

2. INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

2.1 Definición osteomielitis y artritis séptica

Las infecciones óseas han disminuido con el paso del tiempo debido al uso de antibioterapia. Normalmente el sexo predominante es el varón y suele producirse en edades tempranas (<5 años), pero también se han visto casos en adultos. En menor medida nos encontramos la osteomielitis aguda, y se ha visto una elevada incidencia de osteomielitis crónica o por implantes. Estas infecciones suelen producirse de forma más habitual en huesos largos y articulaciones. Generalmente, en adultos se produce por enfermedades como artritis reumática, inmunodeprimidos y adictos a drogas. Entre los factores predisponentes de estas infecciones óseas destacamos: climáticos, higiénico-dietéticos, traumáticos, hemoglobinopatías, inmunitarios, vía parenteral o catéter, sociales, pie diabético, heridas, material de osteosíntesis, mordeduras y úlceras.^(1,2)

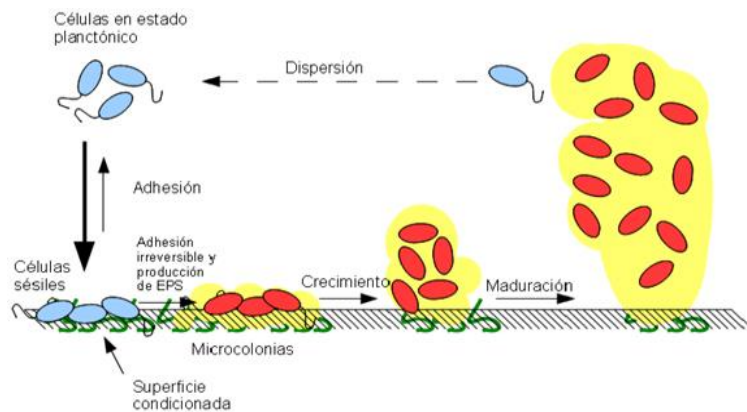
- ❖ **Osteomielitis:** es la infección del hueso y de la médula ósea, que genera un proceso inflamatorio que conlleva necrosis, destrucción ósea y oposición a la formación de nuevo tejido óseo. Se suele producir por *Staphylococcus aureus*, pero también puede producirse por *Streptococcus*, *Echericha coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.⁽³⁾
- ❖ **Artritis séptica:** es la infección en el espacio articular como complicación a una bacteremia. Se genera por una infección sinovial, hasta donde llegan los microorganismos por la sangre. Se produce una respuesta inflamatoria e infecciosa muy rápida, con degradación del cartílago articular en las primeras 8 horas de infección. Suele darse por bacterias.⁽⁴⁾

Éstas son las formas más graves con las que puede cursar una infección ósea, no pueden ser tratadas con fármacos y nanomateriales únicamente, habrá que retirar la zona afectada y posteriormente se pondrá una prótesis o similar y pautar un tratamiento. Las formas más leves de la infección se tratarán con fármacos y nanomateriales en conjunto, y en ciertas ocasiones, se tratará quirúrgicamente cuando existan complicaciones infecciosas. Es muy importante prevenir la enfermedad en estos casos.

2.2 Formación del biofilm.

Para evitar las infecciones óseas más graves tendremos que incidir sobre las numerosas bacterias causantes, algunas son más frecuentes en todos los rangos de edad. Una infección ósea comienza con la formación de un biofilm/biocapa o slime. Éstos se pueden formar en una multitud de superficies bióticas (tejidos, células o materiales inertes (ej. prótesis). La biocapa bacteriana está formada por una gran cantidad de microorganismos (misma o distinta especie), adheridos a una superficie (de forma irreversible), envueltos por una matriz y por moléculas sintetizadas por el propio microorganismo y/o procedentes del huésped, que conforman una estructura tridimensional con una organización compleja. Esta matriz está formada principalmente por exopolisacáridos (EPS), pero también por ADN y

proteínas. Esta biocapa tiene un papel esencial en la supervivencia, sobre todo si es creada por la microbiota comensal, que evita colonizaciones por microorganismos patógenos. Las bacterias que forman parte de un biofilm tienen fenotipos diferentes a las encontradas en los estados planctónicos. (5,6, 7,8)



Formación del biofilm (3 pasos) (Figura 1):

Figura 1: Recubrimientos antimicrobianos vía sol-gel: su aplicación en el control de formación de biofilms (8)

2.2.1. Adherencia bacteriana: Depende de la superficie de la bacteria, del sustrato y del medio ambiente que les rodea. La adhesión es un proceso importante, un flujo de líquidos van a arrastrar las bacterias no adheridas (ej. boca, intestino y vías urinarias). Estas estructuras bacterianas se denominan adhesinas (ej. MSCRAMM (Componentes microbianos de superficie de reconocimiento de moléculas adhesivas de la matriz) de *Staphylococcus aureus*). Las bacterias tienen unas estructuras denominadas pilis o fimbrias, que permiten que se una a la célula huésped. La proteína localizada en el extremo de la fimbria es la adhesina que se une a un receptor de la célula huésped constituida generalmente por residuos de hidratos de carbono, pero también de proteínas (fibrinógeno, colágeno, etc.). El ensamblaje a la pared celular por parte de la fimbria es un proceso en el que suelen intervenir proteínas auxiliares. Como las proteínas asociadas a las biocapas (Bap); su mutación afecta a la adherencia produciendo su pérdida. En *S. epidermitis* se ha visto un gen similar a Bap, son las proteínas SSP-1 y SSP-2 están implicadas en la adherencia, formando una estructura similar a una fimbria (6,7)

- ❖ **Adhesión primaria o reversible:** Esta primera interacción entre las bacterias (normalmente en estado planctónico) y la superficie inerte, está mediada por interacciones no específicas (fuerzas de Van der Waals, interacciones hidrofóbicas, temperatura, polaridad, etc.). Los microorganismos en estado planctónico (células que se encargan de la colonización y movimiento) están débilmente adheridas (6,8).
- ❖ **Adhesión secundaria o irreversible:** se generan uniones específicas, produciendo el exopolisacárido (EPS) que se une a una serie de receptores que se encuentran en pilis o fimbrias. En este caso se encuentran unidos de forma irreversible. En este proceso hay células sésiles que tienen mayor metabolismo y actividad reproductiva (8).

2.2.2. Crecimiento: para llevar a cabo el crecimiento hay que proceder a la evasión de las defensas del huésped (proteína A y algunas toxinas). Para proceder a la expansión habrá que formar unas microcolonias, para ello necesitamos un crecimiento clonal y que las uniones entre células sean estables, también necesitamos nutrientes apropiados y las estructuras de adhesión como pilis para las uniones cél-cél y todo esto unido a factores para mermar las defensas del huésped, como son exotoxinas e hidrolasas, que permiten el crecimiento más fácilmente (7,8).

2.2.3. Maduración del biofilm: está formado por varias capas incluyendo la matriz de EPS. Este EPS está formado por arcilla, cristales, sangre, proteínas y ADN. Además tienen unos espacios intersticiales que permiten eliminar desechos y obtener nutrientes. Además de necesitar nutrientes para madurar, tiene el “quorum sensing” (sistema de estímulo) relacionado con el número de bacterias. Las biocapas se forman rápidamente, por lo que a los 7 días ya se consideran maduras (8,9).

El biofilm puede servir para llevar a cabo una comunicación de las bacterias entre sí, a través de unos pequeños compuestos similares a las hormonas. Puede actuar como una barrera para evitar la entrada de agentes microbianos y nutrientes, pero esta resistencia que tienen los biofilms se debe a ciertos factores, como una baja tasa metabólica, tasas de división de las células de los microorganismos y respuestas al estrés adaptativo, también pH, fuerza iónica y la inanición que puede hacer que se rompa

el biofilm. Las bacterias más superficiales son las que se desprenden y regresan a su estado planctónico, haciéndose sensibles a los antibióticos, y son las responsables de los síntomas. En las prótesis u otros materiales de osteosíntesis el proceso es similar, se forma el biofilm y se genera la infección, pero las bacterias suelen introducirse en las prótesis en el propio quirófano o bien en el postoperatorio. En el implante se puede dar la infección con bajas dosis de microorganismo e incluso con microorganismos poco virulentos. Para poder combatir el biofilm habrá que determinar qué genes se han expresado y utilizar fármacos contra ellos (7,8,9)

Cultivos totales	IOA n = 68 (%)	AS n = 40 (%)	OA n = 3 (%)	OM n = 25 (%)
Cultivos positivos	40 (59)	18 (45)	3 (100)	19 (76)
Agente				
<i>Staphylococcus aureus</i>	20 (50)	7 (39)	1	12 (63,1)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	12 (30)	5 (28)	2	5 (26,3)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2	2		
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	2		
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	1		
<i>Streptococcus grupo viridans</i>	1	1		
<i>Salmonella sp</i>	1			1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1			1

IOA: infección osteo-articular, AS: artritis séptica, OA: osteoartritis, OM: osteomielitis

- Edad < 2 meses: *Streptococcus agalactiae* (Grupo B), *Staphylococcus aureus*, Enterobacterias (*E. coli*), *S. pneumoniae*, (*Candida*, *Staphylococcus coagulasa* negativo)
- Edad 2 meses a 2 años: *S. aureus*, *Streptococcus pyogenes* (Grupo A), *S. pneumoniae*, *H. influenzae* tipo b *
- Edad > 2 años: *S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*
- Hemoglobinopatía: *Salmonella*, *S. pneumoniae*
- Inmunodeprimidos: Enterobacterias, Hongos
- Artritis en adolescente: *Neisseria gonorrhoeae*
- Secundaria a punción a través de calzado: *Pseudomonas*, *S. aureus*.
- Foco contiguo: *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Streptococcus*, *Clostridium* etc

Tabla 1: Agentes etiológicos mayoritarios distribuidos según el tipo de infección osteo-articular. (9)

Tabla 2: principales microorganismos (11).

2.3 Microorganismos causantes

Estas infecciones suelen producirse por microorganismos provenientes de la vía hematogena, y en menor medida por heridas, post-cirugía, fracturas, etc. (11) Principales: (tabla 1 y 2)

→ **Staphylococcus aureus**: Es un coco gram positivo, muy abundante en la flora humana y una bacteria anaerobia facultativa. No poseen capsula, no se mueven y no son esporuladas. Produce catalasas (principal diferencia de *Streptococcus* y *Enterococcus*). Su diseminación es nasal, esto es lo que genera la resistencia a la metilina (MRSA). Las resistencias que encontramos suelen ser producidas por el uso indiscriminado e incorrecto de los antibióticos. Son el principal microorganismo productor de artritis séptica y osteomielitis en todas las edades. La mayoría de la gente lo tiene de forma transitoria o crónica. Uno de los problemas que tiene es que es más difícil de tratar en las prótesis debido a que tiene polisacáridos, fibronectinas, toxinas, etc., que le hacen más severa^(11,12,13,14,15). La infección por *S. aureus* se produce porque se une al hueso a través de unos receptores (adhesinas) para unirse posteriormente a la matriz ósea, la adhesina permite la unión al cartílago, suele ser por donde penetran las bacterias porque suele estar lesionado.^(1,16) Las adhesinas están codificadas dentro del operón icaADBC, alguna mutación en este produce una disminución de la biopelícula (también en *S. epidermidis*). Se vio que produce un polisacárido a nivel de las vías respiratorias en pacientes con fibrosis quística denominado (PNSG: *poly-N-succinyl-b-1,6-glucosamine*), producido por el gen de adhesión del locus ica. Este PNSG también se identificó en *S. epidermitis*. *S. aureus* que sobrevive intracelularmente al osteoblasto, lo que da lugar a que la bacteria permanezca más tiempo en el interior del hueso y que los tratamientos cortos fracasen. La pérdida ósea se produce por secreción de una enzima (metaloproteasa) que tiene la misión de degradar la matriz y activar la función de los osteoclastos (degradan, reabsorben y remodelan huesos) generando una progresión de la enfermedad y aumento de la resorción ósea. También puede entrar por vía hemática y se dirige a las metáfisis óseas. Allí va a la matriz ósea, generando enzimas proteolíticas, destruyendo los tejidos circulantes y favoreciendo la infección^(1, 17,18,19).

