

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**EVALUACIÓN BIOLÓGICA, MECÁNICA Y MICROBIOLÓGICA DEL NYLON 66
COMO MATERIAL DE CERCLAJE**

Por

Daniela IZQUIERDO



TRABAJO FINAL presentado como uno
de los requisitos para obtener el título de
Doctor en Ciencias Veterinarias
(Orientación Medicina Veterinaria)

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2004**

005 TG
Evaluación biol
Izquierdo, Daniela



TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS	III
1. <u>RESUMEN</u>	1
2. <u>INTRODUCCIÓN</u>	2
3. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	3
3.1 Los polímeros como biomateriales	3
3.2 Testado de materiales	5
4. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	5
4.1 ENSAYO PILOTO	5
4.1.1 Primera etapa	5
4.1.2 Segunda etapa	7
4.2 DISEÑO EXPERIMENTAL	8
4.2.1 Estudio biológico <i>in vivo</i>	8
4.2.2 Estudio mecánico	10
4.2.3 Estudio microbiológico	11
5. <u>RESULTADOS</u>	11
5.1 Estudio biológico <i>in vivo</i>	11
5.2 Estudio mecánico.....	12
5.3 Estudio microbiológico	16
6. <u>DISCUSIÓN</u>	16
7. <u>CONCLUSIONES</u>	18
8. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	19

TRABAJO FINAL aprobado por:

Presidente de Mesa:

**Prof. Titular Grado V
Dr. Álvaro Hernández**

Segundo Miembro (Tutor):

**Prof. Adj. Grado III
Dr. Gabriel Semiglia**

Tercer Miembro:

**Prof. Agdo. Grado IV
Dr. Carlos Torquia**

**Cuarto miembro:
(sin voz ni voto)**

**Prof. Agdo. Grado IV
Dr. Jorge H. Zunino**

Fecha:

Autor:

Daniela Fabiana Izquierdo Caquías

AGRADECIMIENTOS

1. A los Drs. Gabriel Semiglia (Facultad de Veterinaria) y Jorge Zunino (Hospital de Clínicas – Banco de Órganos y tejidos) quienes me apoyaron y guiaron en el camino de la investigación, y sin los cuales este trabajo no hubiera sido posible.
2. Al Dr. Albaro Freyre (Facultad de Veterinaria) por proporcionar los animales para este trabajo así como las instalaciones de su bioterio.
3. A la Cátedra de Histología en general y al Dr. Alejandro Bielli y Técnica Mónica Viqueira en particular por todo el apoyo en el trabajo histológico
4. A los Ingenieros. Blass Melissari y Eduardo Deri de la Facultad de Ingeniería, Instituto de Ensayo de Materiales por colaborar en las pruebas mecánicas
5. A la Dra. Ma. Teresa Bellizzi, Asistente de Microbiología de la Facultad de Veterinaria que generosamente colaboró con el estudio microbiológico
6. A la Dra. Alejandra Cuns del Establecimiento Clemente Estable por la proporción de los animales para el trabajo experimental.
7. Al Dr. Ricardo Silva del Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, por haberme posibilitado el comenzar este trabajo y proporcionarme materiales para llevarlo a cabo
8. A todo el grupo de pasantes de Cirugía del año 2001 quienes me ayudaron en las primeras cirugías
9. A la Dra. Claudia Aurricauchea por anestesiar los animales
10. A mis compañeros de quirófano Andrés de Lima y Betina Morales por estar conmigo en todos los pasos del trabajo
11. Al Dr. Martino (Laboratorio de Facultad de Veterinaria) por proporcionarme material para poder culminar el trabajo
12. Y a todas las personas que directa o indirectamente me apoyaron y ayudaron en el correr de este trabajo, algunas de ellas (Alejandro Picchi, Daniel Picchi, Analía Rodríguez, Laura Correa) y muchas más

RESUMEN

El presente trabajo analiza el comportamiento biológico, mecánico y microbiológico del nylon 66 como material de osteosíntesis (cerclaje) en cirugía ortopédica. El comportamiento biológico fue evaluado *in vivo* en un modelo experimental en ratas, por medio del estudio cualitativo de la respuesta tisular local a la presencia del implante y en comparación al acero inoxidable 316 L. El comportamiento mecánico fue evaluado *in vitro* mediante ensayo de esfuerzo y deformación (en relación a un estándar – acero), comparando estos parámetros ante diferentes métodos de esterilización. Finalmente se realizó la valoración microbiológica del material sometido a diferentes métodos de esterilización.

De los resultados obtenidos en nuestro estudio puede concluirse que el nylon 66 es un material biocompatible, en virtud de que no genera reacción tisular alguna en el área de implante. El testado mecánico del nylon 66 demostró en primer lugar que su deformación es comparable a los estándares de materiales equivalentes (acero); en segundo lugar, que el material esterilizado por medio de autoclave y formalina se comporta en forma similar al control (material no esterilizado), en tanto que el esterilizado por medio de gas de oxido de etileno demostró menor resistencia a la deformación. En todos los casos estudiados no se cultivó germen patógeno alguno en el material cultivado.

A modo de conclusión podemos considerar que el uso del nylon 66 como material de cerclaje en cirugía ortopédica resulta una opción adecuada desde el punto de vista biológico (biocompatibilidad), mecánico, microbiológico, técnico (maleabilidad y sencilla manipulación) y económicamente ventajosa por su costo y fácil disponibilidad.

