

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**USO DE TRANSPORTADORES DE ANTIMICROBIANOS EN EL
TRATAMIENTO DE INFECCIONES EN HERIDAS ACCIDENTALES Y
QUIRURGICAS EN EQUINOS**

Por

Bruno Germán INOCENTE CLAIN

**TESIS DE GRADO presentada como
uno de los requisitos para obtener el
título de Doctor en Ciencias
Veterinarias**

Orientación: Medicina Veterinaria

MODALIDAD: Revisión Monográfica

MONTEVIDEO

URUGUAY

2019

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:

Dr. Alejandro Benech.

Segundo miembro (Tutor):

Dra. Maria del Carmen Cuns.

Tercer miembro:

Dr. Gonzalo Marichal.

Fecha:

31/05/2019

Autor:

Br. Bruno German Inocente Clain

Agradecimientos.

A todos los integrantes de mi familia, mis padres, hermanas, cuñados y sobrinos, Natalia mi compañera de vida y su familia. Gracias a todos ellos que han estado junto a mí incondicionalmente en todo este camino brindándome apoyo, incentivo y las fuerzas para terminar la carrera.

A mi tutora la Dra. Maria del Carmen Cuns, por todo el apoyo que me brindo en la realización de la tesis y a lo largo de mi formación profesional en la facultad.

A mi tío el Dr. Jorge Inocente que ya no está entre nosotros y fue un referente para mí, el me hizo descubrir lo linda que es la Clínica Veterinaria Equina y el amor por los caballos.

A los amigos y compañeros que me dejó esta hermosa carrera.

Al personal de biblioteca por su colaboración y buena disposición en la ayuda de búsqueda de material bibliográfico y redacción de la Tesis.

TABLA DE CONTENIDO

	Página.
Página de aprobación.....	2
Agradecimientos.....	3
LISTADO DE ABREVIATURAS.	7
LISTADO DE TABLAS, GRAFICAS Y FIGURAS.....	7
1 RESUMEN.....	9
2 SUMMARY	9
3 INTRODUCCIÓN.....	11
4 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	13
4.1 HERIDAS	13
4.1.1 Definición.....	13
4.1.2 Clasificación.....	13
4.1.3 Fases de reparación.....	14
4.2 FACTORES DE RIESGO PARA LAS INFECCIONES EN GENERAL.....	23
5 INFECCIONES MÁS COMUNES DE TEJIDOS OSEOS EN HERIDAS ACCIDENTALES Y QUIRÚRGICAS EN EQUINOS.....	24
5.1 OSTEOMIELITIS.....	24
5.1.1 Definición.....	24
5.1.2 Etiología.....	24
5.1.3 Características generales.....	25
5.1.4 Tratamiento.....	25
5.2 ARTRITIS SÉPTICA.....	26
5.2.1 Definición.....	26
5.2.2 Etiología.....	26
5.2.3 Tratamiento.....	27
6 INFECCIONES MÁS COMUNES DE TEJIDOS BLANDOS EN HERIDAS ACCIDENTALES Y QUIRÚRGICAS EN EQUINOS.....	28
6.1 ABCESOS DE PIEL Y TEJIDOS BLANDOS.....	28
6.1.1 Definición.....	28
6.1.2 Etiología.....	29
6.1.3 Tratamiento.....	30
6.2 MIOSITIS SÉPTICA DE ORIGEN BACTERIANO.....	30

6.2.1	Definición.....	30
6.2.2	Etiología.....	30
6.2.3	Tratamiento.....	31
6.3	INFECCIÓN DE LINEA MEDIA VENTRAL EN EL SITIO DE INCISION POR LAMPARATOMÍA EXPLORATORIA.....	32
6.3.1	Definición.....	32
6.3.2	Etiología.....	32
6.3.3	Tratamiento.....	34
7	UTILIZACION DE LOS ANTIMICROBIANOS.....	35
7.1	Antecedentes.....	35
7.2	Uso.....	35
7.2.1	Consideraciones con el antimicrobiano.....	39
7.2.2	Liberación local.....	39
7.2.3	VENTAJAS Y DESVENTAJAS DEL USO LOCAL DE ANTIMICROBIANOS (Hayes y col., 2013).....	40
7.3	Resistencia Bacteriana.....	41
7.3.1	Mecanismos de Resistencia.....	41
8	SISTEMAS TRANSPORTADORES DE ANTIMICROBIANOS.....	42
8.1	Clasificación de Biomateriales (Tsourvakas, 2012).....	43
8.1.1	Transportadores.....	43
9	EL SISTEMA DE LIBERACIÓN IDEAL.....	48
10	SELECCIÓN DEL ANTIMICROBIANO.....	48
10.1	Tipos de Antimicrobianos.....	49
10.2	ACTIVIDAD Y FRACASO DE LA TERAPIA ANTIMICROBIANA.....	53
10.3	Sulfato de Gentamicina como Antimicrobiano Ideal.....	57
11	PRINCIPALES SISTEMAS BIODEGRADABLES UTILIZADOS EN EQUINOS.....	58
11.1	Colágeno.....	60
11.1.1	Estructura del Colágeno.....	60
11.1.2	Colágeno como Transportador de Antimicrobianos.....	61
11.1.3	Características de Elución.....	63
11.1.4	Esponjas de Colágeno.....	66
11.1.5	Uso Clínico en Equinos.....	71
11.2	Otras formas de Presentacion del Colágeno.....	74

11.2.1	Membranas y Hojas de Colágeno.....	74
11.3	Otros sistemas Biodegradables.....	75
11.3.1	Polímeros Sintéticos Biodegradables.	75
11.3.2	Hialuronato.	76
11.3.3	Chitosán.....	76
11.3.4	Fibrina.....	76
11.3.5	Injertos Y Sustittutos Oseos.....	77
12	SISTEMAS NO BIODEGRADABLES UTILIZADOS EN EQUINOS.....	78
12.1	Cemento Óseo Impregnado en Antimicrobiano (Polimetilmetacrilato o PMMA).	78
12.1.1	Propiedades del PMMA.	79
12.1.2	Tipos de PMMA.	80
12.1.3	Mecanismo de Liberación del Antimicrobiano a utilizar.	80
12.1.4	Sitio de Implantacion.	81
12.1.5	Superficie de Contacto.	81
12.1.6	Porosidad.....	82
12.1.7	Características Mecánicas de las PMMA.....	83
12.1.8	Elución desde el PMMA.....	83
12.1.9	Concentración del Antimicrobiano.	84
12.1.10	Propiedades de difusión del Antimicrobiano.....	85
12.1.11	Selección del Antimicrobiano.	86
12.1.12	Proporción del Antimicrobiano a utilizar.	86
12.2	Diferentes formas de presentacion de Antimicrobianos.	87
12.3	Combinacion con Múltiples Antimicrobianos.	88
12.4	Uso Clínico De PMMA en Equinos.....	89
12.5	Esterilización y Preparacion de PPMM.	91
12.6	Como se preparan las perlas de Polimetilmetacrilato.(Orsini y Col., 2008).....	92
13	DISCUSIÓN.....	94
14	CONCLUSIONES.....	102
15	BIBLIOGRAFÍA.....	103

LISTADO DE ABREVIATURAS.

CIM	Concentración inhibitoria mínima.
CIMB	Concentración inhibitoria mínima del biofilm
CNK	Celulas Natural Killer.
EPA	Efecto post antimicrobiano
Gn-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos
IL-1	Interleuqina-1.
IL-6	Interleuqina-6.
IL-8	Interleuqina-8.
ISQ	Infeccion sitio quirúrgico.
L-PLA	Ácido poli L-láctico
MMPS	Metaloproteinasas de matriz.
M-PMMA	Perlas de polimetacrilato de metilo
PAM	Profilaxis antimicrobiana
PGA	Ácido poliglicólico.
PLA	Ácido poliláctico.
PLGA	Ácido poliláctico co-glicólico.
PMMA	Polimetilmetacrilato.
PMN	Polimorfonucleares.
PPMM	Perlas de polimetilmetacrilato.
SAA.	Síndrome de abdomen agudo
SAMR	Estafilococo aureus meticilino resistente
TGF- β 1	Factor de crecimiento β 1
TNF- α	Factor de necrosis tumoral- α
VEGF.	Factor de crecimiento de células endoteliales vasculares
VHP	Peróxido de hidrógeno vaporizado

LISTADO DE TABLAS, GRAFICAS Y FIGURAS.

	Pág.
Tabla 1: Transportadores utilizados en el depósito local de antimicrobianos y antimicrobianos utilizados.....	44
Tabla 2: Transportadores: Ventajas y desventajas.....	47
Tabla 3: CIM para Enterococos spp. y Esfafilococos spp.....	52
Tabla 4: CIM para P. aeruginosa.....	52
Tabla 5: CIM para Enterobacteriaceae.....	53
Tabla 6: CIM para Streptococcus.....	53
Tabla 7: Ventajas y desventajas de algunos antimicrobianos utilizados en formulaciones de liberación lenta.....	56
Tabla 8: información recabada de estudios <i>in-vitro</i> de algunos antimicrobianos cargados en materiales biodegradables.....	59
Tabla 9: Datos de estudios <i>in-vivo</i> de algunos antimicrobianos cargados en materiales biodegradables,.....	59
Tabla 10: Características de elución <i>in-vitro</i> de diferentes antimicrob. desde PPMM.....	84
Figura 1: Modelo propuesto de un perfil de liberación de antimicrobiano óptimo	64

de forma <i>in-vivo</i> (“tipo minivan”).....	
Figura 2: Cinética de liberación <i>in-vitro</i> obtenida de 3 diferentes tipos de colágeno con gentamicina manufacturadas con parámetros diferentes de presión.....	65
Figura 3: Cinética de liberación <i>in-vivo</i> obtenida de 3 diferentes productos de colágeno con gentamicina fabricados por compresión térmica utilizando una barrera adicional de colágeno plano.....	65
Figura 4: Imagen de una esponja Collatamp G.....	67
Figura 5: Esponjas de colágeno impregnadas en antimicrobiano.....	68
Figura 6:Comportamiento de una esponja de colágeno <i>in-vitro</i> e <i>in-vivo</i>	69
Figura 7: Esponja de Colageno implantada en línea media ventral de un equino operado de SAA.....	73
Figura8: Perlas de polimetilmetacrilato impantadas en un sitio quirugico...	91
Figura 9: Modelo de preparación de PPMM.....	93
Figura 10: Perlas elaboradas para ser implantadas en el sitio quirúrgico...	94

1 RESUMEN.

Las infecciones en las heridas, ya sean accidentales o quirúrgicas en los equinos, involucran tanto tejidos blandos como estructuras óseas y son un problema importante en la práctica equina. Especialmente cuando ocurren casos de osteomielitis crónica o de infecciones postquirúrgicas de pared abdominal en procedimientos de laparotomías exploratorias, ambos tipos de infecciones son difíciles de tratar y erradicar, requiriéndose muchas veces de antibioticoterapia parenteral a largo plazo con múltiples cirugías de desbridamiento para lograr una terapia efectiva.

Las infecciones articulares también son patologías que requieren tratamientos agresivos y de larga duración, a veces con tratamientos invasivos, provocando muchas veces la destrucción de los componentes estructurales de la articulación; dándole a esta patología el carácter de urgencia en lo que al tratamiento se refiere.

Existen varios métodos para tratar este tipo de patologías. En esta revisión se pondrá en manifiesto aquellos métodos que utilicen diferentes transportadores de antimicrobianos para combatirlas.

Los transportadores utilizados pueden ser de tipo absorbibles o no absorbibles. Los absorbibles pueden ser de origen sintético como el ácido poliláctico, o de origen natural, como es el caso del colágeno. Ambos con muy buenos resultados en el tratamiento y control de las infecciones musculoesqueléticas, pero particularmente en esta revisión se hará hincapié en el colágeno por su utilización en equinos. Por otro lado los no absorbibles como el polimetilmetacrilato, de origen sintético, con el que haremos también hincapié por ser un transportador muy utilizado y con buenos resultados en infecciones ortopédicas en equinos.

2 SUMMARY.

Wound infections in equines, of a surgical or accidental origin, involve soft tissue and bone structures and they are a significant problem in equine veterinary practice.

Chronic osteomyelitis or abdominal wall post-surgical infections on exploratory laparoscopic procedures are specific kinds of infections that are difficult to treat and eradicate, which require in most cases a long term parenteral antimicrobial treatment and multiple surgical debridement in order to achieve an effective therapy.

Joint infection is also a pathology that requires aggressive and long-term treatments, sometimes invasive, leading many times to destruction of the joint's structural components, so it must be tackled as a matter of urgency.

There are many methods used to treat this kind of pathologies. In this review, those kind of methods that use different antibiotic deliveries to cure the infection will be discussed.

The antibiotic deliveries can be absorbable and non-absorbable. The absorbable antimicrobial deliveries can be synthetic, like polylactic acid, or from a natural origin, as in the case of collagen. Both have very good results in the skeletal muscle infection, but in this review, the emphasis will be laid on the collagen.

In addition, emphasis will also be placed on the non-absorbable antibiotic deliveries, as polymethyl methacrylate, as it is a very used delivery with good results in equine orthopedic infection.

3 INTRODUCCIÓN.

La piel es el órgano más grande del cuerpo y está compuesto por la dermis y epidermis. Los folículos pilosos, las glándulas sudoríparas y sebáceas, los vasos sanguíneos, linfáticos y los nervios se encuentran incorporados a la dermis, la que nutre a la epidermis. Las funciones de la piel incluyen: proveer una barrera contra los microorganismos, mantener los líquidos corporales, proteger contra la radiación solar, termorregulación y proteger las estructuras subyacentes. Esta última función es muy importante en los equinos, para prevenir las lesiones hacia tendones, ligamentos y articulaciones en la porción distal de las extremidades (Colahan, 1998).

El manejo de las heridas en pacientes equinos puede ser muy desafiante. La infección bacteriana de las heridas accidentales o de las incisiones quirúrgicas compromete la curación y complican el tratamiento de las mismas (Orsini y col, 2004).

Podemos definir a la infección como un desbalance homeostático entre el tejido y la presencia de microorganismos en concentraciones que excedan 10^5 organismos por gramo de tejido o la presencia de *Streptococcus spp.* beta-hemolíticos. (Mangram y col. 1999; Sussman y Bates-Jensen, 2001; Baxter, 2014).

La ocurrencia de infección está asociada al tipo de herida, desde laceraciones traumáticas de piel y quemaduras hasta úlceras crónicas o complicaciones quirúrgicas vinculadas o no al uso de implantes (Campton – Johnston y Wilson, 2001).

Aunque interviene la virulencia del microorganismo, la infección de las heridas generalmente se produce cuando el número de microorganismos alcanzan una concentración que excede la capacidad de defensa del huésped (Stashak, 1994).

Si los mecanismos de defensa del huésped son aptos para sobrellevar la invasión de microorganismos a través de una respuesta inmune adecuada, la herida debería curar por la vía de cuatro fases: fase inflamatoria, de desbridamiento, de reparación y de maduración (Stashak, 1994).

De no ser así, el desarrollo de un proceso infeccioso puede seriamente limitar el proceso de curación de la herida, interferir con el cierre de la misma y hasta podría llevar a una bacteriemia, sépsis y falla multisistémica (Zilberman y col., 2008).

Animales que sufren desordenes inmuno supresivos enfrentan un riesgo mucho mayor de infección. Además, las complicaciones asociadas a las infecciones, podrían aumentar en la población general debido a aumento en la resistencia bacteriana (Zilberman y col., 2008).

La infección puede ocurrir dentro de los 30 días post quirúrgicos o hasta un año luego de realizado el procedimiento si se utilizó un implante (Baxter, 2012).

Son signos de infección local crónica la presencia de fístulas y formación de abscesos en el sitio quirúrgico. El cultivo de organismos tomados de una muestra aséptica y los signos clínicos conducen al diagnóstico (Hayes y col., 2013).

En el caso de heridas quirúrgicas en equinos, a pesar de los avances en la técnica quirúrgica y las tasas de supervivencia postoperatoria, las infecciones siguen siendo causas significativas de morbilidad postoperatoria (French y col., 2002).

La infección de la herida de laparotomía es una complicación común en la cirugía de cólico equino. Informes recientes describen una prevalencia de infección incisional postoperatoria de 12-42% (Mair y Smith, 2005a, 2005b, 2005c; Durward-Akhurst y col., 2013; Tnibar y col., 2013; Colbath y col., 2014; Costa-Farre y col., 2014; Anderson y col., 2015).

Con el fin de prevenir infecciones, se han ido desarrollando nuevas técnicas como la aplicación y el uso de transportadores antimicrobianos en forma local. De esta forma se generan elevadas concentraciones de la droga en el sitio de implante, evitando altas concentraciones sistémicas y por ende la posibilidad de generar toxicidad (Ruszczak y col., 2003). Esto, por lo tanto, genera un beneficio en el propietario y paciente en cuanto a mano de obra, costos, comodidad en el tratamiento y seguridad.

4 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

4.1 HERIDAS.

4.1.1 Definición.

Una herida es una solución de continuidad de tegumentos (piel y mucosas), producida por un agente traumático que actúa sobre los tejidos venciendo su resistencia y repara en tiempos normales (Colahan, 1998).

Las heridas son la urgencia más común que enfrentan los veterinarios en la práctica equina (Clodagh, 2009).

Los equinos parecen estar expuestos a presentar grandes lesiones accidentales en cualquier parte del cuerpo, pero especialmente en las extremidades, siendo lesionados con más frecuencia los miembros posteriores que los anteriores. Esto podría relacionarse con la naturaleza del animal, el hábitat donde reside y con el hecho de que cuando se asustan suelen realizar movimientos súbitos sin tener en cuenta el ambiente que los rodea; que generalmente involucra objetos pasibles de generar trauma como alambrados, postes, etc. (Baxter, 2014).

4.1.2 Clasificación.

La clasificación de las mismas basada en el grado de contaminación las divide en heridas accidentales y quirúrgicas (Baxter, 2014).

Las heridas pueden ser clasificadas de varias formas según infección, profundidad o localización. Estos tres factores van a influir en gran medida en la disposición de las heridas a cicatrizar y la terapéutica a emplear (Baxter, 2014).

The National Research Council Operative Wound Classification establece una guía basada en la contaminación bacteriana para la clasificación de las heridas traumáticas. Haciendo énfasis en la viabilidad del tejido, presencia de edema o hemorragia, pérdida de función, estado del drenaje linfático, localización de la herida y edad del paciente (Adam, 2006).

La clasificación basada en el grado de contaminación las divide en **heridas quirúrgicas y heridas accidentales**. Según el **grado de contaminación**, pueden ser **limpias (depuradas)** definido por condiciones operativas ideales, que no comprometen los tractos gastrointestinal, genitourinario ni respiratorio, no rompe la técnica aséptica, no se encuentra inflamación y no hay drenaje.

Limpas – contaminadas definidas por operaciones que ingresan en la luz de los tractos gastrointestinal, genitourinario o respiratorio, contaminación no significativa o poco usual y un leve alejamiento de la técnica aséptica.

Contaminadas definida como herida traumática reciente (menor de 6 horas), filtración desde los tractos gastrointestinal, genitourinario o respiratorio, inflamación aguda sin abscesación e importante alejamiento de la técnica aséptica.

Infectadas dado por presencia de material purulento, presencia de una víscera perforada, herida traumática de más de 6 a 8 horas de producida. Se incluyen también dentro de esta categoría los procesos de acceso a través de tejidos limpios para drenar o tomar una muestra. En su mayoría las heridas accidentales en los caballos se encuentran dentro del grupo de las contaminadas o infectadas. A medida que aumenta el grado de contaminación de cualquier herida se incrementa el riesgo de infección, lo que lleva a aumentar también el grado de dehiscencia y las complicaciones. Así mismo, la contaminación sólida es de particular importancia ya que ciertas partículas pueden interferir en la cicatrización retrasando la función leucocitaria y bajando el nivel de fagocitación. (Baxter, 1998; Adam, 2006; Simon 2012).

En cuanto a otra forma de clasificación de heridas accidentales en equinos, se pueden categorizar como **traumatismos cerrados** (hematoma, contusión, etc.) o **traumatismos abiertos** (abrasión, punción, laceración, avulsión, quemaduras, etc.). Estas últimas constituyen la presentación más frecuentemente encontradas en la práctica equina, a menudo están contaminadas y contienen tejidos dañados de forma considerable (Theoret y col., 2017).

4.1.3 Fases de reparación.

La reparación de una herida es una compleja serie de reacciones bioquímicas que involucra a los sistemas hemolinfáticos, cardiovascular, nervioso y endocrino.

Una reparación exitosa se basa en la reconstrucción del tejido. Este proceso debe interpretarse como un fenómeno fisiológico que comienza en el momento en que la barrera celular es rota y es promovido por una respuesta inflamatoria directa, la cual aumenta con la reparación y reorganización del tejido y concluye con la regeneración de la forma física integrada y función normal (Kent, 1999).

La reparación de las heridas ha sido dividida clásicamente en cuatro fases: inflamatoria, de desbridamiento, de reparación y de maduración. Ellas han sido identificadas experimentalmente y con fines didácticos, a fin de facilitar la discusión pero en realidad la reparación es un proceso continuo con sobreposición de sus fases (Stashak, 1997).

Otra forma de clasificar la reparación es aquella que divide el proceso en los siguientes estados: inmediato, temprano, intermedio tardío, los cuales abarcan muchos procesos fisiológicos entre cada lapso de tiempo (Bertone, 1989, Azzetti 2013).

La reparación de una herida comprende una serie de sucesos que involucran migración, acumulación e interacción de células inflamatorias que sintetizan una nueva matriz extracelular. En el proceso de reparación de las heridas, los eventos más importantes incluyen inflamación, fagocitosis, maduración de colágeno y formación de cicatriz. Sin embargo es importante recordar que la reparación es un proceso continuo y estos estados se superponen (Baxter, 1999).

1) Fase inflamatoria:

Después que ocurre una pérdida de piel, debido a la elasticidad normal de esta y la tensión externa producida por el estiramiento de los músculos de ciertas áreas, se produce un aumento en el tamaño del defecto de acuerdo a la cantidad y dirección de las fuerzas ejercidas sobre la piel (Swaim y col., 1987).

La cantidad de retracción (tensión de la piel) varía de acuerdo a la localización de la lesión. En las partes bajas de las extremidades del equino, la expansión de la herida es inmediata y puede continuar por los primeros 15 días de reparación. La expansión de la herida es más pronunciada en la parte dorsal de las articulaciones metacarpo falángica que en heridas en la parte dorsal del metatarso (Bertone ,1989; Azzeti, 2013). Inmediatamente después de la injuria, ocurre una hemorragia, la cual ayuda a limpiar la superficie de la herida y la provee de células que ayudan al proceso siguiente (Swaim y col., 1990). Los pequeños vasos de la herida se contraen, presumiblemente bajo la influencia de catecolaminas y esto sirve para limitar la hemorragia después de la injuria (Stashak, 1994).

Esto es seguido por una vasodilatación y aumento en la permeabilidad de vénulas en respuesta a la liberación de sustancias vasoactivas desde el tejido dañado. Proteínas plasmáticas migran hacia la herida y reaccionan para formar un tapón de fibrina que rápidamente obstruye los linfáticos y localiza la respuesta inflamatoria (Bertone 1989; Azzeti 2013).

La fibrina es capaz de inducir la subsiguiente fase inflamatoria de la cicatrización tras unirse a receptores, como CD11 B, que se hallan en la superficie de monocitos y neutrófilos. El coágulo de fibrina no solo produce hemostasia sino que junto con la fibronectina proporciona una matriz provisoria para la migración de monocitos, fibroblastos y queratinocitos (Bertone 1989, Azzeti 2013). También interviene en la respuesta inflamatoria a través de la bradicinina y las fracciones C3a y C5a del complemento, que aumentan la permeabilidad vascular y atraen neutrofilos y monocitos al sitio de la herida.

La trombina activa las plaquetas y estas liberan gránulos citoplasmáticos que contienen proteínas activas, ayudando a la propia agregación plaquetaria y la formación del coagulo que al secarse formara una costra que sirve de vendaje natural. En forma simultánea las células endoteliales producen prostaciclina que inhibe la agregación, limitando así el proceso; la prostaglandina E2 contribuye al dolor y el luecotrieno B4 es quimiotactico de neutrofilos. La vasodilatación y el incremento de la permeabilidad facilitan la extravasación de las proteínas del suero al interior de la herida, así como la diapédesis de células inflamatorias, influenciados por la estimulación de los nervios sensoriales (Bertone 1989; Azzeti 2013).

La respuesta inflamatoria implica una respuesta vascular y celular, que se combinan para defender al organismo contra sustancias ajenas y eliminar tejido muerto para iniciar el proceso de reparación subsecuente. La amplitud de la respuesta inflamatoria generalmente está relacionada, fuerte y positivamente, con la severidad del trauma (Theoret y col., 2002). Inicialmente el tipo de célula predominante son polimorfonucleares (PMN), de corta vida cumpliendo mayormente un rol fagocitario (Kent, 1999).

El rol primario de los neutrófilos es de primera línea de defensa en heridas contaminadas, el número de estos aumenta hasta alcanzar un máximo a las 24-48 horas posteriores a la injuria. Una vez que llegan al sitio de la herida destruyen restos, a través de fagocitosis y subsecuentes mecanismos enzimáticos y de radicales-oxígeno.

A las 6 horas de producida la lesión aparecen más neutrófilos atraídos por estímulos quimiotácticos específicos tales como el factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos (GM-CSF), la calicreína y fibropeptidos. Estos aumentan la expresión del complejo dimerico CD11/18 +, facilitando la marginación vascular y la posterior diapédesis (Theoret y col., 2002).

Los monocitos llegan poco tiempo después, se activan y se transforman en macrófagos, alcanzan el pico de su población en 48-72 horas y prolongan su vida por semanas y hasta meses. Estos macrófagos activados participan en la toilette de la herida y la liberación de citosinas.

La presencia de monocitos es estimulada por factores quimiotácticos, como fragmentos de colágeno, elastina, fibronectina, trombina activada y factor de crecimiento β 1 (TGF β 1).

La endotoxina bacteriana activa la liberación de interleukina 1 (IL-1) por parte de macrófagos, que a su vez estimulan la liberación de interleukina 8 (IL-8) que atrae más neutrófilos.

Los linfocitos T CD4, T CD 8 y las células natural killer (NK) producen factores de crecimiento que contribuyen a la proliferación de queratinocitos y son importantes mediadores (Theoret y col. 2002).

Cuando ocurre el daño, la producción y secreción de estos factores es inducida mayormente por plaquetas y macrófagos ubicados en el borde de la herida, con lo cual se inicia el proceso de inflamación y reparación.

Factor de necrosis tumoral- α (TNF α) e IL-1 activan la migración de células fagocíticas y la liberación de agentes oxidativos, aumentan la permeabilidad endotelial, inducen la adhesión de moléculas en el endotelio e intensifican su propia producción y de otros mediadores de la inflamación como factores de crecimiento. Posteriormente interleukin-6 (IL-6) alcanza un máximo y suprime la producción de TNF α , IL-1 e IL-6, además trabaja junto con IL-1 durante la reparación de la herida en el reclutamiento de fibroblastos y células endoteliales. Los quimiotácticos inducen y activan moléculas de adhesión en los leucocitos y endotelio, por lo tanto una directa migración leucocitaria. Además inducen la secreción de enzimas lisosomales y la liberación de sustancias oxidativas.

Diferencias en la respuesta inflamatoria probablemente influyen en la velocidad y resultado final de la reparación de las heridas (Wilmink y col., 2003).

La reparación de las heridas está regulada por una cascada de mediadores de la inflamación incluyendo citoquinas. Éstas pueden ser definidas como péptidos

que actúan a través de receptores en la superficie de las células para causar estímulos autocrinos, paracrinos y/o endocrinos en la migración y proliferación celular, así como también en la síntesis de proteínas.