→ **Staphylococcus epidermidis**: Forma parte de la microbiota cutánea del hombre. Este agente se encuentra predominantemente afectando a implantes ortopédicos, material de osteosíntesis, catéteres intravenosos y otros dispositivos porque tiene capacidad para producir el biofilm en ellos. Es un estafilococo coagulasa negativo (ECN), que suele producir resistencia a linezolid y metilina por una mutación del ARNr 23S (biosíntesis de proteínas), también genera resistencia a clotrimoxazol. También pueden formar hemolisinas, lipasas, termoneucleasas, ADNasas y otras exo-enzimas que

pueden contribuir a mantener la infección por la degradación de tejidos. Para generar una infección en un implante, la carga de microorganismo es mucho más pequeña, y para que se produzca la infección hay que tener en cuenta el estado del paciente y las características del material utilizado. Se cree que los ácidos teicoicos actúan como un puente entre la fibronectinas y las bacterias (también en *S.aureus*). La Pia (adhesina de polisacárido intercelular, codificada por el locus ica), se considera una unión célula-célula con acumulación de biopelícula. Es importante para producir la infección por *S.epidermidis*. El locus ica (icaADBC) ayuda a la virulencia y a la formación de la biopelícula. Los productos del locus generan la adhesina intracelular del polisacárido (PIA), este polisacárido se identificó de una línea *b-1,6-linked N-acetylglucosaminoglycan*. En ambos *Staphylococcus* tenemos el icaADBC que se encarga de llevar a cabo la biosíntesis y el icaR que es un regulador, en el de biosíntesis el IcaA y el IcaD sintetizan de forma in vitro una serie de azúcares oligoméricos que utilizan de sustrato al UDP-N-acetilglucosamina (UDPNAG). El IcaC junto con el UDPNAG producen un producto in vitro que es reconocido por un anticuerpo dirigido frente a *S.epidermidis*. El icaB se encarga de la desacetilación de Pia. Si hay una mutación en el locus ica ya no se forma la biopelícula por lo que es imprescindible la formación de PIA/PNSG y los genes de ica intactos para formar el biofilm. La técnica de ribo-impresión se utilizó para detectar ribo-grupos asociados a infección de implantes (también en *S.aureus*).^(12,15,18,20,21,22)

Los más importantes son los *Staphylococcus*, pero también cabe destacar los *Streptococcus*. Los mayores productores son *Streptococcus pyogenes* o de grupo A (GAS), también los S. del grupo B hemolíticos (BHS) y *Streptococcus pneumoniae*. Para el tratamiento de infecciones neumocócicas, como se están volviendo resistentes a penicilinas, la mejor alternativa son cefalosporinas de tercera generación.⁽¹²⁾ También se ha visto una elevada incidencia de infecciones en niños pequeños, menores de 5 años, por *Kingella Kingae*, es un cocobacilo gram-negativo que se encuentra a nivel respiratorio y de difícil crecimiento en el laboratorio, viéndose brotes con antecedentes de infección respiratoria previa.^(2,4) En menor medida se dan otros microorganismos que son responsables de infecciones (tablas 1 y 2), que según ciertas situaciones van a favorecer que se produzca la infección.

3. OBJETIVO

Explicación de los fármacos y nanomateriales utilizados (solos o combinados), observando cuáles tienen mejores resultados y cuáles tienen menos inconvenientes a la hora de administrarlos para la prevención de infecciones óseas. El objetivo es conseguir evitar la aparición de formas agresivas de las infecciones óseas. Para ello debemos llevar a cabo una detección de los microorganismos causantes de estas infecciones. Para su diagnóstico se utilizarán pruebas radiológicas, determinaciones bioquímicas, pruebas microbiológicas, medicina nuclear y anatomía patológica. Hay que tener en cuenta que la tinción de Gram tiene escasa sensibilidad y en ocasiones es difícil determinar los resultados, por ello debemos enriquecer los medios, porque hay baja carga microbiana que dificulta la interpretación. El objetivo es evitar la demora en los reimplantes (en ocasiones necesarios), defectos esqueléticos y mejorar la calidad de vida, disminuyendo el gasto sanitario. Hay que tener en cuenta el beneficio/riesgo del uso de los tratamientos y el pronóstico funcional del paciente.

4. METODOLOGÍA

Es una revisión bibliográfica para determinar las infecciones óseas más graves, sus microorganismos causantes, su diagnóstico y los tratamientos actuales aplicados para prevenir las infecciones óseas. Para ello se ha realizado una búsqueda en bases de datos como *Sciencedirect, Pubmed, Goggle académico, Sci-hub, Scopus, Medline*, etc; usando palabras clave como: infecciones óseas, *Staphylococcus aureus, S.epidermidis*, bones infections, osteomielitis, antimicrobianos, cementos óseos, hydroxyapatite effects, PMMA, biofilms... Se ha hecho una selección de los artículos más importantes y los que tienen mayor evidencia científica y mayor índice de impacto.

5. RESULTADO Y DISCUSIÓN

5.1. Identificación de microorganismos causantes

El diagnóstico microbiológico se basa en hemocultivos (aeróbios y anaeróbios), tinción de Gram, evaluación de líquido/membrana sinovial y cuadro clínico. En determinadas ocasiones se utilizan

gammagrafías, pruebas radiológicas y dependiendo del microorganismo, otros diagnósticos diferenciales. Además de cultivos se puede utilizar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tejido, sangre o líquido articular siendo el único test que confirma la infección, pudiendo evaluarse también la proteína C reactiva y la velocidad de sedimentación globular (VSG) pero estas son menos específicas. También se puede proceder en el caso de infecciones en implantes al raspado para obtener una muestra pero suele ser bastante difícil que se obtengan sin contaminación. Generalmente, el 50-75% de los hemocultivos son positivos antes de instaurar el tratamiento y las biopsias son muy útiles porque permiten hacer un diagnóstico diferencial con otras patologías. Para abordar estas muestras en el laboratorio se harán siguiendo unas normas de esterilidad y siempre teniendo unas limitaciones en cuenta, como la contaminación con microbiota de la piel. La tinción de Gram es un método con elevada especificidad pero baja sensibilidad y si se retira un implante del cual se sospecha de infección se tiene que llevar a analizar. Para la recogida de muestras hay que tener cuidado en la utilización de torundas para recoger el líquido articular o exudados, recoger siempre antes de haberse instaurado el tratamiento, las muestras líquidas se introduzcan en un medio adecuado y las biopsias se envíen introducidas en suero salino para evitar desecación. Para la inoculación de muestras en placas se utilizarán medios sólidos convencionales, en función de si son bacterias anaeróbicas (agar Schaedler o agar Brucella) o aeróbicas (agar sangre o agar chocolate) y medios selectivos para Gramnegativos (agar McConkey) o para *Streptococcus* (tioglicolato o agar sangre-colistina-nalidíxico) su tiempo de incubación es de 2-7 días, pero también se puede inocular en botellas de hemocultivos o caldos enriquecidos que tendrán un tiempo de incubación de 7 a 10 días. La atmósfera de incubación y T° dependerán de cada tipo de cultivo. Se pueden llevar a cabo una serie de pruebas de imagen para complementar con las microbiológicas: radiografías simples al inicio (adecuadas para observar lesiones y descartar otras patologías), pero no son útiles hasta pasados 6 meses después de la cirugía de una prótesis; la gammagrafía ósea es muy útil para localizar el lugar afectado porque se basa en una captación del radiofarmaco, se utiliza el difosfonato de tecnecio 99 metaestable que es muy sensible pero poco específico, para aumentar la especificidad se asocia con citrato de galio⁶⁷ o bien leucocitos marcados con indio¹¹¹ y se confirman los resultados del tecnecio; la Tomografía Axial Computarizada (TAC) tiene poco uso por exceso de radiación, es útil para guiar biopsias con aguja; la ecografía para ver hematomas o abscesos y para llevar a cabo artrocentesis guiadas (extracción del líquido sinovial) y resonancia magnética (RM) que es muy sensible y permite diferenciar entre artritis séptica y osteomielitis, no genera radiación (como el TAC) y permite determinar el edema antes que la radiografía y si hay afectación de tejidos blandos^(1,2,9,14,16,23,24) (figura 2)

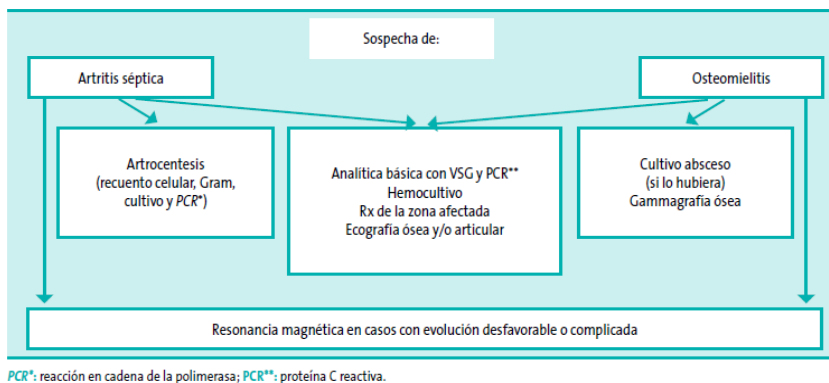


Figura 2: pruebas complementarias para el diagnóstico de infección osteoarticular⁽²⁾

Staphylococcus aureus: Para el diagnóstico de *S. aureus* se toman muestras de tejidos, sangre, aspirados de abscesos, líquidos (normalmente estériles) que, al teñirlos mediante tinción de Gram, podemos observar las bacterias y se puede ver la respuesta inflamatoria si aparecen leucocitos polimorfonucleares. Después de 18-24 horas de incubación, se observan colonias lisas, brillantes y con bordes enteros, de coloración amarilla-dorada, produce beta-hemólisis y coagula la sangre. Resiste el calor y la desecación, puede crecer en medios ricos en NaCl. Crece en medios de cultivos no selectivos, el más usado es el agar sal-manitol (rojo pálido a amarillo) o medio de Chapman al ser rico en sal, en este no crecen otras bacterias gram-negativas. También se puede utilizar el agar-sangre con colistina y ácido nalidíxico. Para MRSA se basa en un medio que contiene agar base cromogénico específico. Para identificarla, además de la tinción de Gram, se utilizan pruebas bioquímicas como la de la coagulasa (hay dos tipos test: en lamina, se produce una acumulación de grumos o en tubo, genera coagulación total o parcial, estas dos pruebas diferencian a *S. aureus* de otros ECN), fermentación de la glucosa, de manitol, catalasa, fosfatasa alcalina y la PCR. ^(13,25).