Palabras claves: *osteosíntesis, cerclaje, acero inoxidable 316L, nylon 66, biocompatibilidad, esterilización, testado mecánico*

INTRODUCCIÓN

El término “cerclaje” deriva de “ceñir o envolver en un haz” (4). En cirugía ortopédica, el material de cerclaje puede usarse en el tratamiento de fracturas rodeando completamente el hueso diafisario o parcialmente (hemicerclaje) (4,6,7,8,9,13,15,16,18).

El uso de cerclajes como método de osteosíntesis comenzó con el advenimiento de las técnicas de reducción abierta y fijación interna de las fracturas (9).

Las principales indicaciones del uso de cerclajes consisten en la estabilización de fracturas diafisarias oblicuas, transversales en huesos cortos, o complementando el uso de clavos intramedulares o de agujas de Kirschner en diversos tipos de fracturas (4,6,7,8,9,13,15,16,18). En nuestro estudio nos hemos concentrado en la utilización de cerclajes completos.

La indicación más simple para un cerclaje completo consiste en la estabilización de fracturas no desplazadas en la diáfisis de huesos largos (fémur, tibia, húmero) (4,7,9,13,16,18). También se indica para incrementar la estabilidad en las fracturas oblicuas largas, espiraladas y conminutas; en este último caso, sólo cuando todos los fragmentos se han reducido anatómicamente (4,7,9,13,18).

Los cerclajes completos actúan comprimiendo el foco de fractura, a la vez que neutralizando las fuerzas angulares, de deslizamiento y rotación (9).

El material de cerclaje más usado al presente en cirugía veterinaria es el alambre monofilamento de acero inoxidable 316L, en calibres de : N°18 (1 mm) para animales de 15 Kg, N°20 (0.81 mm) para animales de 2 a 15 Kg y N°22 (0.64 mm) para los de menos de 2 Kg de peso (4,6,7,8,9,13,15,18).

El acero inoxidable tiene las propiedades de ser resistente a la corrosión, biocompatible y poseer suficiente resistencia para soportar el estrés funcional (9). Los implantes metálicos son los más usados, por presentar buena resistencia a la corrosión, tener una adecuada capacidad mecánica y ser bien aceptados por el organismo. En contrapartida, se ha informado sobre problemas de corrosión, reyección, rotura e inducción a la formación de neoplasias (22).

La aparición de materiales alternativos al acero inoxidable 316L, más accesibles, económicos y de sencilla manipulación, nos motivó a diseñar un experimento para

estudiar la biocompatibilidad *in vivo* del nylon 66 tomando como referencia al acero inoxidable 316 L.

Los objetivos específicos del estudio fueron pues:

1. Determinar la eventual aparición de reacciones adversas o inflamatorias en los tejidos circundantes al cerclaje de nylon 66 en tibias de ratas en comparación con el acero inoxidable 316L
2. Determinar la eventual infiltración celular que denoten una respuesta de los tejidos a la presencia de los implantes
3. Medir comparativamente el comportamiento mecánico a la deformación y punto de rotura del material sometido a diferentes métodos de esterilización comparados con un estándar (acero)
4. Valorar la microbiología resultante del cultivo del material de cerclaje sometido a diferentes métodos de esterilización

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Los polímeros como biomateriales

Los materiales que se utilizan corrientemente en la fabricación de implantes quirúrgicos son: metales, cerámicas y polímeros (22) . Los polímeros son compuestos químicos naturales o sintéticos formados por polimerización y que constan esencialmente de unidades estructurales repetidas. Gran número de polímeros pueden considerarse biomateriales. Tradicionalmente se consideraba que el biomaterial más adecuado para una determinada aplicación invasiva (implante, prótesis, etc.) sería aquel que no provocara una respuesta del propio organismo, es decir, un material totalmente inerte. La experiencia acumulada durante más de 30 años de estudio en esta área ha demostrado que, por el contrario, la situación más positiva y por lo tanto el mejor resultado a mediano o largo plazo se consigue cuando los biomateriales interaccionan con el medio de forma adecuada. De acuerdo con este comportamiento, las sociedades de biomateriales europea, americana, japonesa y australiana han promulgado una definición de consenso de "Biomateriales" considerándolos genéricamente como aquellos materiales utilizados como dispositivos de interés médico que interaccionan con el sistema biológico. Esta definición incluye los tipos de materiales más utilizados

con fines biomédicos dentro del amplio espectro formado clásicamente por materiales de origen metálico, cerámicos o polímeros. El requisito fundamental para que un material pueda ser utilizado con fines biomédicos es su capacidad de su coexistencia con el organismo, ya sea en aplicaciones intracorpóreas como extracorpóreas, sin que determine un efecto inapropiado y no deseable. La coexistencia favorable entre el biomaterial y el organismo es el criterio más utilizado para considerar el sistema como biocompatible. De este modo se define la "Biocompatibilidad" como la capacidad de un material para desempeñar una determinada función con la apropiada respuesta del organismo receptor, en una aplicación específica (17) .

Dentro de los polímeros en Medicina Veterinaria y humana, los polímeros PVC (policloruro de vinilo) y PPL (polipropileno) se usan en la fabricación de sondas nasogástricas, sondas uretrales, prótesis dentarias, catéteres intravasculares, catéteres para perfundir soluciones endovenosas, envases de medicamentos, contraceptivos intrauterinos, tubos para diálisis peritoneal, cánulas ruminales e intestinales, tapones esofágicos, corazones artificiales, etc., lo que demuestra sus múltiples usos *in vivo* y la adaptación de los tejidos a los polímeros (23) .