Los factores de crecimiento son citoquinas, las cuales ejercen principalmente un efecto mitogénico (Theoret y col. 2002). El TGF- β 1 parece jugar un rol fundamental, en la injuria la acumulación de éste dentro de la herida favorece la quimiotaxis de células inflamatorias y una combinación de atracción y proliferación de fibroblastos (Theoret y col., 2002). TGF- β 1 también regula la transcripción de varias proteínas de matriz extracelular y disminuye la secreción de proteasas, a través de regulación de la producción de inhibidores de proteasas, favoreciendo la deposición de matriz extracelular (Theoret y col., 2002).

La ruptura de la matriz proteica es prevenida a través funciones de TGF- β 1 como una disminución en la producción de metaloproteinasas de matriz (MMPs), enzimas degenerativas, y un aumento de inhibidores de estas.

En este estadio se produce la limpieza de la herida de todo material externo que retrase el proceso de cicatrización. Esta etapa será más corta en heridas suturables y más largas en heridas que cierran por segunda intención. Cualquier infección prolongará la duración de esta etapa y demorará la cicatrización.

2) Fase de desbridamiento:

La fase de desbridamiento comienza alrededor de 6 horas después de producida la herida y termina a las 12 horas, dependiendo del tipo de herida, contaminación y presencia de cuerpos extraños (Stashak, 1994). Neutrófilos y monocitos son estimulados quimiotacticamente a través de leucotaxina y por un factor promovedor de migración proveniente de nódulos linfáticos, hacia la herida con lo cual comienza el proceso de limpieza (Stashak, 1997).

Los neutrófilos liberan varias enzimas y prostaglandinas de la serie E, los cuales atacan los desechos extracelulares y facilitan la degradación de tejido necrótico. Las plaquetas que migran a la herida en los primeros estadios, liberan localmente potentes factores de crecimiento activos (Swaim, 1991).

Los monocitos cambian a macrófagos cuando entran en la herida y fagocitan tejido muerto y desechos externos. Además de la formación de macrófagos, los monocitos se unen para formar células gigantes multinucleadas y transformarse en histiocitos o células epitelioides. Una importante función de los monocitos es la de atraer fibroblastos hacia la herida y probablemente estimularlos a que maduren para la síntesis de colágeno. La duración de esta fase depende de la cantidad de desechos y el grado de contaminación en la herida (Stashak, 1994).

3) Fase de reparación:

Según la bibliografía se divide la fase de reparación en cuatro: epitelización de la superficie de la herida, migración de fibroblastos necesarios para la

formación de colágeno, formación de tejido de granulación y contracción de la herida. Esta fase comienza durante las primeras 12 horas de producida la herida y continua normalmente después que barreras tales como coágulos de sangre, tejido necrótico, desechos e infección han sido removidos (Stashak, 1994; Adam, 2006).

La epidermis es frecuentemente expuesta a injurias y puede proliferar rápidamente y sellar defectos, por lo que es llamado un tejido lábil. La epidermis intacta provee protección a los tejidos mas profundos contra traumas e infecciones y es una barrera para la pérdida de fluidos. El epitelio que rodea la herida migra y prolifera durante un corto periodo de tiempo, esto ocurre a través de un proceso de migración celular y proliferación así como de diferenciación celular; el proceso se inicia con la movilización de células basales provenientes de la epidermis del borde de la herida. El grado de epitelización varía con el tipo, tamaño y localización de la herida. Las células epiteliales secretan mediadores tales como IL-1, factor de crecimiento de fibroblastos básicos y TGF α y β , los cuales influyen la motilidad celular y su crecimiento (Fitch y col., 1995). Después de la injuria, la fase de latencia es de 8 a 12 horas antes que la actividad mitótica comience en las células epiteliales del estrato germinativo en un perímetro de 2 a 5 centímetros alrededor de los bordes de la herida. Se ha propuesto que un inhibidor mitótico es producido normalmente por células epiteliales escamosas, se ha estudiado el chalone, una glicoproteína soluble en agua localizada en la epidermis.

En una herida en donde se ha perdido el epitelio, hay una baja concentración de chalone y la proliferación epitelial es aumentada en ausencia de estas glicoproteínas inhibitorias (Fitch y col., 1995). En injurias, la falta de células y el contacto con chalone produce una liberación de la mitosis con lo que comienza proliferación (Bertone ,1989; Azzeti, 2013).

La división celular es un proceso de alta energía, la cual requiere una buena oxigenación y un recambio de fluidos. La migración epitelial puede ocurrir en un ambiente anaeróbico obteniendo energía solamente de la glicolisis, pero un ambiente húmedo es necesario para la migración de células y el transporte de glucosa. Es por esto, que la reparación epitelial es máxima si hay una base húmeda y suave en la herida y un buen aporte de sangre, al menos en los bordes de la herida.

El fibroblasto es la célula clave en la fase de proliferación y el puente entre ambos estadios son las citoquinas liberadas por las plaquetas y macrófagos durante la inflamación. Las citoquinas y factores de crecimiento liberados por macrófagos activados en la fase de la inflamación estimulan la diferenciación de las células mesenquimáticas indiferenciadas y producen la migración de fibroblastos diferenciados próximos a la herida, estos circulan entre la matriz extracelular bajo la dirección de integrinas y de las metaloproteinasas.

Los fibroblastos se originan de células mesenquimáticas indiferenciadas del tejido conectivo cercano (Lees y col., 1989). Estas células en reposo junto a fibrocitos se encuentran primariamente asociadas con la adventicia de pequeños vasos sanguíneos, los fibroblastos migran a lo largo de fibras entre el coágulo de fibrina formado tempranamente y también se mueven en los capilares que crecen en la herida (Swaim y col. ,1990). Los fibroblastos usualmente aparecen alrededor del tercero o cuarto día posterior a producida la

herida y se mantienen activos hasta el día 14 a 21 (Sisson, 1994). Ellos son los responsables de la síntesis de la matriz extracelular durante la fase proliferativa de la reparación. Inmediatamente después de que migran a la herida, comienzan a secretar una proteína polisacárido y una glicoproteína que son componentes necesarios de la sustancia base (Theoret, 2001). Esta sustancia base alcanza su mayor desarrollo alrededor del día 3 a 5 y se cree necesaria para el posterior depósito de colágeno, a medida que el contenido de colágeno aumenta, la sustancia base disminuye.

El aumento temprano en la fuerza tensil es resultado de la formación de colágeno, por lo que posteriores ganancias en fuerzas resultan de la maduración de la cicatriz. En un comienzo, el entrelazado de fibrina, fibroblastos y colágeno temprano se orientan verticalmente. A medida que la herida madura las fibras de colágeno se comienzan a alinear paralelamente a la superficie de la piel, ésta se produce por fuerzas tensiles de los bordes de la herida (Stashak, 1994).

Un tejido granular rojo brillante comienza a aparecer en la herida desde 3 a 6 días posteriores a la injuria, el cual resulta de proliferación de capilares en asas que se originan de capilares cortados en la herida. Estas asas crecen hacia la herida por detrás de los fibroblastos y luego son rodeadas por éstos, macrófagos y otras células.

Estos simples canales de sangre del tejido de granulación se diferencian progresivamente en arteriolas, capilares y vénulas. De la misma manera, un sistema de vasos linfáticos se desarrolla en la herida (Swaim y col., 1990). Cuando el estímulo angiogénico, producido por una serie de factores de crecimiento tales como el factor de crecimiento básico de fibroblastos (bFGF), factor de crecimiento de células endoteliales vasculares (VEGF), entre otros, induce la migración de células endoteliales. Éstas son estimuladas por el bFGF a secretar proteasas que digieren los componentes de la membrana basal, liberándose así de su unión original comenzando a migrar hacia el espacio de la herida. A medida que estas células migran, van formando un lumen por donde se va estableciendo el flujo de los nuevos capilares basales sintetizados por las células endoteliales capilares, además de ser favorecida por la presencia del factor de crecimiento TGF- β 1 (Theoret, 2001). Los fibroblastos que se encuentran en el tejido de granulación depositan colágeno después de haber secretado fibronectina y proteoglicanos, los cuales constituyen una sustancia base amorfa en la herida (Swaim y col., 1990). Para reemplazar el tejido dañado, los fibroblastos participan activamente en la secreción de los componentes de la matriz extracelular, tales como tenascina, fibronectina y colágeno tipo I y III. El depósito de colágeno tipo III es rápidamente reemplazado por colágeno tipo I maduro, a medida que el contenido de colágeno en la herida aumenta, la sustancia base y los fibroblastos disminuyen.

La formación de tejido de granulación en una herida abierta es beneficiosa porque provee una superficie sobre la cual las células epiteliales pueden migrar, es resistente a infecciones, el proceso de contracción de la herida se centra alrededor de su desarrollo y lleva los fibroblastos responsables de la formación de colágeno (Stashak, 1994).

En un estudio realizado sobre reparación de heridas se demostró que el equino es capaz de formar colágeno tan pronto como al día siguiente de producida la herida (Chvapil y col., 1979; Azzeti, 2013).

La contracción de la herida es la reducción centrípeta o concéntrica del tamaño de una herida, la piel que la rodea avanza hacia adentro a través de sus bordes y así el área a cubrir por epitelio es reducida o eliminada. La contracción es causada por la acción de fibroblastos diferenciados (miofibroblastos) que contienen actina muscular suave (Wilmink y col. ,2001), ésta no es típica en los tejidos, aparece en situaciones patológicas asociadas con inflamación o injuria de tejidos (Schwartz y col., 2002).

No hay formación de piel nueva en este proceso, el cual es independiente de la epitelización (Theoret, 2001).

Los fibroblastos migran hacia el lugar del daño en forma temprana, proliferan y depositan colágeno. A medida que los fibroblastos se mueven hacia dentro del colágeno que lo rodea, se reorganizan a través de las fuerzas de tracción que ejercen las membranas celulares, consolidando de esta manera el tejido a una pequeña unidad. Así, el colágeno avanza gradualmente hacia el centro de la herida a medida que los fibroblastos migran (Swaim y col. 2001).

La contracción de fibroblastos, los cuales tienen conexiones entre ellos y con la matriz extracelular, hace que los bordes de la herida se muevan hacia el centro (Wilmink y col.2001). Los miofibroblastos (fibroblastos fenotípicamente transformados) juegan un rol fundamental en la contracción de las heridas y en la síntesis de colágeno en tejidos en reparación y una vez que aparecen comienzan a aumentar en número y a secretar proteínas de matriz, especialmente colágeno tipo 1 (Schwartz y col. 2002).

El grado de contracción de la herida varía según la localización de la lesión, en los caballos defectos de 400-mm² en el flanco se contraen a una tasa de 0.8 a 1 mm/día, mientras que una herida similar en la parte baja de las extremidades se contrae a una tasa de 0.2 mm/día (Stashak ,1994). Una vez que la contracción cesa y la herida está completamente epitelizada, los miofibroblastos desaparecen, probablemente como resultado de apoptosis (Theoret ,2001).

El tamaño resultante de la cicatriz y tipo de ésta son dependientes de la cantidad de tensión de la piel, laxitud de ésta, tipo y maduración de la herida. Después del cierre de la herida por contracción, la formación de colágeno continua en los tejidos adyacentes para liberar la piel de la tensión que ha sufrido, esto se denomina crecimiento intusuceptivo. La contracción de la herida resulta mejor en regiones donde la piel es relativamente laxa, en donde la contracción es usualmente suficiente como para permitir el cierre completo de la herida con una mínima formación de cicatriz. En regiones donde la piel esta bajo tensión, la contracción de la herida puede no ser la ideal y resultar en una cicatriz mayor. Esto ocurre cuando las fuerzas de contracción se equilibran con la fuerza de tensión de la piel antes que los bordes de la herida se opongan (Stashak, 1994).

La forma de la herida puede tener un efecto en su capacidad de contraerse. Heridas angulares se contraen más rápidamente y reparan de una forma más cosmética que aquellas de forma circular (Stashak 1994). Existía la controversia de si la forma de la herida influía en la reparación, se creía que las heridas circulares reparaban muy lento y esto llevo a los cirujanos a modificar defectos circulares en defectos de bordes rectos; en un esfuerzo por acelerar la reparación y este principio ha persistido aún en la cirugía moderna (Lees y col. 1989,; Azetti ,2013).

En el estado de epitelización los queratinocitos de los bordes de la herida y de los bulbos pilosos más próximos migran en forma de cuña hacia el interior del defecto o herida dejando a su paso una capa de células estratificadas, que luego se multiplican para restablecer una epidermis intacta sobre el tejido de granulación. Para esto los queratinocitos deben disolver los desmosomas y hemidesmosomas que los mantienen unidos a la membrana basal, lo que permite el movimiento celular hasta que los queratinocitos de los extremos conecten entre si, proceso denominado inhibición por contacto (Azetti, 2013).

4) Fase de maduración:

La fase final de la reparación de heridas envuelve la reorganización de la matriz extracelular. La eliminación de los componentes de la matriz provisional, tales como fibronectina y hialuronato, es acompañada por la secreción de proteasas hacia la herida (Theoret ,2001).

La fase de maduración se caracteriza por una reducción en el número de fibroblastos con un equilibrio en la producción y lisis de colágeno (Stashak, 1994). A medida que el contenido de colágeno se estabiliza, varios tipos de colagenas remueven fibras de colágeno afuncionales y no necesarias. Durante el curso de maduración y remodelación, la resistencia de la herida es alcanzada como resultado del aumento de uniones intermoleculares e intramoleculares cruzadas de fibras de colágeno y por un cambio en la forma física de las fibras. Las fibrillas aumentan levemente el grosor, compactándose y agrupándose en paquetes. El tejido cicatricial de una herida en reparación inicialmente es completamente vascular, celular y rosado, pero a medida que esta madura y se contrae, los vasos sanguíneos y células se hacen menores y la cicatriz se vuelve blanca y aplanada (Hanselka, 1982; Azzeti ,2013).

Aunque definitivamente no se puede acelerar la reparación de las heridas, varios factores influyen negativamente en la tasa de reparación. El manejo correcto de estos factores contribuye a mantener un entorno óptimo para una reparación normal de las heridas, dichos factores se dividen en sistémicos y locales. Dentro de los factores sistémicos encontramos la condición general del individuo, en donde pacientes geriátricos y caquéticos tienen una fibroplasia disminuida y un mayor riesgo de infección. Mala nutrición, desbalances hormonales y fallas en órganos deben ser corregidos o compensados para ayudar a una reparación efectiva (Kent, 1999).

El estado nutricional adecuado del paciente influye positivamente en la tasa y calidad de la reparación. Los requerimientos calóricos de mantención aumentan después de una herida traumática, por lo que las dietas deben incluir proteínas y aminoácidos que son usados anabólicamente (Azzeti, 2013).

Al alterarse la microcirculación sanguínea de la herida, se produce una disminución en el recambio de oxígeno resultando en una hipoxia tisular de los bordes de la herida lo que deteriora la reparación de ésta (Bertone, 1989). El oxígeno es indispensable para la migración celular, multiplicación y síntesis de proteínas en el proceso de reparación. La mantención de una apropiada tensión de oxígeno es responsabilidad de la microvasculación, por lo que cualquier deterioro en el flujo sanguíneo y la subsecuente entrega de oxígeno retardarán la reparación de la herida (Stashak, 1994).

Es importante remarcar que la reparación de una herida se puede alcanzar con mínima contaminación por una de estas tres vías:

- 1) Reparación primaria o por primera intención:** Usualmente se usa cuando los márgenes de la herida pueden suturarse fácilmente y no hay una razón detectable para que la reparación falle (Knottenbelt, 2003).
- 2) Reparación por segunda intención:** en esta la formación de tejidos de granulación, contracción y epitelización es prolongado, requiere mayores cuidados posteriores y produce una cicatriz menos cosmética. La reparación por segunda intención en las partes bajas de las extremidades es más complicada en caballos que en otras especies domésticas como resultado de factores tales como mínimo aporte sanguíneo de la porción distal de los miembros, mínima cantidad de tejidos blando subyacente, hipoxia, imposibilidad de inmovilizar el áreas, falta de musculatura cutánea e infección o inflamación crónica. Otras complicaciones asociadas a la reparación por segunda intención son las de heridas indolentes, heridas con hipergranulacion y formación de sarcoide. Schumacher y Hanselka en 1989 y Hanson en 2009 encontraron que la expresión del factor de crecimiento transformante persiste en heridas en la porción distal de los miembros mientras que disminuye en heridas en el cuerpo (Theoret y col., 2002). Factores de crecimiento de fibroblastos básicos y TGF- β 1 han sido identificados como estimuladores para la producción de tejido de granulación. El TGF- β 1 dentro de una herida es inicialmente liberado por plaquetas degranuladoras que atraen monocitos, macrófagos, fibroblastos y otras células inflamatorias al lugar de la herida. Ésto los estimula a producir potentes mitógeno, como factor de crecimiento derivado de plaquetas y factor de crecimiento de fibroblastos básico (Van Den Boom y col., 2002). También estimula la producción de proteínas de la matriz extracelular como fibronectina y colágeno e inhibe la degradación de la matriz extracelular. Los problemas asociados a la reparación por segunda intención, instan a los clínicos a tratar de cerrar la herida por primera intención, incluso aunque esto sea difícil y decepcionante (Azzeti, 2013).
- 3) La reparación primaria retrasada:** Es una combinación de los estados tempranos de la reparación por segunda intención con una reparación por primera intención (Knottenbelt 2003). En este tipo de reparación la herida se asemeja a una laceración limpia a través de remoción quirúrgica de tejido infectado y desvitalizado. Es tratada de igual forma que las de reparación por primera y segunda intención a través de limpieza, lavado y desbridaje. La laceración es mantenida con vendaje y antimicrobianos sistémicos por 3-5 días y después es suturada si el tejido aparece sano, sin infección y con mínima exudación (Hanselka, 1982). Las ventajas clínicas de la reparación primaria retrasada son determinarse el mejor momento para crear la herida, si es que existen fallas en la reparación durante los distintos estados, asegurándose que no hay infección; y que la respuesta inflamatoria aguda y el desbridamiento natural pueden ocurrir antes y sin que se desarrolle un

proceso inflamatorio crónico difícil y prolongado, permitiendo así una correcta reparación (Knottenbelt, 2003).

4.2 FACTORES DE RIESGO PARA LAS INFECCIONES EN GENERAL.

La contaminación de tejidos puede incluir la presencia de sangre local, la presencia de cuerpos extraños, la participación de estructuras subyacentes a la piel y una larga demora entre la ocurrencia de la lesión y el inicio del tratamiento. El tiempo transcurrido desde que se produce la lesión hasta que es tratada aumenta el riesgo de que la contaminación progrese a multiplicación, colonización e infección y que en última instancia podría ejercer un efecto perjudicial con un impacto negativo en la curación. (Theoret y Schumacher 2017).

Los factores de riesgo que pueden influir en el desarrollo de las infecciones están relacionados al microorganismo, al huésped y a otros factores (Baxter, 2014).

Factores relacionados al microorganismo:

- Número.
- Virulencia.

Factores relacionados al huésped:

- Condiciones sistémicas
- Shock.
- Estado nutricional: obesidad o mal nutrición.
- Presencia de infecciones remotas.
- Estado inmunitario.

Otros factores:

- Preparación del paciente y del cirujano.
- Duración del procedimiento quirúrgico.
- Grado de dificultad quirúrgica y trauma del tejido.
- Método de incisión de la piel.
- Uso de implantes.
- Presencia de materiales contaminantes.

Las razones biológicas para la falla en el tratamiento de las infecciones se pueden categorizar en tres grupos:

- 1) La droga falla en alcanzar su objetivo.
- 2) La droga no es activa frente al patógeno.
- 3) El blanco farmacológico es alterado (Li y col., 2004).

5 INFECCIONES MÁS COMUNES DE TEJIDOS ÓSEOS EN HERIDAS ACCIDENTALES Y QUIRÚRGICAS EN EQUINOS.

En caballos las heridas que involucran tejido óseo varían en gravedad, complejidad e impacto a largo plazo, abarcando desde heridas que contienen un secuestro óseo hasta la osteomielitis séptica (Orsini, 2017).

5.1 OSTEOMIELITIS.

5.1.1 Definición.

La osteomielitis es una infección caracterizada por la destrucción progresiva inflamatoria del hueso, con necrosis y formación de hueso nuevo en oposición. Involucrando los diferentes componentes óseos: periostio, cavidad medular y hueso cortical (Lew y Waldvogel, 2004; Invernizzi 2014).

Puede ser también definida como una inflamación del hueso más extensa que la osteítis, pudiendo extenderse hacia la cavidad medular.

5.1.2 Etiología.

La infección puede ocurrir por tres vías: hematológica, traumática e iatrogénica. (McIlwraith 2014, Baxter 1996). La vía hematológica en equinos es casi exclusiva de los potrillos con cuadros de sépsis, dándose a menudo en las articulaciones, físis o epífisis. Las traumáticas son secundarias a una laceración o herida punzante pudiendo infectar hueso, tendones, vainas y articulaciones. La infección iatrogénica, es generalmente secundaria a un proceso quirúrgico (Goodrich, 2006).

Los microorganismos más comunes de encontrarse son microorganismos entéricos gram negativos. En adultos de mayor a menor incidencia son Enterobacterias, *Streptococcus* no beta hemolíticos, *Staphylococcus* coagulasa positivos, *Streptococcus* beta hemolíticos y *Staphylococcus* coagulasa negativos (Goodrich, 2006).

5.1.3 Características generales.

El diagnóstico y tratamiento tempranos usualmente llevan a la resolución completa de la infección. No obstante, un retraso en el diagnóstico o una terapéutica inadecuada pueden ocasionar el desarrollo de una infección crónica, la que persiste por años, acompañándose de pérdida de la estructura normal del hueso y consecuentemente con alteraciones en la función (Drancourt y col., 1993).

Es un problema clínico particularmente difícil, requiere un desbridamiento quirúrgico agresivo con o sin reconstrucción ósea y antibióticoterapia sistémica. El desbridamiento de los cuerpos extraños y el tejido necrótico que pueda representar un nido para la infección persistente a menudo resulta en defectos óseos (Drancourt y col., 1993).

En el hueso normal no existe ninguna barrera anatómica o funcional que impida la penetración de los antimicrobianos, incluso se ha visto una estrecha relación entre la concentración sérica y la ósea, de tal manera que los hallazgos en el suero en la fase de meseta pueden predecir la cantidad de antimicrobiano en el hueso. Sin embargo, en esta patología hay que considerar las peculiaridades del foco de infección como acidez, isquemia y bajo potencial redox que pueden hacer fracasar la acción del antimicrobiano. Alguna de las bacterias actuantes puede adherirse al hueso, mediante la formación del biofilm, protegiéndose de la acción de los antimicrobianos y mecanismos de defensa naturales.

Estas peculiaridades, junto a la supervivencia intracelular y la capacidad de mostrar resistencias fenotípicas de algunos agentes causales (*S. aureus* por ejemplo) explican el fracaso de los antimicrobianos, la persistencia de la infección, la necesidad de altas dosis, tratamientos combinados y prolongados (Drancourt y col., 1993).

5.1.4 Tratamiento.

El tratamiento antimicrobiano en la osteomielitis aguda debe ser empírico, inmediato y previo recogida de muestras adecuadas. Mientras que en la osteomielitis crónica es preferible aguardar a conocer el diagnóstico etiológico. Cuando el organismo es identificado, se aplica antibioticoterapia sistémica por un periodo de 6 semanas, seleccionando el antimicrobiano según la sensibilidad de la bacteria actuante (Turner y col., 2005). Otras guías indican la administración sistémica de antimicrobianos por 7 a 10 días o hasta que se controle la infección; luego seguir administrando antimicrobianos en forma oral por un mes, por la facilidad de administración, relativa eficacia y costos menores (Goodrich, 2006).

El antimicrobiano seleccionado debe ser activo frente al microorganismo causal, alcanzar concentraciones superiores a la concentración inhibitoria mínima (CIM) en el foco de infección, mantenerlas en los intervalos entre dosis

y permanecer estable en el medio. Además, por la larga duración del tratamiento y las dosis elevadas que se emplean hay que tener en mente la tolerancia y la vía de administración del propio antimicrobiano, proponiendo formas orales y de bajo costo. Esto puede ser suficiente para alcanzar la curación de las formas agudas, pero no así en las crónicas que generalmente requieren cirugía (Turner y col., 2005).

La combinación penicilina-gentamicina se utilizan usualmente como tratamiento empírico para tratar la osteomielitis, hasta tener el resultado del cultivo y antibiograma (Goodrich, 2006).

En los casos de osteomielitis usualmente existe un pobre aporte vascular, necesario para lograr que el antimicrobiano llegue al sitio de infección, lo que lleva a prolongar los tratamientos. La administración sistémica de drogas por un período prolongado puede traer problemas como la toxicidad y el riesgo de generar cepas resistentes, disminuyendo la disponibilidad de antimicrobianos efectivos (Turner y col., 2005).

5.2 ARTRITIS SÉPTICA.

La artritis suele ser definida simplemente como la inflamación de una articulación, un término inespecífico y poco descriptivo de la naturaleza de las diversas alteraciones específicas que afectan las articulaciones equinas (Mc Ilwraith 2014).

En los equinos la artritis séptica es el problema más grave encontrado en una articulación y puede provocar una rápida destrucción del cartílago con pérdida irreversible de la superficie articular en el momento de la presentación (Baxter, 2014).

5.2.1 Definición.

Es la inflamación aguda de los componentes articulares, cápsula articular y membrana, producido por la invasión y multiplicación de microorganismos (Mc Ilwraith y Trotter, 1997).

5.2.2 Etiología.

Puede producirse por varios mecanismos; por vía hematogena, penetración local o traumática, por extensión de infecciones de áreas vecinas así como de forma iatrogénica (asociada generalmente con una inyección intra articular) (Adams, 1998).

La artritis séptica hematogena se observa con mayor frecuencia en los potrillos jóvenes. En este caso el compromiso articular es secundario a una septicemia

que generalmente se origina en el cordón umbilical del neonato, o a la falla en la transferencia pasiva de inmunidad (Tremaine, 2000). Las articulaciones se alteran en general bilateralmente y se comprometen varias en forma simultánea (Adams, 1998). En una infección por *Rodococcus equi*, se puede producir una sinovitis inmuno-mediada determinando una artritis (Tremaine, 2000).

Los microorganismos comunmente involucrados son: *Streptococcus sp*, *Stafylococcus sp*, *Escherichia coli* y anaerobios, que pueden afectar directamente la articulación o diseminarse por infecciones de tejidos adyacentes (Adams, 1998).

En caballos adultos la infección articular se origina de contaminación directa por heridas penetrantes, luego de un acto quirúrgico o de manera iatrogénica (Tremaine, 2000; Baxter, 2014).

5.2.3 Tratamiento.

Las principales premisas son eliminar la carga bacteriana, remover cualquier cuerpo extraño, eliminar los mediadores inflamatorios y radicales libres, aliviar el dolor y restaurar el ambiente sinovial para promover la curación del tejido (Invernizzi 2014, Lugo, 2006).

Existen varios métodos para tratar esta patología; el lavado de la articulación, terapia antimicrobiana sistémica, terapia antimicrobiana intra articular, antibioticoterapia regional intravenosa y la aplicación de transportadores de antimicrobianos (Tremaine, 2000; Baxter, 2014).

La administración sistémica de drogas antimicrobianas de amplio espectro debe ser combinada con la aplicación local de agentes antimicrobianos. La droga debe tener excelente difusión en la articulación, la mayoría de las drogas antimicrobianas penetran la sinovial en concentraciones terapéuticas cuando son administradas sistemáticamente a las dosis recomendadas (Ross y Dyson, 2011).

Dentro de las terapias locales se incluyen la infusión directa de drogas antimicrobianas como gentamicina, amikacina, penicilina sódica, cefazolin, ceftiofur sódico (Ross y Dyson, 2011). Y el uso de biomateriales impregnados en antimicrobianos como el polimetilmetacrilato, manteniendo concentraciones terapéuticas por un largo período de tiempo (Tremaine, 2000; Baxter, 2014).