Staphylococcus epidermidis: para los ECN se llevaron a cabo unas pruebas bioquímicas sencillas propuestas por De Paulis y cols. Son: producción de urea, pirrolidónilarilamidas (PYR), acidificación de la manosa, decarboxilación de la ornitina y sensibilidad a novobiocina y permite clasificarlos en cinco grupos (uno es formado por *S.epidermidis*). También se realizaron pruebas adicionales como producción de acetoína, acidificación de trehalosa, manitol, xilosa, y crecimiento en caldo tioglicolato en condiciones de anaerobiosis. También se utiliza la prueba de la catalasa (burbujas +), prueba de la coagulasa, presencia de desoxirribonucleasa (DNAsa), aglutinación con partículas de látex (determina proteína A), presencia de nucleasa termoestable y susceptibilidad a la novobiocina (el único SCN que da positiva esta prueba es *S. saprophyticus*). En los casos en los que no se llega a una identificación clara se utilizó un sistema comercial API-Staph (Biomerieux©) que son sustratos deshidratados en unas celdas individuales que se reconstituyen y se introduce la bacteria para identificarla. (22,25)

Caracteres	<i>S.aureus</i>	<i>S.epidermidis</i>
Catalasa	+	+
Coagulasa	+	-
DNAsa	+	-
Nucleasa termoestable	+	-
Presencia de proteína A	+	-
Susceptibilidad a la novobiocina	Resistente	Sensible

5.2.Prevencción de la formación del biofilm

Para evitar la progresión de la enfermedad, evitaremos la formación del biofilm, para ello tendremos que actuar sobre el glucocáliz, porque es el que produce la resistencia a los antibióticos o desinfectantes y proporciona a las bacterias resistencia frente a las defensas del huésped. Podemos interferir en la adhesión bacteriana y colonización, evitar la formación del biofilm o bien llevar a cabo una desagregación de este, también hay que tener en cuenta los mecanismos de defensa de las bacterias, el crecimiento de estas, la transferencia de genes horizontales y el microambiente.^(8,26) Lo que se utiliza es:

- **Superficies anti-adhesivas** que interfieren en la adhesión inicial, la cual está afectada por varios factores como la carga electrostática, la energía libre superficial, rugosidad, hidrofobicidad, y otras características químicas. En éstas superficies, al no usar antimicrobianos, no se producen resistencias. A la hora de la colonización por parte de las bacterias hay que tener en cuenta ciertas propiedades (energía superficial, tipo de superficie, repulsión y superhidrofobicidad). En superficies con baja energía superficial, la adhesión es menor, por lo que la tasa de crecimiento también, pudiéndose utilizar polímeros como el poli(perfluoro acrilato) o el poli (metil-propenoxifluoroalquilsiloxano). En superficies con superhidrofobicidad reduce la fuerza de adhesión entre las bacterias con la superficie de contacto, permitiendo eliminar las bacterias antes de que se forme el biofilm maduro. Es muy importante determinar las características de los microorganismos para determinar su adhesión. Se fabricó una superficie de titanio a través de una ablación con láser, lo que permitió cambiar la superficie humectante del titanio y evitó la colonización por *P. aeruginosa*; en cambio *S.aureus* si que pudo colonizarla. Finalmente, se descubrió un recubrimiento de un xerogel superhidrofóbico formado a partir de una mezcla de un coloide de sílice fluorinada, fluoralcóxido silano y una cadena de silanos, viendo que este generaba buenos resultados frente a las dos bacterias. La repulsión electrostática, entre cargas negativas tanto con bacterias como con el medio, es imprescindible para evitar la formación del biofilm. Crearon un recubrimiento de aluminio y zeolita, que producía un aumento de carga en la densidad del material, alterando la hidrofobicidad y las cargas, por lo que se tradujo en que este recubrimiento afectaba a la adhesión primaria, evitando la formación del biofilm. En superficies no rugosas la adhesión está reducida. Se observó que *S.aureus* tenía una mayor adhesión en superficies de acero inoxidable rugoso, porque ofrece una mayor superficie de contacto. Todavía no se tienen estudios que confirmen que la rugosidad tiene que ver con la adhesión bacteriana, pero si se sabe que esta influencia la capacidad humectante por lo que ambas están relacionadas. Aquí, se incluirían los zwitteriones que están descritos más adelante. (8,26)

- **Superficies con agentes antimicrobianos incorporados:** Suelen ser recubrimientos impregnados con biocidas. Suelen usarse compuestos como antibióticos orgánicos (gentamicina y vancomicina, óxido nítrico, triclosan y el ion plata), como sales, nanocompositos o nanopartículas. Este último es el más usado y muy efectivo frente a un amplio espectro de bacterias. Para liberar el agente antimicrobiano de forma controlada se utiliza una técnica denominada capa sobre capa (*layer-by-layer*), también se pueden incorporar sustancias antimicrobianas a materiales nanoparticulados como plata, cobre o polímeros como quitosán, silicona, hidroxiapatita o silice). Se puede realizar la liberación del antimicrobiano mediante una reacción catalítica, donde se necesita usar corriente eléctrica, luz UV o visible, y el biocida más usado es TiO_2 fotocatalítico. Tiene la desventaja en que necesita aporte continuo de luz UV, de manera que se ha optimizado incluyendo compuesto como iones con metales pesados para usar la luz visible. Se podría utilizar otra estrategia como una unión covalente a la superficie mediante moléculas con actividad antimicrobiana. La ventaja es que permiten una efectividad prolongada, las desventajas son que pueden sufrir una pérdida de actividad microbiana con el uso, y únicamente actúa con los microorganismos que entran en contacto con la superficie.⁽⁸⁾

Para detener la formación del biofilm, podemos interferir en el crecimiento de la bacteria limitando los nutrientes, se generan zonas con mayor y menor tasa de crecimiento, las que tienen menor tasa de crecimiento son menos sensibles a los antimicrobianos. El microambiente en el interior de la biocapa puede condicionar la acción de los antimicrobianos, teniendo en cuenta en este la pO_2 , pCO_2 , hidratación, condiciones aeróbicas-anaeróbicas y ácido-básicas. En las biocapas la transferencia de genes es ideal, porque hay una estabilidad física adecuada, y se pueden entre diferentes especies dándose por contacto célula-célula, por lo que hay que interferir en esa unión mediante la detención del biofilm. Para esto utilizaremos una serie de biomateriales resistentes a la infección, podrán ser cargados de agentes antimicrobianos, vacunas dirigidas o superficies repelente a adhesinas bacterianas específicas. Lo más nuevo es la utilización de materiales bioactivos antimicrobianos, tienen sustancias con propiedades bactericidas/ bacteriostáticas usadas como antimicrobianos (teicoplanina, vancomicina, gentamicina, rifampicina) o como desinfectantes tópicos (plata, triclosan, cobre, clorhexidina).^(8,15,26)

5.3. Biomateriales y Farmacos utilizados

La aplicación de tratamientos a corto plazo puede ayudar a eliminar las células en fase planctónicas e infecciones en la superficie del material, pero a largo plazo puede afectar al implante en el tejido óseo. Las técnicas más utilizadas son el uso de recubrimientos y de antimicrobianos. Los antibióticos (AB) no penetran dentro de las biopelículas y las reacciones exotérmicas produce la inactivación de muchos AB limitando la terapéutica. En primer lugar, se usarán AB, normalmente por vía intravenosa (IV), debido a que tienen mayor efectividad. La elección de AB se realizará en función de la gravedad del paciente, del tipo de microorganismo causante y de la edad del mismo.^(3,15)

En las tablas 3 y 4, se muestra el tratamiento empírico donde hay que seguir las indicaciones descritas, pudiéndose modificar posteriormente en función del resultado microbiológico. Se aconsejan tratamientos de 3/4 semanas. Los AB más usados son los betalactámicos (cefalosporinas y cloxacilina) y glucopéptidos sobre coco-grampositivos. Linezolid es adecuado para infecciones protésicas frente a *S. aureus* y ECN sensibles y resistentes a la meticilina, pudiéndose combinar con clindamicina, linezolid o daptomicina.

En la actualidad, también se recomienda el uso de una terapia combinada de rifampicina y otro AB que de buenos resultados (ej ciprofloxacino), se utiliza esta porque tiene buenas tasas de penetración en tejidos,

Cloxacilina	2 g/4-6 h i.v., 1 g/4 h p.o.
Amoxicilina-ác. clav.	2-0,2 g/8 h i.v., 875-125 mg/6-8 h p.o.
Ampicilina-sulbactam	1-0,5 g/6-8 h i.v., 375-750 mg/8-12 h p.o.
Piperacilina-tazobact.	4-0,5 g/6-8 h i.v.
Cefazolina	1 g/6 h i.v.
Cefoxitina	1-2 g/4-6 h i.v.-i.m.
Cefotaxima	1-2 g/6-8 h i.v.
Ceftriaxona	2 g/12-24 h i.v.-i.m.
Ceftazidima	1-2 g/6-8 h i.v.
Cefepima	1-2 g/8-12 h i.v.
Aztreonam	1-2 g/6-8 h i.v.
Imipenem	1 g/8 h i.v.
Meropenem	1 g/ 8 h i.v.
Vancomicina	1 g/12 h i.v.
Teicoplanina	400-800 mg/24 h i.v.-i.m.
Ciprofloxacino	200-400 mg/12 h i.v., 500-750 mg/12 h p.o.
Ofloxacino	200 mg/12 h i.v., 200-400 mg/12 h p.o.
Levofloxacino	500 mg/24 h i.v., 500 mg/24 h p.o.
Cotrimoxazol	800-160 mg/8-12 h i.v.-p.o.
Clindamicina	600 mg/6-8 h i.v., 300 mg/6-8 h p.o.
Rifampicina	600-900 mg/24 h i.v.-p.o.
Fosfomicina	1 g/6 h i.v.-p.o.
Metronidazol	500 mg/8 h i.v.-p.o.

Tabla 3: dosis de antimicrobianos en adultos⁽²⁵⁾

fagocitos y fluidos, pero nunca se debe administrar en monoterapia porque genera resistencias de forma rápida. El uso de rifampicina suele asociarse a problemas en prótesis. En la tabla 3, se muestran los AB que se pueden utilizar combinando varios para conseguir diferentes terapias, siendo estas dosis para adultos, y para niños hay que adecuarlas a su peso. Se pueden usar AINES para el alivio del dolor y fiebre, y corticoides en infecciones que tengan componente inflamatorio alto. El paso del tratamiento IV a oral se realiza cuando hay una mejoría, con disminución de la fiebre, dolor y con normalización de VSG y PCR. La primera opción es el tratamiento AB, en sinergia con la cirugía, porque gracias a ella se consigue localizar el ambiente infeccioso y consigue que los fármacos actúen con mayor eficacia evitando la diseminación de la enfermedad. Si al realizar una serie de pruebas vemos que no hay mejoría clínica o incluso empeoramiento, tendremos que recurrir a la cirugía para proceder al desbridamiento de los tejidos blandos y llevar a cabo una serie de perforaciones en el hueso infectado, siendo conveniente dejar la herida abierta para que cicatrice mejor hasta que esta se pueda cerrar e inmovilizando la extremidad para evitar fracturas y dolor. También se puede requerir una cirugía por una prótesis infectada, en la cual se podrá proceder a la retirada/cambio parcial o total de algún componente, o reimplantación de una prótesis tras conseguir la esterilidad de la misma.^(2,9,23,27,28)

	Vía	Dosis/día	Intervalo
Cloxacilina	IV	100 mg/kg	6 h
	Oral	100 mg/kg	6 h
Cefuroxima	IV	100-150 mg/kg	8 h
	Oral	30-40 mg/kg	8 h
Clindamicina	IV	25-40 mg/kg	8 h
	Oral	25-40 mg/kg	8 h
Amoxicilina-clavulánico	IV	100 mg/kg	8 h
	Oral	40-80 mg/kg	8 h
En <i>Staphylococcus aureus</i> metilicilín resistente			
Linezolid	IV	10 mg/kg	12 h
	Oral	10 mg/kg	12 h

Tabla 4: aproximación del tratamiento antiestafilocócico⁽²⁾

La “panacea” es la aplicación de antimicrobianos de forma local como el cemento óseo con antibacterianos (polimetilmetacrilato: PMMA), que no causa toxicidad sistémica habiendo liberado elevadas concentraciones de antibacteriano. Además de los cementos, podemos utilizar otras técnicas como la vancomicina unida covalentemente a titanio, nanopartículas de sílice liberadoras de óxido nítrico(NO), compuestos zwitteriónicos, compuestos con péptidos antimicrobianos, compuestos cuaternarios de amonio o alteración de la micro/nanotopografía del implante. Aunque las estrategias con mayores resultados son las vacunas y terapia génica. Estos materiales se desarrollaron más adelante, combinados con antibióticos⁽¹⁵⁾

En la actualidad, se usan con mayor frecuencia biomateriales combinados con AB para prevenir defectos óseos y las consiguientes complicaciones que conllevan. Para transportar los AB se utilizan unas sustancias denominadas transportadores, de origen natural o sintético, los cuales van impregnados de la sustancia que se va a liberar en el lugar donde se implante el material. Para ello, trataremos varias estrategias de tratamiento y prevención de infecciones óseas. Para tratar defectos óseos se desarrollan una serie de materiales capaces de sustituir al hueso. El sustitutivo óseo ideal debe ser bioabsorbible (degradación en menor peso), osteogénico, biocompatible (tolerancia biológica), capaz de proporcionar soporte estructural y de vehicular otras sustancias, utilizable en clínica y adecuada proporción coste-beneficio. Un biomaterial (esquema 1) es una sustancia biocompatible, natural o sintética, o combinación de sustancias que puestas en contacto con fluidos biológicos o tejidos vivos, no afectan de forma adversa a los constituyentes biológicos del organismo.