Si bien existen a nivel mundial trabajos relacionados a la Medicina Veterinaria que evalúan el uso de polímeros en diferentes implantes como: precintos de polipropileno en la fijación de placas (1) ; placas de polipropileno para osteosíntesis (1,3,22,23) ; placas de PVC en la inmovilización interna de columna vertebral (21) ; mallas de polipropileno en la corrección quirúrgica de hernia perineal y defectos auriculares (11,12) ; anillos de polipropileno para la corrección de colapso traqueal (24) ; no es así para el polímero nylon 66 donde solo hemos encontrado escasísima documentación bibliográfica. En efecto, citamos particularmente un estudio en que mediante estudio *in vitro* e *in vivo* se ha demostrado que el nylon industrial es un material relativamente inerte cuando se lo utiliza como biomaterial ortopédico (19) . Dado que no hemos encontrado en la literatura trabajo alguno que estudie particularmente los precintos de nylon 66 como material de cerclaje es que surge la idea del estudio que presentamos. La razón para el uso del nylon 66 como material alternativo en osteosíntesis descansa en el hecho de que este material es mucho más económico que los clásicamente utilizados, se necesita menor

cantidad de instrumental para su colocación, menor tiempo, y es fácil de obtener en el mercado.

Testado de materiales

El testado de las propiedades mecánicas de los materiales se realiza mediante diferentes tipos de ensayos, de los cuales los más empleados son: fluencia, relajación de esfuerzos, mecanodinámicos, esfuerzo-deformación, termomecánico, de impacto, de fatiga y por último de desgarro. El ensayo utilizado en este trabajo es el de esfuerzo y deformación que proporciona información de la relación esfuerzo/deformación del polímero viscoelástico al someterlo a una velocidad de deformación constante. A partir de ello se determinan el módulo elástico, el esfuerzo y alargamiento de fluencia, alargamiento a rotura, resistencia a la tracción y la tenacidad (5) .

MATERIALES Y MÉTODOS

ENSAYO PILOTO

Este se realizó en dos etapas. En una primera etapa se trabajó con cadáveres de ratas y en una segunda se utiliza una rata viva para practicar en ella el diseño experimental.

Primera Etapa:

Objetivos:

1. Determinar cual sería el hueso a utilizar: fémur o tibia;
2. Cuál sería el abordaje más apropiado para llegar a dicho hueso, teniendo en cuenta las masas musculares y la presencia de elementos nobles;
3. Cómo colocar los cerclajes;
4. Conservar una tibia y un fémur en formol al 10 % hasta decidir que técnica de descalcificación se utilizaría para el estudio histológico.

Materiales y método:

Se utilizaron 3 cadáveres de ratas de la cepa Sprague Dawley, de la misma edad y peso que las que se utilizaron en el diseño experimental. Los miembros posteriores fueron depilados para abordar en primer lugar el fémur por vía lateral, desde la articulación coxo-femoral hacia distal con una incisión rectilínea. Al visualizar el fémur se comprobó que una masa muscular está fuertemente adherida a él, no permitiendo

llegar al periostio, lo que dificultaría la colocación de los cerclajes y lograr un contacto total entre cerclaje y periostio.

Luego se abordó la tibia, en principio por vía lateral, pero en este caso debieron incidirse masas musculares. Por el contrario, realizando el abordaje por craneal del miembro, practicando la incisión tomando como referencia la cresta tibial y siguiendo el borde cráneo-medial del hueso, se expuso claramente la tibia sin tener que incidir músculo y no se apreció ninguna masa muscular adherida al hueso como en el caso de fémur.

Una vez decidido el abordaje a la tibia, se procedió a colocar los cerclajes. Para colocarlos no se presentó mayor dificultad dado que la tibia queda totalmente desprendida de sus masas musculares y se puede pasar perfectamente el cerclaje utilizando solo una hemostática americana pequeña.

El cerclaje de nylon 66, deja una pequeña cabeza, que para que no altere el cierre de la herida quirúrgica debe colocarse hacia medial y no hacia lateral ni volar; en estas últimas dos posiciones no hay suficiente masa muscular que lo recubra, pero sí en cambio hacia medial, facilitando el cierre de músculo y luego piel.

Por último se resecó una tibia y un fémur, los cuales se conservaron en formol al 10%, para posterior estudio de la técnica apropiada de descalcificación.

Pasados 30 días de conservadas las tibias en formol al 10% se comenzó con la técnica de descalcificación utilizando EDTA (ácido etilen diamino tetra acético) disódico, se establecieron los tiempos de descalcificación y luego de 1 mes se realizaron los cortes. Al cabo de este tiempo, se comprobó que el hueso queda lo suficientemente blando como para realizar los cortes sin provocar dilaceración de los tejidos blandos. Se realizó posteriormente un ensayo de tinción, comprobándose que la estructura celular se conservaba perfectamente con esta técnica.

Luego de terminada esta etapa pudimos concluir que el hueso a abordar será la tibia, con una incisión craneal del miembro desde la cresta tibial hacia distal, con una leve desviación hacia medial.

Para la colocación de los cerclajes sólo se necesita una hemostática pequeña; y por último para la descalcificación se utilizará EDTA disódico (10) .



Segunda etapa:

Objetivos:

1. Adquirir práctica en la técnica anestésica;
2. Conocer la irrigación sanguínea loco-regional en la pierna para una adecuada hemostasis de los tejidos ya que su preservación favorece el proceso de cicatrización y evita complicaciones post-operatorias;
3. Extraer las muestras de una forma adecuada para lesionar lo menos posible los tejidos;
4. Manejo correcto de las muestras una vez descalcificadas para extraer los cerclajes sin lesionar tejidos blandos.