Otro método es la antibioticoterapia regional intravenosa, que puede ser usada para liberar concentraciones terapéuticas de los agentes antimicrobianos en una región del miembro. Consiste en colocar un torniquete proximal a la articulación, inyectar el antimicrobiano seleccionado y mantenerlo allí en concentraciones terapéuticas por aproximadamente 20 a 30 minutos.

Las limitantes incluyen el desarrollo de vasculitis, la dificultad de identificar la vena, la incomodidad del torniquete e infusión de la droga.

También se puede utilizar la vía intra-ósea (Ross y Dyson, 2011).

El lavado articular es vital para el manejo efectivo de la artritis infecciosa. El mismo puede ser realizado a través de la irrigación tidal (inyectar y aspirar), lavado articular, artroscopía con lavado, artrotomía abierta o drenaje de succión cerrada. Estos últimos dos a menudo precedidos de artroscopía (Mc Ilwraith y Trotter, 1997).

Las técnicas más comunmente recomendadas para la eliminación temprana y más efectiva de la infección son la artrotomía abierta y el drenaje de succión cerrada.

La artroscopía ofrece como ventaja la posibilidad del desbridamiento quirúrgico de la articulación, una mayor visualización de la misma, el lavado copioso y la inspección del cartílago articular, así como la sinovectomía selectiva.

La artrotomía abierta o el drenaje de succión cerrada permiten la remoción continua del líquido sinovial infectado, la descompresión articular y mantienen una vía para el lavado postoperatorio diario y la inyección de antimicrobianos intra articulares.

Usualmente, la artrotomía sana sin complicación y con mínima formación de cicatriz. Con infección persistente, la artrotomía permanecerá abierta, pudiendo desarrollar excesiva granulación o tejido fibroso, pero ésta complicación también puede ocurrir con otros métodos de drenaje crónico (Mc Ilwraith y Trotter, 1997).

Luego del desbridamiento, lavado y el establecimiento del drenaje, independientemente del método elegido, se debe hacer un último lavado con solución fisiológica estéril y administrar terapia antimicrobiana local diariamente, usualmente por 3 días (Ross y Dyson, 2011).

6 INFECCIONES MÁS COMUNES DE TEJIDOS BLANDOS EN HERIDAS ACCIDENTALES Y QUIRÚRGICAS EN EQUINOS.

La Infección de la herida y la dehiscencia de la sutura se producen tanto en heridas inducidas quirúrgicamente como por traumas; la integridad y perfusión tisular, los procesos de reparación de la heridas, el desafío bacteriano y las respuestas del huésped influyen mucho en el desarrollo de la infección (Hanson, 2008).

6.1 ABCESOS DE PIEL Y TEJIDOS BLANDOS.

6.1.1 Definición.

Los abscesos de piel se pueden definir como colección de pus localizada, secundaria a necrosis de tejido por una infección previa, normalmente adyacente (Lozano y col. 2011). Los abscesos se observan con frecuencia en caballos (Scott y col. 2010).

6.1.2 Etiología.

Los abscesos suelen ser posteriores a contaminación bacteriana de heridas cutáneas luego de accidentes, peleas, cirugías, infecciones, cuerpos extraños o ectoparásitos. En caballos los abscesos subcutáneos suelen deberse a *Corynebacterium pseudotuberculosis* y con menor frecuencia a especies de *Clostridium*, diversos anaerobios, estafilococos coagulasa positivos, estreptococos, *A. pyogenes*, especies de *Actinomices*, especies de *Nocardia*, especies de *Actinobacillus* y *R. equi*.

Estos también pueden ser estériles, como en las reacciones a una inyección y cuerpos extraños (Scott y col. 2010).

Los abscesos subcutáneos se asocian en algunas ocasiones con infección estafilocócica, (Pascoe 1999; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan 2001; Scott y col. 2010). *S. aureus* y *S. intermedius* fueron aislados casi con la misma frecuencia (Bilberstein 1984, Cox 1984, Scott y col. 2010).

Numerosas especies de *Streptococcus* causan infecciones con manifestaciones clínicas variables (Colahan 1999, Scott y col. 2010). Estos microorganismos son cocos gran positivos con distribución mundial y prevalente en la naturaleza, que puede ganar acceso al huésped animal a través de todo orificio natural y de heridas contaminadas. En especial *Streptococcus Equi*, *S. Zooepidemicus* y *S. Equisimilis* se han aislado de caballos con linfagitis ulcerativa, foliculitis, furunculosis y abscesos (predominio en potros) (Scott y col. 2010).

También *C. Pseudotuberculosis* es causante de abscesos subcutáneos profundos en caballos. Es una especie de *Corynebacterium*, pleomórfica gran positiva, patógeno intracelular facultativo que sobrevive y se replica en los fagocitos (Quinn 2002; Scott y col. 2010).

Se considera que *C. pseudotuberculosis* es diseminado por moscas mordedoras, en especial mosca de los cuernos, e inoculado mediante picadura de moscas durante el verano; posteriormente tienen lugar la diseminación linfática y la formación de abscesos. No parece haber predilección por la edad, sexo o raza, aunque la infección es rara en caballos menores de 1 año. La afección tiene incidencia estacional, que es máxima a fines del verano, otoño y comienzos del invierno. La enfermedad tiene incidencia más elevada después de inviernos con lluvias superiores al promedio, que determinan condiciones óptimas para la reproducción de insectos durante el verano y el otoño siguiente (Doherr 1999, Scott y col. 2010).

Las características clínicas consisten en abscesos subcutáneos profundos, solitarios o múltiples, de desarrollo lento o rápido. Alrededor del 70% de los caballos con un absceso externo tiene una lesión solitaria (Welsh 1990; Aleman 1999; Hall 2001, Scott y col. 2010). Cerca del 50% de estos abscesos asientan

en las áreas pectoral, abdominal ventral, axilar e inguinal. Además, los abscesos pueden asentar en el tórax, hombros, cuellos, lomo, cabeza y área genital.

La secreción purulenta suele ser cremosa a caseosa y de color blanquecino verdoso. Estos abscesos a menudo se asocian con edema blando y dermatitis de la línea media ventral.

Alrededor del 24% de los caballos con abscesos externos se encuentran febriles, en comparación con el 45% de aquellos que tienen abscesos internos. La pérdida de peso y la depresión son hallazgos más probables en caballos con abscesos internos. Los abscesos axilares e inguinales pueden causar dolor, claudicación y anomalías de la marcha (Scott y col. 2010).

C. Pseudotuberculosis también causa infecciones en humanos (Hubbert y col. 1975; Scott 1988; Scott y col. 2010).

6.1.3 Tratamiento.

La mejor manera de tratar estos abscesos de piel y tejido subcutáneo es dejar que maduren, las compresas calientes, remojos calientes y las cataplasmas pueden contribuir a la maduración de los abscesos de desarrollo lento. Luego proceder a la incisión quirúrgica, drenaje y lavado de las lesiones; esto suele conducir a curación completa en el plazo de 2 a 3 meses.

El uso de antimicrobianos sistémicos antes de la maduración de los abscesos no suele ser eficaz y en general es seguido por exacerbaciones cuando se interrumpe el tratamiento (Aleman 1996; Hall 2001; Scott y col. 2010). Cuando el drenaje no es posible la administración de penicilina en dosis elevadas, 22.000 a 50.000 UI/Kg cada 12 horas de forma intramuscular, durante periodos prolongados puede ser eficaz (Scott y col. 2010).

6.2 MIOSITIS SÉPTICA DE ORIGEN BACTERIANO.

6.2.1 Definición.

Las miositis sépticas son infecciones bacterianas agudas primarias de los músculos esqueléticos (Farhi y col. 2006).

6.2.2 Etiología.

Las miopatías inflamatorias pueden ser resultado de causas tanto infecciosas como no infecciosas, las causas infecciosas en perros y caballos incluyen *Acinetobacter calcoaceticus*, *Clostridium* spp., *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Salmonella infantum*, *Streptococcus equi* subesp. *Equi*, *Sarcocystis* spp., *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum* (Hunyadi y col. 2017).

La miositis bacterianas en los caballos puede ser causada por una gran variedad de *Clostridium* spp. , incluyendo *C. Septicum*, *C. Perfringens*, *C. Novyi*, *C. Chauvoei*, *C. Fallax* y *C. Sordelli* (Malwina y col. 2018).

La mionecrosis / miositis después de una inyección intramuscular no está influenciada por la técnica de inyección (Brown y col. 1988).

Otras causas de miositis incluyen heridas punzantes (Rebhun y col. 1985), traumatismos (Hagemoser y col. 1980) y contaminación de la herida con suciedad o durante la cirugía (Brook 2008).

La miositis clostridial se desarrolla con mayor frecuencia luego de heridas penetrantes, lesiones por parto, castración y en especial después de inyecciones intramusculares (Peek y col. 2003). Las especies de Clostridium son bacilos grampositivos, con distribución universal, anaerobios, formadores de esporas (Quinn y col. 2002; Scott y col. 2010). Estos producen una amplia variedad de toxinas (hemolíticas, necrotizantes y letales) y enfermedades. El edema maligno (gangrena gasesosa) es una infección aguda de una herida causada por traumatismo, inyecciones o cirugía de caballos; colonizada por especies de Clostridium como *C. septicum*, *C. chauvoei* y *C. perfringens* (welchii) (Scott y col. 2010). Las esporas de los clostridios se encuentran en el suelo y las heces. Cuando el tejido es traumatizado por una inyección o una lesión se genera potencial oxidativo bajo y pH alcalino, los microorganismos proliferan, elaboran exotoxinas y causan extensa necrosis del músculo y los tejidos adyacentes; pueden quedar latentes en los músculos esqueléticos (Baxter 2014).

Los signos clínicos se ponen en manifiesto 12 a 48 horas después del factor iniciante, que suele ser una inyección intramuscular, la lesión comienza como una tumefacción profunda, mal delimitada, depresible, dolorosa y caliente. La tumefacción se puede extender de manera lenta o rápida, hasta comprometer más piel y músculo. Más tarde la tumefacción se torna fría e hipoestésica o anestésica, la piel se vuelve azulada a púrpura, tensa, necrótica y se esfacela (Scott y col. 2010). La crepitación (signo de formación de gas) es un hallazgo muy poco frecuente. El drenaje es serosanguinolento y tiene mal olor.

La miositis causada por *C. perfringens* tiene una tasa de mortalidad más baja y, en un primer momento, se presenta con tumefacción y crepitación en un área de un músculo, así como también con moderados signos sistémicos de toxemia (Baxter 2014).

6.2.3 Tratamiento.

Estas afecciones pueden ser manejadas clínicamente de diversas maneras. En primer lugar la ecografía es útil para detectar burbujas de aire en el exudado muscular, los clostridios pueden ser identificados por medio de la prueba de anticuerpos fluorescentes y cultivos bacterianos anaeróbicos (Baxter 2014).

Las claves para el tratamiento satisfactorio son la identificación temprana de la enfermedad, la antibioticoterapia sistémica apropiada y el manejo correcto de la herida (Scott y col. 2010). El tratamiento con antimicrobianos, la fenestración de la herida, el desbridamiento quirúrgico agresivo de toda el área afectada y los cuidados de sostén son claves para un tratamiento exitoso (Peek y col. 2003). También se recomienda la fluidoterapia de soporte y los agentes antiinflamatorios para el control del dolor y la tumefacción (Baxter 2014).

6.3 INFECCIÓN DE LINEA MEDIA VENTRAL EN EL SITIO DE INCISIÓN POR LAMPARATOMÍA EXPLORATORIA.

Las complicaciones incisionales después de la laparotomía media ventral incluyen la dehiscencia de sutura, infección de la herida y formación de hernia abdominal. Éstas causan hospitalización prolongada y altos costos de tratamiento (Scharner y col. 2018).

En el caso de las heridas quirúrgicas en los equinos a pesar de los avances en la técnica quirúrgica y las tasas de supervivencia postoperatoria, las infecciones siguen siendo causas significativas de morbilidad postoperatoria (French y col., 2002).

6.3.1 Definición.

La infección del sitio quirúrgico (ISQ) está definida como la infección ocurrida en la incisión quirúrgica, o cerca de ella, durante los primeros 30 días o hasta un año si se ha dejado un implante. Están categorizadas por dos tipos de infecciones: infección “incisional superficial” que afecta la piel y tejido subcutáneo e “incisional profunda” que afecta a tejidos blandos profundos (Horan y col. 2008).

La infección de la herida de laparotomía es una complicación común de la cirugía de cólico equino. Informes recientes describen una prevalencia de infección incisional postoperatoria de 12-42% (Mair y Smith, 2005a, 2005b, 2005c; Durward-Akhurst y col., 2013; Tnibar y col., 2013; Colbath y col., 2014; Costa-Farre y col., 2014; Anderson y col., 2015).

En un estudio retrospectivo realizado en el año 2016 por Darnaud y col. la infección del sitio quirúrgico ocurrió en aproximadamente el 20% de los caballos sometidos a cirugía de cólicos.

6.3.2 Etiología.

La infección del sitio quirúrgico de la incisión abdominal fue informada en el 10 a 37% de los caballos después de una laparotomía (Hardy y Rakestraw 2012), la prevalencia depende de la población estudiada y el tipo de ISQ.

La ISQ es una causa común de morbilidad postoperatoria, causa como resultado una mayor duración de la hospitalización y altos costos del tratamiento, junto con un mayor riesgo de formación de hernia incisional. Después de la ocurrencia de ISQ los animales son de 4 a 9 veces más

propensos a desarrollar hernias incisionales (French y col 2002; Mair y Smith 2005). Diferentes estudios han informado que los caballos que desarrollan una hernia incisional tienen significativamente menos probabilidades de volver a su actividad normal anterior, en comparación con los que no lo hicieron (Christophersen y col. 2011; Davis y col. 2013).

Se han identificado una serie de factores de riesgo para ISQ incisional. Estos varían entre los estudios debido a las inconsistencias en los tipos de infección de sitio quirúrgico (ISQ) y la duración del seguimiento. Los factores de riesgo para la ISQ después de una laparotomía incluyen factores preoperatorios como el peso, la edad del animal (Wilson y co. 1995), la duración de la presentación de los signos de cólico, el dolor intenso, la frecuencia cardíaca elevada en el momento de la intervención quirúrgica (Smith y col. 2007), y la concentración elevada de fibrinógeno peritoneal preoperatorio (Honnas y Cohen 1997). Los factores de riesgo intraoperatorios para el desarrollo de ISQ que se han informado incluyen: una mayor duración de la cirugía (Wilson y co. 1995), hipoxia tisular ($\text{PaO}_2 < 80$ mmHg) (Costa-Farre y col. 2014), tipo de lesión (Smith y col. 2007), enterotomía (Honnas y Cohen 1997), la experiencia del cirujano que realiza el cierre incisional (Torfs y col. 2010), la alta contaminación en la sala de cirugía (Galuppo y col. 1999) y el tipo de método de cierre incisional (Honnas y Cohen 1997; Torfs y col. 2010; Colbath y col. 2014).

En medicina humana, estudios han descrito la asociación entre la época del año y la ISQ después de una cirugía de columna (Gruskay y col. 2013), en éste los pacientes tenían un mayor riesgo de ISQ cuando la cirugía fue realizada durante los meses de verano y otoño. Estudios han informado también que las cirugías realizadas fuera de las horas de trabajo habituales producen tasas más altas de complicaciones postoperatorias tanto en humanos como en equinos en comparación con las realizadas en las horas de trabajo habituales (Bertram y col. 2013), (Milner y col. 2014). Los efectos que producen la época del año y su realización fuera de las horas habituales de trabajo, no han sido investigados como factores de riesgo para ISQ después de la laparotomía en caballos.

Publicaciones realizadas en el año 2013 por Grönlund y Bergström informaron una tasa general de ISQ de 2.6%, 3.3% y 1.7% en 3 hospitales de equinos; en cuanto a los tipos de microorganismos más frecuentemente cultivados en las ISQ en equinos se informa la presencia de *Estafilococos* spp. y *Streptococcus* spp. donde al 7mo. día posterior a la cirugía fue el día promedio en que se evidencio la ISQ.

Los asilamientos bacterianos más comunes en incisiones de laparotomía incluyen a *Estafilococcus* spp., *Streptococcus* hemolítico tipo β y *Escherichia Coli* (Klohn y Biedrzycki 2009; Rodriguez y col. 2009).

En 2009 Klohnen y Biedrzycki realizaron un estudio piloto prospectivo informando sobre la realización de cultivos bacterianos secuenciales de línea media en los caballos posterior a cirugía de cólico, describen casos clínicos de ISQ asociados con el crecimiento bacteriano significativo en la línea media posterior a la recuperación anestésica y en las 24hs posteriores a la cirugía.

Otros autores han informado de una correlación deficiente entre los resultados del cultivo perioperatorio y el desarrollo posterior de ISQ (Ingle-Fehr y col. 1997; Rodriguez y col. 2009) con ISQ previsto en solo el 20% de los casos de cultivo positivo (Ingle-Fehr y col. 1997).

Un estudio realizado en 2017 por Isgren y col. describía aislamientos bacterianos en 287 caballos correlacionado a los factores de riesgo para la infección del sitio quirúrgico después de la laparotomía. Dependiendo del efecto de la época del año y las variables perioperatorias, éste identificó que el 57% de los aislamientos bacterianos eran gram negativos y el 43% eran grampositivos; por lo tanto esto contradice otros estudios que han obtenido cultivos de incisiones intraoperatorias predominantemente grampositivas (Ingle-Fehr y col. 1997).

Streptococcus spp. (28%), *E. coli* (17.7%) y *Enterococcus* spp. (13.6%) fueron las especies bacterianas más comunes identificadas en los sitios de enterotomía y fluido peritoneal intraoperatorio.

6.3.3 Tratamiento.

La frecuente aparición de ISQ después de una cirugía de cólico requiere un tratamiento prolongado (Ingle-Fehr y col., 1997; Mair y Smith, 2005b; Smith y col., 2007) y por lo tanto el consiguiente retraso de regreso a la actividad atlética (Davis y col., 2013) Lo que hacen a la ISQ una complicación importante.

Un signo temprano del desarrollo de una infección incisional, es la presencia de fiebre postoperatoria. Esto es seguido a menudo por un aumento del edema y sensibilidad a la palpación directa sobre la línea de incisión. La infección se desarrolla frecuentemente tres o más días posteriores a la cirugía y el drenaje de la misma puede retrasarse hasta 14 días (Hardy y Rakestraw, 2006).

Las infecciones incisionales pueden manejarse de manera efectiva promoviendo el drenaje de material purulento del espacio subcutáneo. Ésto se logra mediante la eliminación de las grapas o suturas de la piel en el lugar de la infección y la limpieza diaria de la herida, con la eliminación de costras y masaje del área circundante hacia la abertura de la herida (Hassel 2017). A medida que disminuye el drenaje, el tejido de granulación llenará el defecto subcutáneo y el tracto sinusal drenante se contraerá y cerrará. No es frecuente que la infección subcutánea migre dorsalmente a la cavidad peritoneal, pero el riesgo de formación de hernia incisional aumenta en 17 a 62 veces con la presencia de una infección incisional (Gibson y col., 1989; Ingle-Fehr y col, 1997).

Existen varios estudios que muestran los efectos protectores de varios métodos de cobertura de heridas quirúrgicas, incluidas los apósitos sobre la incisión impregnadas con iodóforos (Kobluk y col., 1989; Ingle-Fehr y col., 1997; Galuppo y col. 1999), vendajes de stent (Tnibar y col., 2013) y la aplicación de vendajes abdominales (Smith y col., 2007). El mantenimiento de un entorno aséptico durante la recuperación de la anestesia y en el período postoperatorio temprano es esencial para disminuir el riesgo de infección incisional (Hassel, 2017).

El cultivo de microorganismos en el exudado de la herida se utiliza para guiar y determinar la terapia antimicrobiana. Los antimicrobianos sistémicos son apropiados cuando hay fiebre, reacción tisular significativa o signos sistémicos de enfermedad. La terapia antimicrobiana postoperatoria prolongada no es efectiva en la prevención de la infección del sitio quirúrgico (Durward-Akhurstcol., 2013).

7 UTILIZACION DE LOS ANTIMICROBIANOS.

7.1 Antecedentes.

Existe una larga historia sobre el uso de antimicrobianos de forma local para el tratamiento de infecciones en hueso y tejidos blandos. Fue durante la primera guerra mundial donde Alexander Fleming en 1920, observó que la aplicación en forma local de antiséptico fallaba en matar la totalidad de los microorganismos patógenos en heridas con infecciones crónicas, pero sí disminuían la carga bacteriana. Por otra parte, Jensen y col. en 1939, documentaron que la utilización de cristales de sulfonamida en conjunto con un completo desbridamiento, hemostasia, cierre primario e inmovilización resultaba en reducción de la tasa de infección en fracturas expuestas (Tsouvakas, 2012; Cancienne y col. 2015).

En la medida que los agentes antimicrobianos se hicieron más disponibles el problema frente al tratamiento tópico de las heridas disminuyó, pero el tratamiento de las osteomielitis seguía siendo un problema. En la década de 1960 el método de irrigación por succión en la herida cerrada se popularizó como un método que podía usarse para administrar altas concentraciones de antimicrobianos después de realizar el desbridamiento (Dombrowski y Dunn, 1965). Recién en el año 1971 Organ diseñó un método alternativo para administrar altas concentraciones de antimicrobiano en osteomielitis de extremidades inferiores de pacientes con esta patología, mediante el aislamiento y perfusión del antimicrobiano (Tsouvakas 2012).

7.2 Uso.

El uso adecuado de los antimicrobianos en forma profiláctica para heridas depende de la selección precisa del tipo apropiado, el régimen de dosificación y la duración del uso (Hanson 2018).

Según Southwood (2014), “*los fármacos antimicrobianos nunca deben reemplazar la meticulosa asepsia y técnica quirúrgica atraumática*”, así como tampoco deben ser utilizados para contrarrestar una mala preparación pre quirúrgica y los correspondientes cuidados post quirúrgicos del paciente.

En heridas quirúrgicas, la mejor forma de tratar una infección es previniéndola (Stashak, 1994). Apegarse a los principios de Halsted es crítico para la prevención de las infecciones (Wong, 1996), ya que la disminución del tiempo quirúrgico, la correcta preparación del paciente y una técnica aséptica son factores quirúrgicos asociados a la reducción de la tasa de infección (Stashak, 1994; Trostle y col., 1999; Invernizzi 2014). Por lo tanto el beneficio de la utilización de antimicrobianos en el sitio quirúrgico o en el tratamiento preventivo de infecciones en lugares distantes no debe despreciarse.

Burke (1961) fué el primero en reconocer que los antimicrobianos debían ser administrados antes de la cirugía, y si la primera dosis era administrada luego de la cirugía, la tasa de infección era igual a no administrar el antimicrobiano. Otros estudios realizados (Dellinger, 2007; Koch y col., 2013) apoyaron este hallazgo.

El pico de concentración del antimicrobiano debe suceder durante la cirugía para prevenir la infección (Esposito, 1999). Según Baxter (2014) la concentración del antimicrobiano en suero debe lograr el pico de concentración previo a la intervención quirúrgica y debe permanecer a niveles de 4 a 8 veces la CIM de la bacteria que se espera.

Los tiempos de administración del antimicrobiano son importantes y varían dependiendo de la vía de administración; si se utiliza la vía intramuscular se recomienda una hora antes de comenzar con la cirugía y treinta minutos antes si se usa la vía intravenosa. Esto permite que los tejidos logren el pico de concentración al momento de la incisión (Baxter, 2014).

La profilaxis antimicrobiana (PAM) realizada en ausencia de infección establecida, está indicada en procedimientos quirúrgicos con la clasificación de herida “limpia-contaminada” o “contaminada” debido al mayor riesgo de infección en el sitio quirúrgico. El uso de PAM en heridas “limpias” es controvertido tanto en medicina humana como veterinaria. Se cree que no es necesario en cirugías humanas limpias donde la incidencia de infección reportada es inferior al 5% (Esposito 1999).

Las cirugías limpias se consideran aquellas realizadas de forma electiva, cerradas por intención primaria, de origen no traumáticas, no infectadas, sin interrupción en la técnica aséptica y no se ingresa a las vías respiratorias, alimentaria o genitourinarias (Richardson y Ahern, 2012). Un artículo realizado por Borg y Carmalt en 2013 donde evaluaron la artritis séptica postoperatoria después de las artroscopias equinas electivas sin PAM, informó tasas de infecciones similares a las reportadas en poblaciones operadas con PAM. Estos datos respaldan un estudio previo en el que las complicaciones sépticas posteriores a la artroscopia no se asociaron con la administración o la falta de antimicrobianos (Olds y col. 2006); lo que sugiere que se puede utilizar un enfoque similar a las recomendaciones humanas en la medicina equina.

Los siguientes autores: Southwood, 2006; Hollis y Wilkins, 2009; Richardson y Ahern, 2012, proporcionan revisiones exhaustivas sobre las pautas adecuadas para el uso de antimicrobianos dentro de la profilaxis quirúrgica equina.

En condiciones de quirófano, los antimicrobianos deben ser utilizados como profilácticos estrictamente en pacientes quirúrgicos en los que la incidencia de infección exceda el 5% sin la utilización de los mismos (Esposito, 1999). En esta categoría, generalmente se incluyen pacientes que serán sometidos a cirugías de tipo limpia-contaminada, contaminada, o procedimientos sucios.

La profilaxis con antimicrobianos también se puede utilizar en pacientes bajo procedimientos limpios, donde el desarrollo de una infección podría tener efectos devastadores y cuando se utilizan implantes (Southwood, 2006). Fuera de estas condiciones, la profilaxis en la mayoría de los procedimientos limpios no es necesaria y para los procedimientos limpios-contaminados tiende a no ser necesaria más allá de 24 horas posteriores a la cirugía (Southwood, 2014). La utilización de antimicrobianos en pacientes sometidos a procedimientos contaminados, se vuelve terapéutica más que profiláctica y se debe prescribir por un tiempo más allá del período post operatorio; habiendo quedado demostrado, que el uso profiláctico de antimicrobianos en equinos sometidos a cirugía abdominal de urgencia disminuía el riesgo de infección en el sitio quirúrgico de un 39% a un 7% (Wilson y col., 1995).

En pacientes con heridas sucias o infectadas, los primeros antimicrobianos a utilizar son los de amplio espectro por 24 a 48 horas; luego se debe pasar a antimicrobianos de espectro reducido, basados en los test de cultivo y sensibilidad de muestras tomadas durante la cirugía (Southwood, 2006). Sin embargo, se demostró que el régimen de una única dosis profiláctica de antimicrobiano era tan efectivo como el régimen de multi dosis profiláctica (Esposito, 1999).

En una encuesta del American College of Veterinary Surgeons a cirujanos que habían realizado cirugías abdominales en equinos, refiere que poco más del 70% utiliza antimicrobianos con la duración de uno a cinco días (la mayoría por 24 horas) luego de la cirugía, solamente si había descompresión intestinal. Todos utilizaban antimicrobianos de 1 a 10 días si se realizaba una enterectomía o una enterotomía, y el 88% de los encuestados utilizaban antimicrobianos de 1 a 10 días (con una media de 5 días) luego de la cirugía si había isquemia intestinal (Traub-Dargatz y col., 2002).

En pacientes veterinarios bajo procedimientos quirúrgicos limpios-contaminados o contaminados, como cirugías gastrointestinales, la duración óptima del uso de antimicrobianos es desconocida; particularmente en pacientes severamente enfermos o procedimientos realizados de emergencia (Southwood, 2006; Invernizzi 2014). Es probable, sin embargo, que el uso profiláctico de antimicrobianos más allá de 24 horas no sea necesario en la mayoría de los pacientes sometidos a procedimientos limpios; siendo sometidos a procedimientos limpio-contaminados la administración de antimicrobianos se deja a elección del cirujano, recomendándose generalmente la administración por 3 a 5 días (Baxter, 2014).

