

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

Desarrollo de un modelo novedoso para la evaluación de la gestión del espacio muerto en tejidos blandos

Rema A. Oliver¹, Vedran Lovric¹, Yan Yu¹, Chris Christou¹, Sean S. Aiken², John J. Cooper², William R. Walsh^{1*}

1 Laboratorios de investigación quirúrgica y ortopédica, Universidad de Nueva Gales del Sur, Australia, Sydney, Australia, Escuela Clínica Prince of Wales, Hospital Prince of Wales, Randwick, NSW, Australia, **2** Biocomposites Ltd., Keele Science Park, Staffordshire, Reino Unido

* w.walsh@unsw.edu.au



CrossMark
click for updates

ACCESO ABIERTO

Citación: Oliver RA, Lovric V, Yu Y, Christou C, Aiken SS, Cooper JJ, et al. (2015) Desarrollo de un modelo novedoso para la evaluación del espacio muerto Manejo en Tejidos Blandos. PLoS ONE 10 (8): e0136514. doi: 10.1371/journal.pone.0136514

Editor: Jui-Yang Lai, Universidad Chang Gung, TAIWÁN

Recibió: 21 de mayo de 2015

Aceptado: 4 de agosto de, el año 2015

Publicado: 25 de agosto de 2015

Derechos de autor: © 2015 Oliver et al. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la [Licencia de atribución Creative Commons](#), que permite el uso, distribución y reproducción sin restricciones en cualquier medio, siempre que se acredite el autor y la fuente originales.

Declaración de disponibilidad de datos: Todos los datos relevantes están dentro del documento.

Fondos: El financiador brindó apoyo en forma de salarios para los autores SSA y JJC, pero no tuvo ningún papel adicional en el diseño del estudio, la recopilación y el análisis de datos, la decisión de publicar o la preparación del manuscrito. Los roles específicos de estos autores se articulan en la sección "contribuciones de los autores".

Conflicto de intereses: Este estudio fue financiado por Biocomposites. Esto no altera la adherencia de los autores a las políticas de PLOS ONE sobre el intercambio de datos y materiales.

Abstracto

Después de un desbridamiento quirúrgico extenso en el tratamiento de la infección, puede resultar un "espacio muerto" después del cierre quirúrgico que puede llenarse de hematoma, un entorno propicio para el crecimiento bacteriano. La erradicación del espacio muerto es fundamental para prevenir infecciones recurrentes. Este estudio describe un nuevo modelo de animal pequeño para investigar la gestión del espacio muerto en el tejido muscular. Se implantaron dos materiales de prueba absorbibles en cada animal; perlas de sulfato de calcio solo y perlas cargadas con vancomicina y tobramicina. Se tomaron muestras de sangre en vida y radiografías de cada animal después de la implantación. Los animales se sacrificaron a los 1, 7, 21, 42 y 63 días después de la operación (n = 4), y los sitios de implantación se analizaron mediante micro tomografía computarizada, histología e inmunohistoquímica. La reabsorción completa se confirmó radiográficamente a las 3 semanas posteriores a la implantación. Histológicamente, la respuesta del tejido huésped a ambos materiales fue idéntica, y se observó la curación posterior en los sitios del implante sin que quedara espacio muerto. No se detectó vancomicina en suero sanguíneo. Sin embargo, se detectaron niveles máximos de tobramicina en todos los animales a las 6 horas posteriores a la implantación sin niveles detectables en ningún animal a las 72 horas posteriores a la implantación. La expresión serológica de citocinas inflamatorias para IL-6, TNF- α e IL-1 β no indicó una respuesta inflamatoria inusual a los materiales implantados o al procedimiento quirúrgico. Se encontró que el modelo era conveniente y efectivo para la evaluación de materiales de implantes para el manejo del espacio muerto en el tejido muscular. Los dos materiales probados fueron efectivos para resolver el espacio muerto creado quirúrgicamente,

Introducción

Cuando se requiere un desbridamiento extenso, los pacientes quedan con un espacio muerto que, cuando se cierra, puede llenarse con un hematoma o seroma, un entorno propicio para el crecimiento de bacterias. Los resultados clínicos sugieren que el factor principal para la erradicación exitosa de la infección es quirúrgico.

desbridamiento, gestión del espacio muerto [1] y prevención de la colonización bacteriana. El relleno de espacios muertos se ha considerado una práctica clínica imprescindible en cirugía séptica desde hace más de 60 años [2].

Se pueden utilizar colgajos de tejido local o colgajos libres para rellenar el espacio muerto [3, 4]. Sin embargo, esto no siempre es posible, especialmente si ha tenido lugar un desbridamiento significativo de los tejidos blandos en el sitio quirúrgico debido a la extirpación extensa de tejidos infectados. Las perlas de polimetilmetacrilato (PMMA) impregnadas con antibióticos e impregnadas con antibióticos se han utilizado durante más de tres décadas [5]. Estas cuentas se usan comúnmente dentro del espacio muerto [6, 7]. El PMMA se utiliza con frecuencia en la cirugía de revisión articular en forma de espaciador [8, 9], y en el tratamiento de fracturas infectadas [10] o en forma de cuentas en un alambre o como una bolsa [11].

El PMMA puede tener algunas desventajas. Como material no reabsorbible, en muchas circunstancias debe ser removido en un procedimiento quirúrgico adicional cuando su función ha sido completada, debido al riesgo de convertirse en un nido para futuras infecciones [12, 13]. Además, puede formarse una capa de fibrina alrededor de las perlas de PMMA después de la implantación, que también puede servir como un nido adicional para la infección [14]. Los estudios de laboratorio muestran que las bacterias pueden adherirse fácilmente y formar biopelículas en PMMA en cuatro días [15].

Se ha informado del uso de materiales alternativos. Mackey et al informaron resultados con antibiótico con perlas de sulfato de calcio, añadiéndolas para reducir el espacio muerto remanente tras la cirugía, reduciendo así la formación de hematomas posoperatorios. Los autores creían que esta reducción en la formación de hematomas, un medio de cultivo potencial para cualquier bacteria restante, posiblemente explicaba los resultados positivos cuando se usa sulfato de calcio en el tratamiento de las cavidades por osteomielitis. También informaron que cuando se usa en presencia de una herida que supura, el sulfato de calcio se reabsorbe o se drena en el pus, y no permanece como un secuestro [dieciséis].

La técnica de amputación tranmetatarsiana también ha descrito la colocación de perlas de sulfato de calcio impregnadas de antibiótico con especial atención a la técnica de tejidos blandos, colocándolas en el espacio muerto entre los colgajos de piel. Esto se informó para prevenir la recontaminación del espacio profundo en caso de que ocurriera una necrosis de la herida [17].

Una decisión lógica con respecto al relleno que se utilice es la necesidad de algún tipo de protección contra la colonización con bacterias patógenas [18]. Las infecciones relacionadas con dispositivos (DRI) son un problema importante en la cirugía de implantes, así como con los dispositivos biomédicos a corto plazo [19]. De hecho, en casi todos los dispositivos médicos se han observado infecciones microbianas resultantes de la adhesión bacteriana a las superficies de los biomateriales [20]. Estos se observan con frecuencia como infecciones de biopelículas en el implante y plantean una serie de desafíos clínicos debido a su resistencia a los mecanismos de defensa inmunológica y a los antimicrobianos. Con el fin de reducir la incidencia de infecciones relacionadas con los dispositivos, varios investigadores han explorado la incorporación de antibióticos en los dispositivos, utilizando una variedad de materiales. Estos materiales han sido objeto de varias revisiones [19-23].

Los modelos animales se han utilizado anteriormente para demostrar la eficacia de los materiales para la gestión del espacio muerto y la regeneración de tejidos en el tejido óseo [24-26]. Sin embargo, no se ha informado de ningún modelo animal que investigue la seguridad y eficacia de los materiales de implantes para el manejo del espacio muerto en el tejido muscular. Este estudio describe un modelo animal novedoso para investigar el manejo del espacio muerto en tejidos blandos y la evaluación del sulfato de calcio en este modelo, solo y en combinación con dos antibióticos, vancomicina y tobramicina.

Materiales y métodos

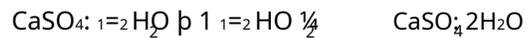
Se colocaron materiales de implante (1 cc por sitio, 5 perlas de material) en sitios intramusculares después de la retracción de los músculos longissimus en 4 sitios de implante no adyacentes en 24 conejos blancos adultos de Nueva Zelanda para imitar la implantación para el manejo del espacio muerto en el tejido muscular después de la aprobación. del Comité de Ética y Cuidado Animal de la Universidad de New South

Gales (ACEC #: 13 / 67A). Se implantaron dos materiales de prueba; perlas de sulfato de calcio solo (CS) y perlas de sulfato de calcio combinado con vancomicina y tobramicina (CSVT).

Preparación de materiales para implantes.

En condiciones estériles, se utilizaron kits de 10 ml que contenían 20 g de polvo de alfa-hemihidrato de sulfato de calcio de calidad farmacéutica (Stimulan, Biocomposites Ltd, Reino Unido) para preparar las perlas para la implantación; Se mezclaron 20 g de sulfato de calcio alfa-hemihidrato con 6 ml de la solución de mezcla proporcionada para las perlas sin carga. Para las perlas que contienen antibiótico, se mezclaron 20 g de sulfato de calcio alfa-hemihidrato con 1000 mg de clorhidrato de vancomicina en polvo (Hospira UK Limited) y se mezclaron completamente antes de agregar 6 ml de solución de sulfato de tobramicina (40 mg / ml, Hospira UK Limited) .

En cada caso, todos los componentes se mezclaron a fondo durante 30 a 60 segundos para formar una pasta suave que se presionó en cavidades hemisféricas de 6,0 mm de diámetro en el molde flexible (Figura 1A) . Las perlas se dejaron sin tocar durante 30 a 60 minutos para que se hidrataran y fraguaran de acuerdo con la reacción:



Cuando se endurecieron, las perlas se quitaron flexionando el molde (Figura 1B) .

Las perlas eran hemisféricas con un diámetro (D) de 6 mm y una longitud (L) de 4,8 mm (Figura 2) . Se logró una mezcla homogénea de antibiótico y sulfato de calcio alfa-hemihidrato como resultado de una mezcla completa en la preparación de las perlas, lo que permitió el cálculo de la concentración de antibiótico, como peso / peso de las perlas.

Análisis de sangre periférica

Se extrajo sangre periférica antes de la operación, 1, 6, 12, 24 horas y 3, 7, 14, 21, 42 y 63 días durante todo el estudio para hematología / bioquímica de sangre estándar (Laboratorios IDEXX, Sydney, Australia), citocina sérica niveles (IL-1 β , IL-6 y TNF- α) y para determinar los niveles sistémicos de vancomicina y tobramicina.