Materiales y métodos

En esta etapa se utilizó un ejemplar de la cepa Sprague Dawley de 285 g. (gramos) de PV (peso vivo). Para proceder al acto quirúrgico el animal fue anestesiado por vía intraperitoneal con solución de Ketamina al 5% a dosis de 80 mg/Kg PV (miligramos por kilo de peso vivo) y con Diazepam al 1% a dosis de 10mg/Kg PV (2). Luego esto se preparó de forma aséptica para la cirugía. Se realizó una incisión cráneo medial de 2,5 cm de longitud, de proximal a distal con bisturí mango N°3 y hoja N°15. La tibia se expuso por divulsión subcutánea y muscular, supraparióstica. Una vez lograda la exposición ósea, se procedió a colocar en un mismo animal los cerclajes: en la tibia derecha el de nylon 66 (CV-100 marca KSS) de 2.5 mm de ancho y 1 mm de espesor y en la tibia izquierda el de acero inoxidable 316L de 0.5 mm (milímetros) de diámetro para ser utilizado como referencia. La herida operatoria se suturó en dos planos con puntos separados de Vycril N°4-0. Al final del tiempo operatorio se administró penicilina a dosis de 1000 U/g PV (unidades por gramo de peso vivo) vía subcutánea. El animal permaneció vivo durante un mes en las instalaciones del bioterio de la Facultad de Veterinaria. Pasado este tiempo se procedió a la eutanasia con tiopental intracardíaco, previa anestesia con ketamina y diazepam; éstas últimas, a las mismas dosis que las utilizadas en el procedimiento quirúrgico.

Previo al paro cardio-respiratorio, se tomaron las muestras en bloque de la porción central del área de la tibia (zona del cerclaje), las que fueron fijadas en formol tamponado al 10% con 4 gramos de fosfato monovalente y 6.5 gramos de fosfato

divalente de sodio en 100 ml de solución de formol al 40% y posteriormente descalcificadas. En este último paso se obtuvo entrenamiento en quitar los cerclajes sin lesionar los tejidos blandos ya que su preservación representa una condición indispensable para formar el bloque de tejido.

Pasada la última etapa se adquirió conocimiento de los planos anestésicos. Luego de la inducción, en aproximadamente un minuto queda en plano adecuado para comenzar la cirugía y su recuperación anestésica completa se logra en una hora. La preservación de la irrigación no constituyó un problema ya que fue fácil visualizar nítidamente los vasos; y realizando a su vez las maniobras quirúrgicas de forma delicada el sangrado es mínimo. La extracción de las muestras de forma delicada y con el animal aún vivo permitió un aporte sanguíneo a los tejidos hasta el final, de forma que la muestra tuvo una buena preservación de la celularidad. Por último la extracción cuidadosa de los cerclajes luego de la descalcificación no produjo lesión ni distorsión de tejidos blandos, como tampoco pérdida de sustancia, permitiendo su posterior corte sin dificultades.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Estudio biológico *in vivo*

Se utilizaron 18 ratas de la cepa Sprague Dawley de ambos sexos de 200 a 350 g. de peso. Las ratas se mantuvieron en cajas plásticas de 60 cm (centímetros) de largo por 20 de ancho, por 20 de altura con capacidad para 10 animales. Las cajas contaban con cama de cáscara de arroz cuyo cambio fue de dos veces por semana. La alimentación fue balanceada (*pellets*), y administrada *ad libitum*, al igual que el agua. Se mantuvieron a una temperatura promedio de 18 a 22 °C (grados Celsius) con una humedad promedio de 55 % (porcentaje) y con una exposición a la luz de 12 a 16 hs (horas) al día, respetando el ritmo sueño – vigilia normal. Se mantuvieron además sin restricción de su movilidad. A los fines de nuestro trabajo los animales se separaron al azar en 3 grupos de 6 unidades cada uno.

Las ratas se operaron en condiciones de máxima asepsia en el Quirófano del Departamento de Pequeños Animales de la Facultad de Veterinaria. Fueron anestesiados por vía intraperitoneal con solución de Ketamina al 5% a dosis de 80

mg/Kg PV (miligramos por kilo de peso vivo) y con Diazepam al 1% a dosis de 10mg/Kg PV (2).

Se realizó tricotomía en ambas tibias, y luego se efectuó una incisión cráneo medial de 2,5 cm de longitud, de proximal a distal con bisturí mango N°3 y hoja N°15. La tibia se expuso por divulsión subcutánea y muscular, supraparióstica. Una vez lograda la exposición ósea se procedió a colocar en un mismo animal los cerclajes: en la tibia derecha el de nylon 66 (CV-100 marca KSS) de 2.5 mm de ancho y 1 mm de espesor y en la tibia izquierda el de acero inoxidable 316L de 0.5 milímetros (mm) de diámetro. La herida operatoria se suturó en dos planos con puntos separados de Vycril N°4-0. Al final del tiempo operatorio se administró penicilina a dosis de 1000 U/g PV (unidades por gramo de peso vivo) vía subcutánea (2). Durante todo el postoperatorio los animales permanecieron alojados hasta la fecha de la eutanasia en las instalaciones del bioterio de la Facultad de Veterinaria.

Cada grupo de animales se sacrificó a las 6, 10 y 14 semanas del postoperatorio. Para la eutanasia se utilizó tiopental intracardíaco, previa anestesia con ketamina y diazepam; éstas últimas, a las mismas dosis que las utilizadas en el procedimiento quirúrgico.