Hay cada vez más evidencia que la profilaxis prolongada no es solamente inefectiva, sino dañina para el paciente. Para los seres humanos la terapia con antimicrobianos profilácticos debe continuarse por no más de 24 horas posterior a la cirugía, independientemente de si la cirugía fue limpia, limpia-contaminada o contaminada (Esposito y col. 2001; Bratzler y col. 2005; Hanson 2018). La administración prolongada de antimicrobianos profilácticos puede aumentar la morbilidad, aumenta un 33% la tasa de infección hospitalaria con incidencia del 15% mayor de infección por herida quirúrgica; y puede atribuirse la resistencia a antimicrobianos (Esposito y col. 2001; Bratzler y col. 2005; Hanson 2018). No hay diferencia en la tasa de ISQ entre los caballos que recibieron antimicrobianos durante menos de 36 horas posterior a la celiotomía exploratoria vs. los caballos tratados por más de 36 horas; tampoco hay un beneficio en la administración de antimicrobianos durante 120 horas en lugar de 72 horas, para prevenir infecciones incisionales posterior a la cirugía de síndrome de abdomen agudo (Freeman y col. 2012; Durward-Akhursty y col. 2013; Hanson 2018).

El depósito local de antimicrobiano para el tratamiento de infecciones músculo esqueléticas ha ido ganando popularidad, siendo la base para el desarrollo y el uso de sistemas de depósito local de antimicrobianos en el tratamiento de infecciones de hueso y tejidos blandos; tanto para suplementar como para sustituir el uso de antimicrobianos sistémicos (Tsourvakas, 2012). Elevados niveles de concentraciones de antimicrobianos locales facilitan la llegada de los mismos hacia áreas avasculares de heridas que son inaccesibles cuando se aplican los antimicrobianos de forma sistémica. En muchas circunstancias los organismos que son resistentes a la concentración de la droga alcanzados por la antibioticoterapia sistémica, son susceptibles a las concentraciones extremadamente altas que la droga provee en la terapia local (Tsourvakas, 2012).

Tratamientos quirúrgicos como la excisión de tejidos desvitalizados y desvascularizados, obliteración del espacio muerto, restauración del aporte sanguíneo, cobertura de tejido blando, estabilización y reconstrucción del hueso dañado, remoción de cuerpos extraños y la terapia sistémica de antimicrobianos son componentes cruciales en el tratamiento de infecciones (Lazzarini y col., 2004; Invernizzi 2014).

Para lograr concentraciones terapéuticas de antimicrobianos en el área afectada, se requieren generalmente altas dosis, que pueden derivar en efectos secundarios tóxicos. El tratamiento con antimicrobianos puede ser inadecuado o inefectivo en pacientes con tejidos infectados, poco vascularizados y con necrosis ósea, la que se presenta usualmente en casos de osteomielitis. Por otra parte, dosis habituales de antimicrobiano por vía sistémica pueden ser insuficientes para destruir las bacterias del biofilm (El-Husseini y col., 2011; Invernizzi, 2014; ter-Boo y col. 2015).

A pesar de la terapia intensiva, avances en las técnicas quirúrgicas y el desarrollo de nuevos antimicrobianos el tratamiento de las infecciones de hueso y tejidos blandos permanece siendo un desafío.

7.2.1 Consideraciones con el antimicrobiano.

Existen factores adversos que se relacionan con el tipo de antimicrobiano a utilizar. Debido a altas concentraciones obtenidas en el sitio del implante, tanto el proceso de curación del tejido óseo como la regeneración ósea y la curación del tejido blando pueden verse afectados. Esto afectaría enormemente la elección del antimicrobiano y el tipo de transportador utilizado (Gogia y col. 2009).

Edin y col. (1996) probaron los efectos de la cefazolina y vancomicina en cultivos celulares de un osteosarcoma con concentraciones *in vitro* entre 0 y 10,000 µg/ml. En este estudio se observó poco o ningún efecto sobre la replicación de los osteoblastos a niveles por debajo de 100 µg/ml, mientras que niveles cercanos a los 10,000 µg/ml indujo la muerte celular; y se comprobó que la vancomicina es menos tóxica que la cefazolina. Otros estudios *in vitro* con ciprofloxacina, vancomicina y tobramicina demostraron cambios en la morfología celular con la exposición a antimicrobianos. Los niveles de vancomicina y tobramicina a 2000 µg/mL disminuyeron severamente la proliferación celular, y la ciprofloxacina tuvo efectos similares a concentraciones de 100 µg/mL (Antoci y col. 2007).

La concentración de estos antimicrobianos medidas en la práctica clínica habitual son generalmente mucho más bajas que estas concentraciones. Nelson y col. (2002) demostraron concentraciones de tobramicina en exudados de heridas de conejo a 11,9 mg/ml cuando se trataron con gránulos de sulfato de calcio y una concentración sérica de 7,82 µg / ml cuando se trató con tobramicina intravenosa.

7.2.2 Liberación local.

El suministro de antimicrobianos locales para el tratamiento de la infección musculoesquelética se ha vuelto cada vez más popular. La base para desarrollar y utilizar sistemas locales de administración de antimicrobianos en el tratamiento de infecciones es complementar o reemplazar el uso de antimicrobianos sistémicos. Las altas concentraciones de antimicrobianos locales facilitan el suministro de antimicrobianos por difusión a las áreas avasculares de heridas que son inaccesibles por los antimicrobianos sistémicos (Hanssen y col., 2005).

La administración local de antimicrobianos puede producir concentraciones efectivas a la vez que minimiza los riesgos de la exposición sistémica (Wilson y col. 2018).

En el ambiente de una herida infectada, en la que frecuentemente existen zonas avasculares, la habilidad de alcanzar altos niveles de antimicrobiano es muy deseable (Ciorny, 1999; Invernizzi 2014). Varias razones para el uso de estos vehículos de liberación incluyen el deseo de tratar microorganismos sésiles del biofilm (Hanssen y col., 2005).

Debido a que la regeneración del hueso siempre se requiere como parte del plan de tratamiento, es deseable el uso de factores osteoinductores y osteoconductores junto con los antimicrobianos (Gitelis y Brebach, 2002).

En la aplicación de terapia antimicrobiana local para hueso y tejidos blandos infectados se deben considerar los siguientes aspectos (Invernizzi, 2014);

- a) Tipo de transportador.
- b) Antimicrobiano a utilizar.
- c) Farmacocinética.
- d) Posibilidad de su aplicación en revestimientos y rellenos.
- e) Posibilidad de combinar con factores osteoinductores y osteoconductores.
- f) Uso en profilaxis y/o terapia.
- g) Inconvenientes.

7.2.3 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DEL USO LOCAL DE ANTIMICROBIANOS (Hayes y col., 2013).

Ventajas:

- Las altas concentraciones alcanzadas en la herida pueden eliminar las bacterias no susceptibles a la terapia sistémica y penetrar en el biofilm.
- El suministrar transportadores de antimicrobianos puede maximizar los beneficios terapéuticos minimizando la posibilidad de toxicidad sistémica.
- La exposición sistémica reducida y la consiguiente salida fecal de antimicrobianos, puede reducir la exposición de antimicrobianos al ambiente y la selección de rasgos resistentes (Beraud y col. 2008).
- No depende de la presencia de tejidos vascularizados.
- Posibilidad de usar antimicrobianos potencialmente nefrotóxicos (gentamicina) en pacientes con insuficiencia renal (Delfosse y col., 2011; Invernizzi 2014).

Desventajas:

- Riesgo de citotoxicidad directa del antimicrobiano o del transportador.
- Posibilidad que el vehículo de depósito tenga un efecto negativo en la cicatrización de la herida y que este actúe como un sitio de cultivo para una infección persistente.
- Reacción a cuerpo extraño o inhibir componentes de la respuesta inmune como las proteínas tardías del complemento, linfocitos periféricos y PMN.
- Requerimiento de una cirugía para la remoción del implante, de ser no absorbible, siendo ésta difícil debido a la encapsulación fibrosa que sufre el implante.
- La concentración de antimicrobianos disminuye por debajo de la CIM, predisponiendo a la aparición de resistencia bacteriana dependiendo del tipo de transportador.

- La administración de antimicrobianos via sistémica podría ser igual de todas maneras la apropiada.

7.3 Resistencia Bacteriana.

La resistencia a los antimicrobianos representa una amenaza importante para el uso exitoso y continuo de agentes antimicrobianos para el tratamiento de infecciones bacterianas (Maddox y col. 2015).

Esta se define como la capacidad que tienen las bacterias de soportar los efectos antimicrobianos, es decir, es la aparición de cepas refractarias al efecto bactericida o bacteriostático del fármaco (Durich, 2000). De esta forma, los microorganismos pueden clasificarse en “resistentes” o “susceptibles” en función de la CIM que presenten frente a cada antimicrobiano, una medida cuantitativa del grado de resistencia. En algunos casos aparecen bacterias que no son susceptibles a varios antimicrobianos, por lo que se denominan multirresistentes (MDR o multi-drug-resistant) (Ruiz-Garbajosa y Canton 2017) o extremadamente resistentes (XDR o extensively drug resistant).

La resistencia surge como un proceso de adaptación natural, cuando una población microbiana se expone a un antimicrobiano éste afectará a los individuos más sensibles, haciendo que aquellos resistentes puedan llegar a transmitir los mecanismos de resistencia (OMS, 2000). Por lo tanto las cepas resistentes son las que predominan por la presión selectiva de los antimicrobianos, proceso que se ve acelerado por el mal uso y el abuso de los antimicrobianos, tanto en humanos como en animales (OMS, 2017). Sin embargo, los antimicrobianos no solo matan a las bacterias sensibles y seleccionan a las resistentes, sino que también pueden contribuir directamente a los mecanismos de variación genética (mutación, recombinación, transposición e intercambio de genes) (Alós, 2015).

7.3.1 Mecanismos de Resistencia.

Gran parte de la investigación de la resistencia a los antimicrobianos y sus mecanismos se ha centrado en el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SAMR). Pero en muchas otras especies de bacterias se encuentra resistencia antimicrobiana clínicamente significativa, especialmente en los microorganismos Gram-negativos de las Enterobacteriaceae, como *Escherichia coli* (Maddox, 2015). Los agentes antimicrobianos funcionan mediante la interrupción de funciones metabólicas específicas dentro de las células bacterianas. Hay 4 objetivos principales para la acción antimicrobiana; 1) interrupción de la síntesis de la pared celular, 2) inhibición de la síntesis de ADN/ARN, 3) inhibición de la biosíntesis de proteínas y 4) interferencia con una vía metabólica específica (Neu, 1992).

Maddox (2011) ha estudiado los mecanismos a través de los cuales las bacterias pueden lograr resistencia a los antimicrobianos, dichos mecanismos se agrupan en 3 categorías principales: protección o modificación del sitio de acción de los antimicrobianos; exclusión del agente antimicrobiano del interior

de la célula mediante la permeabilidad celular reducida o la expulsión de la bomba de salida; y producción de enzimas inactivadoras antimicrobianas (Tenover, 2006). Los mecanismos de resistencia pueden ser intrínsecos a las bacterias porque surgen de un rasgo particular común a todas las bacterias de ese grupo o representan mecanismos adquiridos que se encuentran solo en algunos miembros de un género o especie como consecuencia de alguna alteración en el genoma bacteriano.

La resistencia adquirida puede surgir por medios endógenos a través de mutaciones en los genes cromosómicos, pero a menudo se logra de forma exógena mediante la adquisición horizontal de elementos genéticos extraños. El material genético transferible involucrado en la resistencia exógena puede comprender genes de resistencia codificados en plásmidos, cassetes de genes vinculados a integrones, transposones y otros componentes genéticos móviles (Roupas y Pitton, 1974; Hall y Collis, 1995; Maddox, 2015).

Tanto las bombas para el flujo de salida del fármaco, las enzimas para la inactivación antimicrobiana, las alternativas del sitio de acción del antimicrobiano y en ocasiones los factores que proporcionan protección para la acción molecular pueden estar codificadas por estos elementos genéticos (Heikkilä, y col. 1990; De Jonge y col. 1992; Maddox, 2015).

El intercambio exógeno de material genético puede tener lugar entre diferentes cepas de la misma especie o incluso entre géneros, y puede ocurrir a través de la transformación bacteriana (incorporación de ADN exógeno de bacterias muertas), conjugación (transferencia de plásmidos) o transducción (ADN transferido por bacteriófagos virales que infectan las bacterias). Independientemente de su origen específico, los mecanismos de resistencia a los antimicrobianos adquiridos son de particular preocupación ya que permiten la aparición y la rápida diseminación de la resistencia en poblaciones bacterianas previamente susceptibles. La mayoría de los mecanismos de resistencia antimicrobiana reconocidos se han documentado en aislamientos bacterianos equinos (Maddox, 2015).

8 SISTEMAS TRANSPORTADORES DE ANTIMICROBIANOS.

La medicina, tanto humana como veterinaria, ha intentado desde siempre avanzar en los tratamientos de las diferentes condiciones de los pacientes. El uso de diversos biomateriales se utiliza para variados fines; prótesis, transportadores de sustancias, estimuladores de crecimiento óseo y otros se usan en la actualidad (Invernizzi 2014).

8.1 Clasificación de Biomateriales (Tsourvakas, 2012).

I. Según la composición química:

- a) Metales.
- b) Polímeros.
- c) Cerámicas.
- d) Materiales compuestos (composites).

II. Según la respuesta biológica tras ser implantado:

- a) Biotolerables: Estos son encapsulados mediante una capa de tejido fibroso conjuntivo. (Polimetilmetacrilato –PMMA-, acero inoxidable, aleaciones de Cromo-Cobalto).
- b) Bioinertes: La superficie del material, recubierta por una capa de óxido estable, presenta contacto directo con el hueso sin tener efecto en la osteogénesis. (Alúmina, circonia, titanio).
- c) Bioactivos: Se produce un enlace químico directo con el hueso circundante. (Cerámicas de fosfato de calcio, cerámicas de óxidos de silicio o biovidrios).
- d) Biodegradables o no Biodegradables: Si el material se descompone mediado por un sistema biológico o no. (Colágeno, Ácidos polilácticos).

8.1.1 Transportadores.

Según la bibliografía (Tsourvakas, 2012) la creciente necesidad de administración local de medicamentos se reconoce desde hace muchos años. Durante las últimas décadas se han utilizado diferentes formas de administración local de antimicrobianos. La forma más común y sencilla era distribuir el fármaco en forma de polvo sobre el área de la herida después de un extenso debridamiento y antes del cierre de la herida (Rushton, 1997).

En consecuencia a esto, se logran altas concentraciones locales durante un corto período de tiempo que pueden resultar en daño tisular. Otro método fue aplicar antimicrobianos en forma líquida por inyección o irrigación para extender la efectividad por perfusión continua. Sin embargo, este método requiere mucha mano de obra y requiere personal de enfermería experimentado para evitar fugas y obstrucciones del drenaje. Además en 1991 Perry y Pearson describen el uso de bombas implantables que se pueden rellenar por vía percutánea. Un método adicional utilizado fue empapar la gasa de algodón o el material en base de lino quirúrgico con el antimicrobiano y dejarlo en la herida hasta el cierre final. Este procedimiento se utiliza aún en

muchos países para minimizar el riesgo postoperatorio de infección, por ejemplo en heridas abdominales sucias o en pacientes traumatizados.

Aunque aun no se ha descubierto el sistema local ideal de administración de antimicrobianos, varios materiales prometedores están presentes en la investigación moderna. Los sistemas transportadores de antimicrobianos más comunes que liberan con éxito el medicamento de acuerdo con la dosis prescrita se enumeran en la Tabla 1.

TRANSPORTADOR	ANTIMICROBIANO
PMMA	Vancomicina Tobramicina Cefazolina Ciprofloxacina Gentamicina Amikacina Cefuroxima Metronidazol Ceftiofur Penicilina Eritromicina Clindamicina Acido Fusídico Lincomicina Cefalexina Colistina
YESO/ SULFATO DE CALCIO	Gentamicina Tobramicina
HIDROXIAPATITA/ FOSFATO DE CALCIO HUESO MOLIDO	Gentamicina Amikacina Ceftiofur Tobramicina
COLAGENO	Gentamicina Amikacina Tetraciclina
FIBRINA	Tetraciclina Gentamicina Ciprofloxacina Cefotaxime
CHITOSAN	Vancomicina Amikacina
PLGA/PLA/PGA	Gentamicina Polimixina B Vancomicina Tobramicina Clindamicina Cefazolina

Tabla 1. TRANSPORTADORES UTILIZADOS EN EL DEPÓSITO LOCAL DE ANTIMICROBIANOS Y ANTIMICROBIANOS UTILIZADOS.

Abreviaturas: PMMA: Polimetilmetacrilato. PLGA: Acido poliláctico-co-glicólico. PLA: Acido poliláctico. PGA: Acido poliglicólico. Adaptado de Tsourvakas, (2012).

Los transportadores de antimicrobianos son materiales de origen natural o sintético, a los que se impregna con una sustancia que es liberada en el lugar donde se implante este material.

La sustancia que se impregna en el transportador se libera del mismo por el principio de elución, definido por el Gran Diccionario de la Lengua Española (2016) como el *“proceso por el que se separan sustancias absorbidas por un cuerpo por medio de un lavado progresivo con un líquido apropiado”*.

En el caso de los transportadores de antimicrobianos, el principio de elución sucede por el líquido extracelular y la sangre que se ponen en contacto con el transportador, permitiendo que la sustancia absorbida sea liberada en tiempo y forma dependientes de las características del transportador utilizado (Invernizzi 2014).

Los transportadores de antimicrobianos utilizados para el suministro local de estos agentes pueden clasificarse como no biodegradables y biodegradables (Kanellakopoulou y Giamarellos-Bourboulis, 2000).

Un representante importante del grupo de no biodegradables son el cemento óseo o polimetilmetacrilato (PMMA), mientras que el grupo de los biodegradables lo podemos sub dividir según su origen en naturales como el colágeno, o sintéticos como los polímeros de la lactida y glicolida (Invernizzi, 2014)

El cemento de PMMA, más utilizado en forma de perlas de polimetilmetacrilato (PPMM) fue aprobado para su uso en el tratamiento de la osteomielitis (Seligston y col. 1993; Klemm, 2001; Invernizzi, 2014) y representa el actual estándar de oro para el depósito local de antimicrobianos en procedimientos quirúrgicos ortopédicos en humanos (Nelson, 2004).

Este material ha demostrado ser eficaz, pero tiene el inconveniente de necesitar una nueva intervención quirúrgica para retirarlo una vez cumplida su función. La remoción quirúrgica es usualmente más complicada que la implantación porque el tejido cicatrizal y las adherencias pueden llevar a una infección posquirúrgica, debido tanto a la condición local como sistémica del

paciente. Además el segundo procedimiento tiene el riesgo de las complicaciones anestésicas e inferir costos extras (Hanson, 2018). En un estudio realizado en el año 2001 Neut y col. demostraron que a pesar de la liberación de antimicrobiano, las PPMM actuaban como una superficie a la cual las bacterias se podían adherir, crecer y desarrollar resistencia al antimicrobiano.

Una alternativa a la utilización de estos sistemas, son los sistemas de tipo biodegradables aptos para el transporte de antimicrobianos cuya principal ventaja es la de no necesitar remoción del sitio de implantación una vez finalizada la liberación de la droga. Estos se degradan en el sitio que son colocados y han demostrado ser efectivos en el control de infecciones óseas y de tejidos blandos (Garvin y col., 1994; Summerhays 2000; Gursel y col., 2001; Zulauf y col., 2001; McDuffee 2012; Invernizzi 2014).

Los implantes biodegradables sintéticos pueden brindar altas concentraciones de antimicrobianos en el tejido por un período de tiempo suficiente para erradicar de forma completa la infección; y hacer coincidir la tasa de biodegradación del implante con el tipo de infección a tratar (Kanellakopoulou y Giamarellos-Bourboulis, 2000), controlar la magnitud y duración del depósito de antimicrobiano, obliterar el espacio muerto y guiar su reparación.

Otros métodos incluyen el agregado de antimicrobianos a injertos óseos y sustitutos óseos (Shinto y col., 1992; Witso y col., 2000; Li y Hu, 2001) u otros polímeros de origen natural cuya superficie es impregnada del antimicrobiano y luego es liberado en la herida, como por ejemplo el colágeno.

La efectividad de tales dispositivos es fuertemente dependiente de la tasa y la forma en que la droga es liberada (Wu y col., 2006). Estas características son determinadas por la matriz dentro de la cual el antimicrobiano será cargado, el tipo de droga y su tasa de depuración. Si la droga se libera muy rápido, toda la droga puede ser liberada antes que se controle la infección; si la liberación es retrasada, la infección se puede iniciar más adelante haciendo de esta manera más difícil el manejo de la herida (Zilberman y col., 2008; Invernizzi ,2014).

SUSTANCIA	APLICACIÓN Y COMENTARIO	VENTAJAS	DESVENTAJAS
PMMA	Elución no biodegradable de medicamentos. Bimodal 5% de la carga liberado durante las primeras 24 hs, seguido por un período prolongado de liberación lenta (semanas a meses).	Amplia experiencia clínica en medicina humana y veterinaria. Mezcla simple con varios antimicrobianos.	Cirugía secundaria para remoción de biosuperficie bacteriana. Riesgo de propagar cultivo de microorganismos resistentes.
PLGA	Tiempo de degradación depende del peso molecular y la proporción de lactida/glicolida. Procedimientos variables para cargar la droga (micro encapsulación, sinterización de la mezcla, aparatos creados <i>in-situ</i>). Liberación bimodal con hasta el 50% de liberación inicial dentro de las primeras 24 horas.	Puede ser formulado para un uso específico. Amplia experiencia clínica en tejidos. Compatibilidad de la sustancia pura. Protección de la droga mediante epimerización y degradación por irradiación gama.	No hay protección al antimicrobiano de la hidrólisis prematura.
SULFATO DE CALCIO	Alta capacidad de liberación del antimicrobiano en las primeras 24 horas.	Características osteoconductoras y osteoinductivas.	No apta para uso en prótesis.
COLÁGENO	Tiempo de degradación depende de la perfusión (9 días a 3 meses).	Adaptación a la deformación, introducidas con éxito en articulaciones de	Potencial infección con prion de EEB no registrada en medicina

	Alta elución del fármaco de liberación inicial en tejido óseo por encima de la CIM.	equinos y vacunos con alta liberación inicial permitiendo eliminar los gérmenes y evitando la aparición de resistencia.	veterinaria. Inflamación intra articular asociada.
--	---	---	--

Tabla 2. TRANSPORTADORES: VENTAJAS Y DESVENTAJAS
 Abreviaturas: PLGA (ácido poli-láctico-co-glicólico), PMMA (Polimetilmetacrilato), EEB (encefalopatía esponjiforme bovina) (Adaptado de Haerdi-Landerer y col., 2010)

9 EL SISTEMA DE LIBERACIÓN IDEAL.

- Debe poder lograr altos niveles de antimicrobiano en el sitio de infección y niveles seguros de la droga en la circulación sistémica, por debajo de los niveles tóxicos.
- Se debe conocer la curva de elución del antimicrobiano respecto a los factores que la influyen y el sistema de liberación local más adecuado para el ambiente en que el material va ser colocado.
- Estos materiales deben ser fácilmente implantables, removibles o intercambiables, cómodos para el paciente y de bajo costo.

El sistema ideal de liberación local de antimicrobiano proveerá una forma más eficiente de liberación de altos niveles de antimicrobiano al sitio de infección, minimizando el riesgo de toxicidad sistémica asociada con los métodos tradicionales (Hanssen, 2005; Invernizzi, 2014).

10 SELECCIÓN DEL ANTIMICROBIANO.

Para elegir el antimicrobiano de forma apropiada, es fundamental comprender la microbiología de las infecciones de hueso y tejidos blandos.

El hueso normal es altamente resistente a infecciones, aunque estas pueden desarrollarse como resultado de un trauma, gran cantidad de inóculo, presencia de material extraño o por vía hematógena. Por otro lado las infecciones en fracturas que han sido quirúrgicamente reparadas se deben a una herida abierta en la piel antes de la cirugía y la contaminación del sitio quirúrgico durante la cirugía o por la incisión quirúrgica, la cual es una fuente de contaminación para los sitios de fractura de especial importancia en los

equinos. Esto se debe a que presentan muy poco tejido blando cubriendo los huesos y articulaciones distales de los miembros (Auer, 2019).

Independientemente del avance en las cirugías, la fabricación de prótesis y de las condiciones asépticas logradas en los quirófanos las infecciones asociadas a traumas mayores o cirugías son todavía inevitables.

De formarse un biofilm, éste difícilmente es penetrable por el antimicrobiano administrado en forma sistémica resultando a menudo en una recaída de la infección. Se necesitan concentraciones muy altas de antimicrobianos para erradicarlas, difícilmente alcanzadas por las rutas convencionales de depósito sin tener serios efectos secundarios (Fux y col., 2005; Invernizzi 2014).

Debido a la variedad de patógenos involucrados en las infecciones músculo esqueléticas, se deben tomar muestras adecuadas para realizar cultivos microbiológicos y test de susceptibilidad. Mientras se esperan los resultados, la selección del antimicrobiano inicial puede ser tomada en base a las características del caso clínico y estudios retrospectivos (Cruz y col., 2006). En equinos neonatos sépticos las infecciones por gram negativos como la *E. coli*, *Klebsiella spp*, *Salmonella spp*. y *Actinobacillus spp*. son las predominantes (Steel y col., 1999, Meijer y col., 2000).

Las heridas traumáticas son usualmente contaminadas e infectadas con *Streptococcus zooepidermicus*, *E. coli*, *Enterobacter spp*, y otros oportunistas gram negativos (Meijer y col., 2000, Clark y col., 2004). Las infecciones en articulaciones de origen iatrogénico por inyecciones o incisiones comunmente son causadas por *S. aureus* y *S. aureus* resistente a la meticilina, y son una preocupación en las infecciones articulares en equinos (Clark y col., 2004; Weese y col., 2005; Baxter 2014).

10.1 Tipos de Antimicrobianos.

Uno de los grupos más importantes de agentes antimicrobianos en medicina veterinaria son los antimicrobianos β -lactámicos. Estos agentes antimicrobianos se pueden dividir en diferentes grupos: penicilinas, cefalosporinas, carbapenemas, cepamicinas, monobactamas e inhibidores de la β -lactamasa. Solo las penicilinas, las cefalosporinas de primera a cuarta generación y los inhibidores de la β -lactamasa se usan con frecuencia en medicina veterinaria (Boyen y col. 2012)

La penicilina, ampicilina y el ceftiofur son antimicrobianos altamente eficaces contra *S. zooepidermicus* y la mayoría de bacterias gram positivas encontradas en infecciones de los equinos (Cruz y col., 2006). Además de la penicilina, la trimetoprim-sulfonamida o una combinación de ambas, a menudo se usan de forma empírica para tratar infecciones agudas y/o superficiales de heridas mientras se esperan los resultados del cultivo y antibiograma (Hanson, 2018).

En equinos las cefalosporinas de primera generación y la amoxicilina/clavulanato son antimicrobianos que pueden utilizarse en la terapia empírica debido a su espectro contra los gram positivos y anaerobios, y su capacidad para alcanzar elevadas concentraciones en el hueso y líquido sinovial. La desventaja que tiene es su alto costo. (Cortes 2007).

El cefepime es una cefalosporina de cuarta generación con una gran actividad contra gram negativos, pareciera ser posible su uso intravenoso en potrillos sépticos (Gardner y col., 2001) pero está asociado con efectos adversos gastrointestinales en caballos adultos (Guglick y col., 1998).