También se puede considerar que es aquel material diseñado para actuar interfacialmente con sistemas biológicos con el fin de evaluar, tratar, aumentar o sustituir algún tejido, órgano o función del cuerpo.^(29,30) (Esquema 1)



Esquema 1: clasificación y aplicación de los biomateriales según origen y naturaleza⁽³¹⁾

5.3.1. Biocerámicas

Los huesos están formados en su mayoría por hidroxipatita que es la parte inorgánica y colágeno que es la parte orgánica, además tienen agua, sodio, magnesio y otros componentes. El colágeno actúa

como base, en la cual pequeños cristales de HA se unen para formar el hueso. Las cerámicas son un grupo de compuestos inorgánicos constituidos por elementos metálicos y no metálicos que son estables químicamente frente a medios ácidos, oxígeno, salinos y alcalinos, y los disolventes orgánicos. Son resistentes al desgaste y se comportan como buenos aislantes eléctricos y térmicos; tienen una buena biocompatibilidad, sin producir cáncer ni toxicidad, y osteointegración dado que son muy parecidos al componente mineral de los huesos. Las primeras biocerámicas (1ª generación) que se desarrollaron fueron ZrO_2 y $\alpha-AlO_3$, no tenían capacidad regenerativa. Las de segunda generación son capaces de integrarse en el tejido, hay varios tipos: reabsorbibles (fosfato tricálcico (TCP)), bioinertes (alúmina y zirconia), bioactivas y porosas que favorecen el crecimiento del tejido circundante (hidroxiapatita de calcio (HA)) y vidrios bioactivos (BG). También se crearon otras de tercera generación con capacidad para integrarse y reabsorberse por el organismo. La desventaja de las cerámicas es su fragilidad, son rígidas con pobres propiedades mecánicas. Los más utilizados son el HA sintético y los BG. ⁽³¹⁻³⁴⁾

❖ **Vidrios bioactivos (BG):** son biocompatibles, osteoinductivos, elevada porosidad, bioactivos y osteoconductivos, y se utilizan para numerosas aplicaciones como defectos óseos, reparaciones, reconstrucciones. Un material bioactivo es el que produce una respuesta biológica específica en la interfaz del material, que da lugar a un enlace entre el material y los tejidos. Son sólidos con un desorden estructural elevado (debido a los modificadores de red). Suelen obtenerse por fusión, mezclando componentes y un formador de red (normalmente el silicio unido a oxígeno), con un enfriamiento seguido. El primero BG que se unía a tejidos vivos se denominó Bioglass® 45S5 ($45SiO_2-24.5Na_2O-24.5CaO-6P_2O_5$), formaba una capa en su superficie de HA carbonatada al entrar en contacto con los fluidos biológicos del cuerpo. El problema de estos vidrios es que la porosidad era muy baja y actuaban sobre la superficie específica. Li y col. incorporaron el método sol-gel para elaborar nuevos BG con elevada homogeneidad, pureza, porosidad y mayor cinética en la formación de HA. La mayor reactividad de los vidrios sol-gel se pone de manifiesto por las propiedades texturales del material, volumen de poro, distribución tamaño del poro y área superficial, pero lo más influyente en la reactividad son los contenidos de SiO_2 . Los precursores más utilizados para su formación son alcóxidos mediante reacciones simultáneas de hidrólisis y condensación. Además de las aplicaciones comunes, otra utilidad de estos BG es la supresión de células cancerígenas del hueso mediante una hipertermia selectiva, para esto agregaremos material ferro o ferromagnético al sistema $SiO_2-CaO-P_2O_5$ que nos permite una unión y crecimiento del hueso con el BG y controlar la temperatura para evitar afectar a las células sanas. Recientemente, se ha desarrollado una nueva generación de vidrios, denominados vidrios mesoporosos bioactivos (MBG o VMB) que se obtuvieron mediante la combinación de los procesos de sol-gel a la química supramolecular de los surfactantes, con propiedades texturales similares a los materiales mesoporosos altamente ordenados de SiO_2 tipo MCM-41 y SBA-15. Los MBG son sólidos amorfos formados por SiO_2 (formador de red), P_2O_5 y CaO . ⁽³¹⁻³⁶⁾ (figura 3)

Los MBG se obtienen mediante la incorporación de agentes directores de estructuras (SDA), que cuando se dan condiciones adecuadas se van autoorganizando en micelas, por una técnica de autoensamblaje inducido por evaporación (EISA). Se determinó que la estructura porosa se formaba en función de la cantidad de CaO , obteniéndose formas como la hexagonal, ortorrómbica y cúbica (estas dos últimas son propias de sistemas hidrófobos).

Hay que tener cuidado porque un exceso de CaO del MBG podrá producir toxicidad cuando se esté biodegradando el material. Se trabaja con escalas nanométricas porque genera un buen rendimiento de materiales, dado que la apatita (presente en tejidos duros, contiene carbonatos y bajos niveles de calcio) es de tamaño nanométrico, produciendo una rápida regeneración de huesos, porque es muy reactivo. La estructura nanoporosa ordenada puede

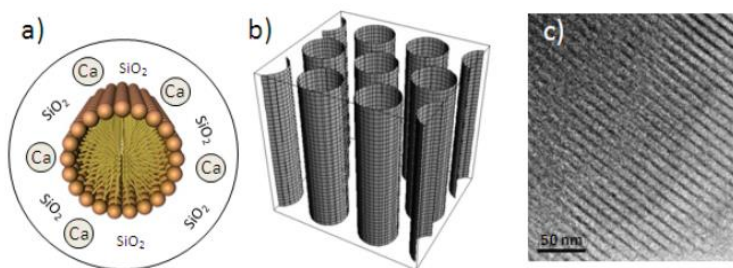


Figura 3: Representación esquemática(a), reconstrucción estructural (b) e imagen de microscopia electrónica de transmisión de un MBG ⁽³⁶⁾

utilizarse para producir la liberación de fármacos de forma controlada. El proceso de difusión de materia se da en el interfaz entre el hueso y la superficie del implante. La cantidad de materia que se difunde determinará el tipo de reacción y la cinética, y se difundirá más en sistemas con redes 3D (se extienden por todo el material) que en 2D (empaquetamiento hexagonal).^(Figura 4) El primer sistema de liberación controlada formado a través de MBG, se llevó a cabo para tratar o prevenir patologías. Las superficies específicas se encuentran entre 200 y 550 m²/g y un diámetro de poro de 0.4-0.8 cm³/g y 4-7 nm, que permiten incluir en su interior diferentes moléculas como: AB, factores de crecimiento, antiinflamatorios, agentes osteogénicos, etc.^(31, 36,37)



Figura 4: Estructura nanoporosa ordenada ⁽³¹⁾

El primer AB que se incorporó a los MBG de composición 58S (58SiO₂-37CaO-5P₂O₅ (% mol)) con **sulfato de gentamicina**, se hizo a través de la técnica de impregnación, a temperatura ambiente para que la gentamicina no perdiese su actividad. La gentamicina puede ocupar diferentes posiciones dentro del poro, dando lugar a diferentes cinéticas para cada posición. La cinética de liberación y la capacidad de carga dependen, además de la porosidad, de la composición química de MBG. Para la combinación de la gentamicina con el MBG, este previamente tiene que estar estabilizado, dando lugar a una mezcla homogénea que luego, se unirán en piezas. Las piezas suelen someterse a un tratamiento térmico, cosa que no se puede hacer con la gentamicina al encontrarse en forma de polvo, por eso es muy útil que el material este formado por diferentes piezas para poder hacer los tratamientos pertinentes. Las concentraciones de gentamicina que se determinaron para seres humanos son de valores de 5-10 μg/mL, concentraciones superiores se asocian con nefrotoxicidad y alteraciones craneales y concentraciones inferiores con efectos tóxicos.^(31, 34,35,37) (Figura 5)

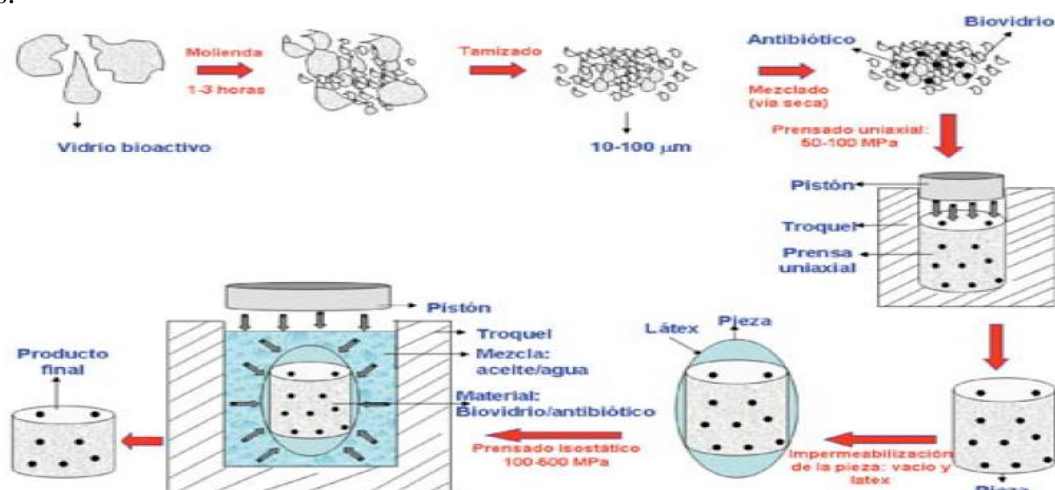


Figura 5: Proceso de obtención de una pieza de vidrio que incluye gentamicina distribuida de forma homogénea ⁽³⁵⁾

El diseño de **andamios tridimensionales** macroporosos interconectados con tamaños de poro entre 100 y 1000μm, para guiar y estimular el crecimiento del hueso o para vascularización de tejidos, se considera una alternativa a los autoinjertos, que sería la opción más recomendable para tratar el defecto. Se considera un andamio a un entramado de diferentes biomateriales que puede servir de soporte para células o sustancias que se implante junto con el andamio. Se incorporará agentes directores de la estructura, con los cuales se controlará la porosidad en la nanoescala y la microestructura, debiendo disponer de una nanoporosidad ordenada para liberar fármacos de forma controlada y meso-macroporosidad para su utilización en ingeniería de tejidos. Estos actuarán como una “plantilla” para las células para que estas puedan expandirse, proliferar y diferenciarse, pudiendo ser reabsorbido, para que en su lugar puedan crecer tejido vivo. Estos andamios se pueden diseñar con dos fines: regeneración de tejidos *in situ*, el andamio se implanta directamente en el defecto solo o combinado; ingeniería de tejidos *ex vivo*, se prefabrica el tejido con el andamio y posteriormente se implanta en el lugar deseado. El tejido óseo tiene la función de sostén, gracias a sus propiedades mecánicas, por lo que los andamios tienen que tener valores

de resistencia mecánica en torno a 70 y 280 MPa. Actualmente, no se conoce ningún biomaterial que cumpla la flexibilidad y resistencia, que el hueso si cumple. Para la fabricación de andamios 3D tenemos métodos sencillos como liofilización, fundición con solvente, lixiviación de partículas o bien técnicas más complejas como *electrospinning* y prototipado rápido (impresión 3D, bioimpresión asistida, robocasting). Cualquier método de estos puede elaborar de forma precisa un diseño tipo CAD (*computer asisted design*) que puede ser la reproducción del defecto óseo del paciente. El *robocasting* es el más utilizado se basa en inyectar una pasta capa por capa que tiene la suspensión, siguiendo un diseño que se ha elaborado previamente con un archivo CAD del defecto. Hay que tener cuidado al ir disponiendo las capas unas sobre otras, porque se puede producir un colapso perdiéndose la estructura porosa. El *robocasting* da lugar a estructuras reproducibles y altamente repetitivas, con porosidad definida y regular. Estos andamios pueden incluir en su interior fármacos o factores de crecimiento para tratar patologías de forma local. La ventaja de utilizar estos como liberadores de fármacos es que se evitan numerosas intervenciones y pueden aumentar el éxito del implante. Para introducir los fármacos en los andamios utilizamos métodos de encapsulación o incorporación directa, pudiéndose incorporar varios fármacos (sinergismo), factores de crecimiento, factores osteogénicos y angiogénicos. Aunque, la mayoría de andamios desarrollados para ingeniería de tejidos, se realizan con materiales poliméricos. (34,37,38) (Figura 6)