Previo a la eutanasia de cada animal, se tomaron muestras en bloque de la porción central del área de la tibia (zona del cerclaje), las que fueron fijadas en formol tamponado al 10% con 4 gramos de fosfato monovalente y 6.5 gramos de fosfato divalente de sodio en 100 ml de solución de formol al 40%. Luego fueron descalcificadas con EDTA disódico durante 8 semanas (10). Los implantes se retiraron cuidadosamente y concluida esta etapa las piezas se incluyeron en bloques de parafina. Ulteriormente fueron cortados longitudinalmente a un espesor de 6µm (micrómetros) utilizando micrótopo manual (Reichert-Jung Biocut 2030, Wetzlar, Alemania).

Se obtuvieron 6 cortes no secuenciales representativos de la totalidad de cada pieza para su valoración histopatológica. Los cortes fueron coloreados con la técnica de Hematoxilina y Eosina (14), utilizando hematoxilina de Ehrlich.

La técnica de obtención de las muestras constituyó un paso crítico para la calidad de las mismas, por ser determinante de una correcta interpretación de los resultados. Se debió proceder de la siguiente manera :

1. Extracción de la muestra con el animal anestesiado aún en actividad cardio-respiratoria, para lograr la llegada de sangre a las células hasta el último momento
2. Manipulación lo más discreta posible de la zona a estudiar, para evitar rotura o aplastamiento de tejidos
3. Perfusión continua de la muestra durante su obtención con formol al 10% tamponado para lograr un inicio precoz del proceso de fijación
4. Escisión de aponeurosis y músculo excedente a efectos de facilitar la penetración del formol a la parte más profunda de la muestra y así obtener una fijación rápida
5. Protección de la muestra mediante la colocación de la misma en el recipiente de forma tal de asegurar un contacto uniforme con el material fijador
6. Empleo de instrumental afilado para evitar desgarramientos y/o aplastamientos de tejidos blandos.

El estudio histológico de las láminas para identificar, localizar y caracterizar áreas de reacción inflamatoria fue realizado en microscopio óptico liviano (National Shanghai, China).

Estudio mecánico

El estudio para obtener información sobre punto de rotura y deformación del nylon 66 sometido a diferentes métodos de esterilización fue realizado en la Facultad de Ingeniería, en el Instituto de Ensayo de Materiales.

Para dicho fin se utilizó una Prensa Instron, Modelo 1011, U.S.A, calibrada por LATU y empleando escala de 50 Kg (kilogramos).

Se utilizaron 40 precintos plásticos, los cuales fueron separados en 4 grupos de 10 unidades cada uno: Grupo A, esterilizado mediante autoclave modelo Scanlan Morris, Ohlo Chemical & Surgical Equipment Co, Madison, Wisconsin, U.S.A, durante 20 min. (minutos), a 121 °C (grados Celsius) de temperatura y 1 atm. (atmósfera) de presión; Grupo B, esterilizado mediante procedimiento uniforme con vapores de formalina al 10% (Droguería Paysandú) en cajas cerradas durante 24 hs. a temperatura ambiente;

Grupo C, esterilizado con C₂H₄O (gas de óxido de etileno), durante 180 min., a 45°C, a una concentración de 515 g./m³ (gramos por metro cúbico) y una humedad de 60 %, con ulterior aereado (INDUPAR LTDA) y el Grupo D, fue el grupo testigo al cual no se le aplicó ningún método de esterilización.

De cada grupo se tomó una muestra al azar de tres unidades, las que fueron sometidas a la referida prueba.

Previo a comenzar la misma, se aplicó a cada precinto una carga inicial de 1 Kg (que corresponde a deformación cero), y se continuó con 1 mm/min (milímetro por minuto) de velocidad inicial en el primer tramo y luego de 10 mm/min.

Estudio microbiológico

Diez precintos de nylon 66 envasados en doble bolsa de polietileno fueron sometidos a esterilización mediante gas de oxido de etileno durante 180 min., a 45°C, a una concentración de 515 g./m³ y una humedad de 60% con ulterior aereado; diez envasados en doble envoltura de papel lo fueron autoclavados a 120°C y 1 atm. de presión durante 20 min.; y 10 sometidos a vapores de formalina en recipiente hermético durante 24 hs. a temperatura ambiente.

Un precinto de cada grupo elegido al azar fue sometido a sembrado de placa estriada en cultivo de agar sangre (Laboratorio DIFCO). Posteriormente las placas se incubaron (estufa) a una temperatura de 37 °C durante 72 hs.

RESULTADOS

Estudio biológico *in vivo*

En nuestro diseño experimental encontramos que el implante supraparióstico de nylon 66 en la población de ratas utilizadas en los lapsos de tiempo de 6, 10 y 14 semanas, no produjo reacción inflamatoria detectable tanto macro o microscópica.

En la observación macroscópica no se observaron signos de inflamación tales como edema, hiperemia, o tumefacción, tanto para el nylon 66 como para el acero inoxidable 316L.

A la observación microscópica no se encontró una reacción celular infiltrativa que indicara proceso infeccioso o inflamatorio (macrófagos, polimorfonucleares, linfocitos,

células gigantes o de cuerpo extraño), y no se observó diferencia alguna en el análisis de los tejidos que rodeaban los implantes de nylon 66 y acero inoxidable 316L.

Debe consignarse asimismo que ninguno de los animales operados mostró signos de infección en las áreas de los implantes.

Estudio mecánico

Los resultados de cada grupo arrojados por la prueba de esfuerzo/deformación se encuentran representados en las tablas I, II, III y IV siguientes :

Tabla I. Valores de deformación (en mm.) de los precintos esterilizados con **Autoclave (Grupo A)**, sometidos a cargas crecientes (expresadas en kg.)