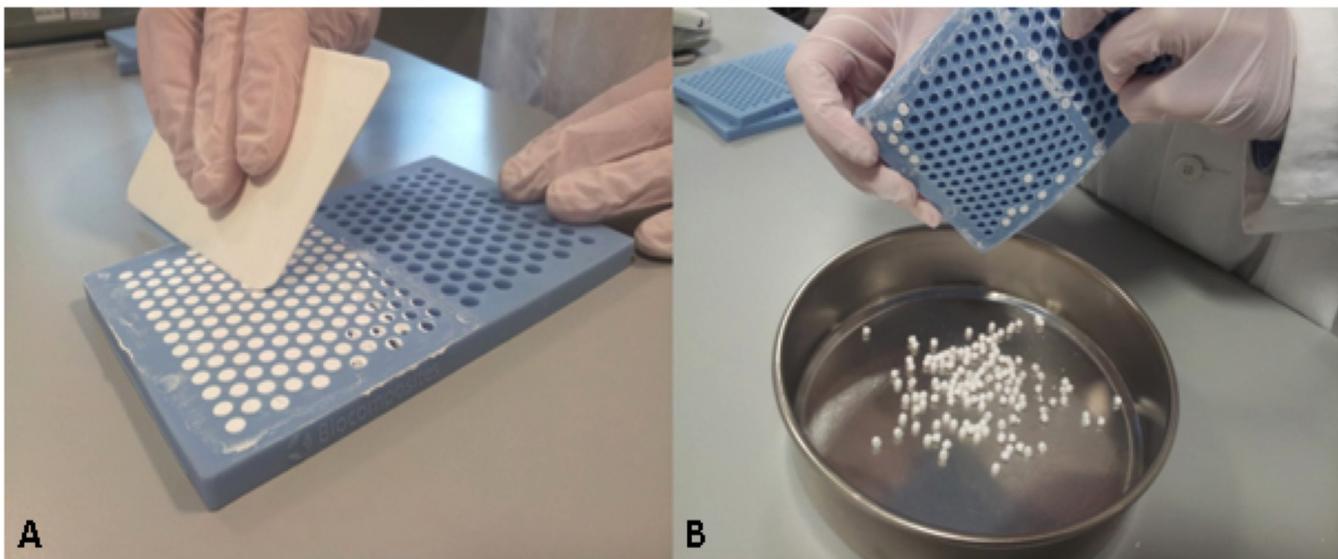


Fig 1. Preparación del material del implante. A. Preparación de las perlas de sulfato de calcio utilizando el molde flexible. B. Retirar las perlas del molde una vez endurecidas.

doi: 10.1371 / journal.pone.0136514.g001

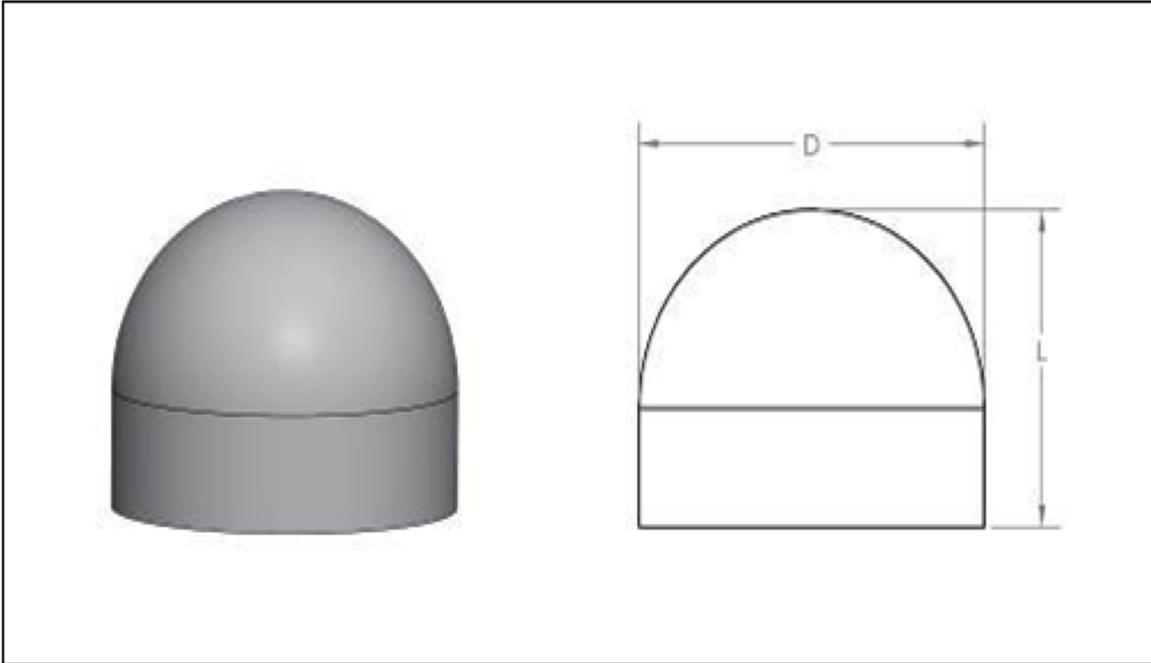


Fig 2. Forma de cuentas. Forma de perlas producidas por el molde flexible.

doi: 10.1371 / journal.pone.0136514.g002

La sangre se recogió en un tubo Vacutainer Plain Clot de 4 ml y se dejó coagular a temperatura ambiente durante 2 horas antes de centrifugar durante 15 minutos a 2000 xg. El suero se extrajo con cuidado y se almacenó a -80 ° C hasta que se necesitó.

Los niveles séricos de IL-1 β (E04I0010), IL-6 (CSB-E06903Rb) y TNF- α (CSB-E06998Rb) se analizaron mediante un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) utilizando kits disponibles comercialmente (Cusabio Biotech, Beijing, China) según las instrucciones del fabricante. Cada muestra se midió por duplicado y los estándares también se procesaron en cada placa de 96 pocillos. Los límites de detección dentro del suero para cada una de estas citocinas probadas son 1 pg / ml, 15,6 pg / ml y 78 pg / ml respectivamente.

Cirugía

Para los 24 animales del estudio, se utilizaron cuatro sitios de implante por animal, dos sitios a cada lado de la columna, en sitios intramusculares no adyacentes (músculos longissimus) por encima de los niveles en L1-L2, L2-L3, L3-L4 y L4-L5 (Fig. 3). El plano intermuscular entre los músculos multifidus y longissimus se retrajo para crear un vacío de 1 cm x 2 cm. El vacío se llenó con aproximadamente 1 cc de material de prueba, lo que representa cinco perlas de material por sitio de implante. Las perlas se colocaron de forma estéril en jeringas estériles de 3 cc con la punta retirada para facilitar la implantación (Figura 4). Esto permitió una implantación uniforme y una implantación reproducible. Cada animal recibió perlas de CS en dos sitios y perlas de CSVT en los dos restantes. Las incisiones fasciales se cerraron con una sutura individual no absorbible de una sola hebra. El cierre se logró con puntos adyacentes equidistantes a intervalos de aproximadamente 3 mm. La piel de la incisión se cerró con una sutura absorbible de una sola hebra individual de manera continua. Los animales se sacrificaron en grupos de cuatro a los 0, 1, 7, 21, 42 y 63 días después de la operación.

Para cada punto de tiempo de sacrificio en el estudio, la asignación de material a los sitios de implante es como se describe en Fig. 3.

Animal	Surgical Site	Implant material	
1	L1- L2 left side	CSVT	
	L2-L3 right side	CS	
	L3-L4 left side	CS	
	L4-L5 right side	CSVT	
2	L1- L2 left side	CS	
	L2-L3 right side	CSVT	
	L3-L4 left side	CSCT	
	L4-L5 right side	CS	
3	L1- L2 left side	CSVT	
	L2-L3 right side	CS	
	L3-L4 left side	CS	
	L4-L5 right side	CSVT	
4	L1- L2 left side	CS	
	L2-L3 right side	CSVT	
	L3-L4 left side	CSVT	
	L4-L5 right side	CS	

Fig 3. Diseño del estudio y esquema de implantación. Cada punto de tiempo tiene 4 animales con 4 sitios de implantación por animal (asteriscos).

doi: 10.1371 / journal.pone.0136514.g003

Se utilizaron radiografías posteroanteriores para visualizar el aspecto de las perlas en el tejido blando en el momento de la cirugía. Las radiografías se tomaron con una máquina de rayos X móvil (Poskom Co., Ltd, Corea) y placas digitales (AGFA, Sydney Australia). Estas imágenes se utilizaron como referencia para el examen en momentos posteriores. Durante el estudio, se tomaron muestras de sangre en vida y radiografías posteroanteriores y laterales de cada animal después de la implantación. También se informan los niveles de vancomicina y tobramicina en las muestras de suero sanguíneo frente al tiempo. Elen vivo La absorción de los materiales de prueba se cuantificó mediante análisis de radiografías estándar y micro tomografía computarizada (μ CT).



Fig 4. Implantación de perlas. Las perlas se implantaron en sitios de implantación individuales utilizando jeringas preenvasadas, modificadas con la punta extraída.

doi: 10.1371 / journal.pone.0136514.g004

Eutanasia y necropsia

Una vez que se completó la duración programada, los animales se sacrificaron, se realizaron radiografías y μ CT, y se inspeccionaron y recolectaron los sitios de implante para evaluar la curación, las reacciones tisulares locales y los niveles locales de vancomicina y tobramicina.

Los animales se sacrificaron de acuerdo con el diseño del estudio: cada punto de tiempo tenía 4 animales con 4 sitios de implantación por animal. *Elen vivo* Se evaluó la cinética de liberación de vancomicina y tobramicina en tejidos locales, así como los niveles séricos. Se observó la integridad general de la incisión cutánea junto con la reacción macroscópica de los tejidos subcutáneos subyacentes como normal o anormal. Si era anormal, esto se evaluó adicionalmente en busca de evidencia de infección o signos macroscópicos de inflamación / reacción a cuerpo extraño.

En el momento de la cosecha, se examinaron el corazón, el hígado, los riñones, el bazo y los pulmones y se anotaron las anomalías de cada animal. Una parte de los órganos distantes se procesó para la histología en parafina de rutina y se evaluó de forma ciega para detectar cualquier anomalía. Los cambios microscópicos se clasificaron según un grado de gravedad según lo siguiente: 1 = mínimo, 2 = leve, 3 = moderado, 4 = grave, N = normal.

Radiografía

Los animales se radiografiaron de la misma manera que se realizó al finalizar la cirugía. Las imágenes se utilizaron para determinar la reabsorción según el aspecto radiográfico. El estado radiográfico de los sitios de implante se comparó con las radiografías obtenidas inmediatamente después de la implantación para determinar la absorción del material del implante. Las radiografías se clasificaron de forma ciega para la absorción del implante en una escala de 0 a 4 ([tabla 1](#)). Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza no paramétrico (prueba de Kruskal Wallis) [27].

Tomografía microcomputada

Se realizó una micro tomografía computarizada (μ CT) para todos los animales utilizando un *en vivo* escáner (Inveon, Siemens Medical, PA, EE. UU.) para obtener imágenes de alta resolución de la absorción del implante. Se escanearon los sitios quirúrgicos y se reconstruyeron las imágenes en bruto, lo que resultó en

Tabla 1. Escala de clasificación radiográfica.

Clasificación radiográfica	
Calificación	Descripción:% de implante restante
0	81–100
1	61–80
2	41–60
3	21–40
4	0–20

Las radiografías se clasificaron para la reabsorción del implante en una escala de 0 a 4.

doi: 10.1371 / journal.pone.0136514.t001

tamaño de píxel efectivo de 53,12 μm . Los modelos 3D se crearon utilizando el software de análisis de imágenes de Siemens (Inveon Research Workplace 3.0, Siemens Medical, PA, EE. UU.) Para evaluar in vivo absorción, así como cualquier reacción adversa en los tejidos. Se examinaron imágenes en los planos axial, sagital y coronal. Las imágenes resultantes se clasificaron de forma ciega para la absorción del implante en una escala de 0 a 4 (tabla 1). Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza no paramétrico (prueba de Kruskal Wallis) [27].

Recolección de muestras de tejido y niveles de vancomicina / tobramicina

Perlas de CS y CSVT residuales. Los sitios quirúrgicos se disecaron cuidadosamente y se examinaron para detectar la presencia de perlas residuales. Se recogió una porción de las perlas residuales presentes en los sitios quirúrgicos. Este material se dejó secar al aire y se colocó en un desecador durante 24 horas y luego se molió usando un mortero. Se sumergieron 0,1 g del polvo en 1 ml de suero durante 24 horas. Los niveles de vancomicina y tobramicina en las muestras por gramo de material se determinaron usando un ensayo de anticuerpos estándar.