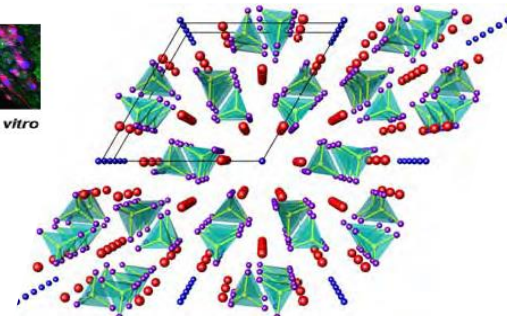
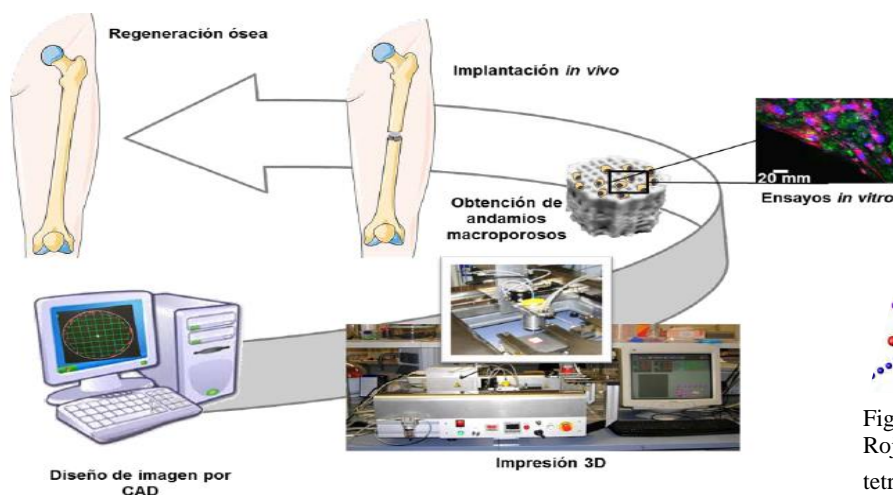


Figura 7: Estructura de HA a lo largo del eje: Rojo: Ca; Verde: P; violeta: O perteneciente al tetraedro de PO₄, azul: O de los grupos OH (39)

Figura 6: Pasos que se suceden desde el diseño a la implantación de andamios tridimensionales (34)

- ❖ **Hidroxiapatita (HA):** Esta se considera una cerámica de fosfato de calcio. Es un componente inorgánico (90%) con fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ que se puede extraer de los huesos o a nivel dentario, pero también puede ser sintetizado en el laboratorio. Tiene una estructura (Figura 7) cristalográficamente similar a los apatitos biológicos (componente mineral), con relación Ca/P de 1.67 y con un número adecuado de carbonos sustituidos. Se utiliza mucho porque tiene muy buena tolerancia in vivo, buena actividad de osteointegración, capacidad de biodegradación, osteoconducción y buena biocompatibilidad. Suele utilizarse cuando no hay elevadas cargas y como recubrimiento de materiales metálicos. La biodegradación de HA depende del pH del medio, la estructura cristalográfica, de la composición del biomaterial y de la porosidad. A altas temperaturas, en el procesado, la HA puede dar lugar a fosfato tricálcico (TCP) y tetracálcico (más solubles que la HA), por lo que es necesario menor cantidad de estos compuestos para que no se pierda la estabilidad o reactividad. La ventaja de la HA es que al ser reabsorbible no hace falta realizar más cirugía. El inconveniente que presenta la HA, es que sus propiedades mecánicas son muy pobres, por lo que no soporta bien cargas pesadas pudiéndose fracturar y para ello siendo necesario reforzarlo con una segunda capa. La síntesis de la HA se puede llevar a cabo por numerosos métodos, uno de los más habituales es el de sol-gel. En la actualidad, se ha demostrado que la nano-escala presenta mejores propiedades que la micro-escala, presentando grandes similitudes con los minerales óseos. La nano-HA frente a la micro-HA, favorece la diferenciación, adhesión y proliferación de osteoblastos, la osteointegración y lleva a mejorar la formación del tejido óseo en poco tiempo. Es un material absorbible que se usa como transporte de fármacos de forma local, se pueden combinar con otras sustancias para mejorar propiedades o utilizarlo para

tratar diferentes problemas óseos. Se demostró que la HA combinada con AB, como la gentamicina, tiene éxito para tratar osteomielitis producidas por *S.aureus*, viendo que a los 7 días no había infección. Se probó con otros AB como amikamicina, vancomicina y el ceftiufor, viendo que los dos primeros daban buenas cinéticas de liberación. También, se demostró que en MRSA era eficaz la gentamicina combinada con HA, dando concentraciones más elevadas en hueso y liberaciones más prolongadas. Para mejorar estas liberaciones se combinó ambos biomateriales que se explican en el apartado de matrices compuestas. El TCP es un ortofosfato cálcico incluido en el sistema $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$, combinaciones de éste como el β -TCP son utilizados como sustitutivos óseos. HA es estable en fluidos corporales y el TCP tiene una velocidad de disolución muy rápida para que se formen uniones óseas, por lo que se puede llevar a cabo una mezcla de ambos para que el tejido óseo pueda crecer en los huecos dejados por el TCP. La mezcla de estos biomateriales β TCP/HA se puede utilizar para reemplazo de huesos y relleno de cavidades óseas y para la liberación de fármacos para prevención de infecciones. Para guiar y estimular el crecimiento del hueso en los grandes defectos óseos se necesitan andamios. Estos andamios pueden mezclar varias sustancias como HA con AB para las bacterias típicas de infecciones osteoarticulares y de implantes, pudiéndose dopar este andamio con Silicio para que fomente el crecimiento del hueso e inhiban la actividad osteoclástica. Para hacer implantes a medida podemos usarla impresión 3D que es un método muy bueno, pudiéndose colocar estos implantes directamente o utilizarse como andamio para ingeniería tisular. (29,32, 33,38 ,39). (Figura 8, 9 y 10)

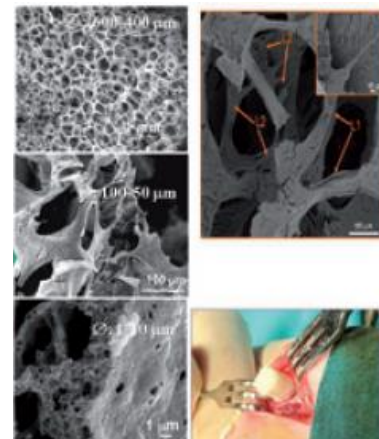


Figura 8: HA con sus distintas escalas de porosidad. Células adheridas a sus paredes. Y manipulación por parte de los clínicos, donde puede verse que tiene suficiente resistencia mecánica (38)

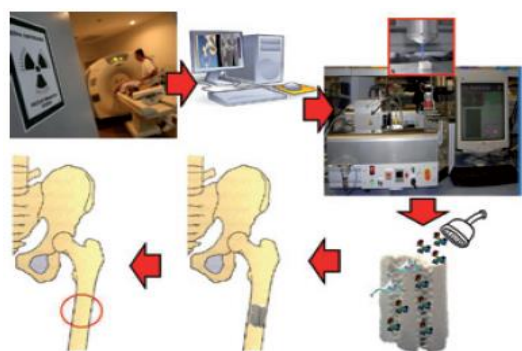


Figura 9: proceso para la fabricación de implantes personalizados. (38)

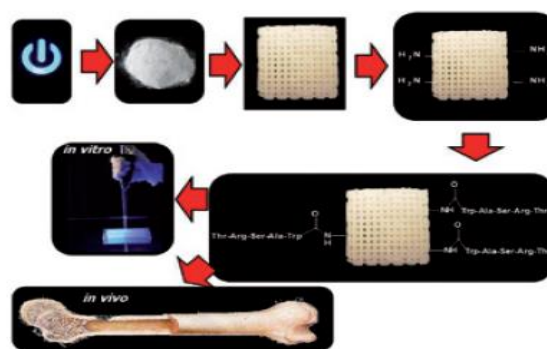


Figura 10: Hoja de ruta para la fabricación de sustitutos óseos (38)

Los **cementos de HA**, suelen ser fabricados mediante una mezcla de diferentes componentes, como se fabrican con agua está se puede sustituir por una sustancia antibiótica. Al ser una cerámica formada por fosfato de calcio tiene el inconveniente que al mezclarse con varios AB, el material empieza a debilitarse, porque se produce una interacción entre la reacción de fraguado (un componente suele tener la misión de fraguar la mezcla) y el antibiótico. Los AB que suelen incorporarse son gentamicina y amikacina. También se pueden incorporar factores de crecimiento, dando un ambiente protector (también AB) en el lugar de implantación del material. Estos cementos suelen ser reabsorbibles e inyectables pudiendo formar una mezcla de sustancias utilizadas para tratar defectos óseos. Se han comercializado productos a base de cementos que imitan la fase mineral del hueso. (29,32).

- **Norian SRS®** es un cemento de fosfato de calcio reabsorbible y biocompatible, que se aplica para tratar determinadas fracturas. Es una combinación de fosfato tricálcico y monocálcico, carbonato cálcico y una solución de fosfato de sodio que forman la pasta inyectable, que a nivel fisiológico produce una forma sólida de dalita (HA carbonatada) mediante una reacción no exotérmica. (30,32)
- **Etex α -BSM®** fosfato de calcio apatita cristalizado débilmente, con buenas propiedades de reabsorción, fácil de manejar y moldeabilidad intraoperatoria. Debe ser hidratado con solución salina para formar una pasta moldeable e inyectable mediante una reacción endotérmica, a pH neutro y T^a ambiente. Su uso actual es en aplicación dentales como relleno de cavidades óseas. (30)
- **True Bone®** HA porosa e isotérmica, que puede ser inyectada, y solidifica dentro del defecto óseo. Sus propiedades químicas y físicas pueden ser dirigidas para su biodegradación. (30)

- ❖ **HA-nanopartículas de plata (nAg):** La plata se emplea como agente biocida, metal muy importante para evitar infecciones en la implantación de biomateriales para defectos óseos. Esta es un compuesto ideal utilizado en la colocación de biomateriales en el interior del cuerpo humano, debido a que su actividad antimicrobiana previene infecciones que se produce por bacterias como *S.aureus* o *S.epidermidis* (importante esta porque produce numerosas infecciones asociadas a implantes). La plata se ha considerado como un material “oligodinámico” porque genera un efecto bactericida a concentraciones muy bajas. Lo bueno de la plata es que no produce toxicidad en células de mamíferos. Se emplean nanopartículas de Ag porque tienen mayor área superficial, que les permite tener mayor contacto con los microorganismos (inhibición del proceso respiratorio). Al entrar en contacto las nanopartículas de plata, soportadas sobre HA, con la membrana celular, la hacen permeable y provocan la destrucción progresiva de la célula hasta la muerte de la bacteria. Para obtener estas moléculas se sustituye el Ca por Ag, por lo que tendremos una HA deficiente en calcio. Para ejercer una mayor acción biocida tenemos que evitar la aglomeración de nanopartículas. La respuesta de estos materiales es muy buena, pero podemos tener dos desventajas; al cambiar el Ca por Ag puede afectar a su capacidad osteoconductor, además de otros efectos negativos, y se puede producir una liberación de Ag de forma rápida (depende del pH). Estos recubrimientos se realizan mediante el método sol-gel, para llevar a cabo una mezcla de HA junto a un 1-1,5% de nitrato de plata y en algunas ocasiones se pone todo sobre sustrato de titanio puro. En esta combinación de biomateriales se ha visto que *S.epidermidis* y *S.aureus* crecen en menor medida que únicamente con HA. En cuanto a la diferenciación celular de osteoblastos los estudios demostraron que no existe diferencia entre la plata y HA siendo ambos osteoconductivos. Se vio que aumentando el contenido de plata a un 3%, tenía una actividad mucho más bactericida actuando sobre MRSA.^(39,40) (figura 11)