	Prueba N°1	Prueba N°2	Prueba N°3
Carga (kG)	Deformación (mm)	Deformación (mm)	Deformación (mm)
0.50	0	0	0
1.00	0.1	0.1	0.1
1.50	0.2	0.2	0.2
2.00	0.3	0.4	0.3
2.50	0.5	0.6	0.5
3.00	0.7	0.8	0.7
3.50	1	1	0.9
4.00	1.2	1.3	1.2
4.50	1.6	1.7	1.5
5.00	2	2.1	1.9
5.50	2.5	2.7	2.4
6.00	3.1	3.4	2.9
6.50	4.1	4.4	3.8
7.00	5.7	6	5
7.10	6.3	-	-
7.20	6.8	-	5.9
7.30	7.6	-	6.5
7.40	8.9	-	7.5
7.50	-	10	-
7.60	-	-	-
7.90	-	-	-
8.00	12.3	10	10.2
8.10	-	58	-
8.20	-	64	10.8
8.30	12.6	87.7	60
8.40	67.5		64.8
8.50	77.7		77
8.60	86.6		85
8.70	105.8		87.6

Tabla II. Valores de deformación (en mm.) de los precintos esterilizados con **Pastillas de formol (Grupo B)**, sometidos a cargas crecientes (expresadas en Kg.):

	Prueba N°1	Prueba N°2	Prueba N°3
Carga (kG)	Deformación (mm)	Deformación (mm)	Deformación (mm)
0.50	0	0	0
1.00	0.1	0	0.1
1.50	0.2	0.2	0.2
2.00	0.4	0.3	0.3
2.50	0.5	0.4	0.5
3.00	0.7	0.6	0.6
3.50	0.9	0.8	0.9
4.00	1.1	1	1.2
4.50	1.4	1.4	1.6
5.00	1.9	1.8	2.1
5.50	2.4	2.4	2.4
6.00	3.3	2.7	2.7
6.50	5.1	3.1	5.1
7.00	8.5	5.9	36.1
7.10	-	24.3	37.6
7.20	-	29.7	38.7
7.30	-	33.4	40.6
7.40	-	-	47.6
7.50	-	37.9	48.1
7.60	8.8	44.7	49.3
7.70	41	47.2	59.6
7.80	44.4	56.5	63.6
7.90	47	-	66.6
8.00	52	63.5	67.3
8.10	58.5	66.1	69.5
8.20	59	-	73.9
8.30	62.7	75.9	80.7
8.40	68.4	77.4	85.9
8.50	70.6	81.1	86.8
8.60	72.7	81.6	99.4
8.70		82.7	
8.80		92.5	

Tabla III. Valores de deformación (en mm.) de los precintos esterilizados con Gas de oxido de etileno (Grupo C), sometidos a cargas crecientes (expresadas en Kg.):

	Prueba N°1	Prueba N°2	Prueba N°3
Carga (kG)	Deformación (mm)	Deformación (mm)	Deformación (mm)
0.50	0	0	0
1.00	0	0	0
1.50	0.1	0.1	0.1
2.00	0.1	0.2	0.2
2.50	0.2	0.2	0.3
3.00	0.3	0.3	0.4
3.50	0.4	0.4	0.5
4.00	0.5	0.5	0.6
4.50	0.6	0.6	0.7
5.00	0.7	0.8	0.9
5.50	0.9	1	1.1
6.00	1.1	1.3	1.4
6.50	1.4	1.7	1.8
7.00	-	2.2	2.2
7.10	-	-	-
7.20	-	-	-
7.30	-	-	-
7.40	-	-	-
7.50	-	2.8	2.8
7.60	-	-	-
7.70	-	-	-
7.80	-	-	-
7.90	-	-	-
8.00	2.1	3	3
8.10	-	-	-
8.20	-	-	-
8.30	-	-	-
8.40	-	-	-
8.50	2.7	3.1	3.1
8.60	-	-	-
9.00	3.9	3.4	3.4
9.10	5.5	5	4.1
9.20	37	62	4.4
9.30	45	63.2	5.3
9.40	59		59.3
9.50	60		
9.60	61		
9.70	68.6		

Tabla IV. Valores de deformación (en mm.) de los precintos sin esterilizar **Grupo testigo (Grupo D)**, sometidos a cargas crecientes (expresadas en Kg.):

	Prueba N°1	Prueba N°2	Prueba N°3
Carga (kG)	Deformación (mm)	Deformación (mm)	Deformación (mm)
0.50	0	0	0
1.00	0	0	0.1
1.50	0.1	0.1	0.2
2.00	0.2	0.2	0.3
2.50	0.3	0.3	0.5
3.00	0.5	0.5	0.6
3.50	0.6	0.6	0.8
4.00	0.8	0.9	1
4.50	1.1	1.1	1.2
5.00	1.4	1.5	1.6
5.50	1.8	1.8	1.8
6.00	2.2	1.9	2
6.50	-	2.4	2.7
7.00	2.8	3.7	3.6
7.10	3	-	4.3
7.20	3.3	-	4.7
7.30	3.7	-	4.9
7.40	4	-	5.7
7.50	4.5	6.8	23
7.60	5.1	-	34
7.70	5.9	-	42
7.80	32	-	43
7.90	35	-	47
8.00	37	-	48
8.10	43	-	58
8.20	49	-	63
8.30	51	-	70
8.40	66	-	79
8.50	74	95.3	84.8
8.60	80		
8.70	109.8		



La valoración estadística de los resultados tabulados se realizó mediante el test de Kruskal-Wallis (no paramétrico). Los resultados del test se expresan en la tabla siguiente, donde se observa la obtención de valores promedio de cargas aplicadas y deformación de los materiales testados .