Recolección de tejido muscular. Se recogió una muestra de músculo (1 x 1 cm) del lugar de implantación, se secó al aire durante 72 horas y luego se molió usando un mortero y una mano. Se sumergieron 0,1 g del tejido molido en 1 ml de suero durante 24 horas. La concentración local de vancomicina y tobramicina en la muestra de músculo se midió usando un ensayo de anticuerpos estándar.

Validación del método; Niveles de vancomicina y tobramicina en suero de conejo, in vitro. El suero de conejo se recogió de conejos de otros estudios en el momento del sacrificio para realizar una curva de respuesta a la dosis para el suero de conejo con una concentración conocida de vancomicina y tobramicina. También se analizaron los niveles estándar de vancomicina y tobramicina en solución salina para la comparación. Se determinaron niveles de concentración de 0,1, 1, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500 y 1000 $\mu\text{g} / \text{ml}$ para proporcionar una curva estándar. Esta parte del estudio se completó con un ensayo estandarizado (Roche Cobas 6000, Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania). El método de ensayo se basó en una técnica de inmunoensayo enzimático homogénea utilizada para el análisis cuantitativo de antibióticos en suero o plasma humanos. (Rango de ensayo de vancomicina: 1.7-80 mg / L, Precisión del ensayo: CV total <5%, Rango de ensayo de tobramicina: 0.33-10 mg / L, Precisión del ensayo: CV total <5%).

Las muestras de suero recogidas después de la implantación se analizaron luego usando este ensayo.

Histología

Los sitios de implantes recolectados asignados para histología se fijaron inmediatamente en formalina tamponada con fosfato durante un mínimo de 48 horas. Luego se descalcificaron en formalina tamponada con fosfato de ácido fórmico al 10% a temperatura ambiente. Las muestras descalcificadas se colocaron en bloques de inclusión para el procesamiento de parafina. Los bloques de parafina se seccionaron a 5 micrones utilizando un micrótopo (Leica, Alemania) y se colocaron en portaobjetos supercongelados para la hematoxilina de rutina.

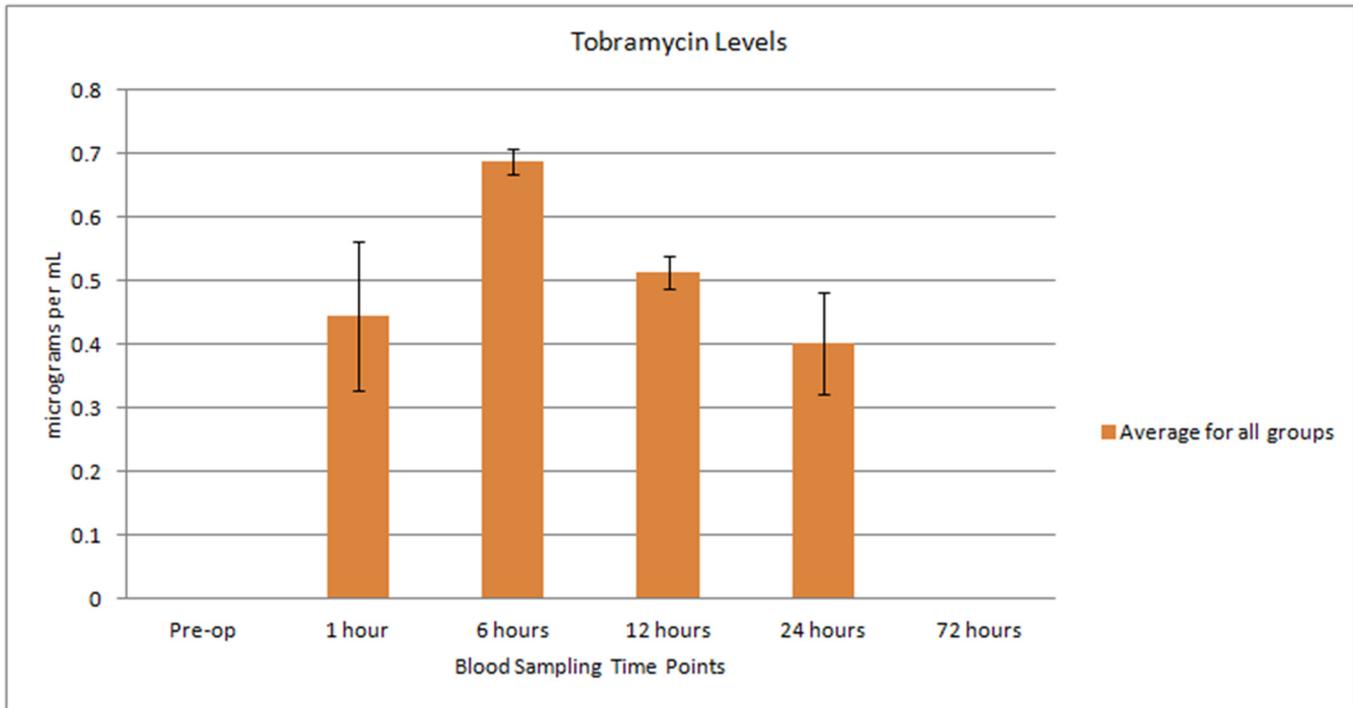


Fig 5. Gráfico que indica la liberación de tobramicina sistémica. El promedio de todos los resultados de sangre disponibles para análisis en cada uno de los tiempos de muestreo de sangre predeterminados para la liberación de tobramicina sistémica.

doi: 10.1371 / journal.pone.0136514.g005

Análisis del nivel de citocinas inflamatorias en suero sanguíneo (ELISA)

En comparación con las curvas estándar para cada uno de los factores medidos (IL-6, TNF- α e IL-1 β), los niveles de citocinas sistémicas se cuantificaron preoperatoriamente (línea de base) y posoperatoriamente en cada uno de los puntos de tiempo asignados: 1 h, 6 h, 12 horas, 24 horas, 72 horas, 7 días, 14 días, 21 días, 42 días y 63 días.

Los niveles de IL-1 β se detectaron en todos los puntos de tiempo asignados con una diferencia significativa entre la expresión preoperatoria y del día 63 ($p < 0,05$), sin embargo, los niveles de IL-6 solo se detectaron desde las 12 horas hasta los 42 días. Estos se muestran en las Figs. 6 y 7. Los niveles de citocina sérica para TNF- α en todos los casos, en todos los puntos de tiempo, estaban por debajo del nivel de detección de la muestra (datos no mostrados).

Recolección de muestras de tejido y niveles de vancomicina / tobramicina

Durante la cosecha, los sitios quirúrgicos se disecaron cuidadosamente y se examinaron para detectar la presencia de perlas de sulfato de calcio residuales. Se recogió una porción (0,1 g) de cualquier perla de sulfato de calcio residual presente. Solo se encontraron perlas residuales en animales asignados para puntos de tiempo de 24 horas y día 7. Se determinaron los niveles de vancomicina y tobramicina en las muestras por gramo de material (CSVT). Los resultados se representan en Figura 8.

Se recogieron muestras de músculo (1 x 1 cm) de los sitios de implantación y luego se trituraron y se secaron al aire. La concentración local de vancomicina y tobramicina en la muestra de músculo se midió usando un ensayo de anticuerpos estándar. El antibiótico estuvo por debajo del nivel de detección en las muestras analizadas durante 24 horas y las muestras recolectadas del día 7, por lo que no se examinaron los puntos de tiempo posteriores.

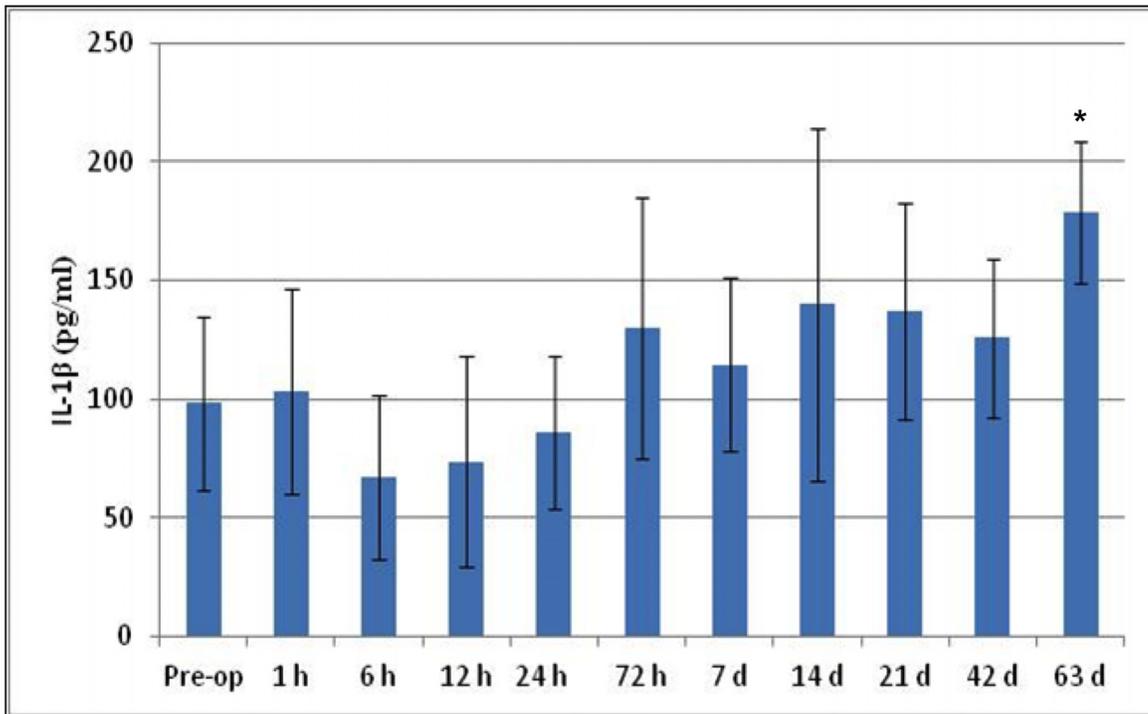


Fig. 6. Expresión serológica de citocinas para IL-1 β a lo largo del tiempo. Los niveles de IL-1 β se detectaron en todos los puntos de tiempo asignados con una diferencia significativa entre el preoperatorio y el día 63 (* $p < 0,05$).