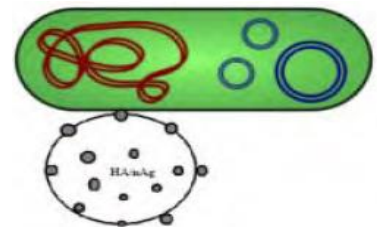


Figura 11: Actuación de las partículas de HA-nAg y en contacto con una bacteria.⁽³⁹⁾

5.3.2. Biopolímeros

Los polímeros sintéticos son materiales sólidos, orgánicos, no metálicos obtenidos a partir del petróleo y con poca resistencia a la temperatura. Son muy usados por su variedad de sustancias, se fabrican y dan forma fácilmente en tejidos, fibras, películas o bloques de diferentes tamaños, pueden ser bioestables (permanente) pudiendo sustituir una parte o la totalidad de tejidos y órganos, o biodegradables (temporal). Son ideales para liberar y transportar fármacos, y hay dos tipos los de origen natural como colágeno, ácido hialurónico, quitosano; o polímeros sintéticos como PLA (ácido poliláctico), PGLA (poli(láctico co-glicólico)), PMMA (polimetacrilato de metilo). (Esquema 1)⁽³¹⁾

- ❖ **PMMA:** Es un cemento óseo acrílico que sirve para liberar AB de forma local dando concentraciones locales altas, se suele usar para unir prótesis metálicas al hueso, rellenos óseos, cementaciones, fijación de implantes, etc. Se solidifica de forma espontánea, es autopolimerizable. Consta de dos componentes, uno en polvo que es el polímero de PMMA (con peróxido de benzoilo, sulfato de bario y un iniciador de la polimerización), y otro líquido formado por metacrilato de metilo (MMA) activado con N, N-dimetil-p-toluidina y estabilizado con hidroquinona. La polimerización se produce por reacción exotérmica (80°C) de estas sustancias, es un proceso progresivo que finalmente da lugar a un material sólido, resistente y que no se reabsorbe. La mezcla se produce in situ en el quirófano de forma manual o a vacío, teniendo precaución a la hora de introducir el cemento en el hueso porque puede producir un traumatismo. Estas partículas de PMMA no son reabsorbibles por el medio fisiológico, por tanto la eficacia del tratamiento está reducida, pudiendo verse afectadas las propiedades metálicas al introducir fármacos en el cemento. Para la adición del AB al cemento, puede realizarse de forma industrial (preparados por terceros, se consideran un producto sanitario de clase 3, son productos implantables) o bien, de forma manual en el quirófano. Los AB tienen que cumplir unos requisitos para incorporarse al cemento, ser termoestables, sensibles a los germenos comunes, mínima circulación sistémica, hidrosoluble y que no produzca reacciones alérgicas o inflamatorias. Los más utilizados son aminoglucósidos (tobramicina y gentamicina) por su espectro de acción, hidrosolubilidad y estabilidad térmica, al igual que vancomicina por hacer frente a las bacterias meticilina resistentes y por sinergismo con

aminoglucósidos. Pero también, son muy utilizadas la gentamicina y cefuroxima, y cefalosporinas de primera generación (cefalexina y cefazolina) que tienen excelente actividad frente a grampositivos como *Streptococcus spp.* y el *Staphylococcus spp.* Los estudios in vitro determinaron que la cefazolina era la que más rápido se liberaba, y se vio que erradicaba en algunos casos la osteomielitis a los 15 días. Generalmente, los cementos impregnados se utilizan para prevenir infecciones en artroplastias. La liberación del AB será gradual, consiguiendo concentraciones séricas mínimas y locales altas. La dosis de AB introducida para no modificar las propiedades metálicas representa un 5% de la masa total del cemento, las dosis utilizadas para profilaxis y fijación de implantes sera de 2g por 40g de cemento mientras que para elaboración de esferas, espaciadores o infección establecida serán 2-9g por cada 40g de cemento. Se pueden mezclar más de un AB, pero la eludición se verá modificada. (tabla 4) Los espaciadores de cemento son prótesis temporales, que permiten la liberación del AB, mantienen el espacio articular y evitan la retracción del tejido hasta que se implante una prótesis definitiva. Se pueden fabricar in situ o bien a nivel industrial. Pudiéndose fabricar articulables o estáticas. Los AB más utilizados son gentamicina y vancomicina solos o en combinación. (Figura 12) Por último, nos podemos encontrar las cadenas de esferas o perlas impregnadas de AB para acción a nivel local. Al ser utilizadas a nivel temporal (semanas a meses), una vez que se forma el tejido fibroso, estas se retiraran, rellenando los espacios con un material adecuado para el relleno óseo. Presenta la ventaja de liberar sostenidamente y rápidamente el AB, tienen una amplia superficie de acción, escasa acción sistémica y ausencia de respuesta inmune hacia el PMMA. Las desventajas son un mezclado incompleto del AB, uniformidad y tamaño diferentes, lo que produce una menor biodisponibilidad del AB. Comercialmente solo hay esferas con gentamicina (Septopal®), si se requiere introducir cualquier otro AB se pueden realizar en el propio quirófano. Estas perlas se usan para infecciones óseas, partes blandas, diferentes osteomielitis y prótesis infectadas. (29,32,35,41)

Marca comercial	Antibiótico adiccionado (por 40 g de cemento)
Cemex® (Tecres)	gentamicina (2,5%)
	gentamicina + vancomicina
Simplex® (Striker)	eritromicina y colistina (0,5g/ 3000000UI)
	tobramicina (1g)
Eurofix® (Synemed)	gentamicina (0,5g)
Palacos G® (Heraeus)	gentamicina (0,5g)
Copal G+C®	gentamicina + clindamicina (1g/1g)
Copal G+V®	gentamicina + vancomicina (0,5g/2g)
Refobaci n® (Biomet)	gentamicina (0,5g)
Refobaci n revision®	gentamicina+clindamicina (1g/1g) (catálogo Biomet)

Tabla 4: marcas comerciales de cemento con antibiótico (41)

Por último, nos podemos encontrar las cadenas de esferas o perlas impregnadas de AB para acción a nivel local. Al ser utilizadas a nivel temporal (semanas a meses), una vez que se forma el tejido fibroso, estas se retiraran, rellenando los espacios con un material adecuado para el relleno óseo. Presenta la ventaja de liberar sostenidamente y rápidamente el AB, tienen una amplia superficie de acción, escasa acción sistémica y ausencia de respuesta inmune hacia el PMMA. Las desventajas son un mezclado incompleto del AB, uniformidad y tamaño diferentes, lo que produce una menor biodisponibilidad del AB. Comercialmente solo hay esferas con gentamicina (Septopal®), si se requiere introducir cualquier otro AB se pueden realizar en el propio quirófano. Estas perlas se usan para infecciones óseas, partes blandas, diferentes osteomielitis y prótesis infectadas. (29,32,35,41)

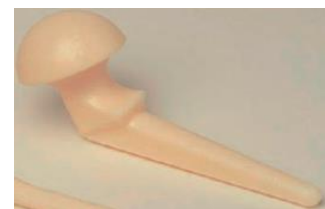


Figura 12: Espaciador de cadera Spacer® (41)

❖ **Polihidroxiácidos:** Son polímeros reabsorbibles sintéticos, que se encuentran actualmente en el mercado. Al ser reabsorbibles evitamos una segunda cirugía para extraerlos y permiten la regeneración de los tejidos. Estos son el PLA y el PGA que fueron los primeros en utilizarse para cirugía y suturas biodegradables. Actualmente, ambos se utilizan para fabricar hilos multifilamentosos que se reabsorben y permiten liberar BMPs (factores de crecimiento) de forma controlada. Estos se degradan gracias a unas reacciones de hidrólisis de forma gradual y se disuelven a pH fisiológico. Los andamios generados a través de estos compuestos son ideales, porque son biocompatibles por lo que no producen problemas de infecciones y formación de tejido fibroso alrededor del implante. Estos polihidroxiácidos se utilizan en huesos y cartílago fundamentalmente. Estos se pueden utilizar para liberación de fármacos de forma controlada y selectiva, siendo modificada la cinética de liberación en función de cada polímero o copolímeros utilizados, permitiendo el tratamiento de afecciones de la piel, mucosas, cancer e infecciones. Las formulaciones, normalmente de liberación prolongada, pueden administrarse por vía parenteral, oral y dérmica. Al estar el fármaco en el interior de una matriz polimérica absorbible, permite que el fármaco este protegido en todo momento. (29,32,42)

- PLA → Es un polímero semicristalino o amorfo, termoplástico, usados también para fabricación de dispositivos vasculares, fijación de fracturas, etc. El PLA se obtiene mediante polimerización por apertura del anillo del dímero cíclico del ácido láctico. Se ha desarrollado un material compuesto de PLA y bioglass (como fase de refuerzo). (32,42)(Figura 13)



Figura 13: Corte transversal de una sutura biodegradable de PLA (32)

- **PGA**→ Este producto tiene una gran fijación de las fracturas, de osteotomías, para fabricación de mallas, tornillos, agujas. Este se ha podido combinar con otros materiales como apatita carbonatada para generarle mayor refuerzo. Tenemos una sutura reabsorbible Maxon® que combina el PGA-cotrimetilencarbonato), es la más reciente en el mercado.^(32,42)
- **PLGA**→ Combinación de ambos (copolímero). Tiene mucho éxito en el campo de las suturas y una elevada biocompatibilidad. Se usa en ingeniería de tejidos por sus propiedades físicas, pero al presentar una superficie hidrofóbica, la adhesión y proliferación está dificultada; viéndose mermadas las propiedades mecánicas por la degradación de los polihidroxiácidos. Este se ha podido combinar con otros materiales como nitrato de calcio o tetrahidrato+amoniohidrogeno fosfato para generar mayor refuerzo. Se usa en suturas siendo conocida la sutura de Vicryl® copolímero de PGA/PLA 90/10. También para elaboración de placas y tornillos craneofaciales siendo el tiempo de reabsorción de estos inferior a un año, en cirugía orbitaria, dermatología, odontología y en cirugía ortopédica y traumatología. Para la liberación de fármacos en copolímeros, tenemos perlas PLA-PLGA con vancomicina para infecciones de *S.aureus* viéndose buenos resultados. También se pueden implantar microesferas de PLGA con cefazolina que previenen la infección. Las perlas tardan en disolverse entre 37 y 180 días dependiendo de las proporciones y AB utilizados. Las proporciones que generan buenos resultados del PLGA (PLA/PGA) son las de 90:10, mostrando buena liberación para AB como tobramicina y clindamicina y copolímero 50:50 con gentamicina. Pero uno de los AB más usados para el tratamiento de osteomielitis introducidos en polímeros biodegradables son las quinolonas, porque penetran en lugares poco vascularizados y en el hueso, aparte destruyen la mayoría de microorganismos incluidos los MRSA, y sus preparaciones son tanto por vía oral como parenterales con escasas reacciones adversas.^(29,32,42)

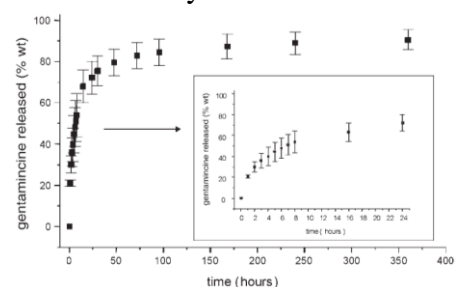
5.3.3. Biomateriales compuestos.