Tabla V: Promedio de valores de deformación (en mm.) sometidos a cargas crecientes (expresadas en Kg.) para cada grupo de precintos:

Grupo	Carga (Kg)	Promedio Carga (Kg)	Deformación (mm)	Promedio Deformación (mm)
A	8.7	8.57	105.8	93.7
A	8.3		87.7	
A	8.7		87.6	
B	8.6	8.67	72.7	88.2
B	8.8		92.5	
B	8.6		99.4	
C	9.7	9.47	68.6	63.7
C	9.3		63.2	
C	9.4		59.3	
D	8.7	8.57	109.8	96.63
D	8.5		95.3	
D	8.5		84.8	

A=precintos esterilizados en autoclave; B=precintos esterilizados con pastillas de formol; C=precintos esterilizados con gas de óxido de etileno; D=precintos no esterilizados (grupo control)

Estudio microbiológico

El resultado del control de esterilidad de los precintos de Nylon 66 mediante estudio microbiológico no mostró a las 72 hs. en el medio de cultivo inoculado formación alguna de colonias. Este resultado fue el mismo para todos los precintos esterilizados con los diferentes métodos referidos.

DISCUSIÓN

En nuestro estudio experimental observamos que el implante suprapariótico en forma de cerclaje de nylon 66 en la población de ratas utilizadas, no produjo reacción inflamatoria detectable macroscópicamente ni infiltración celular microscópica en la región del implante, al igual que en el acero inoxidable 316L utilizado como control. Esto demuestra el comportamiento inocuo del material de implante frente a los tejidos

blandos circundantes. Asimismo, Shivaprakash y Col.(19) concluyen luego de estudios *in vivo* e *in vitro* que el nylon se comporta en forma inerte.

Es clásicamente conocido el comportamiento del acero en el tratamiento de fracturas tanto en Medicina animal como humana. La vigencia de su uso al presente lo señala como material electivo en muchos casos.

El uso clínico en cirugía veterinaria del nylon 66 en la osteosíntesis de fracturas no ha sido documentado -en nuestro conocimiento- en la bibliografía disponible.

Sin embargo, en nuestro medio se han realizado ensayos clínicos usando nylon 66 en la fijación de fracturas diafisarias oblicuas en perros, con resultados favorables (trabajo del tutor, no publicado).

El período de observación de la actividad biológica tisular en nuestro experimento no nos permite obtener conclusiones respecto a la eventual actividad inflamatoria o macrofágica tardía, como la que se observa en el caso de implantes de nylon o polietileno sometidos a estrés mecánico continuado.

Las prótesis totales (acero contra polietileno) en rodillas y particularmente en cadera son -como se sabe- pasibles de falla o aflojamiento debido a la reabsorción osteolítica a cargo de macrófagos estimulados en su actividad por la presencia de fragmentos nanométricos de polietileno desprendidos de los implantes protésicos. Este fenómeno -eventualmente pasible de ocurrir en caso de implantes de polietileno sometidos a estrés- ocurre tardíamente en la evolución post operatoria (años). El punto constituye pues un desafío futuro para el estudio del comportamiento del nylon 66 como material de osteosíntesis.

Los resultados obtenidos en el estudio mecánico de esfuerzo/deformación, permiten afirmar que el método de esterilización por medio de gas de óxido de etileno es el que más afecta las propiedades físicas del material, haciéndolo menos elástico. Por el contrario, la esterilización por medio de autoclave y/o formalina, hacen que el material se comporte de una forma similar al testigo (no esterilizado), pareciendo no afectar la estructura química del nylon 66.

Estos estudios nos permiten pues comparar el comportamiento del nylon 66 con el acero 316L desde un punto de vista físico en su aplicación a sistemas biológicos como

los observados en nuestro experimento. Efectivamente, la curva de deformación del nylon 66 obtenida en nuestros ensayos resulta comparable a la del acero (20).

La ausencia de formación de colonias en las placas sembradas con los precintos denota la eficacia de los métodos de esterilización utilizados en nuestro estudio.

CONCLUSIONES

En nuestro trabajo no se encontró respuesta inflamatoria alguna en las zonas de implante del nylon 66.

El comportamiento biológico del nylon 66 resultó comparable al del acero inoxidable 316L, ya que no se observaron diferencias macro o microscópicas.

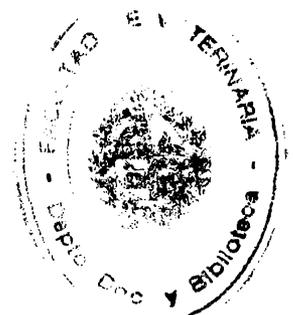
El método de esterilización por medio de gas de oxido de etileno demostró afectar de forma evidente las propiedades físicas del material, a diferencia de los otros métodos empleados.

A modo de conclusión, podemos considerar que el nylon 66 puede ser utilizado en cirugía ortopédica como material de cerclaje ya que resulta un material biocompatible comparable al acero inoxidable 316L, de resistencia mecánica adecuada, fácil esterilización, manipulación y obtención en nuestro mercado.

Se hacen necesarios estudios futuros relativos a la permanencia de implantes de nylon 66 por largos períodos *in vivo* que demuestren la biocompatibilidad de este material en su uso a largo plazo.