Los carbapenemas como el imipenem y meropenem tienen el más amplio espectro antibacterial que cualquier otro grupo de antimicrobianos. Son altamente resistentes a la mayoría de las lactamasas, siendo el meropenem el que tiene mejor actividad frente a *Pseudomona spp.* y Enterobacterias (Bidgood y Papich, 2002). Su amplio espectro de acción es atribuible a su capacidad de penetrar en la bacteria, su estabilidad hacia las betalactamasas y su afinidad por las proteínas de los puentes específicos de penicilina que causan la lisis bacteriana (Bidgood y Papich, 2002). Estos son los nuevos agentes más potentes contra cocos gram positivos anaerobios; y donde el 90% de los organismos gram negativos son susceptibles incluyendo a otros microorganismos resistentes a los β -lactámicos y aminoglucósidos.

Las carbapenemas se usan ocasionalmente en caballos con infecciones que amenazan la vida y cuando el antibiograma han mostrado resistencia a todos los demás antimicrobianos (Orsini y col., 2005; Guardabassi y col., 2008; Kelmer y col., 2012).

El imipenem es metabolizado por los túbulos renales a un compuesto potencialmente nefrotóxico, es por este motivo, que se combina con la cilastatina que inhibe las enzimas de los túbulos renales. El producto combinado evita la toxicidad renal, alcanzando altas concentraciones del metabolito activo en orina.

En perros, el meropenem, causa pocos efectos secundarios gastrointestinales y no es nefrotóxico o neurotóxico (Bidgood y Papich, 2002; Orsini y col., 2005). Además, tiene menos efectos adversos y puede ser administrado en forma intravenosa en concentraciones mayores que el imipenem, característica que lo hace útil para la perfusión regional en equinos. Los parámetros farmacocinéticos del imipenem administrado en forma sistémica han sido descritos en caballos (Orsini y col., 2005).

Los aminoglucósidos son bien tolerados cuando son administrados a través de métodos de depósito local, lo que reduce los costos y evita la toxicidad sistémica (Mattson y col., 2004).

La resistencia de las bacterias gram negativas disminuyó la utilización de gentamicina, si bien ésta droga sigue siendo eficaz frente a *Staphylococcus* y

Streptococcus. La amikacina, aunque más efectiva que la gentamicina contra las bacterias gram negativas y *Staphylococcus*, tiene poca actividad frente a *Streptococcus* y no debe utilizarse como agente único en el tratamiento de heridas (Clark y col., 2004).

En las heridas de los equinos, incluidas las que afectan a las cavidades sinoviales, suelen tratarse mejor con un antimicrobiano betalactámico junto con un aminoglucósido como el sulfato de gentamicina o el sulfato de amikacina, ya que las infecciones suelen ser polimicrobianas (Hanson, 2018).

Las fluoroquinolonas, como la Enrofloxacin, tienen una excelente actividad frente a *Staphylococcus* y gram negativas, incluyendo a la *Pseudomona*, pero su actividad frente a *Streptococcus* y *Enterococcus* es variable. Por el potencial de las fluoroquinolonas a causar daño al cartílago su uso en forma sistémica no está recomendado en animales en crecimiento, aunque se haya utilizado con éxito. Los sistemas de depósito local son una ventaja para esta desventaja particular, ya que su aplicación en forma local no permite que esto suceda. La enrofloxacin ha sido autorizada para uso en pequeñas especies y ganado vacuno. En equinos se utiliza aunque no haya sido aún aprobada, usando las vías intravenosa y oral; ésta no está recomendada en equinos jóvenes y yeguas gestantes debido a que causa lesiones en el cartílago articular y afecta el desarrollo del hueso (Cortes 2007). Sin embargo en un trabajo realizado por Murray (1984) se utilizó este antimicrobiano con éxito sin observar daño al cartílago.

Existen una gran cantidad de antimicrobianos disponibles para su uso con transportadores, sin embargo para Rushton (1997) según el criterio mencionado anteriormente y por los hallazgos bacteriológicos en el hueso y tejidos blandos infectados, los antimicrobianos más apropiados para un sistema de depósito local son los aminoglucósidos, algunos agentes β -lactámicos y las quinolonas.

Consideraciones sobre la selección del antimicrobiano para un sistema de depósito local: (Popham y col., 1991; Invernizzi, 2014).

- Debe ser estable a temperatura corporal y soluble en agua para permitir la difusión desde el transportador.
- Debe ser de amplio espectro, activo contra la mayoría de las bacterias patógenas más comúnmente involucradas en las infecciones de hueso y tejidos blandos; debiendo estar basada su elección a un antibiograma.
- Ser liberado en concentraciones que excedan la CIM para los patógenos que afecte.
- No introducirse a la circulación general.
- Tener una baja tasa de hipersensibilidad.
- Presentar una baja tasa de resistencia primaria.

- No producir una infección sobreagregada.
- Ser estable con el transportador.
- Ser termoestable, debido a que la polimerización es exotérmica, para las drogas que van a ser usadas en perlas de PMMA.
- Deben estar protegidos de la degradación prematura por el transportador.

Independientemente del tipo de antimicrobiano a elegir, se debe prever que la CIM para los microorganismos asociados al proceso infeccioso debe ser lograda y mantenida por un período de tiempo, para lograr una terapia satisfactoria.

Algunas de las CIM de diferentes antimicrobianos para diferentes bacterias son expuestas en las siguientes tablas:

ANTIMICROBIANO	CIM ($\mu\text{g/ml}$)	INTERPRETACION
Bencilpenicilina	0.125	Sensible
Gentamicina	0.5	Resistente
Eritromicina	0.5	Sensible
Vancomicina	1.0	Sensible
Ciprofloxacina	0.5	Resistente
Rifampicina	0.063	Sensible

n = S/D

Tabla 3. Análisis de CIM de diferentes antimicrobianos para la interpretación de Sensibilidad y Resistencia para *Enterococos* spp. y *Esfafilecocos* spp. por el "Centro Nacional de Referencia de Estafilococos y Enterococos" del Instituto Robert Koch en Alemania; Adaptado de Bemis y col. (2017).

ANTIMICROBIANO	CIM Minima	CIM Maxima	%Suceptbilidad
Ceftazidime	0.125	256.000	99.3
Gentamicina	0.125	256.000	96.4
Amikacina	0.125	512.000	96.4
Meropenem	0.012	16.000	100.0
Ciprofloxacina	0.016	6.000	98.6

Tabla 4. Análisis de CIM de diferentes antimicrobianos para la interpretación de % de Susceptibilidad para *Pseudomona aeruginosa*. Datos en miligramos por litro, n = 140. Adaptado de Sueke y col., (2010).

ANTIMICROBIANO	CIM Minima	CIM Maxima	%Suceptbilidad
Cefuroxime	0.190	512.000	42.9
Ceftazidime	0.023	512.000	98.7
Gentamicina	0.008	48.000	98.7
Amikacina	0.094	8.000	100.0
Meropenem	0.008	0.380	100.0

Tabla 5. Análisis de CIM de diferentes antimicrobianos para la interpretación de % de Susceptibilidad para Enterobacteriaceae. Datos en miligramos por litro, n= 77. Adaptado de Sueke y col., (2010).

ANTIMICROBIANO	CIM Minima	CIM Maxima	%Suceptbilidad
Penicilina	0.008	1.500	77.6
Cefuroxime	0.008	512.000	98.5
Vancomicina	0.250	1.500	100.0
Ciprofloxacina	0.250	4.000	86.6
Meropenem	0.002	0.380	100.0

Tabla 6. Análisis de CIM de diferentes antimicrobianos para la interpretación de % de Susceptibilidad para Streptococcus. *Datos en miligramos por litro. n = 67. * Incluye a 42 *Streptococcus a hemolítico*, 18 *S. pneumoniae*. Adaptado de Sueke y col., (2010).

10.2 Actividad y Fracaso de la Terapia Antimicrobiana.

La relación que existe CIM: CIMBP es una buena guía para evaluar la efectividad. Los antimicrobianos dependientes de la concentración, como los aminoglucósidos y las fluoroquinolonas, deberían tener un nivel de concentración máxima de fármaco en plasma (Cmax)/CIM superior a 10-12 en el sitio de la infección, por lo tanto, la eficacia de los antimicrobianos tiempo dependientes tales como β -lactámicos se predice mejor para el momento en que $C_{max} > CIM$. Ésto debería ser 50-100% del intervalo de dosificación, dependiendo del agente antimicrobiano y el patógeno objetivo (Booth, 2010). Los objetivos no siempre pueden alcanzarse con las dosis estándar de antimicrobianos o los intervalos de dosificación y se necesita más investigación.

Además la duración adecuada de la terapia con antimicrobianos a menudo está mal establecida. Estudios realizados recientemente que investigan este

problema muestran una tendencia hacia la identificación de ciclos más cortos para que tengan una eficacia equivalente (Roblot y col. 2007; Westropp y col. 2012; Sandberg y col. 2012;).

Las razones biológicas del fracaso de los tratamientos antimicrobianos pueden clasificarse en tres grupos: 1) el medicamento no alcanza su objetivo, 2) el medicamento no está activo contra el patógeno a actuar o 3) el patógeno a actuar está alterado (Li, 2004).

La penetración de los antimicrobianos en los sitios de infección casi siempre depende de la difusión pasiva y, por lo tanto, es proporcional al gradiente de concentración de conducción; para los fármacos antimicrobianos administrados sistémicamente se exige una buena perfusión vascular al sitio infeccioso. La membrana externa de las bacterias gramnegativas es una barrera semipermeable en la que están incrustados canales de proteínas de porina que restringen la entrada en la célula de pequeñas moléculas polares como los antimicrobianos (Chambers, 2006). La ausencia o mutación de los canales de porinas puede prevenir la entrada de antimicrobianos, lo que reduce la concentración del fármaco en el sitio objetivo; los antimicrobianos betalactámicos dependen de este mecanismo de entrada a las bacterias (Hayes y col. ,2013).

Para antimicrobianos que requieren el transporte activo a través de la membrana celular, una mutación existente que provoque el cierre de este mecanismo puede causar resistencia. Por ejemplo, el transporte de gentamicina depende de la energía generada por las enzimas respiratorias durante la fosforilación oxidativa (Chambers, 2006).

Una mutación en la enzima específica o las condiciones anaeróbicas retarda la entrada de Gentamicina en la bacteria, generando resistencia. Los antimicrobianos también pueden ser transportados fuera de la célula mediante bombas de flujo de salida y la resistencia a numerosos antimicrobianos está mediada por este mecanismo, ejemplo son los casos del Cloranfenicol, las fluoroquinolonas y los betalactámicos (Hooper, 1999; Chambers, 2006).

La inactivación de los medicamentos antimicrobianos es el segundo mecanismo general del fracaso de los tratamientos. El contenido de pus puede unirse a los antimicrobianos, lo que reduce la fracción de fármaco activo en forma libre. Las bacterias diana pueden producir enzimas modificadoras de antimicrobianos, por ejemplo, las beta-lactamasas (Hayes y col. ,2013). El tercer mecanismo de resistencia de los antimicrobianos es la alteración de la bacteria diana, por ejemplo, una mutación en el dominio en la unión de la enzima ADN girasa en el caso de las fluoroquinolonas (Hooper, 1999).

Si bien el margen terapéutico para los antimicrobianos sistémicos está relativamente bien establecido, ningún sistema equivalente se aplica a los

antimicrobianos de administración local en el sitio de la herida quirúrgica o utilizados para recubrir implantes u otros dispositivos. Las concentraciones de antimicrobianos alcanzadas localmente pueden ser mucho más altas que las que típicamente se obtienen de la administración sistémica y, por lo tanto, los criterios de antibiogramas y CIMBP no son aplicables (Hayes y col., 2013).

La modificación en la concentración del fármaco con el tiempo o la farmacocinética de la terapia local también es muy diferente a la terapia sistémica, con un perfil típicamente caracterizado por el rápido inicio de un único pico de concentración seguida de una fase de eliminación variable. Por lo tanto, la dosis administrada puede ser más sostenida que la administrada por la vía sistémica. También existe la posibilidad de que la terapia con antimicrobianos locales comprometa el entorno de la herida, ya sea por un efecto citotóxico directo o por la introducción de un vehículo de administración que persiste mucho después de que los antimicrobianos se hayan disipado (Rathbone y col., 2011)

El propio transportador, particularmente si no es de tipo biodegradable, puede actuar como un implante y posteriormente colonizar bacterias. Así como potenciar la aparición de resistencia antimicrobiana, existen trabajos realizados en PPMM con antimicrobianos que contribuyen a la aparición de estafilococos resistentes a la gentamicina (Anagnostakos y col., 2008). Por lo tanto el espectro antimicrobiano es a menudo incompleto, la opción de administrar dosis muy altas de forma local y combinar la terapia local con la aplicación adicional de antimicrobianos de forma sistémica aumenta las chances de resolver este problema (Haerdi-Landerer y col., 2010).

En la siguiente tabla se enumeran algunas ventajas e inconvenientes de los antimicrobianos utilizados en formulaciones de liberación lenta

ANTIMICROBIANO	APLICACIÓN Y COMENTARIO	VENTAJAS	DESVENTAJAS
GENTAMICINA	Bactericida. Se une a la subunidad 30S ribosomal. Utilizado en muchas formulaciones para liberación lenta como PMMA y esponjas de colágeno. Concentración actividad	Amplia experiencia clínica. Estable al calor. Estable en medios acuosos. Amplio espectro de acción, particularmente contra bacterias Gram negativas pero	Nefrotóxico, ototóxico. No tiene actividad contra bacterias anaeróbicas.

	dependiente	también Gram positivas.	
AMIKACINA	Similar a la gentamicina con menos cepas resistentes.	Liberación lenta con PPMM.	No tiene actividad contra bacterias anaeróbicas.
CEFALOSPORINAS	Bactericida. Inhibe la síntesis de pared celular. Actúa contra bacterias <i>Gram</i> negativas. Actividad tiempo dependiente.	Buen espectro de actividad incluyendo <i>Gram</i> positivos y gérmenes anaeróbicos. Buena compatibilidad de tejidos.	Inestable en medios acuosos.
QUINOLONAS	Bactericida. Inhibe de la ADN-girasa y topoisomerasa IV bacterianas.	Actividad frente a <i>S. aureus</i> resistente a la meticilina cuando son utilizados en forma local.	Condrotóxicos.
ERITROMICINA	Bacteriostático. Unión a subunidades 50s ribosomal.	Buena actividad contra <i>S. aureus</i> en piel y tejido blando.	El sitio de acción del anillo de la lactona es inestable en medios acuosos.
VANCOMICINA	Bactericida. Inhibe la síntesis de pared celular.	Actividad contra <i>S. aureus</i> resistente a la meticilina. Pocos problemas de resistencia.	Nefrotóxico. Ototóxico. Espectro de acción solamente contra bacterias <i>Gram</i> positivas.

TABLA 7. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE ALGUNOS ANTIMICROBIANOS UTILIZADOS EN FORMULACIONES DE LIBERACIÓN LENTA Adaptado de Haerdi-Landerer y col. (2013).

10.3 Sulfato de Gentamicina como Antimicrobiano Ideal.

El sulfato de gentamicina (C₂₁H₄₃O₇) es un complejo aminoglucósido producido por la fermentación de *Micromonospora purpurea* o *M. echinospora*, utilizado como la sal de sulfato (Rosenkrantz Y Col., 1981; Khan y Line, 2007). Se trata de un antimicrobiano de amplio espectro y que presenta su acción por inhibir el crecimiento de una amplia variedad de microorganismos gram-positivos y gram-negativos, incluyendo especies resistentes a la tetraciclina, cloranfenicol, canamicina, y colistina; especialmente las *Pseudomonas* spp., *Proteus* spp. , *Staphylococcus* spp. y *Streptococcus* spp. (Korzybski y col., 2013).

Es el antimicrobiano que cumple con la mayoría de los requisitos para ser utilizada como droga para depósito local (Ruszczak, 2003; Invernizzi, 2014).

El sulfato de gentamicina inhibe la síntesis proteica bacteriana por conexión a la subunidad ribosomal 30S, llevando al error de lectura del ARN mensajero ocasionando la muerte celular (Korzybskiy col., 2013; Amsterdam, 2015).

Este producto es altamente soluble en agua (50 mg / ml), prácticamente insoluble en alcohol y otros disolventes orgánicos. Estable a temperatura ambiente y en pH 6 a 8, con estructura polar catiónica lo que impide su absorción oral y dificulta su penetración intracelular (Rosenkrantz Y Col. 1981; Oliveira y Col., 2006; Martindale, 2011).

Los antimicrobianos aminoglucósidos desde su descubrimiento en la década del 40, forman parte de un importante acervo terapéutico antibacteriano. Reciben este nombre por ser compuestos básicamente por azúcares aminados y resultan en un pKa superior a 9,0 (Almeida y col., 2014).

A partir del aislamiento de la estreptomina en 1943 en una cepa de *Streptomyces griseus*, donde producía una sustancia que inhibía el crecimiento de diversos microorganismos Gram-positivos y Gram-negativos, incluyendo al bacilo causante de la tuberculosis, fue posible aislar una gran cantidad de nuevas sustancias con grandes potenciales antibacterianos (Oliveira y col., 2006).

Los aminoglucósidos actúan contra bacterias gram negativas aeróbicas, su acción es concentración-dependiente y presentan un efecto post antimicrobiano (EPA). Esta actividad concentración-dependiente, describe el principio bactericida que aumenta a medida que la concentración aumenta. Mientras que el EPA refleja la supresión del crecimiento bacteriano luego de que la concentración del antimicrobiano cae por debajo de la CIM.

El EPA puede ser específico para una bacteria así como específico de una droga, siendo para los aminoglucósidos corto para la mayoría de los organismos gram positivos (<2hs) y más largo para los gram negativos (2-7hs) (Ruszczak, 2003; Invernizzi ,2014).

En el caso de las células microbianas, se debe tener en cuenta que la acción antimicrobiana se produce principalmente en medio aeróbico y en pH alcalino, dado que requiere oxígeno para el transporte activo en las células microbianas siendo más activo en medio alcalino que ácido (Oliveira y col., 2006; Gemeinder,2016), por lo tanto este antimicrobiano se puede utilizar en el tratamiento de infecciones del tracto biliar, endocarditis, meningitis, otitis media y externa, septicemia, infecciones de la piel causadas por quemaduras o

causada por úlceras (producidas por *Pseudomonas* spp. y otros organismos gram negativos), infecciones del tracto urinario (pielonefritis aguda).

La gentamicina puede aplicarse tópicamente para el tratamiento de infecciones locales, como en la mayoría de los casos comentados anteriormente. Como desventaja el sulfato de gentamicina, cuando se utiliza en altas concentraciones y durante un largo período de tiempo, promueve serios problemas de toxicidad (Oliveira y col., 2006;).

Altas concentraciones tisulares son encontradas en la corteza renal, la endolinfa y perilinfa del oído interno y es a esta acumulación particular, que se le atribuye la nefrotoxicidad y ototoxicidad al antimicrobiano (Aran y col., 1999). Tras su absorción por medio intracelular, sus efectos tóxicos más relevantes son nefrotoxicidad, ototoxicidad y bloqueo neuromuscular. Sin embargo, su uso se hace importante por el amplio espectro de acción ante las bacterias Gram-negativas y Gram-positivas, y bajo costo en relación a otras clases de antimicrobianos de igual efectividad (Almeida y Wagner, 2014).

En consecuencia el amplio espectro de acción, del aminoglucósido sulfato de gentamicina, se configura como uno de los antimicrobianos más extensamente utilizados en dispositivos de liberación controlada, además de su solubilidad y estabilidad a altas temperaturas (Gemeinder, 2016).

11 PRINCIPALES SISTEMAS BIODEGRADABLES UTILIZADOS EN EQUINOS.

La utilización de sistemas biodegradables como transportadores, tiene como principal ventaja evitar la remoción del implante una vez que el antimicrobiano ha sido liberado.

Estos sistemas biodegradables, tienen la característica de proveer altas concentraciones locales de antimicrobiano en los tejidos por el tiempo necesario para controlar la infección. Pudiendo también utilizarse en principio, para obliterar el espacio muerto y dirigir la reparación tisular. Además la liberación de forma secundaria del antimicrobiano puede ocurrir durante la fase donde el transportador es degradado, la cual puede aumentar la eficacia antibacteriana en comparación con los transportadores no biodegradables (Tsourvakas, 2012; Invernizzi, 2014).

Según McLaren (2004), estos materiales fueron clasificados en cuatro categorías;

- a) Polímeros sintéticos.
- b) Materiales a base de proteínas (polímeros naturales).
- c) Injertos y sustitutos óseos.
- d) Materiales biodegradables misceláneos

Dentro de estas categorías, hay varios mecanismos de liberación del antimicrobiano, que está determinada por la absorción de la superficie y la tasa de liberación del mismo (Hanssen, 2005; Invernizzi, 2014).

En este ítem de la revisión bibliográfica haremos especial hincapié en los sistemas biodegradables de tipo naturales, como es en el caso del Colágeno, al ser ampliamente utilizado en equinos y pondremos como ejemplos algunos materiales que clasificamos anteriormente.

En las siguientes tablas se muestra la elución *in-vivo* e *in-vitro* de algunos agentes antimicrobianos de materiales de tipo biodegradables:

TRANSPORTADOR	ANTIMICROBIANO	DURACIÓN DE LIBERACIÓN (Días)
Esponja de Colágeno	Gentamicina	4
	Vancomicina	2
Injerto Oseo	Ciprofloxacina	7
	Vancomicina	7
Polimeros Sinteticos	Clindamicina	38-50
	Tobramicina	36-75
	Vancomicina	38-51
Hidroxiapatita	Gentamicina	90
Polilactato	Ciprofloxacina	51-350
Yeso paris	Gentamicina	14

TABLA 8. INFORMACIÓN RECABADA DE ESTUDIOS *IN-VITRO* DE ALGUNOS ANTIMICROBIANOS CARGADOS EN MATERIALES BIODEGRADABLES, Adaptado de Tsourvkas (2012).

TRANSPORTADOR	ANTIMICROBIANO	MODELO ANIMAL	DURACIÓN DE LIBERACIÓN (Días)
Esponja de Colágeno	Gentamicina	Conejo	56
Injerto Óseo	Ciprofloxacina	Ratón	3
	Vancomicina		7
Polímeros Sintéticos	Gentamicina	Canino	42
Hidroxiapatita	Gentamicina	Ratón	90

Tabla 9.DATOS DE ESTUDIOS *IN-VIVO* DE ALGUNOS ANTIMICROBIANOS CARGADOS EN MATERIALES BIODEGRADABLES, Adaptado de Tsourvkas (2012).

11.1 Colágeno.

El colágeno es estudiado intensamente por muchos investigadores con respecto a propiedades estructurales, físicas y químicas; debido a su condición de polímero natural para la administración de medicamentos de forma local. Es un componente natural importante del tejido conectivo y una proteína estructural importante en todo el organismo. Los biomateriales hechos de colágeno ofrecen diferentes ventajas, son biocompatibles y no tóxicos.

Los usos del colágeno dentro de la medicina son variados, pudiendo utilizarse como sustituto de tejidos y piel, agente hemostático, relleno de tejido y como transportador biológico de sustancias activas (Ruszczak y col., 2000a; Khan y col., 2011; Invernizzi, 2014).

No hay que dejar de comentar que desafortunadamente, el término colágeno no se usa frecuentemente en la bibliografía; en muchas publicaciones la gelatina, un producto derivado de colágeno degradado térmicamente que ha perdido muchas propiedades del colágeno original, también se denomina "colágeno". Las principales fuentes de colágeno son la piel de los animales o los tendones de Aquiles, en su mayoría bovinos o porcinos (Ruszczak, 2003), siendo posteriormente liofilizado para proveer una distribución uniforme de la droga (Khan y col., 2011; Hayes y col., 2014).

Como transportador de medicamentos es muy útil para ser utilizado en diferentes heridas, acelerando la formación del tejido de granulación y el proceso de epitelización. Así como también brindar protección al tejido en procesos infecciosos o aquellos que son re infectados, a través de la liberación de diferentes antimicrobianos (Zilberman y col., 2008; Khan y col., 2011; Invernizzi, 2014).

Es de gran efectividad en la prevención de infecciones en los sitios quirúrgicos (Chang y col., 2013; Invernizzi, 2014), pudiendo además utilizarse como adyuvante de vendajes para heridas (Zilberman y col., 2008; Invernizzi, 2014). Además de las esponjas de colágeno, existen otras presentaciones que van a ser comentadas mas adelante en esta revisión.

11.1.1 Estructura del Colágeno.

Astbury en 1938 fue el pionero en estudiar la estructura del colágeno y lo describió como una mezcla de unidades peptídicas Trans y Cis. La misma característica fue descrita también por Pauling y Corey en el modelo

propuesto por ellos en 1951, afirmando que este tenía tres hélices coaxiales; en India el grupo Ramachandran de Madras describió por primera vez una estructura de triple hélice para el colágeno (Khan R. y Khan MH., 2013).

La molécula de colágeno consiste en tres cadenas polipeptídicas trenzadas entre sí como en una cuerda de tres cadenas. Cada cadena tiene un giro individual en la dirección opuesta, las cadenas se mantienen unidas principalmente por enlaces de hidrógeno entre los grupos CO y NH adyacentes y también por enlaces covalentes. La estructura de triple hélice contiene tres aminoácidos básicos: glicina, prolina e hidroxiprolina; las hélices triples individuales o las moléculas de tropocolágeno, como a veces se las llama, están dispuestas para formar fibrillas que son de alta flexibilidad y resistencia a la tracción (Khan R. y Khan MH., 2013).

11.1.2 Colágeno como Transportador de Antimicrobianos.

Para su utilización como transportador de depósito local de antimicrobianos se buscan características específicas: mantener la concentración local lo más alta posible, no siendo esta tóxica y que no alcance los efectos sistémicos (Invernizzi, 2014). Ésto se puede alcanzar debido a la incorporación química y física del fármaco, que se va a encontrar dentro de la matriz de colágeno en el proceso de elaboración, logrando que la droga se inmovilice mediante enlaces con grupos carboxilos o aminos libres entre la molécula de colágeno y la droga (Ruszczak y col.2003).

Fue Chvapil en 1979, que evidenció el beneficio de la utilización de las esponjas de colágeno. Al aplicar mediante inyección una solución de tetraciclina vía subcutánea, alcanzando ésta, una concentración máxima en suero luego de pasadas 3 horas, y que descendía lentamente en las próximas 20 horas (Ruszczak y col.2003). Cuando la misma cantidad de solución del antimicrobiano fue incorporada por absorción en una esponja de colágeno y aplicada en una cavidad natural, la liberación de la droga fue detectada por un período de 14 días, resultando en una concentración constante.

Según Wachol-Drewek y col. (1996) de ser necesario un implante profiláctico para que actúe contra la infección de una herida por un período de 24 a 48 hs, las esponjas de colágeno impregnadas con antimicrobiano son el material a utilizar. Pero estos autores, indican que cuando el tratamiento de una herida infectada debe asegurar una concentración del antimicrobiano por 5 a 10 días, ni el colágeno impregnado en una solución antimicrobiano o las esponjas de colágeno cargadas con un antimicrobianos (como la gentamicina) son aplicables (Invernizzi, 2014).

Lo anteriormente comentado cuestionaría el uso del colágeno para el tratamiento de las infecciones ya establecidas.

Aunque existen otros estudios que demostraron que su utilización no solamente era posible, sino que también daría mejores resultados que el uso de materiales no biodegradables como el PPMM. Así lo evidencia un trabajo realizado por Ipsen y col. (1991), donde fueron implantadas 10 esponjas de colágeno en pacientes humanos con osteomielitis crónica, realizándoles un control a lo largo de un año. A lo largo de ese período de control, no se evidenció la reinfección del paciente. Además, se observó que la liberación de la gentamicina fue más completa y rápida en comparación a las PPMM, y las concentraciones de antimicrobiano alcanzadas en los exudados de la herida eran mucho mayores comparadas a las logradas con las PPMM. En este estudio se mostró que los resultados clínicamente no diferían entre el uso de uno u otro transportador, teniendo resultados del 80% y 90% de efectividad en la erradicación de la infección, para el colágeno y el PMMA respectivamente.