Las biocerámicas y los biopolímeros pueden mezclarse dando lugar a materiales compuestos, lo que dará implantes como mejores propiedades mecánicas y biológicas que ambos biomateriales por separado. Estas matrices mixtas presentan una doble función, liberan fármacos (F) de forma controlada y permiten rellenar el defecto óseo favoreciendo la regeneración del tejido. El componente polimérico (proporciona elasticidad) forma la matriz continua, mientras que el cerámico (aporta la fuerza de carga) la matriz discreta y este, será el que de carácter bioactivo a la matriz. Todas las matrices mixtas deben ser biocompatibles, evitando o minimizando reacciones de rechazo. Su proceso de elaboración debe ser lo más sencillo posible (mecanizables). La fase continua pueden ser polímeros naturales o sintéticos, biodegradables o bioestables en función del propósito del implante. La fase discreta podrá estar formada por elementos metálicos, cerámicas o BG. Siempre habrá que tener en cuenta la compatibilidad de los materiales, al igual que la farmacología, farmacocinética y toxicología para elaborar matrices compuestas liberadoras de fármaco a nivel local. La incorporación del fármaco a la matriz polimérica se puede realizar de dos formas; el fármaco puede estar anclado químicamente a la matriz o bien, se basa en la difusión del fármaco a través de la matriz. En los sistemas de liberación controlada, el fármaco se encuentra distribuido de forma homogénea, y la liberación de éste depende de la hidratación de la matriz, de la cinética y velocidad de liberación, y por los componentes por los que puede estar formada la matriz (polímeros no hidrosolubles, hidrosolubles o combinación).⁽³⁵⁾

PLGA/HA/AB: Para mejorar la cinética de liberación en infecciones producidas por *S.aureus* o MRSA, como dijimos antes, se pueden combinar varios biomateriales. Se observó que la encapsulación de la gentamicina en el interior de esferas de PLGA previene interacciones negativas entre la HA (cemento) y el AB, favoreciendo un mejor control en la liberación del AB. La HA era capaz de cargar 30% de su peso en AB, sin perjudicar sus propiedades mecánicas y consiguiendo así liberaciones sostenidas en el tiempo. Las concentraciones obtenidas in vivo e in vitro de gentamicina permitían determinar que se podía prevenir la osteomielitis y favorecer la formación del hueso⁽²⁹⁾.

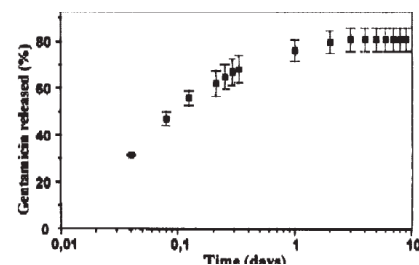
BG/PMMA/AB: El PMMA es un polímero no hidrosoluble, muy biocompatible y resistente a la degradación y será el que permita la liberación del AB de forma controlada y prolongada en el tiempo. Cuando está polimerizado está formado por unas microesferas embebidas en el PMMA, es el cemento acrílico más utilizado en cirugía ortopédica y se utiliza para rellenar cavidades en la pared ósea. El BG

es una cerámica parcialmente soluble, muy bioactiva, permite la liberación del AB en las primeras horas y facilita la regeneración ósea y osteointegración. El BG permite la difusión del medio acuoso dentro del sistema y modifica la superficie del implante. Para formar estos sistemas que se basan en la polimerización, mezclamos las esferas de PMMA con el BG y el AB y después introducimos una mezcla de MMA/PMMA con un iniciador y un activador de la mezcla. Después, la mezcla se homogénea (siempre eliminando las burbujas) y se introducen en los moldes. Al no tener que ser implantadas de forma inmediata (como los cementos acrílicos), no necesitamos cantidades elevadas de iniciador y activador que produzcan el fraguado del cemento (necesarias en intervenciones quirúrgicas) y reacciones exotérmicas que pueden modificar el fármaco. Por lo que obtenemos materiales que se pueden implantar más tarde. Estos materiales se van a utilizar para prevenir infecciones de *S.aureus* y *S.epidermidis* o bien tratarlas y estimular el regeneración ósea. El AB tiene que estar en forma de polvo (sino no se mezclan adecuadamente con el cemento), ser eficaz frente a las bacterias patógenas y ser termoestable. El AB suele ser sulfato de gentamicina que presenta una cinética bifásica, liberándose una elevada % en las primeras horas/días y el resto durante el tiempo posterior (puede permanecer años). El fármaco se libera por difusión, entre un 5% y 18%, normalmente en el caso de cementos con AB, en caso de perlas puede llegar hasta un 25%. En la gráfica 1, se muestra una liberación rápida en las primeras horas (60%), un 80% a las 48h y un 90% a los 14 días. Primero hay una liberación de altas concentraciones y después son menores con el tiempo (comportamiento de las infecciones óseas). Para que se de el proceso bioactivo donde el BG se une al hueso, es necesario darse unas etapas, las primeras se pueden producir sin presencia de células, pero las siguientes necesitamos un medio fisiológico que produzca el intercambio de iones para formar la carbonato-HA (CHA). Al formar la CHA el material implantado será capaz de unirse al hueso. Este sistema muestra bioactividad cuando tenemos unas concentraciones elevadas de BG.⁽³⁵⁾



Gráfica 1: Liberación de gentamicina desde un sistema compuesto vidrio-PMMA. El recuadro interior es la liberación de las primeras 24 horas ⁽³⁵⁾

BG/PLA/PMMA/AB Se puede considerar como una extensión del anterior. El método de obtención es el mismo que el anterior, añadiendo a la fracción sólida el PLA. El PLA es un poliéster utilizado muy habitualmente para implantes biodegradables (no produce acumulación de productos degradados). La ventaja de añadir el PLA es que permite controlar la cinética de liberación del fármaco (se aumenta la cinética de liberación debido a la biodegradación del PLA) o bien, la osteointegración posterior a la biodegradación. El AB utilizado es el sulfato de gentamicina. En las primeras horas se cede el 65%, posteriormente la cesión será más lenta habiéndose liberado a las 48h el 80% de la gentamicina. En este sistema se produce una liberación rápida de AB (también es debido al intercambio del BG), pero se puede observar que al formarse una capa nueva de apatita que recubre el implante produce una inhibición parcial de la liberación del fármaco. Esto es lo que puede justificar que la cesión del fármaco en estas matrices no sea del 100%. Al igual que en los ejemplos anteriores, todos los biomateriales se utilizan por separado para infecciones por *S.aureus* y *S.epidermidis*, cuando se combinan sirven para lo mismo y serán mucho más eficaces.⁽³⁵⁾(gráfica 2)



Gráfica 2: Liberación de gentamicina desde un sistema vidrio/PMMA/PLA. ⁽³⁵⁾

HA/PMMA/PEMA/AB: La HA es la biocerámica utilizada, es menos bioactiva que los BG, pero esta no afecta al grado de polimerización, actúa como relleno rígido en los poros del cemento acrílico, tiene buena biocompatibilidad y es análoga al fosfato cálcico encontrado en dientes y huesos. Es una de las biocerámicas más utilizadas en cirugía bucal y ortopédica, como relleno de cavidades, como recubrimiento de materiales metálicos, para facilitar el crecimiento óseo y sustrato para ingeniería de tejidos. Esta al unirse a los huesos del organismo vivo forma enlaces muy fuertes. La disminución de bioactividad se debe a la estructura cristalina de la HA (la hace más estable) en comparación con la amorfa de los BG. Como polímeros tenemos una mezcla del PMMA y PEMA (polietilmetacrilato). El AB liberado es sulfato de gentamicina presenta cinéticas de liberación similar a la gráfica 1, teniendo liberaciones rápidas al principio y posteriormente se van haciendo constantes. La única diferencia es que la % de HA influye en la cesión del F, para un 40% de HA la liberación es normal, en cambio para un 30% se ve favorecida la liberación del fármaco por la estructura porosa que la

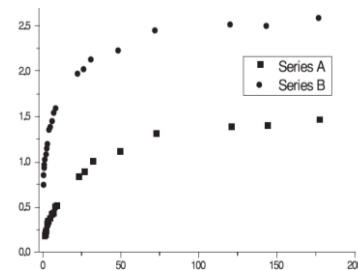
hace mas hidrofílica.^(gráfica 3) Su utilidad es para infecciones contra *S.aureus* y *S.epidermidis*, ya que se produce una sinergia entre ambos biomateriales dando mejores resultados⁽³⁵⁾

5.3.4. Zwitterion(Z)

Para evitar la infección se puede conseguir que la superficie sea antiadherente a las bacterias, esto se conseguiría con la química del zwitterion. El zwitterion se considera una nueva etapa en la formación del implante, estamos zwitterionizando materiales biocerámicos.^{Figura 14} Es decir, lo último que se añade es el polímero zwitteriónico. Está es un polímero con carga tanto positiva como negativa, pero es electricamente neutro, también se le puede denominar como una sustancia anfótera. Estos polímeros zwitteriónicos se utilizan como recubrimiento de otras sustancias, los más habituales son derivados de betaína; como metacrilato de carboxibetaína (pCBMA), metacrilato de sulfobetaina (pSBMA) que consigue su acción antiadhesiva gracias a una hidratación muy fuerte mediante interacciones electrostáticas, poli(oligo (etilenglicol) metiléter metacrilato) (pOEGMA) teniendo una acción antiadhesiva gracias a interacciones de hidrógeno, etc. Estos polímeros son muy efectivos cuando se sintetizan por un método denominado ATRP (Polimerización por radicales por transferencia de átomos). Ambos (pCBMA y pSBMA) son muy efectivos evitando la adhesión de bacterias y previniendo la formación de biofilms. El comportamiento antiadherente se puede explicar mediante su carga, pueden formar una capa muy hidratada y minimizan los dipolos. Existen dos técnicas colorimétricas para determinar la adhesión de las bacterias; la primera es el test BCA que reduce iones del Cu^{+2} a Cu^{+1} por las proteínas en un medio alcalino y el ácido binómico (BCA) que los iones formando un complejo que da coloración, la segunda técnica es inmuno-absorbente ligado a enzimas que se denomina ELISA, que permite ver una coloración mediante un cromóforo que reacciona con el complejo antígeno-anticuerpo formado. Este se suele combinar con nanopartículas mesoporosas de sílice (MSN) como vehículo para la liberación de fármacos, si se utiliza en conjunto para liberar fármacos habrá que determinar el modo de adicción y determinar que las cinéticas de liberación y absorción son adecuadas para la aplicación final.

El SBA-15 nanoestructurado es una nueva biocerámica de tipo zwitteriónico que se ha desarrollado, tiene doble acción antibacteriana para el tratamiento de infecciones en implantes óseos. La parte zwitteriónica es la que le da la capacidad antiadhesiva, evitando que las bacterias se unan, pero como tiene doble acción también actúa sobre las bacterias que están alrededor del implante, porque permite introducir AB en su interior. El SBA-15 zwitteriónico se hizo con un alcoxilisano (*N*- (2-aminoetil) -3-aminopropil-trimetoxisilano, DAMO) que tiene aminas primarias y secundaria, y en la superficie se incluyeron grupos con pares zwitteriónicos ($-NH_3^+ / -SiO^-$ y $>NH_2 / -SiO^-$). Esta cerámica es capaz de disminuir la adhesión con un 99.9%, mucho mejor que la sílice SBA-15 puro según los estudios in vitro de adhesión para *S.aureus*. Esta inhibición se consigue gracias a que hemos introducido pequeñas cantidades de agente de funcionalización. Se realizaron ensayos con cefalexina (AB de amplio espectro) viendo que la muestra zwitteriónica podía liberarla durante grandes periodos de tiempo, incluso llegando a 15 días.

Como hemos visto anteriormente, los MBG tienen una capacidad de regeneración muy elevada, una elevada superficie y una estructura mesoporosa para la incorporación de fármacos, por lo que se pensó que se puede hacer un MBG zwitteriónico que fuese capaz de inhibir la adhesión bacteriana. Por tanto, se incorporó en una cadena lateral el aminoácido Lisina, dotando al MBG zwitteriónico con esta doble capacidad de inhibición.