doi: 10.1371 / journal.pone.0136514.g006

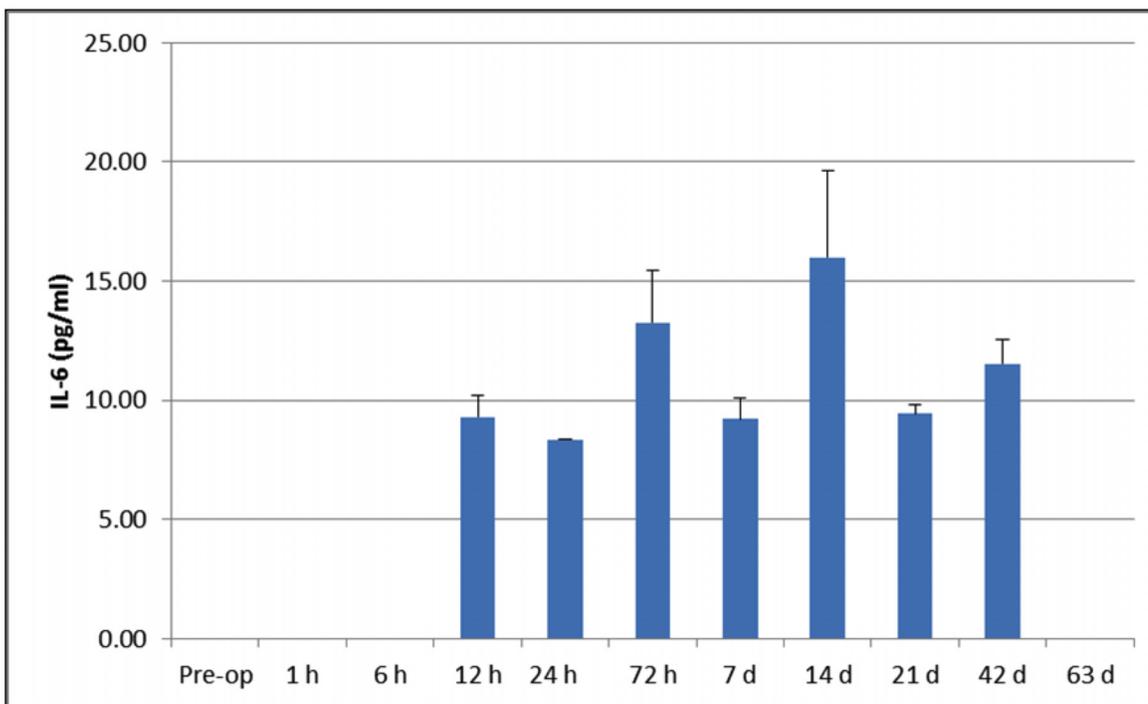


Fig. 7. Expresión serológica de citocinas para IL-6 a lo largo del tiempo. Los niveles de IL-6 solo se detectaron desde las 12 horas hasta los 42 días.

doi: 10.1371 / journal.pone.0136514.g007

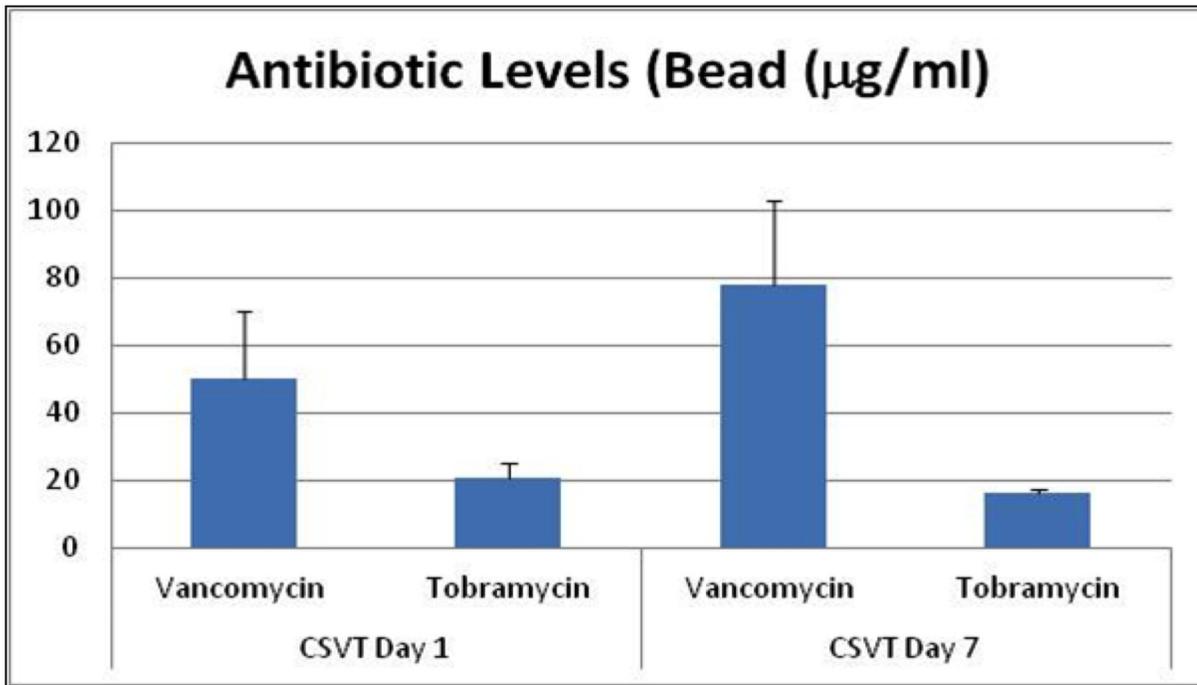


Fig 8. Representación gráfica de los niveles de antibióticos dentro de las perlas. Niveles medidos de vancomicina y tobramicina dentro de las perlas remanentes encontradas en el sitio de implantación a las 24 horas y al día 7.

doi: 10.1371 / journal.pone.0136514.g008

Radiografía

Se tomaron radiografías anteriores posteriores según lo programado en el momento de la recolección y después de la operación. Las radiografías se clasificaron de 0 (81% a 100% del implante restante) a un grado 4 (0% a 20% de implante restante).

Las perlas CS y CSVT fueron evidentes en las radiografías del día 0, 24 horas y día 7. Se observó algo de ablandamiento de las perlas así como algunas áreas de brillo el día 7. La absorción completa de todas las perlas se confirmó el día 21, y sólo se notaron escasas áreas de consolidación de las perlas. Las perlas no fueron evidentes en las radiografías de 42 y 63 días (Figura 9). La clasificación radiográfica reveló los mismos patrones de absorción para las perlas CSVT y CS como se demostró en Figura 10. La migración de las perlas implantadas no fue evidente en las radiografías.

Se observó un leve halo de material en el tejido muscular alrededor de las microesferas CS y CSVT en las radiografías a las 24 horas y 7 días. El halo permaneció a los 21 días a pesar de la completa absorción de las perlas. Sin embargo, este halo de material ya no estaba presente en las radiografías de 42 y 63 días.

Tomografía microcomputada

µCT proporcionó una evaluación de la absorción de perlas en los planos anatómicos axial, sagital y coronal y confirmó los hallazgos radiográficos. Todas las perlas fueron absorbidas en el punto de tiempo de 21 días (Figura 11). No se observaron reacciones adversas a los materiales implantados. La clasificación µCT reveló patrones de absorción similares para ambos materiales implantados, como se demuestra en Figura 12.

Histología

Análisis cualitativo. Para los sitios de implantación en el día 0, no se observó ninguna reacción local al material del implante en ninguno de los sitios de implantación. Para los sitios de implantación a las 24 horas, el

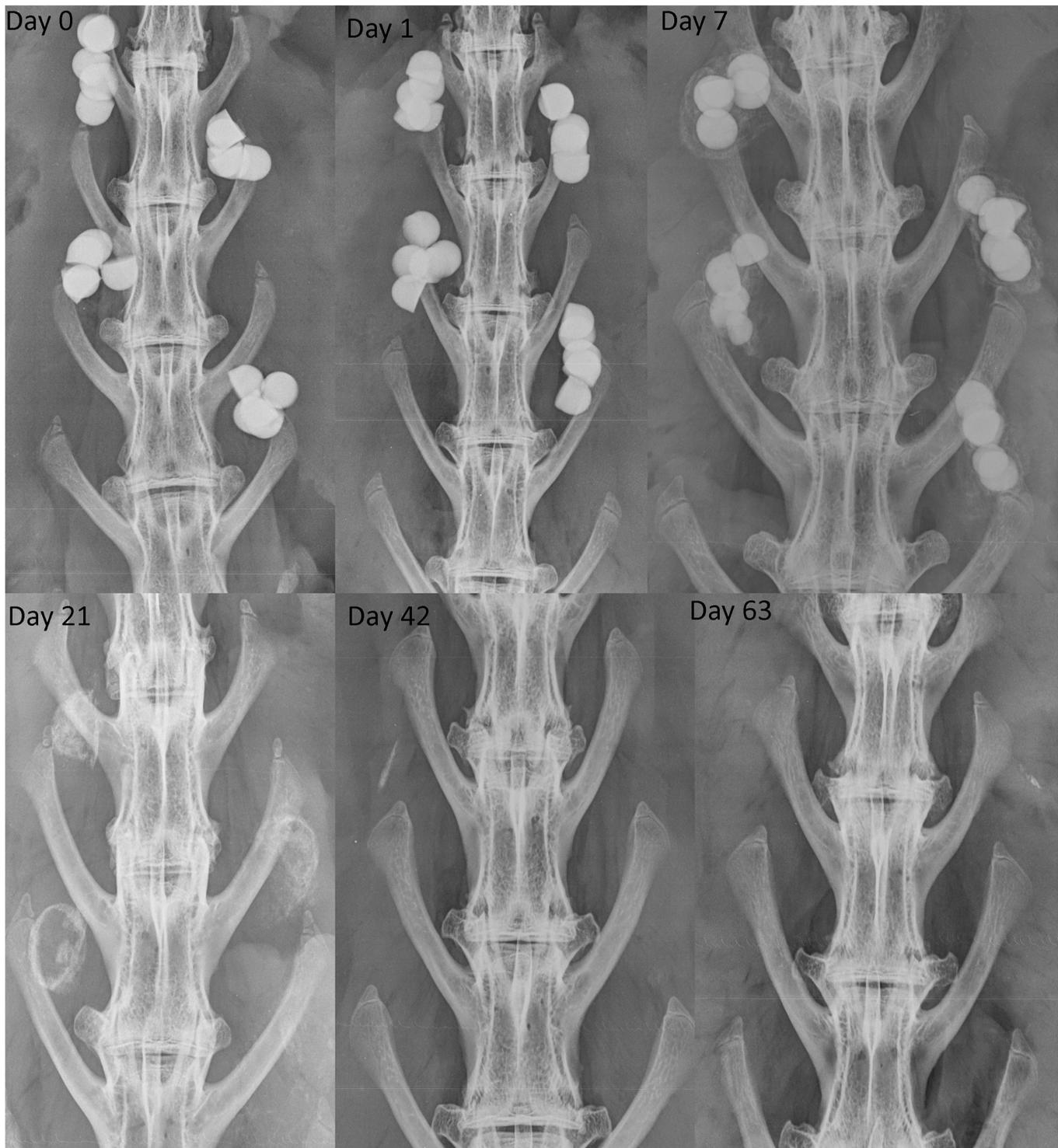


Fig 9. Panel de radiografía representativo. Las perlas estaban presentes en los días 0, 1 y 7. La absorción completa se observó el día 21.