Las diferencias se encontraban en las concentraciones en el exudado alcanzadas a las 48 horas por la esponja de colágeno, las cuales eran mucho mayores que las alcanzadas por el PMMA. En suero, las concentraciones logradas por la esponja, si bien eran detectables, estaban muy por debajo de los niveles tóxicos para el antimicrobianos. Mientras que para el PMMA las concentraciones séricas fueron indetectables. (Letsch y col., 1993; Invernizzi, 2014).

Otros estudios realizados *in-vitro*, evidenciaron que la liberación de antimicrobianos desde la esponja era rápida como para ser utilizada de forma clínica, comparado a la administración de gentamicina en una solución fisiológica (Sorensen y col., 1990). Sin embargo estudios *in-vivo* apoyan ésta forma terapéutica, que combinada con la terapia sistémica y el desbridamiento quirúrgico, puede ser exitoso (Invernizzi, 2014).

Grzybowski y col. (1997) pudieron demostrar en ratas con heridas superficiales la liberación en forma constante de amikacina y gentamicina por 3 días consecutivos, logrando la supresión de una infección experimental con *Pseudomonas*.

Un estudio realizado en conejos (Mehta y col., 1996), mostró que la concentración de gentamicina liberada de los implantes de colágeno colocados en tejido muscular a dosis de 3 mg/kg, luego de pasadas 4 horas de la implantación, era de 3800 µg/ml. A las 24 horas, los niveles locales descendieron a 6,90 +/- 5,22 µg/ml a y luego siguieron disminuyendo hasta el día 28 donde las concentraciones eran de 2,70 +/- 1,75 µg/ml. Este estudio probó que las esponjas de colágeno impregnadas con gentamicina son transportadores efectivos, aportando de forma local concentraciones por

encima de la CIM y niveles séricos por debajo de los asociados con toxicidad por 28 días luego de su implantación.

11.1.3 Características de Elución.

Las características de elución del colágeno se demuestran en diversos estudios realizados por diferentes investigaciones a lo largo de los años. Un estudio realizado demuestra información recolectada de la farmacocinética de 1500 pacientes humanos aprox. con infecciones relacionadas a tejido blando o hueso. Se mostró que la implantación quirúrgica de 1 a 5 esponjas (correspondiente a una dosis de 200 a 1000 mg de sulfato de gentamicina), siempre manteniendo la misma cantidad de droga por centímetro cuadrado del área de la herida genera muy altas concentraciones del antimicrobiano (170 - 9000 µg/ml) en el sitio de implantación, dependiendo del aporte vascular y la localización anatómica. Éste nivel de antimicrobiano es alcanzado dentro de las 24 horas posteriores a la implantación de la esponja, y están muy por encima de los niveles establecidos de CIM para los organismos sensibles a la gentamicina. Además, los niveles sistémicos de la gentamicina permanecieron por debajo de los niveles de toxicidad establecidos de 10-12 µg/ml para los valores pico y un poco por debajo de 2 µg/ml luego de las 24 horas para todos los pacientes evaluados (Ruszczak y col., 2003).

La liberación de la droga se debería caracterizar por una rápida liberación en la fase inicial de implantación, seguido por una alta concentración y constante, por un periodo de tiempo definido (Wachol-Drewiek y col., 1996; Invernizzi, 2014). Y una fase final en la cuál la droga disminuye sus niveles rapidamente como se muestra en la figura 1.

Varios estudios mostraron que la liberación de las esponjas ocurre en las primeras horas y su descenso también ocurre rapidamente (24 a 48 horas), cuando los mismos son implantados en articulaciones (Ivester y col., 2006; Hayes y col., 2013; Invernizzi, 2014), evidenciando que se produce una marcada respuesta inflamatoria que persiste al menos por 5 días luego de la implantación via subcutánea, intramuscular (Takechi y col. 1998; Gbureck y col., 2002) e intra-articular (Hayes y col., 2014).

En un estudio realizado por Hayes y col. (2013) sobre la farmacocinética de la esponja de colágeno implantada en la articulación femoro-tibio-rotuliana de caninos, cuando utilizó gentamicina a dosis de 6 mg/kg evidenció que el pico de concentración intra-sinovial de 2397 µg/ml descendía a concentraciones por debajo de la CIM luego de 23 horas post-implante.

Por otro lado, un estudio en equinos realizado por Ivester y col. (2006) sobre la liberación de antimicrobiano luego de implantar una esponja con gentamicina en la articulación tarsocrural a dosis de 0,26mg/kg, observó un pico en la concentración del fluido sinovial de 169 µg/ml descendiendo la concentración de gentamicina a niveles por debajo de la CIM luego de 48hs de la implantación de ésta.

Dependiendo del contenido de colágeno, el tipo de manufactura y la combinación aplicada de las matrices se pueden obtener diferentes características de liberación (Ruszczak y col., 2000b; Khan y col., 2011; Invernizzi, 2014). Como por ejemplo, cuando se varía la presión de compresión a igual temperatura y tiempo del mismo, se logran diferentes patrones de liberación; como se muestran en la figura 1 y 2.

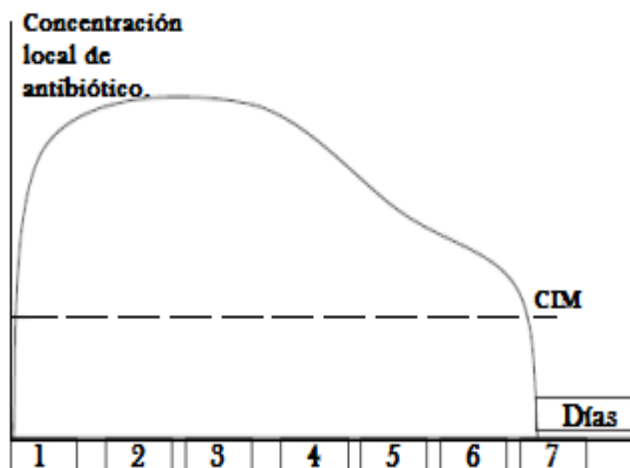
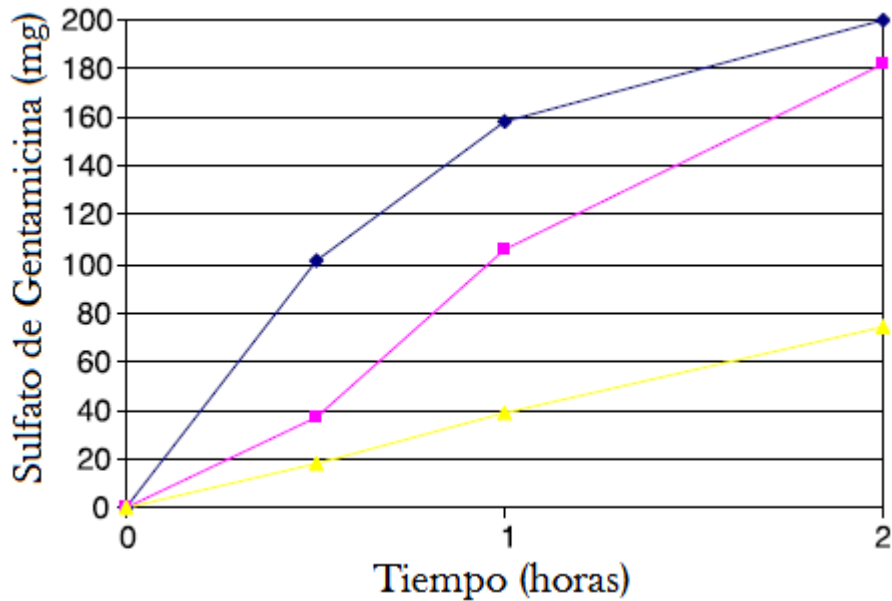
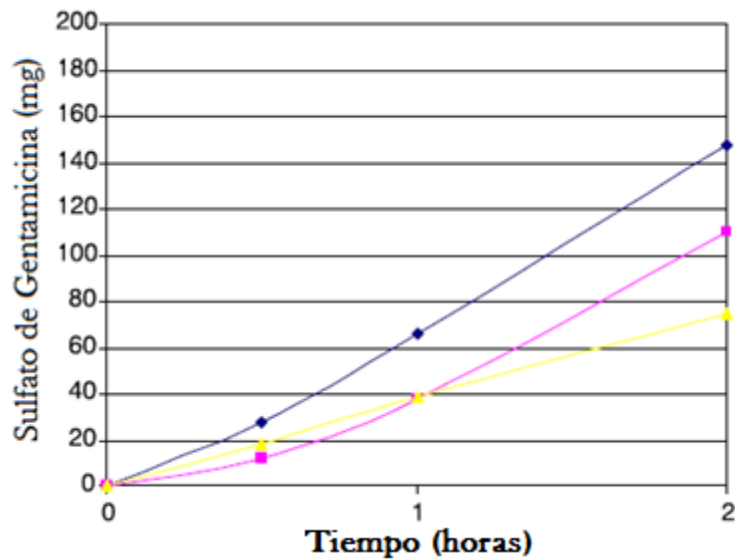


Fig. 1. Modelo propuesto de un perfil de liberación de antimicrobiano óptimo de forma *in-vivo* ("tipo minivan") basado en una liberación rápida inicial, asegurando altos niveles locales, siendo constante por un periodo de tiempo aproximado de 7 días, con una fase final rápida de descenso de la dosis. Adaptado de Ruszczak y col., (2003).



Tipo 1- 10.0 Kg/cm², Tipo 2- 2.5 Kg/cm², Tipo 3- (4x50) 2.5 Kg/cm²

Fig. 2. Cinética de liberación *in-vitro* obtenida de 3 diferentes tipos de colágeno con gentamicina (conteniendo una dosis de 200mg cada una) manufacturadas con parámetros diferentes de presión. Adaptado de Ruszczak y col., (2000b.).



Tipo 1 x 200 – esponja de colágeno cubierta por una barrera
Tipo 2 x 100 – 2 esponjas de colágeno con gentamicina (100 mg c/u)
cubiertas por una barrera de difusión
Tipo 4 x 50 – cuatro esponjas de colágeno con gentamicina (50 mg c/u)
cubiertas por una barrera de difusión.

Fig. 3. Cinética de liberación *in-vivo* obtenida de 3 diferentes productos de colágeno con gentamicina (conteniendo una dosis de 200 mg cada una) fabricados por compresión térmica (igual presión, tiempo y temperatura) utilizando una barrera adicional (barrera de liberación) hecha de colágeno plano. Adaptado Ruszczak y col., (2000 b.)

11.1.4 Esponjas de Colágeno.

Las esponjas de colágeno han sido altamente utilizadas en estos últimos tiempos. Eso se debe a las ventajas que presenta su utilización, las principales propiedades de las esponjas impregnadas en antimicrobianos son las siguientes:

- Biodegradación completa: el colágeno se absorbe y se degrada rápidamente por las colagenasas, no necesitando extirpación quirúrgica (Mishra y col., 2014).
- La capacidad de ser "re-modelable" localmente, para que se integre completamente en las estructuras locales de colágeno (Lupescu y col., 2016).
- Alta liberación local de los antimicrobianos como la gentamicina, por lo que las concentraciones locales son considerablemente más altas que aquellas que inhiben las bacterias resistentes a este antimicrobiano; lo que hace que las bacterias sean sensibles a la actividad antimicrobiana (Ruszczak y col., 2013).
- Capacidad de absorción de una cantidad significativa de exudados tisulares (Lupescu y col., 2016).
- Adherencia a heridas húmedas preservando el microambiente de las mismas (Ramshaw y col.1995).
- Protección, debido a la estructura tridimensional de las capas del colágeno que actúan como escudo contra la infección bacteriana secundaria y el daño mecánico tisular. La esponja estimula los macrófagos, así como el crecimiento celular, por lo tanto favoreciendo la reparación de la herida.
- Las propiedades de estructura de la matriz de colágeno, diseñada en forma de esponja, ocasionan que el fármaco se incorpore mediante liofilización. Permitiendo una distribución uniforme de la droga dentro de la matriz y por tanto se libera una dosis adecuada de la misma.
- La farmacocinética de la distribución de los antimicrobianos en la esponja, se comporta de la siguiente forma: un pico inicial debido a la porosidad abierta parcial de la esponja, luego una fase de liberación "secundaria" del fármaco dentro de los poros debido a la porosidad cercana parcial y luego la liberación "terciaria" del fármaco parcialmente

inmovilizado dentro de la estructura del colágeno fibrilar (Becker y col. 1994; Wachol-Drewek y col., 1996; Hanssen, 2005).

Como ejemplo de esponja de colágeno tenemos al Collatamp G, éste realiza la administración local de medicamentos; basado en la matriz de colágeno tipo 1 obtenida a partir del tendón de aquiles bovino. Consiste en una esponja de colágeno liofilizada (280 mg de colágeno) saturada con 200 mg de gentamicina (1,3 mg de gentamicina base por cm² de colágeno) que demostró ser eficaz en el tratamiento de infecciones óseas postraumáticas.

Los beneficios del producto aumentan debido a que el colágeno es un material biocompatible con propiedades comprobadas de cicatrización de heridas y hemostáticas, por lo que acelera la hemostasia y acelera la cicatrización de heridas (Lupescu y col., 2016).

En la siguiente figura se muestra una esponja de colágeno Collatamp G, disponibles en nuestro país.

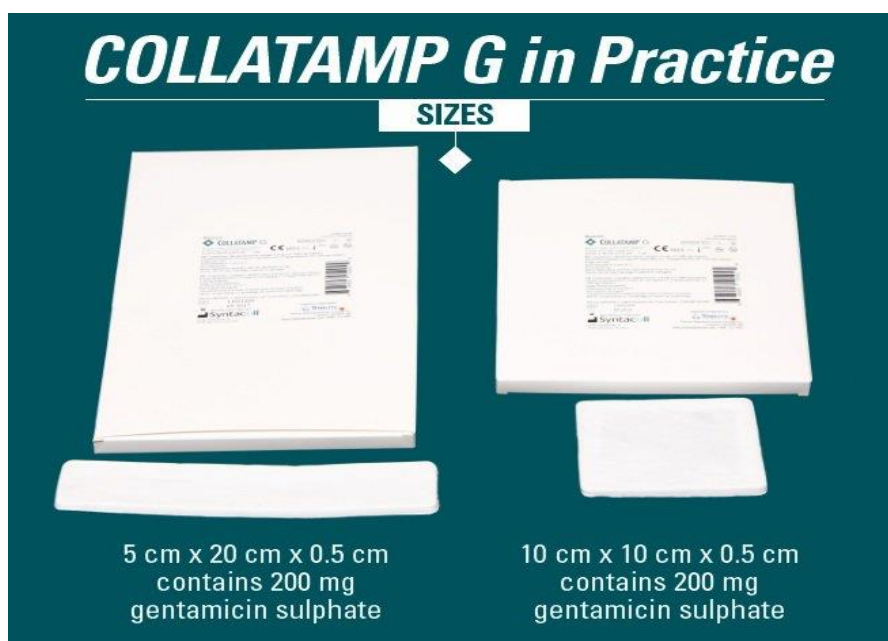


Fig. 4. Imagen de una esponja Collatamp G (conteniendo 200 mg de sulfato de gentamicina y 280 mg de colágeno altamente purificado modificada de la página web: <https://collatampg.ca> (2019).



Fig. 5. Esponjas de colágeno impregnadas en antimicrobiano. Imagen cortesía Dra. Cuns M.C. (2019)

Los métodos de esterilización habituales son: óxido de etileno, radiación gamma, radiación por haz de electrones y calor seco (Ruszczak y col., 2003; Khan y col., 2011;). La irradiación es el método más frecuente de esterilización de las esponjas, ya que no parece afectar la estabilidad estructural. Sin embargo con el óxido de etileno, las propiedades físicas y biológicas se ven alteradas por una reacción entre el óxido de etileno y el colágeno. De forma similar, el autoclave no se debe utilizar para esterilizar el colágeno, porque las proteínas hidratadas son lábiles a la desnaturalización por calor. Sin embargo, si el colágeno es cuidadosamente secado previo a ser calentado, su estabilidad aumenta y puede ser sometido a temperaturas de esterilización (Khan y col. 2011; Invernizzi, 2014).

Las esponjas de colágeno son clasificadas como seguras. Un ejemplo de su liberación *in-vivo* e *in-vitro* se muestra en la figura 6.

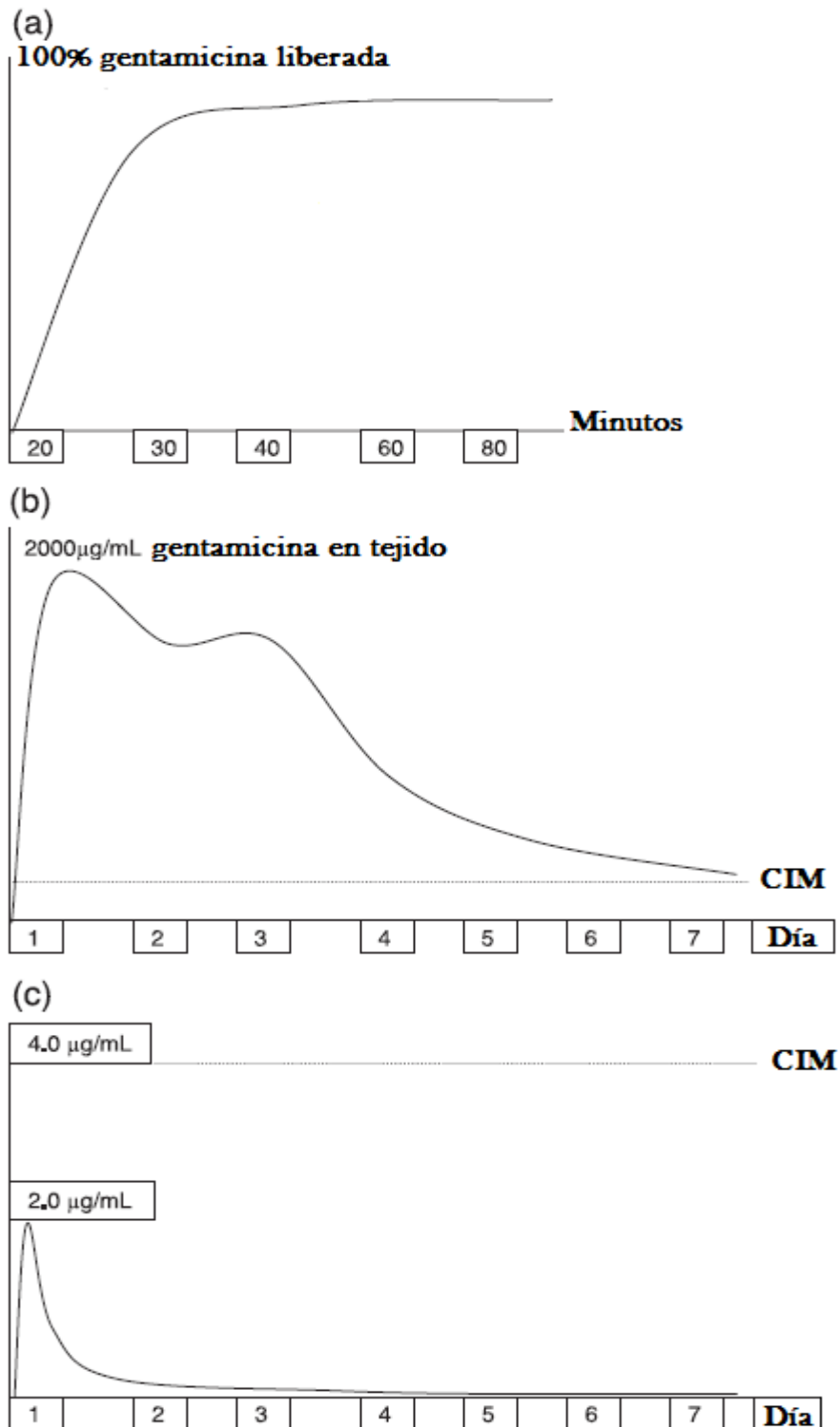


Fig. 6. Comportamiento de una esponja de colágeno *in-vitro* e *in-vivo*. Adaptado de Ruszczak y col., 2003.

a) Liberación *in-vitro* de la droga de una esponja de colágeno con gentamicina (200 mg gentamicina y 280 mg de colágeno)

- b) Concentración local de gentamicina en tejido blando luego de la implantación de 3 unidades de 200 mg de sulfato de gentamicina (dosis total 600 mg)
- c) Concentración sérica luego de la implantación de 3 unidades de 200 mg de sulfato de gentamicina (dosis total 600 mg) en heridas abdominales posquirúrgicas.

La eficacia de la esponja de colágeno con gentamicina en la prevención y tratamiento de infecciones de tejido blando, fue apoyada por un estudio realizado recabando datos de 75 pacientes humanos que recibieron tratamiento con esponja de colágeno. En primer instancia por cirugías intra abdominales, infecciones de heridas posquirúrgicas o alguna acción traumática. Aproximadamente el 40 % de los procedimientos quirúrgicos fueron limpio-contaminados o contaminados.

En la mayoría de los casos se utilizaron de 1 a 3 esponjas (200 mg de gentamicina por esponja, correspondiendo de 200 a 600 mg de sulfato de gentamicina, 2 mg/cm² de esponja). Los resultados fueron favorables para los pacientes en quienes se usaron las esponjas 95,6%, comparado con aquellos que curaron por primera intención o sin evidencia de infecciones posquirúrgicas 72,5% (Ruszczak y col., 2003).

En un estudio realizado por Wachol-Drewek y col. (1996) comparando 5 antimicrobianos (sulfato de gentamicina, cefotaxime, ácido fusídico, clindamicina y vancomicina) incluidos en una esponja de colágeno preparada por inmersión, demostró que la droga era liberada completamente en 3 a 4 días si eran probados en un test de disolución adaptado. Sólo en el caso del sulfato de gentamicina, la disolución continuaba hasta el día 7 impidiendo el crecimiento bacteriano sin importar el tipo de preparación utilizada (inmersa en una solución de antimicrobiano o esponja liofilizada). En este caso para cargar las esponjas de colágeno con antimicrobianos, éstas fueron inmersas en una solución antimicrobiana (Wachol-Drewek y col., 1996; Baar y col., 2001).

La liberación de la gentamicina no se puede atribuir solamente a la interacción iónica entre los grupos aminos de la gentamicina y los grupos carboxilos del colágeno, ya que ocurre la misma interacción entre la clindamicina y el cefotaxime. Desempeñando éstas drogas un perfil de liberación en solamente 24 horas (Wachol-Drewek y col., 1996).

Existen varias maneras de aumentar el perfil de liberación en estos sistemas de depósito local utilizando colágeno (Invernizzi, 2014).

1. Aumentando la cantidad de colágeno (hasta un 30%) para hacer la matriz más densa.

2. Logrando un tejido reticular en la matriz para hacerla menos permeable y más duradera (cambiando la molécula de la droga, haciéndola menos soluble en agua)
3. Utilizar materiales que restrinjan la difusión, para prolongar la distancia de la misma o para crear una barrera de difusión.
4. Combinarlo con otros polímeros reabsorbibles.

11.1.5 Uso Clínico en Equinos.

En medicina veterinaria, el uso del colágeno como transportador de antimicrobianos fue utilizado con éxito en el tratamiento de infecciones musculoesqueléticas en varias especies. En el caso de los equinos varios trabajos de investigación evidenciaron su utilización con buenos resultados. Se ha informado el uso clínico de Collatamp en el ganado (Steiner y col. 1999), los caninos (Owen y col.2004) y los equinos (Summerhays, 2000).

Fué éste último autor quien en un trabajo que realizó en el año 2000, describe 8 casos de artritis séptica en equinos que fueron tratados con esponjas de colágeno impregnadas con gentamicina. A todos los animales se les realizó un lavaje por artroscopía y desbridamiento seguidos por la implantación de la esponja en la articulación. Seis caballos volvieron a la normalidad dentro de 6 meses. En uno de los casos, el procedimiento debió ser repetir y se debió administrar antimicrobiano en forma sistémica. Éste estudio muestra un resultado de un 75% de éxito (6/8 equinos tratados) en el tratamiento de la artritis séptica.

Otro estudio realizado en el año 2006 por Ivester y col. sobre concentraciones de gentamicina en el líquido sinovial obtenidas de las articulaciones tarso-cruales de los caballos, después de la implantación de esponjas de colágeno impregnadas con gentamicina en 6 yeguas adultas sanas. Cuyo procedimiento se basó en la implantación de una esponja de colágeno de tipo I bovina purificada, impregnada con 130 mg de gentamicina en la bolsa plantaro-lateral de una articulación tarso-crual de cada caballo, con la articulación contralateral utilizada como articulación control. Midiéron concentraciones de gentamicina en el líquido sinovial y el suero que se determinaron durante 120 horas posteriores a la implantación, mediante el uso de polarización fluorescente. Las muestras de membrana sinovial y cartílago fueron recogidas 120 horas después de la implantación y se evaluaron histológicamente, los resultados obtenidos brindaron que se alcanzó una

concentración media de gentamicina en el líquido sinovial de 168.9 $\mu\text{g} / \text{mL}$ (rango, 115.6 a 332 $\mu\text{g} / \text{mL}$) 3 horas después de la implantación. Las concentraciones de gentamicina en el líquido sinovial fueron $<4 \mu\text{g} / \text{ml}$ en 48 horas, y no se observaron diferencias histológicas importantes en la membrana sinovial entre las articulaciones de control y las implantadas con esponjas impregnadas con gentamicina.

De este estudio se concluye que la implantación de una esponja de colágeno impregnada con gentamicina en la articulación tarso-crural de los caballos produjo una rápida liberación de gentamicina, con concentraciones máximas mayor a 20 veces la CIM para patógenos comunes que infectan a los equinos. Además se detectó una disminución rápida en las concentraciones de gentamicina en el líquido sinovial, concluyendo clínicamente que las esponjas de colágeno de tipo I bovino purificadas no produjeron una inflamación sustancial en la membrana sinovial ni causaron un trauma mecánico en el cartílago articular.

Cruz y col. (2006) describe la utilización de Collatamp con éxito en equinos y ganado como transportador de antimicrobianos. Evidenciaron que en 303 casos de fracturas abiertas, artrodesis infectadas e infecciones de tejidos blandos en más de una docena de casos la utilización de las esponjas no tuvo efectos secundarios. Pero afirman en su estudio que la contribución de las esponjas impregnadas de colágeno al resultado exitoso de cada uno de los casos estudiados fue difícil de determinar.

Las esponjas de colágeno impregnadas con gentamicina son fáciles de implantar; prevenir la CIM, que podría ocurrir con las perlas de PMMA; y obviar la necesidad de retirar el implante (Owen y col.2004). La elución completa ocurre durante un período de 2 semanas, con altas tasas de elución durante la primera semana. En un estudio realizado en 45 conejos se implantó esponjas de colágeno impregnadas con gentamicina (3 mg / kg) en el canal medular femoral, donde se evidenció que la concentración media de gentamicina ósea fue superior a 600 mg / ml durante las 48 horas iniciales (Humphrey y col.1998; Cruz y col. 2006). Como resultado de éste estudio los autores concluyeron que el colágeno impregnado con gentamicina demostró ser eficaz como transportador biodegradable de gentamicina en el conejo sano. Éste proporcionó concentraciones óseas locales mayores que la CIM de gentamicina y concentraciones séricas más bajas que los niveles asociados con toxicidad sistémica, hasta 28 días después de la implantación.