Gráfica 3: Incremento en peso del sistema por absorción del fluido circundante (SBF) en función del tiempo. La serie A contiene un 40% de HA y la serie B un 30% de HA. (35)

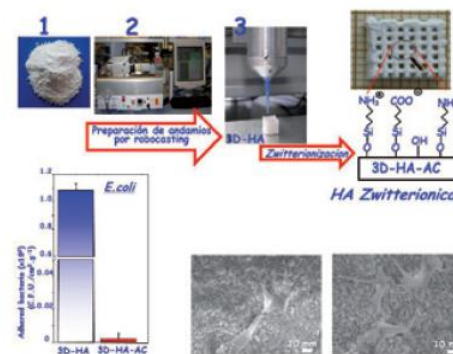


Figura 14: En la parte superior se esquematizan las de formación del zwitterion. En la parte inferior los resultados de adherencia bacteriana en andamios sin tratar y tratados. En el extremo derecho inferior se visualizan los osteoblastos adhiriéndose a la superficie zwitteriónica. (38)

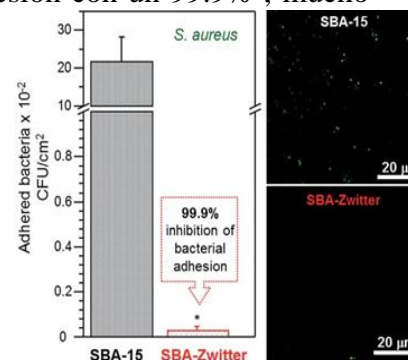


Figura 15; Izquierda: recuento de unidades formadoras de colonias de *S. aureus* después de 90 minutos de cultivo en superficies SBA-15 y SBA-Zwitter. Significación estadística: * $p < 0.01$. Derecha: micrografías de fluorescencia confocal de *S. aureus* adherido sobre superficies SBA-15 y SBA-Zwitter después de la tinción con Baclight® Kit TM. (45)

Se demostró que estas superficies Zwitteriónicas inhibían el crecimiento bacteriano en un 99,9% en comparación con los MBG no zwitteriónicos.

El diseño de estos implantes combinados con zwitteriones podría suponer un avance para evitar infecciones después de las cirugías donde se introduce el implante. ^(38,43,44,45,46,47) (Figura 15).

6. CONCLUSIONES

Las infecciones óseas y de tejido blando deben prevenirse. Esto es posible gracias al uso de superficies que evitan que los patógenos colonicen el cuerpo. Si la infección ya se ha instaurado, se realizará el diagnóstico para determinar el microorganismo causante de la patología, y una vez identificado, usaremos antibióticos para combatirlos. Cuando existen complicaciones mayores que los antibióticos no pueden combatir, se usan la combinación de biomateriales, con eficacia mayor. Los huesos son una combinación de materiales poliméricos y cerámicos; las cerámicas (BG) son frágiles y poco flexibles, y los polímeros no son muy bioactivos y resistentes cuando se aplican de forma aislada, por ello se necesita la función de ambos biomateriales conjuntamente.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Daniela Jiménez Soto, Javier Soto Fallas. Infecciones óseas Primarias. Osteomielitis agudas y crónicas. Infecciones específicas 2013 Vol. 3 No VIII. ISSN2215-2741.2013; 7-8
2. Merino Muñoz R. Infecciones osteoarticulares. Protoc diagn ter pediatr. 2014; 1:157-63.
3. Claudia Astudillo A., Jorge Díaz J, Patricio Agurto U. Evaluación por Imágenes de Infecciones en el Sistema Musculoesquelético. Revista HCUCCh 2006; 17: 297 – 305.
4. T. Hernández Sampelayo Matos, S. Zarzoso Fernández, M.L. Navarro Gómez, M.M. Santos Sebastián, F. González Martínez, J. Saavedra Lozano. Osteomielitis y artritis séptica. Protocolos diagnóstico-terapéuticos de la AEP: Infectología pediátrica. 20; 205-220.
5. H. Rohde, Eike C. Burandt, Nicolaus Siemssen, Lars Frommelt , Christoph Burdelski , Sabine Wurster et al. / Biomaterials 28 (2007) 1711–1720
6. Vila J, Soriano A, Mensa J. Bases moleculares de la adherencia microbiana sobre los materiales protésicos. Papel de las biocapas en las infecciones asociadas a materiales protésicos. Enferm Infec Microbiol Clin. 2008;26: 48-55.
7. Daniel P Lew, Francis A Waldvogel. Osteomyelitis. Lancet 2004; 364: 369–79.
8. María Emilia Villanueva. Recubrimientos antimicrobianos vía sol-gel: su aplicación en el control de formación de biofilms. 2015; 17-21
9. Ariza J, Euba Gorane y Murillo Óscar. Infecciones relacionadas con las prótesis articulares. Enferm Infec Microbiol Clin 2008;26(6):380-90
10. M. Alejandra Prado S., Macarena Lizama C., Anamaria Peña D., César Valenzuela M. y Tamara Viviani S. Tratamiento intravenoso inicial abreviado en 70 pacientes pediátricos con infecciones osteo-articulares. Rev Chil Infect 2008; 25 (1):30-36.
11. Dr. Alejandro Cuneo, Dra. Catalina Pérez, Dr. Gustavo Giachetto, Dr. Álvaro Galiana. Tratamiento de las osteomielitis/ artritis aguda en pediatría. Protocolo de Estudio y Tratamiento de Infecciones Osteo-articulares en Pacientes Pediátricos. Junio 2009; 1-15
12. E. Bouza, P. Muñoz. Micro-organisms responsible for osteo-articular infections. Baillière's Clinical Rheumatology Vol. 13, No. 1, 21–35, 1999.
13. Cervantes-García E, Rafael García-González, Paz María Salazar-Schettino. *Características generales del Staphylococcus aureus*. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab 2014; 61 (1): 28-40.
14. M. Marín, J. Esteban, MA. Meseguer, M. Sánchez-Somolinos. Diagnóstico microbiológico de las infecciones osteoarticulares. Enferm Infec Microbiol Clin. 2010;28(8):534–540
15. Julio J. Contreras y Miguel Sepúlveda. The molecular basis of infections associated to orthopedic implants. Rev Chilena Infectol 2014; 31 (3): 309-322.
16. J. Esteban, M. Marín, MA. Meseguer, M. Sánchez-Somolinos. Diagnóstico microbiológico de las infecciones osteoarticulares. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Seimc; 2009
17. Karen E. Beenken, Jon S. Blevins, Mark S. Smeltzer. Mutation of sarA in Staphylococcus aureus Limits Biofilm Formation. Infection and immunity. Vol. 71, No. 7. July 2003, p. 4206–4211
18. Sarah E. Cramton, Martina Ulrich, Friedrich götz, Gerd döring. Anaerobic Conditions Induce Expression of Polysaccharide Intercellular Adhesin in Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis. Infection and immunity. June 2001, Vol. 69, No. 6, p. 4079–4085
19. Sergio Alejandro Gómez Ochoa, Cristian David Sosa Vesga. Current vision on risk factors and complications of pediatric Osteomyelitis 2016;88(4):463-482
20. C. Lozano, C. Aspiroz, E. Gómez-Sanz, G. Tirado, B. Fortuño, M. Zarazaga et al. Caracterización de cepas de Staphylococcus epidermidis y S. haemolyticus resistentes a meticilina y linezolid en un hospital español. Enferm Infec Microbiol Clin. 2013;31(3):136–141

21. J.A. González Ferrández, J.R. Noguera Pons, J.V. Tovar Beltrán, F.J. Navarro Blasco. Artritis Infecciosas. Unidad de Reumatología. Hospital General Universitario de Elche. Alicante 2008;(20):347-366
22. Norma Fariña, Letizia Carpinelli, Margarita Samudio, Rosa Guillén, Florentina Laspina, Ramona Sanabria et al. *Staphylococcus* coagulasa-negativa clínicamente significativos. Especies más frecuentes y factores de virulencia Rev Chilena Infectol 2013; 30 (5): 480-488
23. J. Barberán, E. Bouza, J.M. Aguado, J.R. Aranza, J.A. García-Rodríguez, J. Prieto et al. Diagnóstico, tratamiento y prevención de la infección de prótesis articulares. Rev Esp Quimioterap, Diciembre 2003; Vol.16 (Nº 4): 467-478
24. Gras G, Druon J, Floch S, Bernard L. Infección osteoarticular. EMC - Tratado de medicina 2015; 19(1):1-10 [Artículo E – 4-0990].
25. V. Seija. Etiopatogenia microbiológica. 2006. Sección III: 257-271
26. Rodríguez-Martínez JM y Pascual A. Actividad de los antimicrobianos en biocapas bacterianas. Enferm Infecc Microbiol Clin 2008;26(2):107-14
27. Saavedra-Lozano J, C. Calvo, R. Huguet Carol, C. Rodrigo, E. Núñez, I. Obando, et al. Documento de consenso SEIP-SERPE-SEOP sobre el tratamiento de la osteomielitis aguda y artritis séptica no complicadas. Anales de Pediatría, Volumen 82, Número 4, abril de 2015, páginas 273.e1 273.e10 <http://dx.doi.org/10.1016/j.anpedi.2014.10.005>.
28. Julio A. Rico Claros. Acute hematogenous osteomyelitis: myth or reality. REV MED HONDUR, Vol. 81, No. 2-4, 2013.
29. José Pedro Invernizzi Cabrera. Uso de transportadores de antibióticos en el tratamiento de infecciones óseas y de otros tejidos. 2014; 1-111
30. Gil Albarova J, Garrido Lahiguera R, Gil Albarova R, Melgosa Gil M. Materiales para la reparación y sustitución ósea. Factores de crecimiento y terapia genética en Cirugía Ortopédica y Traumatología. MAPFRE MEDICINA, 2003; vol. 14, n.º 1; 51-65
31. Lilian Beatriz Romero Sánchez. Biomateriales nanoporosos ordenados y su funcionalidad como matriz biomimética administradora de iones terapéuticos para aplicación en regeneración tisular. Instituto de Ciencia de Materiales CSIC-US. Sevilla, 2017. 1-314.
32. Beatriz Pérez Rojo. Biomateriales: aplicación a cirugía ortopédica y traumatológica. Uc3m. 2010. 1-185.
33. Bernabéu Martínez E., López-Oliva Muñoz F., M Pellejero A., Larena, Tur Gil, A. De la Piedra Gordo, M^oC. Montero Escobar. Estudio de la composición ósea para su apropiada regeneración con materiales implantados, 2006 VOL. 4 N^o 3: 202-207.
34. M^o Natividad Gómez Cerezo. Vidrios mesoporosos bioactivos para el tratamiento de patologías óseas. 2018. 1-298
35. María Vallet regí. Liberación de fármacos en matrices biocerámicas: avances y perspectivas. 1-254.
36. Javier Alonso Pérez González. Síntesis de biovidrios por la técnica sol-gel con incorporación de metales y estudio de sus propiedades antibacteriales. Junio 2012. 1-63
37. Daniel Arcos Navarrete. Vidrios Mesoporosos bioactivos: implantes y sistemas de liberación de fármacos al servicio de las terapias regenerativas óseas. 2011; 1-20.
38. María Vallet-Regí. Hoja de ruta para el diseño de sustitutos óseos. *An. Quím.* 2014, 110(1), 5-10
39. Miriam Miranda Fernández. Materiales compuestos nanoestructurados biocompatibles con matriz de hidroxiapatita. Diciembre 2010. 1-222
40. H. Melero, J. Fernández, J.M. Guilemany. Recubrimientos bioactivos: Hidroxiapatita y titanita. Biomecánica, Vol.19, 2011, 35-48
41. Isabel Caro Aragonés. Cementos óseos con antibiótico. Panorama Actual del Medicamento 2016; 40 (394): 634-638.
42. Adrian Roche Albero. Estudio y desarrollo experimental de nuevos materiales biodegradables para la reparación ósea. Universidad de Zaragoza. 2011. 1-153.
43. Ángela Aurora Beltrán Osuna. Estudio de la síntesis de nanopartículas mesoporosas y su recubrimiento con un polímero zwitteriónico. Mayo 3 de 2017. 1-183
44. G. Cheng, Z. Zhang, S. Chen, J.D. Bryers, S. Jiang. Inhibition of bacterial adhesion and biofilm formation on zwitterionic surfaces. *Biomaterials* 28 (2007) 4192-4199.
45. Montserrat Colilla, Marina Martínez-Carmona, Sandra Sánchez-Salcedo, M. Luisa Ruiz-González, José M. González-Calbet, María Vallet-Regí. A novel zwitterionic bioceramic with dual antibacterial capability. : *J. Mater. Chem. B*, 2014, 2, 5639-5651
46. M. Vallet-Regí. Ordered Mesoporous Materials in the context of Drug Delivery Bone Tissue engineering. *Chem. Eur. J.* 2006, 12, 5934-5943
47. Sandra Sánchez-Salcedo, Ana García y María Vallet-Regí. Prevention of bacterial adhesion to zwitterionic biocompatible mesoporous glasses. *Acta Biomaterialia* 57 (2017) 472-486