doi: 10.1371 / journal.pone.0136514.g009

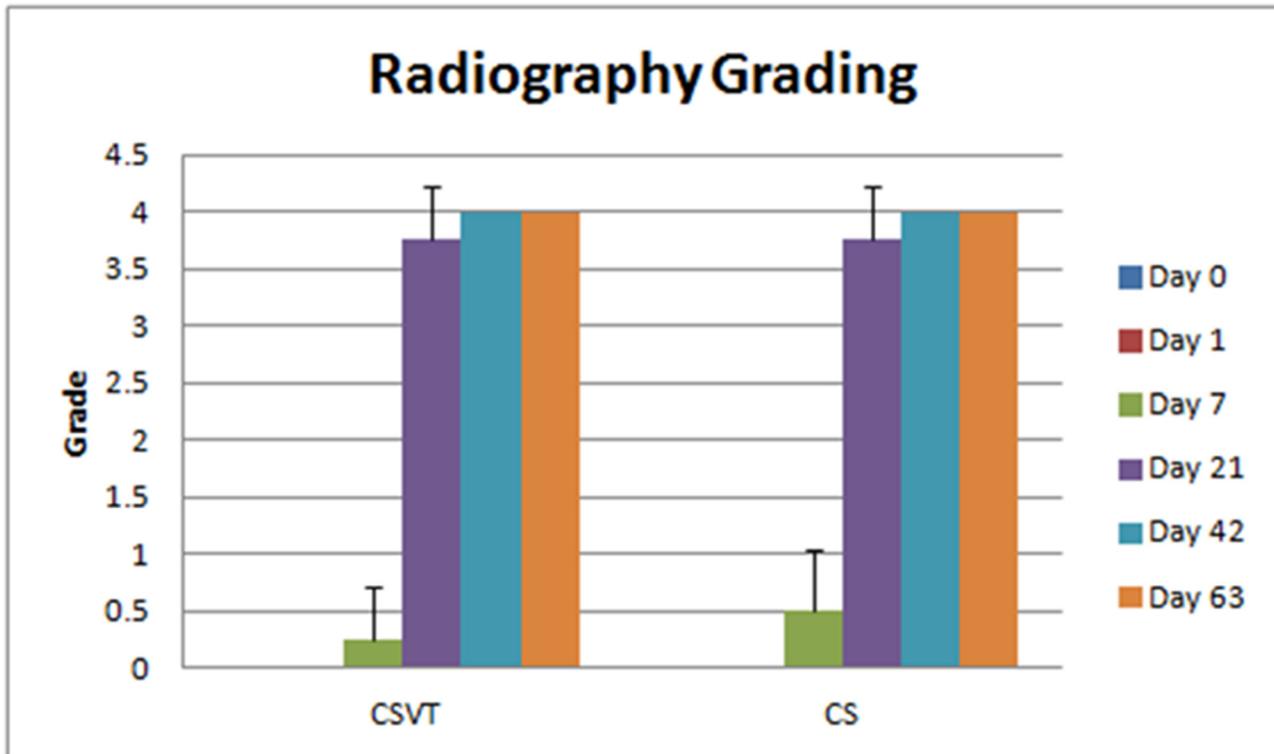


Fig. 10. Resumen de la clasificación de resorción media de Faxitron para los grupos CSVT y CS en cada punto de tiempo. No se observaron diferencias entre los grupos.

doi: 10.1371 / journal.pone.0136514.g010

La reacción a CS y CSVT fue idéntica en naturaleza y magnitud, con linfocitos y glóbulos rojos observados en la interfase implante / tejido huésped. El día 7, una vez más, la reacción a ambos materiales fue idéntica en naturaleza y magnitud. Se observaron linfocitos y glóbulos rojos en la interfase implante / tejido huésped. Además, estaban presentes algunas células multinucleadas y se observó cierta infiltración de tejido fibroso. En los días 21, 42 y 63, la respuesta a ambos materiales fue idéntica en naturaleza y magnitud, todos con linfocitos y glóbulos rojos en la interfase implante / tejido huésped y células multinucleadas presentes. Los materiales se habían reabsorbido completamente y fueron reemplazados por tejido fibroso.

Inmunohistoquímica

La inmunohistoquímica demostró la expresión de proteínas para los marcadores de inflamación (IL1-Beta, CD3, CD79 e IL-6). Se encontró alguna expresión para estos marcadores en los grupos CS y CSVT en los días 7, 21, 42 y 63 y fue similar entre CS y CSVT en cada punto de tiempo. El general en vivo La respuesta a los materiales fue la misma (Figura 13).

La IL-6 se expresó el día 1 en vasos sanguíneos adyacentes. Se observó expresión en el día 7 en células endoteliales, así como en células multinucleadas (linaje de macrófagos) (Figura 14).

Discusión

El espacio muerto se puede definir como un espacio que queda en una herida después del cierre quirúrgico. Con frecuencia es el resultado de la extracción de implantes y el desbridamiento extenso del tejido necrótico después de la cirugía de revisión articular. Si el espacio muerto no se erradica, se llena rápidamente de hematoma y exudado de la herida inmediatamente después de la cirugía, lo que proporciona las condiciones ideales para

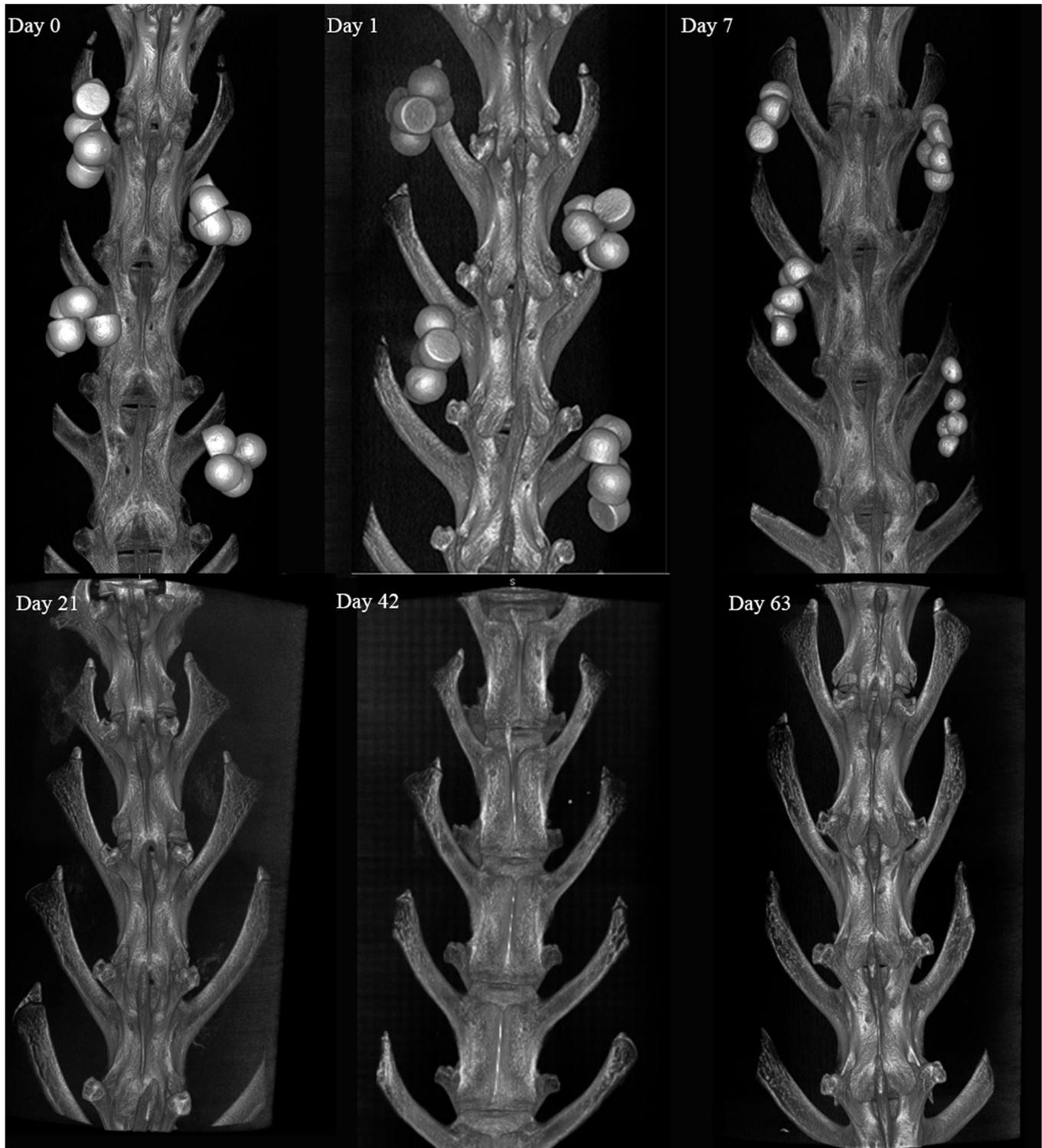


Fig 11. Panel 3D MicroCT representativo. MicroCT que demuestra el patrón de absorción de los materiales implantados en los días 0, 1, 7, 21, 42 y 63 días.

doi: 10.1371 / journal.pone.0136514.g011

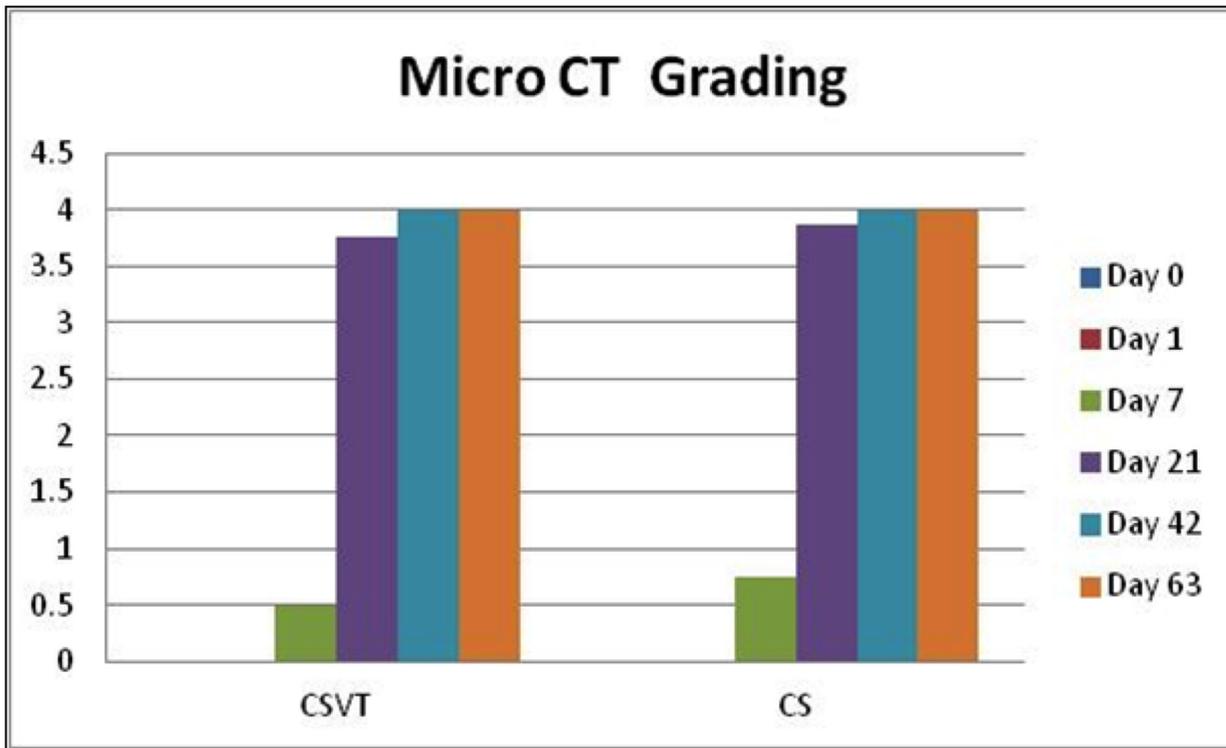


Fig 12. Resumen de la clasificación de resorción media de μ CT para los grupos CSVT y CS en cada punto de tiempo. No se observaron diferencias entre los grupos.

doi: 10.1371 / journal.pone.0136514.g012

crecimiento bacteriano de patógenos residuales presentes en el sitio quirúrgico. Una vez que las bacterias se establecen en este espacio, la infección es difícil de erradicar debido a la capacidad limitada de los antibióticos administrados por vía parenteral para penetrar en el espacio, ya que no está vascularizado. Por lo tanto, es fundamental que se minimice el espacio muerto. Esto se puede lograr con la transferencia de colgajos musculares [33-37] o llenando el espacio con un dispositivo o material de implante que minimice la posibilidad de formación de hematomas. El PMMA se utiliza con frecuencia para realizar esta función, ya sea en forma de espaciador [8, 9, 38] en cirugía de revisión de articulaciones, o perlas [5, 39] que se utilizan con frecuencia en casos de osteomielitis. Sin embargo, como se discutió anteriormente, el PMMA tiene algunos inconvenientes que han dado lugar a que los médicos busquen materiales reabsorbibles alternativos para la gestión del espacio muerto. Uno de esos materiales es el sulfato de calcio, y la literatura reciente discute su aplicación en combinación con antibióticos [12, 40, 41], incluido su uso en sitios de tejidos blandos infectados [42].