En nuestro país mas precisamente en el Departamento de Equinos de la Facultad de Veterinaria Udelar, se esta llevando a cabo desde el año 2018 un plan de trabajo para la investigación titulado “Utilización de transportadores de antibióticos biodegradables para la prevención postoperatoria de infecciones de la herida quirúrgica en equinos intervenidos por Síndrome de Abdomen Agudo Obstrutivo”. Donde se evalúa la eficacia del uso de transportadores biodegradables de antimicrobianos (esponjas de colágeno impregnadas en gentamicina), como prevención de infecciones postoperatorias de las incisiones quirúrgicas en caballos intervenidos por síndrome de abdomen agudo obstructivo. Para esto se han utilizado 20 caballos, siendo 10 utilizados como grupo control y a los otros 10 se les implantó la esponja de colágeno impregnada con gentamicina en el sitio quirúrgico de la línea media ventral de la laparotomía exploratoria. Hasta ahora en los equinos que se le implantó las esponjas han tenido muy buenos resultados (Comunicación personal Dra. Cuns M. C., 2019).

En la siguiente Figura se muestra la colocación de una esponja de colágeno en la herida incisional de Línea media ventral de un equino.



Fig. 7. Esponja de Colageno implantada en línea media ventral de un equino operado de SAA, en Facultad de Veteria Udelar. Foto cortesía de la Dra. Cuns M.C. (2019).

11.2 Otras formas de Presentacion del Colágeno.

11.2.1 Membranas y Hojas de Colágeno.

Tanto las membranas como las hojas de colágeno, son fabricadas a partir de las esponjas de colágeno. Éstas últimas son sometidas a prensas con determinada temperatura, tiempo y presión obteniéndose de aquí las membranas y hojas, presentando cada una diferentes propiedades y características. Dependiendo el contenido en colágeno que tiene la esponja, la presión y temperatura que se aplique en la prensa, es que se obtendrá el espesor de la hoja o membrana.

Las membranas de colágeno tienen un espesor de 0,1 mm y son sintetizadas a partir de esponjas con un 5% de colágeno. Por otro lado, las hojas de colágeno tienen un espesor de 0,6 mm y son formadas a partir de esponjas con 30% de colágeno (Ruszczak y col., 2000a;).

Si comparamos la esponja de colágeno con las membranas, éstas últimas tienen un mejor manejo y pueden ser fácilmente manipuladas (enrolladas o torneadas) sin que se rompan; el tiempo de “hinchado” se reduce, la absorción de fluidos aumenta, el producto húmedo permanece flexible, presentando mayor elasticidad y excelente fuerza de tensión (Ruszczak y col., 2000a ;Invernizzi,2014). Las hojas de colágeno presentan propiedades superiores a las esponjas de colágeno.

Las hojas pueden aumentar 30 veces su peso en un tiempo máximo de 10 segundos y las propiedades hemostáticas son mejoradas en esta presentación. En condiciones de humedad, las hojas son mecánicamente estables presentando una alta fuerza de tensión. Tanto la hoja seca como húmeda es muy fácil de manipular, se puede cortar en la forma que uno lo desee, siendo más fácil su colocación en las diferentes partes del organismo (Ruszczak y col., 2000a).

Al igual que las membranas, las hojas pueden ser utilizadas en una gran variedad de procedimientos quirúrgicos. Pudiendo ser utilizadas como transportadores de sustancias biológicamente activas como factores de crecimiento, hormonas, drogas, etc., que pueden ser incorporadas mediante absorción.

Estos materiales pueden ser utilizados en procedimientos quirúrgicos en general: cirugías vasculares, ortopédicas, ginecológicas, oftalmológicas neurológicas y muchos otros procedimientos incluyendo el curado de heridas y quemaduras. También pueden ser utilizados como sustitutos de tejidos o como matrices para el crecimiento celular, especialmente en la ingeniería de tejidos y la creación de órganos artificiales (Invernizzi, 2014).

Una vez que se obtiene la membrana u hoja, estas pueden ser esterilizadas por vapor de óxido de etileno, radiación gamma u otro método apto para este material (Ruszczak y col., 2000a).

11.3 Otros sistemas Biodegradables.

Aunque la esponja de colágeno es un método ya establecido para controlar la infección, existe un gran interés en desarrollar un transportador con mayor duración y mejor penetración (Tsourvkas, 2012). En este ítem de la revisión hablaremos de algunos sistemas biodegradables que existen hoy en día; debido a la baja incidencia de utilización en equinos, como transportadores de antimicrobianos, realizaremos un breve comentario de éstos.

11.3.1 Polímeros Sintéticos Biodegradables.

Los polímeros sintéticos biodegradables se han utilizado en cirugía desde la década de 1950 como materiales de sutura. Los avances que existen en el procesamiento de éstos, han logrado implantes basados en polímeros sintéticos más fuertes y confiables para ser considerados como transportadores (El-Husseini y col., 2011). El área de investigación más activa actualmente está utilizando polímeros biodegradables de ácido poli L-láctico (L-PLA), ácido poli DL láctico (PLA), ácido poliglicólico (PGA), y sus copolímeros, el poli L-láctico-coglicólico (L-PLGA) y el poli DL láctico-coglicólico (PLGA) en el suministro controlado de medicamentos, especialmente en antimicrobianos tales como ampicilina, gentamicina, polimixina B y quinolonas (Nie y col, 1995; Calhoun, 1997).

El ácido Poliláctico / Poliglicólico fueron seleccionados para actuar como transportadores porque sufren una degradación gradual de manera controlada y se disuelve a pH fisiológico y, por lo tanto, la eliminación no es necesaria en pacientes con infecciones óseas y de tejidos blandos (Nandi y col., 2009).

Una segunda ventaja es que la cinética de la liberación del antimicrobiano puede modificarse mediante la selección de copolímeros de composición monométrica variable, polimer cristalinidad y peso molecular, así como mediante la alteración de la geometría del implante. Varios estudios preliminares han concluido que estos materiales son de gran compatibilidad con una gran variedad de antimicrobianos y la liberación in vivo de antimicrobianos se producen durante un período de tiempo definido con concentraciones terapéuticas, que pueden minimizar

la liberación residual lenta en concentraciones subóptimas (Tsourvkas,2012).

11.3.2 Hialuronato.

Investigaciones realizadas por Cribb y col., (2005) sobre el uso de hialuronato como transportador de amikacina en el tratamiento de infecciones en estructuras sinoviales, vieron que el Hialuronato al ser reabsorbible e inocuo al ambiente articular, puede constituir un transportador eficaz para las infecciones sinoviales. Aportando una rápida elución de la amikacina desde el implante y manteniendo niveles por encima de la CIM por un período de aproximadamente 24 horas. Además, las infecciones fueron eliminadas dentro de las 24 horas posteriores a la implantación del transportador, liberándose rápidamente la amikacina. Concluyendo este estudio que la utilización de Hialuronato como transportador es muy difícil en tratamientos a largo plazo en la liberación de antimicrobianos(Invernizzi,2014).

11.3.3 Chitosán.

En los últimos años se han utilizado materiales estructurales similares al colágeno, como es el caso del chitosan. Este material ofrece una buena protección a la herida y se ha investigado que estimula la reparación de la misma, sin crear un tejido de granulación y cicatriz exuberante. Teniendo gran actividad contra un amplio espectro de bacterias (Invernizzi, 2014).

Scott y col. en el año 2010 estudiaron el chitosán cargado con vancomicina y amikacina, realizando un ensayo *in-vitro*. Los antimicrobianos fueron cargados a la matriz, mediante la técnica de inmersión durante un minuto en solución antimicrobiana. La conclusión de este estudio fue que las cantidades liberadas de antimicrobiano eran suficientes como para prevenir una infección musculo esquelética.

11.3.4 Fibrina.

Los selladores de fibrina son materiales hemostáticos tópicos que derivan de la coagulación de las proteínas plasmáticas, éstas son utilizadas cada vez más en los procedimientos quirúrgicos (Jackson, 2001; Invernizzi, 2014).

Los selladores de fibrina presentan un gran potencial para la entrega de antimicrobianos, quimioterápicos y factores de crecimiento en sitios quirúrgicos (Jackson, 2001) y células osteoprogenitoras.

En un estudio realizado por McDuffee (2012) se realizó depósito antimicrobiano local en el cuarto metatarsiano de un equino utilizando fibrina como vehículo.

Los selladores son biocompatibles y degradados por fibrinólisis en días o semanas dependiendo del sitio. La compatibilidad de estos materiales en las heridas quirúrgicas, hace que los selladores de fibrina sean buenos candidatos para utilizarse como transportadores de liberación controlada de antimicrobianos en forma local.

Los antimicrobianos, con una baja solubilidad en agua, como las tetraciclinas, son particularmente aplicadas en este sistema (Woolverton y col., 2001; Invernizzi, 2014), presumiblemente porque el precipitado de la droga se disuelve y difunde lentamente desde la fibrina. Antimicrobianos más solubles demostraron liberarse de la fibrina *in-vitro* en 5-7 días la gentamicina (Kram y col., 1991), y más de 60 días la ciprofloxacina (Tsourvakas y col., 1995) habiendo sido liberado el 66% en los primeros dos días.

En un modelo animal utilizando conejos, el nivel máximo de ciprofloxacina en hueso y tejidos blandos luego de la implantación en el canal medular de la tibia, fue obtenido al segundo día y la droga no pudo detectarse luego de 10 días (Tsourvakas y col., 1995).

11.3.5 Injertos y sustitutos óseos.

El injerto óseo, ya sea en forma de autoinjerto o aloinjerto, como transportador para la administración local de antimicrobianos ha sido utilizado durante muchos años (McLaren, 2004). El hueso esponjoso se ha utilizado como portador de antimicrobiano desde el año 1984, cuando existía una elección limitada en el material de injerto óseo y las limitaciones que se relacionaban con los peligros biológicos eran manejables (McLaren y Miniaci, 1986).

Los antimicrobianos se pueden agregar al propio hueso esponjoso o empapando el injerto de hueso en una solución cargada de antimicrobianos. El mismo se absorbe directamente a las superficies óseas y la liberación posterior de antimicrobianos se basa en una cinética donde la liberación se relaciona con la concentración del mismo (McLaren, 2004).

Aunque esta aplicación clínica tiene protocolos con variedad de antimicrobianos, existen muy pocos estudios con respecto a los niveles reales de concentración de los antimicrobianos locales y los efectos clínicos que ésta práctica (Tsourvakas, 2012).

Estudios de elución in vitro realizados por (McLaren y Miniaci, 1986) e in vivo en un modelo de conejo (McLaren, 1988) han mostrado cinéticas de primer orden para la liberación de tobramicina durante un período de más de tres semanas. Se vieron que niveles de tobramicina superaron las concentraciones bactericidas habituales durante tres semanas en el material de injerto.

En otro estudio, los resultados mostraron que el injerto óseo puede actuar como portador de netilmicina, vancomicina, clindamicina y rifampicina in vitro e in vivo, donde los niveles de antimicrobianos superaron las concentraciones bactericidas habituales durante siete días en el material de injerto implantado en una rata (Witso y col., 2000).

Se ha propuesto la impregnación de agentes antimicrobianos dentro de biomateriales osteoconductores como son el sulfato de calcio, fosfato de calcio, hidroxiapatita o fosfato tricálcico para el tratamiento local de la osteomielitis y para ayudar en el manejo del espacio muerto (Kawanabe y col., 1998; Makinen y col., 2005; Nelson y col., 2005).

Como característica común, estos implantes muestran una liberación rápida del antimicrobiano de una manera más o menos controlada (McLaren, 2004).

Uno de los beneficios de esta clase de materiales es que la implantación brinda la oportunidad de transportar antimicrobianos en altas concentraciones y simultáneamente participan en el proceso de regeneración ósea durante el período de degradación del material (Tsouvkas, 2012).

12 SISTEMAS NO BIODEGRADABLES UTILIZADOS EN EQUINOS.

Como alternativa a sistemas de tipo biodegradables tenemos a los sistemas de tipo no biodegradables, como es el caso del cemento óseo o Polimetilmetacrilato (PMMA).

12.1 Cemento Óseo Impregnado en Antimicrobiano (Polimetilmetacrilato o PMMA).

Las perlas no biodegradables impregnadas con antimicrobianos, principalmente el polimetilmetacrilato (PMMA), se han utilizado ampliamente para la administración local de antimicrobianos. Fue en 1970 cuando Buchholz y Engelbrecht propusieron administrar antimicrobianos a un sitio infectado

mediante la elución del mismo desde el PMMA impregnado con el antimicrobiano colocado de forma adyacente al sitio de la infección (Tsouvkas, 2012).

El uso de esferas de cemento de PMMA impregnadas con antimicrobianos para el tratamiento de infecciones óseas y de tejidos blandos tiene muchas ventajas descritas de formas teóricas. Las perlas que liberan antimicrobianos por difusión pasiva, se combinan con altas concentraciones locales con bajos niveles sistémicos del antimicrobiano (Henry, 1995), lo que lleva a una destrucción más efectiva de los microorganismos y un menor riesgo de toxicidad sistémica. Además, las perlas pueden llenar el espacio muerto que puede quedar después del desbridamiento del tejido infectado (Nelson y col, 1993).

Fueron Buchholz y col., (1984), quienes utilizaron por primera vez este material impregnado en antimicrobiano como agente profiláctico contra infecciones profundas de hueso en cirugías ortopédicas en pacientes humanos. Desde entonces el PMMA impregnado en antimicrobiano fue considerado un método efectivo en proveer altas concentraciones locales sostenidas de antimicrobiano cuando se utilizaron en infecciones de hueso y tejidos blandos (Calhoun y Mader, 1989; Josafsson y col., 1990; Invernizzi, 2014).

12.1.1 Propiedades del PMMA.

El polimetilmetacrilato es una resina transparente de gran claridad, transmite la luz en el rango ultravioleta a una longitud de onda de 250 nm. Se trata de una resina dura con alta resistencia a la tracción, una densidad de 1,9 g/ cm³. Éste polímero es muy estable, no se decolora con la luz ultravioleta y tiene notables propiedades de envejecimiento. Es químicamente estable al calor, se ablanda a 125°C y puede moldearse como un material termoplástico, entre 125 y 200°C se produce la despolimerización, a unos 400°C el 90% del polímero se despolimeriza y forma un monómero. Al igual que todas las resinas acrílicas el PMMA muestra tendencia a absorber agua mediante el proceso de imbibición. Tanto la absorción como la adsorción del agua son cercanas e independientes entre los 0° y 60°C, pero son marcadamente afectadas por el peso molecular del polímero. A mayor peso molecular, menor es el incremento de peso (Anusavice, 2004).

El PMMA se encuentra bajo la forma de polvo y líquido. El líquido contiene metilmetacrilato no polimerizado y el polvo tiene el prepolimerizado polimetilmetacrilato. Cuando el líquido y el polvo se mezclan en proporciones correctas se forma una masa manipulable (Anusavice, 2004).

Las matrices no degradables del PMMA son producidas por la reacción de polimerización al mezclar el componente sólido con el líquido. El primero contiene el polvo de PMMA, un iniciador, la droga y los aditivos. El segundo contiene monómeros de metilmetacrilato y otros aditivos. El fraguado de la

mezcla de cemento dura unos minutos capturando al fármaco en la mezcla (Zilberman, 2008; Invernizzi, 2014).

12.1.2 Tipos de PMMA.

Existen 2 formatos de Polimetilmetacrilato, la del cemento óseo impregnado de antimicrobianos aplicado en artoplastias y las cadenas de perlas impregnadas en antimicrobianos para el tratamiento de las infecciones musculoesqueléticas (Henry y Galloway, 1995). Las perlas impregnadas con antimicrobianos se han empleado en el tratamiento de las infecciones óseas y de tejidos blandos durante casi 30 años y su uso está bien establecido en varias partes del mundo (Jenny, 1988; Tsouvkas, 2012).

Las perlas no degradables impregnadas en antimicrobiano, mayormente las de poli-metilmetacrilato, fueron ampliamente utilizadas para la administración local de antimicrobianos. El uso de perlas de polimetilmetacrilato (PPMM) impregnadas con antimicrobianos para el tratamiento de infecciones de hueso y tejidos blandos presenta las ventajas de liberar sostenidamente el fármaco, produciendo una alta concentración local y bajos niveles sistémicos (Henry y Galloway, 1995; Invernizzi, 2014) Lo que provoca la muerte de microorganismos, con bajo riesgo de toxicidad sistémica.

12.1.3 Mecanismo de Liberación del Antimicrobiano a utilizar.

El mecanismo de liberación de la droga del cemento de PMMA ha sido muy discutido en estos últimos tiempos. Éstos sistemas liberan lentamente la droga soluble del cemento óseo de PMMA solidificado que rodea el implante (Zilberman, 2008).

Algunos investigadores como es el caso de Shurman y col. (1978) sugirieron que el medicamento difunde por la matriz. Otros como el caso de Marks y col. (1976) creen que se disuelve de la superficie a través de agujeros o poros en el cemento, y cuando existen depósitos de antimicrobiano en estrecha proximidad el agua es capaz de crear caminos de elución, lo que permite la liberación más eficiente del mismo a partir de los dominios internos (Joseph y col., 2003; Invernizzi, 2014).

El antimicrobiano cargado en el PMMA se libera a través de mecanismos de penetración de poros de agua, disolución de la matriz soluble y difusión del antimicrobiano solubilizado a través de imperfecciones de la matriz (poros y grietas accesibles).

Por lo general ésta muestra un patrón de liberación de tipo bifásico, que se caracteriza por una liberación inicial en ráfaga, seguida de una larga cola de liberación baja, inefectiva y en gran parte incompleta que continúa durante días o meses. Varios estudios realizados por Levin (1975); Miclau y col. (1993) y Weeb y Spencer (2007) han revelado que menos del 10% del fármaco atrapado, finalmente es liberado del cemento, evidenciando la liberación sub-

terapéutica de gentamicina por muchos años después de la primera intervención realizada.

También en el año 1982 Bayston y Milner, plantearon que la elución ocurría como consecuencia de la difusión del antimicrobiano de un área con mayor concentración (en el interior de la perla) a un área de menor concentración de antimicrobiano (medio que rodea la perla). Siguiendo esta teoría, especulaban que de forma *in-vivo* los antimicrobianos podían ser liberados en tasas menores, pero por periodos más largos comparados a las condiciones de forma *in-vitro*, las que podían tener más fluido alrededor de las perlas.

Como el antimicrobiano está suspendido dentro de la matriz de PMMA y ésta no se degrada, la liberación del fármaco nunca sería del 100%, sino solamente hasta el 25% de la cantidad implantada. Estudios realizados han demostrado que se podía liberar hasta el 93% del antimicrobiano disminuyendo el tamaño de la perla. (Walenkamp, 1989; Rushton, 1997; Streppa y col., 2001; Invernizzi, 2014).

12.1.4 Sitio de Implantación.

Los implantes de PMMA pueden ser implantados en variedad de sitios, existiendo una variación en los fluidos que estén en contacto con éste. Las concentraciones locales de antimicrobiano son inversamente proporcionales a la cantidad de fluido que esté en contacto con el implante (Henry y col., 1991; Tobias y col., 1996; Invernizzi, 2014).

Tejidos muy vascularizados, como el tejido muscular o el tejido de granulación, absorberán el antimicrobiano a la circulación sistémica de forma más rápida que otros tejidos menos vascularizados como tejidos infectados o necróticos. Una alta vascularización da como resultado menores concentraciones de antimicrobiano en el tejido. Es por esto que en tejidos que están muy vascularizados son necesarias altas tasas de elución para mantener concentraciones locales terapéuticas (Calhoun y Mader, 1989; Tobias y col., 1996; Invernizzi, 2014).

12.1.5 Superficie de Contacto.

El área de superficie del implante es otra característica que aumenta la tasa de elución del antimicrobiano (Henry y col., 1991; Tobias y col., 1996; Invernizzi, 2014).

La superficie de contacto es mayor a medida que el tamaño de la perla disminuye, lo que hace que el antimicrobiano sea aprovechado más en perlas que tienen un menor tamaño. Esto se basa en la relación superficie/volumen, que se determina por las fórmulas de volumen de una esfera ($\frac{4}{3} \times \pi \times r^3$) y superficie de una esfera ($4 \times \pi \times r^2$). Donde la fórmula simplificada es $\text{superficie/volumen} = \frac{3}{r}$. Por lo tanto, cuanto menor es el radio de la esfera, mayor es la relación superficie/volumen (Invernizzi, 2014). Es decir utilizar

perlas más pequeñas, aumenta la tasa de elución del antimicrobiano (Cancienee y col. 2015).

Esto pudo ser demostrado en 1989 por Walenkamp, que evidenció que el tamaño de la perla influía sobre las cantidades de antimicrobiano que podía ser liberado en un estudio realizado *in-vivo*, donde perlas de un tamaño de 3x5 mm liberaron a los 14 días el 93% del antimicrobiano, mientras que perlas de de 7x7mm sólo liberaron el 24%.

12.1.6 Porosidad.

Las diferentes tasas de liberación de PMMA impregnadas con antimicrobianos son atribuidas a las distintas porosidades de las mismas (Levin, 1975; Wahlig y col. 1978; Kuechle y col., 1991; Joseph y col., 2003; McLaren y col. 2007).

La concentración antimicrobiana local y el tiempo en que estas se mantengan por encima de la CIM luego de la implantación de las PPMM, depende entre otras cosas, del grado de porosidad del PMMA (Henry y col., 1991; Invernizzi, 2014). Las características con relación al cemento son la porosidad del mismo y su área de superficie. Cuanto más poroso es el material, la tasa de elución será mayor (Goodell y col., 1986; Flick y col., 1987; Baker y Greenham, 1988; Henry y col., 1991; Kuechle y col., 1991).

Estudios realizados por McLaren y col. (2005) han sugerido aumentar la porosidad de interconexión en las PPMM, para aumentar la liberación de antimicrobianos contenidos. La porosidad que existe en las mismas aumenta la permeabilidad del PMMA, lo que lleva a un aumento de la penetración de fluidos, al aumento del área de superficie efectiva disponible para liberar los antimicrobianos impregnados en las PPMM y al aumento de la difusión de los mismos en el entorno circundante.

Un trabajo realizado por Kuechle y col. (1991), reportó que la adición del Dextrano al PMMA aumentó la porosidad del cemento y en tasa de elución de los antimicrobianos. Esto se realizó mediante la mezcla de cemento de PMMA cargado con antimicrobianos con Dextrano, utilizando un 25% del peso del PMMA en Dextrano.

En el mismo estudio, también fueron preparadas PPMM bajo presión atmosférica negativa, resultando en una disminución de la porosidad y a consecuencia, la tasa de elución del antimicrobiano.

A partir de estos estudios, se han realizado nuevos trabajos acerca de materiales con carbohidratos (sacarosa y dextrano), polioles (Xilol y eritriol) o aminoácidos (glicina). Éstos se han investigado a nivel de laboratorio, concluyendo en que aumentan efectivamente la permeabilidad de PMMA (McLaren y col. 2007).

12.1.7 Características Mecánicas de las PPMM.

La estabilidad mecánica de las PPMM está determinada e influenciada por muchos parámetros, incluidos la geometría, el envejecimiento, el almacenamiento, el tipo de cemento, el tipo y el contenido de antimicrobiano/s, la presencia de un endosqueleto y la estandarización de su preparación (como la composición atmosférica), durante la mezcla, la frecuencia y duración del proceso de mezclado (Murray, 1984; Leunig y col.1998).

La resistencia mecánica del cemento no solo está influenciada por el tipo de antimicrobiano y la presión atmosférica, sino también por la proporción en que los antimicrobianos se mezclan en el cemento (Lautenschlager y col. 1976).

Varios estudios mostraron que la cantidad de droga adicionada al PMMA puede afectar las características mecánicas (Lautenschlager y col., 1976; Murray, 1984; Weisman y col., 2000).

Los pesos proporcionales de hasta aproximadamente el 5% tienen una influencia insignificante en la resistencia mecánica del cemento resultante (Levin, 1975; Lautenschlager y col., 1976; Murray, 1984); mientras que cantidades más grandes de antimicrobiano hará que el cemento sea más difícil de mezclar y aumentando la posibilidad de homogenizar la mezcla (Anagnostakos, 2005).

Los factores que son considerados o podrían afectar estas características tanto estructurales y mecánicas, son la proporción de PMMA y antimicrobiano, el tipo de antimicrobiano, y si se utiliza uno o más de uno. Además, la viscosidad del cemento hace parte de la resistencia mecánica del mismo, y según Bunetel y col. (1990), en la medida que la viscosidad del PMMA disminuye, la cantidad de antimicrobiano liberado aumenta.

12.1.8 Elución desde el PMMA.

Ha sido documentado en estudios humanos en forma *in-vitro* que la elución de los antimicrobianos del PMMA es definido como bimodal (Henry y col., 1991; Invernizzi, 2014). Aproximadamente el 5% de la carga total del antimicrobiano es liberada durante las primeras 24 horas desde la superficie de la perla, seguida de una elución sostenida del antimicrobiano que va disminuyendo durante las próximas semanas o meses (Tsourvakas, 2012; Invernizzi, 2014).

Aunque la elución se rige en última instancia por la diferencia en la concentración de antimicrobiano en el cemento y su entorno, existen otros factores que afectan la elución, que incluyen el tipo y la viscosidad de PMMA, el tipo y concentración del antimicrobiano y las características estructurales de las perlas (Henry y col. ,1990; Bistolfi y col.,2011); El aumento de la relación área-volumen (es decir, cuentas más pequeñas) aumenta la elución de los antimicrobianos (Holtom y Patzakis, 2003).

El tipo de antimicrobiano también afecta a la elución, como por ejemplo el caso de la tobramicina que puede eluir los antimicrobianos durante más tiempo y mantener las concentraciones por encima de la CIM durante un periodo de tiempo que la vancomicina en la misma dosis (Greene y col. 1998).

Hasta el día de hoy, la elución de los antimicrobianos impregnada en perlas de PMMA ha sido ampliamente estudiada y sigue siendo un tema de debate que aun no se comprende por completo (Cancienne 2015).

En la siguiente tabla se brinda información de características de elución in vitro de algunos antimicrobianos por el PMMA.

Antimicrobiano en PPMM	Tiempo de liberación (días)	Pico máximo de liberación (µg/ml)/ día del pico
Ciprofloxacina	360	80.8/1
Tobramicina	220	>250/1
Clindamicina	220	>250/1
Penicilina	91	199.5/1
Gentamicina	56	318.6/1
Cefazolina	28	250/1
Vancomicina	12	>200/1
Amikacina	5	200/1

Tabla 10. CARACTERÍSTICAS DE ELUCIÓN *IN-VITRO* DE DIFERENTES ANTIMICROBIANOS DESDE PPMM. Adaptado de Tsourvakas, 2012.

12.1.9 Concentración del Antimicrobiano.

La concentración del antimicrobiano en el implante está directamente relacionada con la tasa de elución del mismo (Marks y col., 1976; Tobias y col., 1996; Ethell y col., 2000; Invernizzi 2014).

En estudios realizados por Masri y col. (1994) se midieron las concentraciones de antimicrobianos intraarticulares en los primeros días después de la aplicación de PMMA impregnados con vancomicina / tobramicina. Donde confirmaron resultados in vitro reportados por (Greene y col.1998) y mostró que la tobramicina eluyó mejor que la vancomicina. Las concentraciones máximas en el día 1 fueron 107 µg / mL para tobramicina y 19 µg / mL para vancomicina, determinadas a partir de los fluidos de drenaje de la herida. Estas concentraciones fueron 10 a 30 veces más altas que las CIM de los organismos infectantes. Un aumento en la dosis de tobramicina mejoró la elución de tobramicina y vancomicina, mientras que un aumento en la concentración de vancomicina careció de tal efecto. Además este estudio

concluyo que la duración de la implantación de la PMMA no tuvo un efecto significativo en las características de elución de ninguno de los antimicrobianos.

Por otro lado Isiklar y col. (1999) informaron concentraciones medias de 57 g / ml de vancomicina en el día 1 de Implantaciones de PMMA impregnadas con vancomicina en el tratamiento infecciones ortopedicas contra stafilococcus relacionadas con el implante.