Bibliografía

- (1) Alberto, G.L.; Grancelli, L.G.; Veronesi, D.E.; Villarroel, M.A.: Utilización de precintos plásticos en la fijación de placas de polipropileno. *Selecciones Veterinarias*. 9(2): 174-186, 2001
- (2) Alvarez Gomez de Segura, I.; Tendillo Cortijo, F.J.: Métodos de anestesia, analgesia y eutanasia. En: *Ciencia y Tecnología en protección y experimentación animal*. Zúñiga, J.M.; Tur, J.A.; Milocco, N.; Piñeiro, R. (Eds). Mc. Graw Hill/Interamericana. (España), pp.385-418, 2001
- (3) Amato, A. : Osteosíntesis mandibular utilizando placas de polipropileno. *Veterinaria Argentina*. XVII(168): 632-637, 2000
- (4) Brinker; Piermattei, y Flo: Alambre de cerclaje. En: *Manual de ortopedia y reparación de fracturas de pequeños animales*. (Eds.) McGraw-Hill Interamericana, (España), 3ª ed. pp.106-112, 2000
- (5) Cerrada, M.L.: Tendencias actuales en la caracterización de polímeros. *Revista de Plásticos Modernos*. 83(551):501-509, 2002
- (6) Denny, H.R.: Tratamiento de las fracturas. En: *Fundamentos Cirugía Ortopédica canina*. (Ed.) Acribia, Zaragoza (España), pp.24-49, 1982.
- (7) Fossum, T. W.; Hedlund, Ch.S.; Hulse, D.A.; Johnson, A.L. y Col.: Alambres Ortopédicos. En: *Cirugía en pequeños animales*. (Ed.) Inter-Médica, Buenos Aires (Argentina), pp. 784-790, 1999
- (8) Hulse, D.A.; Hyman, W.: *Practical Biomechanics*. En: *Small Animal Orthopedics*. Olmstead, M.L. (Ed.) Mosby, pp:573-576, 1990
- (9) Liska, W.D.: Cerclajes para reparar las fracturas de huesos largos. En: *Texto de cirugía de los pequeños animales*. Slatter, Douglas H (Ed.) Salvat, Barcelona (España), Tomo II, pp. 2087-2094, 1989
- (10) Lynch, M.J.; Raphael, S.S.; Mellor, L.D.; Spare, P.D.: Descalcificación y tinción del hueso. En: *Métodos de Laboratorio*. (Ed.) Interamericana, (España), 2ª ed., pp.1171:1181, 1969



- (11) Matera, A.; De Moraes Barros, P.S.; Stopiglia, A.J.; Randi, R.E.: Hérnia perineal no cão tratamento cirúrgico mediante utilização de malha de polipropileno. Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo. 18(1):37-41, 1981
- (12) Matera, A.; Randi, R.E.; Spicciati, W.: Correção cirúrgica de defeitos do pavilhão auricular. Emprego de malha de polipropileno. Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo. 26(1):85-91, 1989
- (13) Rodney, C.S.; Stephen, J.W.: Cerclaje de alambre. En: Técnicas actuales en cirugía de animales pequeños. Bojrab M.J. (Ed) Inter-Médica, Buenos Aires (Argentina), 3ªed. pp.784-788, 1993
- (14) Romeis, B.: Guía Formulario de Técnica histológica. (Ed.) Labor S.A. pp.171-172, 1928
- (15) Roush, K.J.; McLaughlin, M.R.: Clavos y alambres. Selecciones Veterinarias. 8(4): 414-419, 2000
- (16) San Román, F.; Zaera, J.P.: Tratamiento de las fracturas. En: Cirugía Veterinaria. Gonzalo, J.M.; Avila, I.; San Román, F.; Orden, A. (Eds). McGraw-Hill Interamericana (España) , pp.324-326, 1994
- (17) San Román, J.: Biomateriales polímeros para cirugía vascular, I. Estructura y morfología del sistema cardiovascular, criterios de biocompatibilidad y comportamiento de implantes en contacto con el fluido sanguíneo. Revista de plásticos modernos.451(enero): 33-51, 1994
- (18) Schrader, S.C.: Complications Associated with the use of Steinmann intramedullary pins and cerclage wires for fixation of long-bone fractures. En: Fracture complications. The Veterinary clinics of North America, Small Animal Practice 21(4): 687-703, 1991
- (19) Shivaprakash, B.V.; Singh, G.R.; Mehrotra, M.L.; Pandey, N.N. y Col.: In vitro and in vivo biocompatibility testing of orthopaedic implants. The Indian Veterinary Journal. 75(12):1117-1119, 1998
- (20) Timoshenko, S.: Resistencia de materiales. (Ed.) Espasa-Calpe (Madrid), pp:398-495, 1975

- (21) Tudury, E.A. y Col.: Inmobilização interna da coluna vertebral lombar com placas de cloreto de polivilina, em cães-parte II: Resultados anatomopatológicos. *Ciencia Rural, Santa María.* 27(1):103-112, 1997
- (22) Wheeler, J.T.; Donadio, E.C.; Rovere, R.L.; y Col.: Utilización de placas para osteosíntesis fabricadas en polipropileno. *Revista de Medicina Veterinaria.*76(6):382-392, 1995
- (23) Wheeler, J.T.; Gonzalez Quintana, H.: Efectos locales de los implantes de polipropileno en el perro. Observaciones preliminares. *Selecciones Veterinarias.* 6(5):436-439, 1998
- (24) White, R.N.: Unilateral arytenoid lateralisation and extraluminal polypropylene ring prostheses for correction of tracheal collapse in the dog. *Journal of Small Animal Practice.* 36(4): 151-158, 1995