Se han publicado varios modelos animales que permiten la evaluación de materiales de implantes para rellenar huecos en el hueso después de una osteomielitis [24, 43-45], sin embargo, no se han publicado modelos animales para evaluar la eficacia de un material de implante para el manejo del espacio muerto en los tejidos blandos. Este estudio describe un modelo animal novedoso para investigar el espacio muerto en el tejido blando y evaluar el material del implante para su manejo.

El modelo ofrece una serie de ventajas. En primer lugar, permite múltiples sitios quirúrgicos por animal, lo que hace posible la comparación de la respuesta del huésped con las variaciones del dispositivo / material en el mismo animal, y permite estudiar menos animales considerando los controles internos. Además, después de escalar a sujetos clínicos humanos, el tamaño del sitio intramuscular es comparable al espacio muerto potencial observado en escenarios clínicos después de un desbridamiento extenso. Finalmente, el modelo es lo suficientemente grande como para permitir fácilmente una amplia gama de técnicas de análisis, incluido el análisis radiográfico (radiografías estándar y μ CT), análisis de suero sanguíneo múltiple,

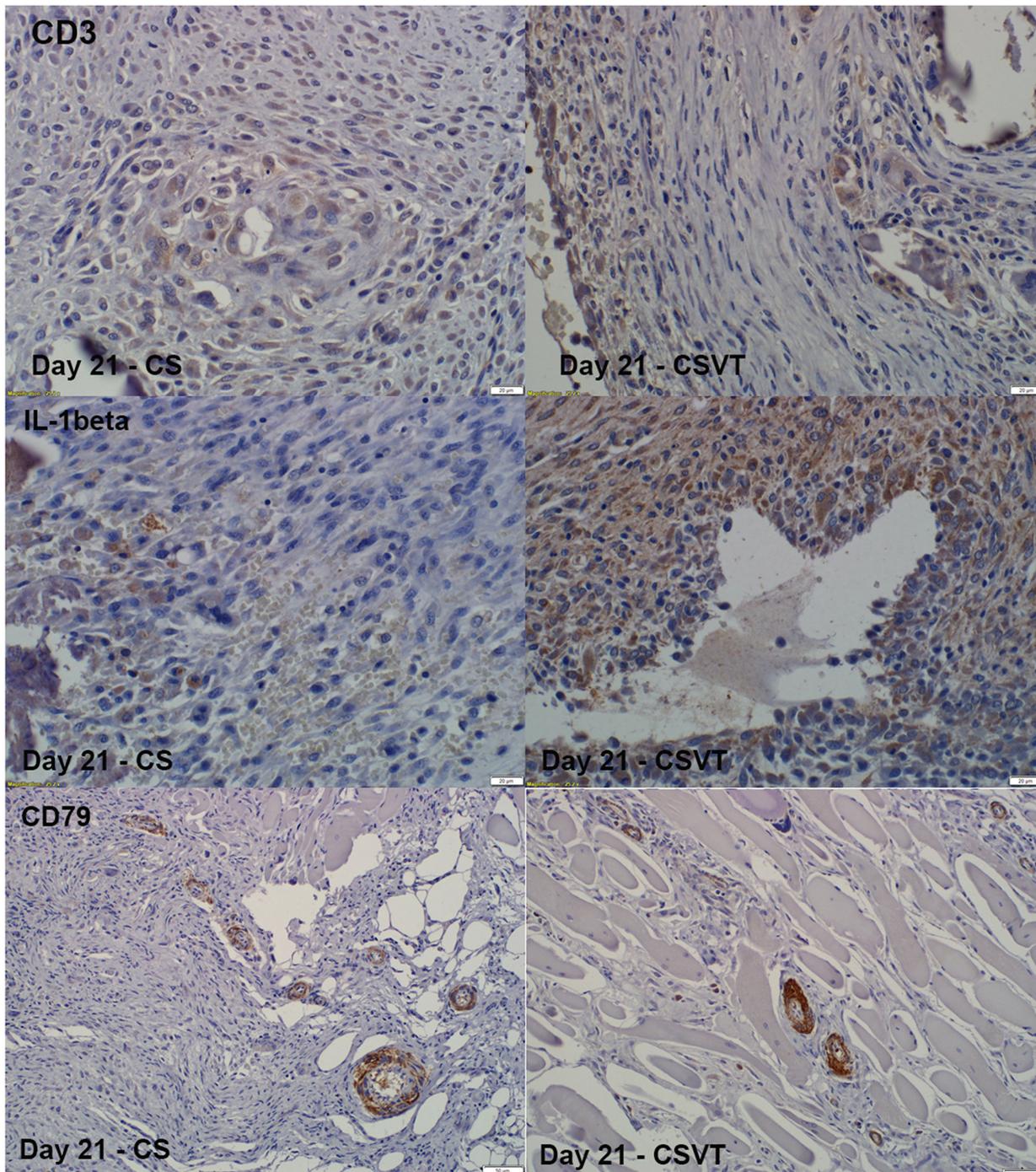


Fig 13. Inmunohistoquímica para la expresión de CD3, IL-1 β y CD79. Se encontró algo de expresión para estos marcadores en los grupos CS y CSVT a los 21 días (señal positiva por tinción marrón). La misma expresión general de los materiales se observó en los otros momentos.

doi: 10.1371/journal.pone.0136514.g013

análisis de tejidos y análisis histológico completo para caracterizar y cuantificar la respuesta del huésped al material del implante sometido a prueba.

El material de sulfato de calcio absorbible elegido para evaluar el modelo ha sido reportado previamente en la literatura como un medio de manejo del espacio muerto en la cirugía de revisión articular [46-51]

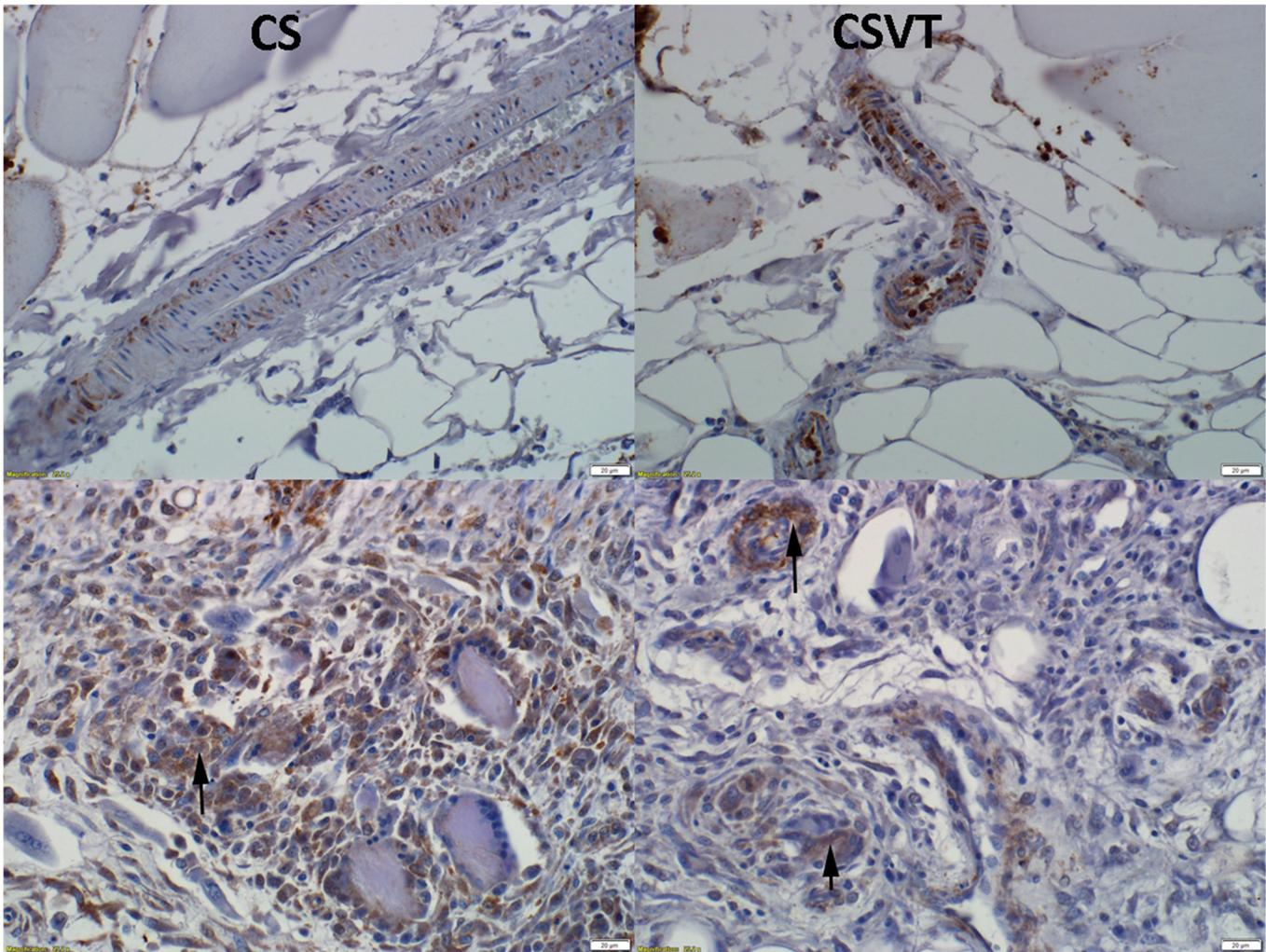


Fig 14. Inmunohistoquímica para la expresión de IL-6. La expresión de IL-6 se observó el día 1 (señal positiva por tinción marrón) en los vasos sanguíneos adyacentes así como el día 7 en las células endoteliales y células multinucleadas (linaje de macrófagos) (flechas).

doi: 10.1371 / journal.pone.0136514.g014

y sitios de tejidos blandos infectados [42, 52]. El modelo evaluó el sulfato de calcio solo (CS) y en combinación con dos antibióticos, vancomicina y tobramicina (CSVT). La elección y la cantidad de antibióticos elegidos refleja los reportados previamente en la literatura [46, 47, 49-51]. La elección del antibiótico para su incorporación en un dispositivo para la gestión del espacio muerto debe considerarse cuidadosamente si se quiere ofrecer una protección óptima contra la colonización bacteriana.

La vancomicina es un antibiótico glicopéptido que se utiliza en la profilaxis y el tratamiento de infecciones causadas por bacterias grampositivas. La tobramicina es un antibiótico aminoglucósido que se usa para tratar varios tipos de infecciones bacterianas. La combinación de vancomicina con tobramicina es favorable debido a la actividad sinérgica de los dos antibióticos con respecto a la cobertura bacteriana Gram-negativa y Gram-positiva [53, 54]. La vancomicina muestra una penetración tisular sistémica muy deficiente [55, 56] que se ha considerado una desventaja en la aplicación intravenosa [57, 58]. Sin embargo, esto podría ser una ventaja en su uso para proteger un implante de la colonización microbiana, ya que puede reducirse la penetración desde el lugar del implante en el sistema vascular, manteniendo altos los niveles de vancomicina adyacentes al implante y bajos los niveles sistémicos. La corriente

El estudio mostró una falta de niveles séricos detectables de vancomicina manteniendo una mala penetración sistémica y con las observaciones clínicas.

Las características de elución de perlas de sulfato de calcio impregnadas con tobramicina se han evaluado previamente [59-61]. Las concentraciones sistémicas logradas incluso después de implantar experimentalmente 1.8 veces la dosis máxima prescrita en humanos a perros fueron indetectables después de 24 horas, sin signos de toxicidad sistémica [60]. Los niveles sistémicos de tobramicina medidos en el estudio actual concuerdan con esta observación, y los niveles sistémicos de tobramicina disminuyen en la mayoría de los animales en 24 horas.

El análisis de las perlas CSVT residuales recolectadas a los 7 y 21 días contenía algo de vancomicina y tobramicina residuales, con una mayor cantidad de vancomicina presente. Como resultado de la gran desviación estándar en los niveles medidos para ambos antibióticos, una comparación de los niveles relativos de antibiótico presentes en las perlas residuales con la proporción original en las perlas preparadas tiene una relevancia limitada. Cuando se midió la concentración local de vancomicina y tobramicina en las muestras de músculo recolectado, los niveles estaban por debajo del nivel de detección en todas las muestras analizadas durante las 24 horas y el día 7 después de la implantación. Esta contradicción puede ser el resultado de una falta de unión del antibiótico al tejido muscular cosechado y justifica una mayor investigación.

La respuesta histológica a los materiales implantados fue acorde con lo esperado. *in vivo* respuesta a la implantación de un sulfato de calcio que es un material de implante bien tolerado, con la respuesta del tejido del huésped calificada de leve a moderada. Ésta es una observación interesante cuando se considera la naturaleza de los materiales del implante y sus componentes. El sulfato de tobramicina es seguro para la administración intramuscular en la dosis correcta y posteriormente se absorbe rápidamente. Por el contrario, las soluciones de hidrócloruro de vancomicina tienen un pH bajo (2,8-4,5) y son irritantes para los tejidos, causan fiebre por fármacos, dolor y posible necrosis. Como tal, no se administra por vía intramuscular, siendo la vía intravenosa la recomendada. Estimulan se produce sintéticamente a partir de reactivos de pureza farmacéutica. Tiene un pH fisiológico de neutro a levemente alcalino. Esto es diferente a otros CS que se producen a partir de yeso y tienden a tener un pH ácido [46].

La respuesta del tejido del huésped a CS y CSVT fue la misma, lo que indica que no hay una respuesta tisular local adversa adicional a la presencia de vancomicina y tobramicina en las perlas de CSVT. La posible irritación tisular adicional que podría ser causada por la presencia de vancomicina no fue evidente. Esto puede deberse a los bajos niveles de clorhidrato de vancomicina presentes en las perlas CSVT, o como resultado de algún cambio en las características del antibiótico que provocan una reacción adversa. Una posible causa es la amortiguación del pH ácido del clorhidrato de vancomicina como resultado de su combinación con sulfato de calcio.

El estudio tuvo varias limitaciones. Aunque un espacio muerto se crea típicamente mediante la resección de un volumen de tejido en una situación clínica, en nuestro modelo retraemos el músculo y creamos el espacio muerto. Cortar un trozo de músculo para provocar un defecto de tejido blando o muscular lleno de sangre habría provocado un tipo diferente de respuesta tisular. No se empleó ningún procedimiento simulado en el modelo para determinar el efecto de la creación de un sitio intramuscular sin relleno. Se consideró que esto habría sido de uso limitado, ya que el sitio intramuscular se habría cerrado con la formación de espacio muerto si no se hubiera colocado material de implante. El modelo descrito no es un modelo de infección. Por lo tanto, no fue posible determinar la eficacia *in vivo* del antibiótico en el implante CSVT para proteger el material de la colonización bacteriana [62]. La introducción de la infección de tejidos blandos en este modelo mejoraría su uso para determinar la eficacia de los dispositivos para la gestión del espacio muerto y, como resultado, cualquier reducción resultante en las tasas de reinfección. Debido a la complejidad procesal adicional

No se recogió ni analizó orina de animales en el estudio. Esto puede haber proporcionado una imagen más completa de la farmacocinética de los antibióticos combinados con el implante CSVT.

Conclusión

Se descubrió que el modelo es un modelo conveniente y eficaz para la evaluación de materiales de implantes para la gestión del espacio muerto en el tejido muscular. Los dos materiales probados fueron efectivos para resolver el espacio muerto creado quirúrgicamente y no provocaron ninguna respuesta adversa inesperada del huésped.

Expresiones de gratitud

Los autores desean agradecer a John Rawlinson, Greg Mitchell y Prince of Wales Hospital SEALS por su ayuda con este trabajo.

Contribuciones de autor

Concibió y diseñó los experimentos: RAO SSA JJC WRW. Realizó los experimentos: RAO VL YY CC WRW. Analizados los datos: RAO VL SSA JJC CC WRW. Reactivos / materiales / herramientas de análisis aportados: RAO VL YY CC SSA JJC WRW. Escribió el artículo: RAO VL CC SSA JJC WRW.

Referencias

1. Disch AC, Matziolis G, Perka C. Estrategia operatoria en dos etapas sin tratamiento con antibióticos locales para la artroplastia de cadera infectada: resultado clínico y radiológico. *Arch Orthop Trauma Surg*, 2007. 127 (8): pág. 691–7. PMID:[17165034](#)
2. Prigge EK. El tratamiento de la osteomielitis crónica mediante el uso de trasplante de músculo o injerto ilíaco. *J Bone Joint Surg Am*, 1946. 28: pág. 576–93. PMID:[20992203](#)
3. Brown DE, Neumann RD. *Secretos ortopédicos*. 3ª ed. 2004: Hanley y Belfus.
4. Anthony JP, Mathes SJ, Alpert BS. El colgajo muscular en el tratamiento de la osteomielitis crónica de las extremidades inferiores: resultados en pacientes mayores de 5 años después del tratamiento. *Plast Reconstr Surg*, 1991. 88 (2): pág. 311–8. PMID:[1852825](#)
5. Wahlig H, Dingeldein E, Bergmann R, Reuss K. La liberación de gentamicina a partir de perlas de polimetilmetacrilato. Un estudio experimental y farmacocinético. *J Bone Joint Surg Br*, 1978. 60-B (2): pág. 270–5. PMID:[659478](#)
6. Bowyer GW, Cumberland N. Liberación de antibióticos a partir de gránulos y perlas impregnados. *J Trauma*, 1994. 36 (3): pág. 331–5. PMID:[8145311](#)
7. Nelson CL, Griffin FM, Harrison BH, Cooper RE. Características de elución in vitro de perlas de antibiótico PMMA preparadas comercialmente y no comercialmente. *Clin Orthop Relat Res*, 1992 (284): pág. 303–9. PMID:[1395310](#)
8. Cohen JC, Hozack WJ, Cuckler JM, Booth RE Jr. Reimplante en dos etapas de artroplastia total de rodilla séptica. Informe de tres casos utilizando un bloque espaciador antibiótico-PMMA. *J Arthroplasty*, 1988. 3 (4): pág. 369–77. PMID:[3241177](#)
9. Anagnostakos K, Furst O y Kelm J. Espaciadores de cadera de PMMA impregnados con antibióticos: estado actual. *Acta Orthop*, 2006. 77 (4): pág. 628–37. PMID:[16929441](#)
10. Eckman JB Jr, Henry SL, Mangino PD, Seligson D. Heridas y niveles séricos de tobramicina con el uso profiláctico de perlas de polimetilmetacrilato impregnadas de tobramicina en fracturas compuestas. *Clin Orthop Relat Res*, 1988 (237): pág. 213–5. PMID:[3191632](#)
11. Henry SL, Ostermann PA y Seligson D. La técnica de la bolsa de microesferas de antibióticos. El manejo de fracturas compuestas severas. *Clin Orthop Relat Res*, 1993 (295): pág. 54–62. PMID:[8403671](#)
12. Gitelis S y Brebach GT. El tratamiento de la osteomielitis crónica con un implante impregnado de antibiótico biodegradable. *J Orthop Surg (Hong Kong)*, 2002. 10 (1): pág. 53–60.
13. Stoodley P, Nistico L, Johnson S, Lasko LA, Baratz M, Gahlot V, et al. Demostración directa de biopelículas viables de *Staphylococcus aureus* en una artroplastia total de articulación infectada. Reporte de un caso. *J Bone Joint Surg Am*, 2008. 90 (8): pág. 1751–8. doi:[10.2106 / JBJS.G.00838](#) PMID: [18676908](#)

14. Neut D, van de Belt H, Stokroos I, van Horn JR, van der Mei HC, Busscher HJ. Infección asociada a biomateriales de perlas de PMMA cargadas con gentamicina en cirugía de revisión ortopédica. *J Antimicrob Chemother*, 2001. 47 (6): pág. 885–91. PMID:[11389124](#)
15. Kim S, Greenleaf R, Miller MC, Satish L, Kathju S, Ehrlich G, et al. Efectos mecánicos, eficacia antimicrobiana y citotoxicidad del ácido úsnico como profilaxis de biopelículas en PMMA. *J Mater Sci Mater Med*, 2011. 22 (12): pág. 2773–80. doi:[10.1007 / s10856-011-4445-x](#) PMID: [21938390](#)
- dieciséis. Mackey D, Varlet A y Debeaumont D. Yeso con antibióticos de bolitas de París: un estudio in vitro de un posible método de terapia local con antibióticos en la infección ósea. *Clin Orthop Relat Res*, 1982 (167): pág. 263–8. PMID:[7094471](#)
17. AS más joven. Amputación transmetatarsiana con gránulos cargados con antibióticos de sulfato de calcio en pacientes diabéticos. *Técnicas en cirugía de pie y tobillo*, 2004. 3 (3): p. 177-185.
18. Winkler H. Justificación para el intercambio en una etapa de reemplazo de cadera infectado utilizando implantes no cementados e injerto óseo impregnado con antibiótico. *Int J Med Sci*, 2009. 6 (5): pág. 247–52. PMID:[19834590](#)
19. Vasilev K, Cook J y Griesser HJ. Superficies antibacterianas para dispositivos biomédicos. *Expert Rev Med Devices*, 2009. 6 (5): pág. 553–67. doi:[10.1586 / erd.09.36](#) PMID: [19751126](#)
20. Rodrigues LR. Inhibición de la adhesión bacteriana en dispositivos médicos. *Adv Exp Med Biol*, 2011. 715: pág. 351–67. doi:[10.1007 / 978-94-007-0940-9_22](#) PMID: [21557075](#)
21. Hetrick EM y Schoenfisch MH. Reducir las infecciones relacionadas con los implantes: estrategias de liberación activa. *Chem Soc Rev*, 2006. 35 (9): pág. 780–9. PMID:[16936926](#)
22. Wu P y Grainger DW. Combinaciones de fármacos / dispositivos para terapias farmacológicas locales y profilaxis de infecciones. *Biomaterials*, 2006. 27 (11): pág. 2450–67. PMID:[16337266](#)
23. Zilberman M y Elsner JJ. Dispositivos médicos liberadores de antibióticos para diversas aplicaciones. *J Control Release*, 2008. 130 (3): pág. 202-15. doi:[10.1016 / j.jconrel.2008.05.020](#) PMID: [18687500](#)
24. Wenke JC, Owens BD, Svoboda SJ, Brooks DE. Eficacia de los implantes impregnados con antibióticos disponibles comercialmente. *J Bone Joint Surg Br*, 2006. 88 (8): pág. 1102–4. PMID:[16877615](#)
25. Beardmore AA, Brooks DE, Wenke JC, Thomas DB. Eficacia de la administración local de antibióticos con un sustituto de injerto óseo osteoinductivo y osteoconductor. *J Bone Joint Surg Am*, 2005. 87 (1): pág. 107-12 PMID:[15634820](#)
26. Thomas DB, Brooks DE, Bice TG, DeJong ES, Lonergan KT, Wenke JC. El sulfato de calcio impregnado de tobramicina previene la infección en heridas contaminadas. *Clin Orthop Relat Res*, 2005. 441: pág. 366–71. PMID:[16331028](#)
27. Kruskal WH y Wallis WA. Uso de rangos en el análisis de varianza de un criterio. *Revista de la Asociación Estadounidense de Estadística*, 1952. 47 (260): pág. 583–621.
28. Allan SM, Tyrrell PJ y Rothwell NJ. Interleucina-1 y lesión neuronal. *Nat Rev Immunol*, 2005. 5 (8): pags. 629–40. PMID:[16034365](#)
29. Messina GA, Panini NV, Martinez NA, Raba J. Diseño de inmunosensor de microfluidos para la cuantificación de interleucina-6 en muestras de suero humano. *Anal Biochem*, 2008. 380 (2): pág. 262–7. doi:[10.1016 / j.ab.2008.05.055](#) PMID: [18577366](#)
30. Miescher GC, Schreyer M, MacDonald HR. Producción y caracterización de un anticuerpo monoclonal de rata contra el complejo molecular CD3 murino. *Immunol Lett*, 1989. 23 (2): pág. 113–8. PMID: [2534389](#)
31. Yao X, Teruya-Feldstein J, Raffeld M, Sorbara L, Jaffe ES. Linfoma periférico de células T con expresión aberrante de CD79a y CD20: un error de diagnóstico. *Mod Pathol*, 2001. 14 (2): pág. 105-10. PMID: [11235901](#)
32. Yu Y, Walsh WR, Sonnabend DH, Yang JL, Bonar F, Markovic B, et al. Expresión de ARNm de citocinas y metaloproteinasas de matriz en tejidos humanos de archivo de artroplastia total de cadera fallida utilizando hibridación in situ y análisis de imágenes de video en color. *Bull Hosp Jt Dis*, 1998. 57 (1): pág. 23–9. PMID:[9553699](#)
33. Guelinckx PJ y Sinsel NK. Mejoras en el procedimiento de una etapa para el tratamiento de la osteomielitis crónica. *Microcirugía*, 1995. 16 (9): pág. 606-11. PMID:[8747284](#)
34. Auregan JC, Begue T, Tomeno B, Masquelet AC. Colgajo de músculo vasto lateral de base distal: una alternativa de rescate para abordar defectos complejos de tejidos blandos alrededor de la rodilla. *Orthop Traumatol Surg Res*, 2010. 96 (2): pág. 180–4. doi:[10.1016 / j.rcot.2010.02.013](#) PMID: [20417917](#)
35. Manoso MW, Boland PJ, Healey JH, Cordeiro PG. Salvamento de extremidades de reconstrucciones de rodilla infectadas por cáncer con revisión por etapas y transferencia de tejido libre. *Ann Plast Surg*, 2006. 56 (5): pág. 532–5; discusión 535. PMID: [16641630](#)
36. Whiteside LA. Técnica quirúrgica: vasto medial y vasto lateral como transferencia de colgajo por deficiencia del mecanismo extensor de la rodilla. *Clin Orthop Relat Res*, 2013. 471 (1): pág. 221-30. doi:[10.1007 / s11999-012-2532-z](#) PMID: [22992869](#)

37. Whiteside LA, Nayfeh T, Katerberg BJ. Transferencia de colgajo de glúteo mayor para reconstrucción del trocánter mayor en ATC de revisión. *Clin Orthop Relat Res*, 2006. 453: pág. 203–10. PMID:[17053566](#)
38. Younger AS, Duncan CP, Masri BA. Tratamiento de la infección asociada con la pérdida ósea segmentaria en la parte proximal del fémur en dos etapas con el uso de una prótesis de intervalo cargada con antibiótico. *J Hueso Joint Surg Am*, 1998. 80 (1): pág. 60–9. PMID:[9469310](#)
39. Henry SL y Galloway KP. Terapia local antibacteriana para el manejo de infecciones ortopédicas. Consideraciones farmacocinéticas. *Clin Pharmacokinet*, 1995. 29 (1): pág. 36–45. PMID:[7586897](#)
40. McKee MD, Li-Bland EA, Wild LM, Schemitsch EH. Un ensayo clínico prospectivo y aleatorizado que compara un sustituto óseo bioabsorbible impregnado de antibiótico con perlas de cemento estándar impregnadas de antibiótico en el tratamiento de la osteomielitis crónica y la pseudoartrosis infectada. *J Orthop Trauma*, 2010. 24 (8): pág. 483–90. PMID:[20657257](#)
41. McKee MD, Wild LM, Schemitsch EH, Waddell JP. El uso de un sustituto óseo osteoconductor bioabsorbible, impregnado de antibiótico en el tratamiento de defectos de huesos largos infectados: resultados iniciales de un ensayo prospectivo. *J Orthop Trauma*, 2002. 16 (9): pág. 622–7. PMID:[12368641](#)
42. Swords K, Martinez DR, Lockhart JL, Carrion R. Un informe preliminar sobre el uso de un molde de antibiótico intracorporal con CaSO4 sintético de alta pureza para el tratamiento de implantes de pene infectados. *J sexo Med*, 2013. 10 (4): pág. 1162–9. doi:[10.1111 / jsm.12060](#) PMID: [23347377](#)
43. Kanellakopoulou K, Galanopoulos I, Soranoglou V, Tsaganos T, Tziortzioti V, Maris I, et al. Tratamiento de la osteomielitis experimental causada por *Staphylococcus aureus* resistente a la metilicina con un portador sintético de sulfato de calcio (Stimulan) que libera moxifloxacino. *Int J Antimicrob Agents*, 2009. 33 (4): pág. 354–9. PMID: [19097865](#)
44. Nelson CL, McLaren SG, Skinner RA, Smeltzer MS, Thomas JR, Olsen KM. El tratamiento de la osteomielitis experimental mediante desbridamiento quirúrgico y la implantación de gránulos de tobramicina de sulfato de calcio. *J Orthop Res*, 2002. 20 (4): pág. 643–7. PMID:[12168649](#)
45. Norden CW. Osteomielitis experimental. I. Una descripción del modelo. *J Infect Dis*, 1970. 122 (5): pág. 410–8. PMID:[5476391](#)
46. McPherson EJ, Dipane MV, Sherif SM. Perlas de antibióticos solubles en el tratamiento de la infección articular periprotésica y artroplastia de revisión. El uso de sulfato de calcio puro sintético (Stimulan) Impregnado con vancomicina y tobramicina. *Revisión reconstructiva*, 2013. 3 (1): pág. 32–43.
47. McPherson EJ. Perlas liberadoras de antibióticos bioabsorbibles como complemento del tratamiento, en Jornada especializada en la reunión científica de la Knee Society y AAHKS. 2014, The Knee Society: Nueva Orleans, LA, EE. UU. pags. 76.
48. Nayar D, Duffy P, Aldridge C, Longstaff L, Shaw N, Scott S. Experiencia con perlas de sulfato de calcio puro sintético disolubles impregnadas con antibióticos en huesos y articulaciones infectados: una serie de casos, en 32ª reunión anual de la European Bone and Joint Infection Society. 2013: Praga, República Checa.
49. Kallala R, Haddad FS. El uso de perlas de sulfato de calcio absorbibles liberadoras de antibióticos en la cirugía de revisión de cadera y rodilla para la infección de la articulación periprotésica. en Congreso Internacional de Reconstrucción Conjunta Congreso Ortopédico Pan Pacífico. 2014: Kone, HI, EE. UU.
50. Maale GE, ansioso JJ. Perfiles de elución local de un sedimento de CaSO4 sintetizado, cargado con vancomicina y tobramicina, articulaciones totales infectadas., en Reunión anual de la Academia Estadounidense de Cirujanos Ortopédicos. 2012, Academia Estadounidense de Cirujanos Ortopédicos: San Francisco, CA, EE. UU. pags. 75.
51. Schlatterer D. Experiencia clínica temprana con una nueva perla de sulfato de calcio junto con vancomicina y tobramicina para el manejo de infecciones y espacio muerto: reabsorción de perlas y sin drenaje de heridas. en 24º Encuentro Científico Anual de la Sociedad de Reconstrucción y Alargamiento de Extremidades ASAMI – Norteamérica. 2014: Montreal, Quebec, Canadá.
52. Whitlark JD, Rotondo LD, Su A. Manejo de la rotura del muñón por amputación por debajo de la rodilla (BKA) con perlas sintéticas de sulfato de calcio cargadas con antibióticos: Serie de casos, en 23ª Reunión Científica Abierta Anual de la Sociedad de Infecciones Musculoesqueléticas. 2013: Campus de la Universidad Thomas Jefferson, Filadelfia PA.
53. Watanakunakorn C, Tisone JC. Sinergismo entre vancomicina y gentamicina o tobramicina para cepas de *Staphylococcus aureus* sensibles a metilicina y resistentes a metilicina. *Antimicrob Agents Chemother*, 1982. 22 (5): pág. 903–5. PMID:[6924825](#)
54. González Della Valle A, Bostrom M, Brause B, Harney C, Salvati EA. Actividad bactericida eficaz de la tobramicina y la vancomicina eluidas del cemento óseo acrílico. *Acta Orthop Scand*, 2001. 72 (3): pág. 237–40. PMID:[11480597](#)
55. Matzke GR, Zhanel GG, Guay DR. Farmacocinética clínica de la vancomicina. *Clin Pharmacokinet*, 1986. 11 (4): pág. 257–82. PMID:[3530582](#)

56. Garazzino S, Aprato A, Baietto L, D'Avolio A, Maiello A, De Rosa FG, et al. Penetración ósea de glucopéptidos en pacientes con pseudoartrosis séptica de la tibia. *Clin Pharmacokinet*, 2008. 47 (12): pág. 793–805. doi: [10.2165 / 0003088-200847120-00004](https://doi.org/10.2165/0003088-200847120-00004) PMID: [19026035](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19026035/)
57. Deresinski S. Contrapunto: Vancomicina y *Staphylococcus aureus*: un antibiótico que pasa a la obsolescencia. *Clin Infect Dis*, 2007. 44 (12): pág. 1543–8. PMID: [17516396](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17516396/)
58. Skhirtladze K, Hutschala D, Fleck T, Thalhammer F, Ehrlich M, Vukovich T, et al. Penetración alterada de la vancomicina en el sitio objetivo en pacientes diabéticos después de una cirugía cardíaca. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006. 50 (4): pág. 1372–5. PMID: [16569854](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16569854/)
59. Turner TM, Urban RM, Gitelis S, Kuo KN, Andersson GB. Evaluación radiográfica e histológica del sulfato de calcio en modelos animales experimentales y uso clínico como sustituto reabsorbible de injerto óseo, expansor de injerto óseo y método para la administración local de antibióticos. La experiencia de una institución. *J Hueso Joint Surg Am*, 2001. 83-A Suppl 2 (Pt 1): pág. 8-18. PMID: [11685848](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11685848/)
60. Turner TM, Urban RM, Hall DJ, Chye PC, Segreti J, Gitelis S. Niveles locales y sistémicos de tobramicina administrados a partir de gránulos sustitutos de injerto óseo de sulfato de calcio. *Clin Orthop Relat Res*, 2005 (437): pág. 97– 104. PMID: [16056033](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16056033/)
61. Santschi EM, McGarvey L. Elución in vitro de gentamicina de perlas de yeso de París. *Vet Surg*, 2003. 32 (2): pág. 128–33. PMID: [12692757](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12692757/)
62. Howlin RP, Brayford MJ, Webb JS, Cooper JJ, Aiken SS, Stoodley P. Perlas de sulfato de calcio sintéticas cargadas con antibióticos para la prevención de la colonización bacteriana y la formación de biopelículas en infecciones periprotésicas. *Agentes antimicrobianos y quimioterapia*, 2014.