Otro trabajo realizado por Bertazzoni Minelli y col. (2004) estudio la elución de antimicrobianos a partir de PMMA implantados. Se liberaron in vitro 0,05–0,4% de Gentamicina y 0,8–3,3% de Vancomicina durante un período de tiempo de 10 días, lo que indica que un grado suficiente de liberación de antimicrobianos puede persistir durante varios meses.

Se ha demostrado en muchos trabajos *in-vivo* e *in-vitro* que se alcanzaron concentraciones más altas y duraderas cuando se aumentaba la carga de antimicrobiano en el implante. A modo de ejemplo, la adición de 1,2 gramos de gentamicina comparando 2 gramos de gentamicina a 40 gramos de PMMA, resultaron en una concentración *in-vitro* de gentamicina por encima de la CIM, establecida para la gentamicina *in-vivo* de 4 días (dosis 1,2 gr) comparado con 28 días (dosis de 2 gramos) respectivamente (Nelson y col., 1992; Tobias y col., 1996; Invernizzi, 2014).

12.1.10 Propiedades de difusión del Antimicrobiano.

Las propiedades de difusión de cada antimicrobiano utilizado se relaciona estrechamente con la elución del antimicrobiano del PMMA, esta ultima no solo es afectada por la concentración del mismo, sino que esta influenciada por las propiedades de difusión de cada antimicrobiano, dado que las tasas de elución de los antimicrobianos del PMMA varian entre cada uno de ellos (Tsouvkas, 2012; Invernizzi, 2014).

Existen varios trabajos elaborados por diferentes autores, donde fueron evaluadaas diferentes tasas de elución del PMMA de los aminoglucósidos (gentamicina, amikacina y tobramicina), vancomicina, cefalosporinas (cefazolina y ceftiofur), penicilina, eritromicina, clindamicina, ácido fusidico y lincomicina (Popham y col., 1991; Tobias y col., 1996; Invernizzi, 2014).

En otro estudio realizado por Ethell y col. (2000) de forma *in-vitro* se evaluaron las tasas de elución de la gentamicina, amikacina y ceftiofur del cemento de PMMA. Tanto la la Amikacina como la Gentamicina fueron liberadas del PMMA a niveles de concentraciones por encima de la CIM durante no menos de 30 días, mientras que concentraciones de otro antimicrobianos como el ceftiofur descendieron por debajo de la CIM luego de 7 días, concluyendo en dicho estudio que el ceftiofur no es un antimicrobiano que cargado en cemento de PMMA sea capaz de proveer concentraciones antibacterianas adecuadas a largo plazo.

12.1.11 Selección del Antimicrobiano.

El antimicrobiano a utilizarse en las preparaciones con cemento de PMMA debe cumplir con ciertos requisitos que no le permitan perder sus características químicas y biológicas.

La Tobramicina, Cefuroxime y Gentamicina, fueron los antimicrobianos más utilizados en preparaciones de PMMA (Adams y col., 1992; Malchau y col., 1993; Chiu y col., 2002). De estos, la gentamicina fue la más utilizada y estudiada (Hanssen, 2004).

La selección del antimicrobiano va a depender de su poder de estabilidad cuando son sometidos a altas temperaturas, el proceso de polimerización del PMMA sucede en un rango de 70°C a 120°C (DiPisa y col., 1976).

Los antimicrobianos aminoglucósidos tienen las características de ser termoestables y por lo tanto son ampliamente utilizados en estos tipos de preparaciones. La gentamicina presenta buenas propiedades para ser utilizado con cemento de PMMA (Popham y col., 1991). Tiene la característica principal de ser soluble en agua, termoestable, poder bactericida a bajas concentraciones y es poco antigénico (Goodell y col., 1986 ;).

Por otra parte, las cefalosporinas también han sido utilizadas (Levin, 1975; Picknell y col., 1977; Wahlig y Dingeldein, 1980; Tomczak, 1989; Henry y Galloway, 1995; Weisman y col. 2000 ;), mas frecuentemente la cefazolina y cefalexina. Las cefalosporinas de primera generación presentan muy buena actividad frente a organismos gram positivos como el *Staphylococcus spp.* y el *Streptococcus spp.* En ensayos realizados de forma in-vitro la cefazolina fue rápidamente liberada desde el PMMA (Adams y col., 1992).

12.1.12 Proporción del Antimicrobiano a utilizar.

Las proporciones de antimicrobianos varían según distintas bibliografías, pero ninguna de ellas supera aquella que haga de la mezcla de PMMA y un antimicrobiano un producto que puede ser ineficiente e inefectivo.

Las distintas proporciones van a actuar sobre las características mecánicas y sobre las propiedades de elución. Pero para la efectividad del sistema en el que se planifique el uso de la mezcla, es fundamental que no se pierdan las características mecánicas (Invernizzi, 2014).

Tanto para estos diferentes autores Calhoun y Mader, (1989) y Tobias y col., (1996), la proporción de PMMA y antimicrobiano no debería ser mayor a 20:1 (5% de antimicrobiano). La misma proporción de polvo de gentamicina (5%) fue utilizada en la preparación de un implante de PMMA, no presentando un efecto significativo sobre la fuerza de compresión provocada (Lautenschlager y col., 1976; Ethell y col., 2000. A su vez, cuando las proporciones eran de 10:1 (10% de antimicrobiano) o mayores, existía una disminución en la fuerza de

compresión recomendada para los implantes que cargarían peso (Lautenschlager y col., 1976; Ethell y col., 2000).

Además, cuando las proporciones utilizadas de antimicrobiano eran iguales o superiores al 11,25% o cuando se utilizaba antimicrobiano líquido en vez de en polvo, se observaba una disminución en la fuerza compresiva a un nivel por debajo de los estándares de la American Society for Testing and Materials (Lautenschlager y col., 1976). Esto se puede compensar con la adición de más de 4.5 gramos de gentamicina en polvo por cada 40 gramos de polvo de cemento, correspondiendo esto a un 11,25% del peso del cemento en antimicrobiano (Invernizzi, 2014).

Otros estudios realizados por Murray (1984) afirman lo anteriormente mencionado, un estudio mostró que si a 20 gramos de polvo de PMMA se le adhesionan 0,25 mg a 1 gramo de polvo de antimicrobiano (de 1,25 a 5% del peso del PMMA), no tenía ningún efecto en la fuerza mecánica del implante producido. Pero la adición de más de 2,25 gramos de antimicrobiano a 20 gramos de polvo de PMMA (>11.25% del peso) reduce negativamente la fuerza mecánica.

Si las características mecánicas del PMMA no son analizadas, las proporciones en la mezcla con el antimicrobiano pueden llevarse hasta 5:1 (20% de antimicrobiano) (Cierny y col., 2003). Cuando existen proporciones menores a la mencionada, no se logra completar la polimerización y tampoco el endurecimiento del cemento (Cierny y col., 2003).

12.2 Diferentes formas de presentación de Antimicrobianos.

La utilización de antimicrobianos en forma de líquido no fue necesariamente asociada a la pérdida de su eficacia. Sin embargo, fue reportado que la utilización de gentamicina en forma líquida causa un impacto negativo en las características mecánicas del cemento disminuyendo su elasticidad (Diefenbeck y col., 2006; Invernizzi, 2014).

Un estudio realizado por Marks y col. (1976) evidenciaron que las fuerzas de tensión y de compresión del PMMA, eran alteradas en forma negativa cuando se combinaban con soluciones acuosas de gentamicina, mientras que cuando se combinaba con la presentación en polvo, esto no sucedía.

Ethell y col. (2000) realizaron la medición de la tasa de elución de gentamicina y amikacina utilizadas en presentación de polvo y líquida de PPMM, concluyendo que no existían diferencias significativas entre una y otra presentación para la gentamicina. Sin embargo en el caso de la amikacina la elución se vio afectada, la presentación en polvo tuvo una liberación más rápida de las PPMM que la presentación líquida.

12.3 Combinación con Múltiples Antimicrobianos.

Las PPMM se pueden combinar con más de un antimicrobiano; pero éstos deben cumplir con los requerimientos básicos para su utilización en este tipo de transportadores. Se realizaron investigaciones en cementos mezclados con más de un antimicrobiano y encontraron que éstos tenían una elución en un tiempo menor que cuando se utilizaba un antimicrobiano como único agente (Ethell y col., 2000; Philips y col., 2007). Sin embargo cuando se combinaron metronidazol-gentamicina en la formulación de PPMM la elución aumentó, comparado a cuando éstos eran preparadas en perlas con los antimicrobianos de forma separada (Ramos y col., 2003).

En otro trabajo realizado por Phillips y col. (2007), cuando eran mezcladas la amikacina con la cefazolina en la preparación de las perlas, éstas no mantenían la CIM necesaria para eliminar la infección de una herida.

En 1984 Murray, utilizó con éxito una mezcla de eritromicina y colistina en la preparación de PPMM. Los antimicrobianos fueron liberados de forma rápida con concentraciones de poder bactericidas, sin causar efecto sobre la fuerza mecánica ni sobre sus características para la manipulación.

A pesar de las combinaciones de antimicrobianos que puedan ser utilizadas existe la posibilidad de tener que enfrentar, además de la infección, la complicación de que los patógenos sean formadores de biofilm (Invernizzi; 2014).

Muchos de los patógenos causantes de infecciones de hueso y tejidos blandos, producen un biofilm que limita la actividad del antimicrobiano unido al PMMA (Gracia y col., 1998). El biofilm es conocido como una delgada capa extracelular de glycocalix causada por diferentes cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*. Estas cepas tienen la capacidad de causar adherencia sobre materiales extraños, como son las PPMM (Bayston y Rogers, 1990).

Esta adherencia puede desarrollar recurrencia de infecciones y desarrollo de resistencia. En un estudio realizado por VonEif y col. (1997) se describió la presencia de colonias de *Staphylococcus aureus* resistentes a la gentamicina en heridas de pacientes con infecciones de hueso y tejidos blandos, que fueron tratados con PPMM impregnados en éste antimicrobiano.

Además, Kendall y col., (1996) demostraron en un estudio *in-vitro*, la presencia de microorganismos que habían sobrevivido en la superficie de perlas de MMA con antimicrobiano.

Debido al potencial conocido del PMMA impregnado en antimicrobianos para desarrollar resistencia bacteriana, no son recomendables para el uso de forma rutinaria como profilaxis. Dejando su uso profiláctico para cuando hay indicaciones claras de aplicación, como cuando existe un procedimiento primario de alto riesgo (Tsouvkas, 2012; Invernizzi 2014).

12.4 Uso Clínico de PMMA en Equinos.

El uso del PMMA, ha sido utilizado en animales desde hace varios años, obteniendo buenos resultados en el tratamiento de infecciones musculoesqueléticas y de tejidos blandos (Brown y Bennett. 1988; Butson y col., 1996; Trostle y col., 1996; Tobias y col., 1996; Holcombe 1997; Booth y col., 2001; Hartley y Sanderson, 2003; Invernizzi, 2014).

Las perlas de PMMA impregnadas con antimicrobianos son útiles para el tratamiento de heridas en equinos con una baja perfusión de sangre y para aquellas que contienen implantes quirúrgicos, que deben permanecer en su lugar (Hanson, 2018).

En el caso del uso en equinos, se realizaron diversos trabajos sobre las PPMM impregnadas en gentamicina. Éstas fueron estudiadas y utilizadas con éxito en el tratamiento de infecciones sinoviales en 11 equinos, donde 6 de ellos (54,5%) volvieron a sus actividades normales. En este mismo estudio las PPMM evidenciaron una liberación de 400 a 600 µg de gentamicina por perla/día, la tasa de elución disminuía exponencialmente a aproximadamente 75 µg por perla/día luego de 14 días y a 10 µg por día luego de 80 días (Butson y col., 1996).

En otro estudio retrospectivo en equinos con fracturas abiertas o infectadas (10 fracturas de huesos largos, 2 conminutas de falange, 5 lesiones articulares y 2 articulaciones con infección crónica), que fueron refractarias a las estrategias del tratamiento standard, se utilizaron PPMM para el depósito local de antimicrobiano. En este mismo, la infección se resolvió y la unión de los huesos ocurrió en 15 de 19 equinos (78,9%). Los antimicrobianos utilizados fueron la gentamicina, cefazolina, amikacina y tobramicina. Los autores concluyeron que el uso de las PPMM se debe considerar en el tratamiento de fracturas abiertas, para las infecciones agudas o crónicas de hueso y articulaciones en equinos (Holcombe, 1997; Invernizzi, 2014).

Otro trabajo realizado por Booth y col. (2001) con PPMM impregnadas con gentamicina fueron utilizadas para tratar la artritis infecciosa en las articulaciones del tarso de 11 equinos gravemente cojos. Fueron colocadas entre 5 - 10 perlas en un tramo de 7 a 8 mm mediante perforación en la articulación afectada, siendo aplicadas en todos los equinos excepto uno, y se dejaron en el sitio de implantación durante 14 días. Como resultado se obtuvo que 2 de los equinos fueran sometidos a eutanasia, por razones distintas a la sepsis de la articulación tarsal persistente, pero los otros 9 sobrevivieron y 7 de ellos regresaron a su nivel anterior de rendimiento deportivo.

En el tratamiento de artritis sépticas en equinos la implantación de materiales biocompatibles impregnados de antimicrobianos puede ser una opción, ya que se ha comprobado que los aminoglucósidos (gentamicina y amikacina) y ceftiofur mantienen unos niveles por encima de la CIM durante 24 hs tras una

única inyección intraarticular. Para el tratamiento de la sepsis articular también se emplean habitualmente otras cefalosporinas de tercera generación, al menos hasta que se obtienen los resultados del antibiograma.

Se ha estudiado el uso del PMMA con gentamicina, metronidazol, vancomicina, ceftiofur, cefazolina y amikacina. Las tetraciclinas no se desprenden del PMMA y no deben utilizarse. También se ha utilizado la combinación metronidazol - gentamicina demostrando que se desprenden bien del PMMA, pero no se recomienda combinar cefazolina - gentamicina.

Se moldea el implante en forma de perla y se inserta con un material de sutura no absorbible, se coloca el implante en la articulación o el hueso afectados y el antimicrobiano se desprende durante unos 7 días, aproximadamente. Alcanzando las concentraciones máximas durante las primeras 24-48 hs, dependiendo del antimicrobiano utilizado, posteriormente se retira el implante y puede sustituirse por otro. (Morton, 2005; Smith, 2010; Jaramillo, 2018).

Igualmente se pueden usar perlas de polimetilmetacrilato impregnadas de antimicrobianos, aunque durante su implantación directa en una articulación puede dañarse el cartílago (Smith, 2010).

En el tratamiento de las artiritis sépticas es beneficiosa su aplicación. Esto es debido a que la concentración local de antimicrobiano liberado por PMMA puede ser hasta 200 veces mayor que la lograda por la administración sistémica de antimicrobianos, donde aproximadamente el 5% de la solución antimicrobiana se libera de PMMA dentro de las primeras 24 a 48 horas después de la implantación. A esto le sigue una liberación lenta del antimicrobiano remanente a lo largo de los años (Sayegh y col. 2003; Ludwig y van Harreveld 2018).

Los implantes de PMMA se pueden colocar en el tejido periarticular y, a menudo, se extraen después de 2 a 4 semanas. Si se dejan en su lugar pueden producir una inflamación localizada o resistencia bacteriana.

Éstos no deben colocarse dentro de una estructura sinovial, ya que pueden inducir sinovitis y daño al cartílago articular (Ludwig y van Harreveld, 2018).

Las PPMM pueden ser útiles para el tratamiento de heridas infectadas en pacientes problemáticos donde el manejo de las heridas es un gran desafío a resolver. En las heridas se pueden mantener concentraciones altas de antimicrobianos a nivel local, lo que puede permitir la interrupción de la terapia antimicrobiana sistémica (Orsini y col.2017).

Las PMMA impregnadas de antimicrobianos colocadas en una herida, están determinadas por las dimensiones de la herida, cuando las perlas se colocan liberan concentraciones terapéuticas de antimicrobiano suspendidas en el líquido y tejido circundante durante varios días o semanas (Hanson, 2018).



Fig.8 Perlas de polimetilmetacrilato impregnadas con antimicrobiano implantadas en un sitio quirurgico.Tomada de Stone y col. (2006).

12.5 Esterilización y Preparación de PPMM.

Las PPMM pueden ser esterilizadas en autoclave o con gas de óxido de etileno; la posibilidad de disminuir la efectividad de los antimicrobianos al aplicarlos en autoclave, hacen al óxido de etileno el método preferido para esterilizarlos (Goodrich, 2006; Invernizzi, 2014).

En caso de utilizar gas para esterilizar, se recomienda airear los implantes por 24 horas a temperatura ambiente antes de utilizarlos (Goodrich, 2006; Invernizzi, 2014).

Un estudio realizado por Durham y Elfenbein (2019) evaluó los efectos de la esterilización con peróxido de hidrógeno vaporizado (VHP) sobre la eficacia antimicrobiana in vitro de las perlas de polimetacrilato de metilo (M-PMMA) impregnadas con meropenem. Este concluyó como resultado que la eficacia antimicrobiana in vitro de las perlas de M-PMMA se mantuvo después de la esterilización con VHP. La duración de la elución antimicrobiana en medios sólidos y líquidos no difirió significativamente entre las perlas de M-PMMA no esterilizadas y VHP esterilizadas; concluyendo en este estudio que las perlas de M-PMMA retuvieron la actividad antimicrobiana in vitro y eluyeron el fármaco hasta 2 semanas después de la esterilización con VHP.

12.6 Como se preparan las perlas de Polimetilmetacrilato. (Orsini Y Col., 2008).

1) Esterilización:

a. Recipiente.

b. Mezcladora.

c. Si se desea se puede esterilizar también un hilo de sutura monofilamento no absorbible o alambre de acero.

2) Antimicrobianos:

a. Los antimicrobianos en polvo se recomienda utilizarlos en proporciones de 1:5 a 1:20 partes de antimicrobiano y polimetilmetacrilato.

3) Preparar un área de trabajo aséptica y utilizar técnicas asépticas durante la preparación:

a. Como alternativa, las perlas pueden ser esterilizadas en autoclave luego de su preparación o con gas de óxido de etileno (Goodrich, 2006).

b. Se recomienda realizar el mezclado en un lugar ventilado, en caso de no poder realizarse al vacío para evacuar de esta manera los vapores generados.

4) Mezclar en recipiente:

a. El polvo del cemento.

b. El antimicrobiano deseado.

c. El líquido.

5) Darle la forma deseada.

a. Generalmente se hacen perlas de 5 a 7 mm de diámetro.

b. Las perlas se pueden colocar sobre una hebra de sutura para facilitar el retirado luego de su colocación.

6) Dejar que actuen.

a. Las perlas no utilizadas pueden ser esterilizadas en autoclave o por gas (Goodrich, 2006).

Cuando se elabora un molde de cuentas estas forman cuentas de 6 mm de diámetro, esta medida es óptima para el tratamiento de la mayoría de las heridas infectadas. Cuando se usa más de un antimicrobiano, se deben hacer perlas de PMMA para cada medicamento utilizado (Hanson, 2018).

Si las perlas no se usan inmediatamente después de la formulación, deben almacenarse en un recipiente estéril y hermético lejos de la luz directa hasta que sean implantadas (Orsini y col., 2017).

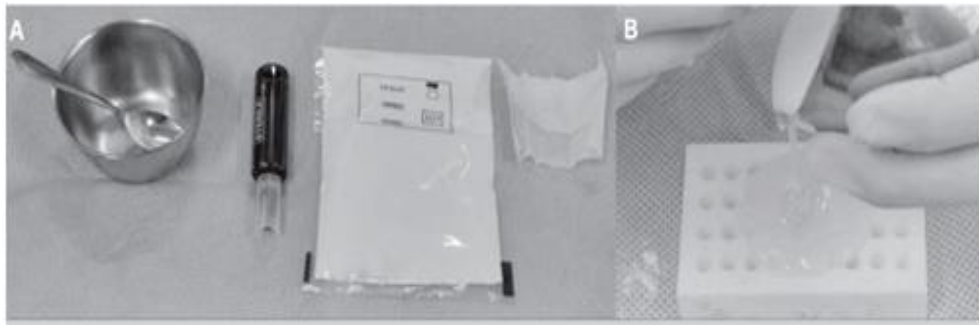


Fig.9 Se presenta el proceso de preparación de PMMA tomado de Azi y col. (2010)

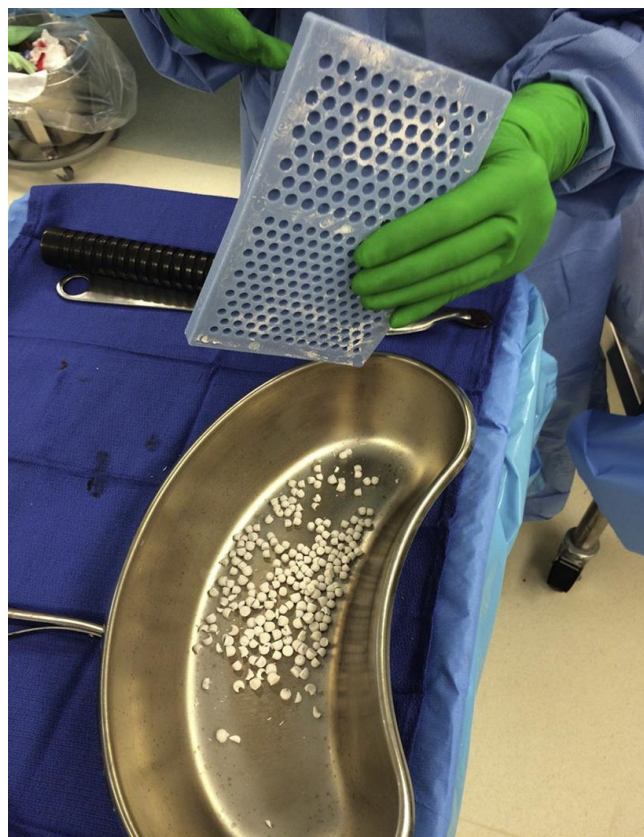


Fig.10 Perlas elaboradas para ser implantadas en el sitio quirúrgico. Tomado de Cancienne y col. (2015).

13 DISCUSIÓN.

Las heridas se clasifican según la presencia de infección, profundidad y localización. Estos tres factores van a influir en gran medida en la predisposición de las heridas a cicatrizar y en la terapéutica que se va a utilizar (Baxter, 2014).

Por lo tanto el manejo de heridas en pacientes equinos puede ser muy desafiante cuando se ven afectadas con una infección bacteriana que compromete la curación y complica aún más el tratamiento de la misma (Orsini y col, 2004). Esto sucede porque el desarrollo de una infección puede limitar seriamente el proceso de curación de la herida, interferir con el cierre de la ésta y hasta podría producir bacteriemia, sépsis y falla multi sistémica (Zilberman y col., 2008).

El depósito local de antimicrobianos para tratar infecciones músculo esqueléticas ha ido ganando popularidad, siendo la base en el tratamiento de infecciones de hueso y tejidos blandos, tanto para complementar, como para sustituir el uso de antimicrobianos sistémicos (Tsourvakas, 2012).

Con la utilización de estos métodos, se alcanzan altas concentraciones de antimicrobianos, pudiendo así eliminar bacterias resistentes a la terapia sistémica (Hayes y col., 2013; Invernizzi, 2014). La utilización de implantes en infecciones localizadas genera beneficios tales como ahorro de dinero, tiempo y sobre todo mano de obra; evitando además posibles efectos tóxicos de los antimicrobianos.

En el trabajo realizado por Invernizzi (2014) se plantea que el uso de la terapia sistémica en conjunto con el uso de implantes, en este caso esponjas de colágeno, para el tratamiento de una infección causada por *S. aureus* metilino resistentes puede ser efectiva. Muchos autores han utilizado los implantes impregnados con antimicrobianos como monoterapia obteniendo resultados positivos (Brown y Bennett. 1988; Butson y col., 1996; Trostle y col., 1996; Tobias y col., 1996; Holcombe 1997; Booth y col., 2001; Hartley y Sanderson, 2003).

La toxicidad de los antimicrobianos es considerada un importante factor nocivo para los tejidos y se debe tener en cuenta a la hora de la selección. Un ejemplo de esto es el caso de la tobramicina, Antoci y col. (2007) realizaron un estudio donde se mostraba que los niveles de concentración de antimicrobiano producían cambios en la proliferación celular.

Estas mismas concentraciones fueron alcanzadas en otro estudio, donde se demostro que una alta concentración de antimicrobianos no solo no producía una disminución en la proliferación celular, sino que tampoco alteraban su

capacidad osteogénica y la tasa de absorción no era influenciada por la concentración de antimicrobiano (Turner y col. 2005; Invernizzi, 2014).

Los niveles que se alcanzaron con el 2% de tobramicina en el trabajo realizado por Turner y col., (1998), también fueron mayores a los niveles citotóxicos propuestos por Antoci y col., (2007), sin embargo los resultados del estudio fueron positivos, sin que se evidencien problemas con la proliferación celular.

Uno de los sistemas biodegradables que comentamos en esta revisión bibliográfica fue el colágeno. Este es un material que ha sido usado como transportador desde hace ya varios años y su capacidad de ser utilizado como depósito local de antimicrobiano fue demostrado en la década del 70 por Chvapil al comparar la aplicación de tetraciclina en forma subcutánea con la aplicación de la misma cantidad de antimicrobiano incorporada por absorción en una esponja de colágeno. Evidenciando que con éste método el antimicrobiano permanecía por 14 días en el sitio de implante comparado a las 24 horas logradas tras la administración subcutánea, desde entonces varios autores han investigado su uso como transportador de antimicrobianos.

Muchos de los investigadores encontraron que el tiempo en que era liberado el antimicrobiano en ensayos *in-vitro* era muy corto, haciendo parecer que su uso *in-vivo* no iba a tener resultados (Sorensen y col., 1990). Sin embargo, en los ensayos que se realizaron *in-vivo* el tiempo de elución era no solamente mayor, sino que también era eficiente en la eliminación de una infección, como lo muestra Grzybowski y col., (1997) en un ensayo *in-vivo* en un modelo de osteomielitis experimental en ratas y Mehta y col., (1996), implantaron esponjas de colágeno con antimicrobiano en tejido muscular en conejos, logrando mantener la concentración del mismo por 28 días.

A pesar de estos estudios, Wachol-Drewek y col., (1996), han manifestado que de ser necesario un implante profiláctico contra la infección de una herida por un período de 24 a 48 hs, las esponjas de colágeno impregnadas con antimicrobiano son el material de elección a utilizar. Sin embargo, cuando el tratamiento en un área infectada debería asegurar una concentración de antimicrobianos por 5 a 10 días, ni el colágeno inmerso en solución antimicrobiana o las esponjas de colágeno cargadas con gentamicina son aplicables. Esto quedaría opacado tras el estudio mencionado de Mehta y col., (1996) y Grzybowski y col., (1997) en que ambos utilizaron como terapéutica la esponja de colágeno obteniendo éxito en la terapia contra la infección.

A pesar de estos estudios, que proponen al uso de la esponja como un tratamiento efectivo que logra concentraciones por varios días, los estudios de Ivester y col., (2006) y Hayes y col., (2013) muestran como el implante de colágeno en una cavidad articular logra grandes concentraciones al principio,

pero declina en 48 y 24 horas. Sabiendo que la liberación del antimicrobiano de la esponja es en grandes cantidades y muy rápida luego del implante (Mehta y col., 1996; Ruszczak y col., 2000b), este material demostró ser efectivo en los tratamientos de osteomielitis crónica en humanos (Ipsen y col., 1991; Ruszczak y col., 2003), en conejos (Mehta y col., 1996), ganado (Steiner y col. 1999), equinos (Summerhays, 2000), y caninos (Owen y col.2004).

Ademas, Cruz y col. (2006) describen la utilización de Collatamp con éxito en equinos y ganado como transportador de antimicrobianos donde evidenciaron que en muchos casos de fracturas expuestas, artrodesis infectadas e infecciones de tejidos blandos en más de una docena de los casos, la utilización de las esponjas no presentó efectos secundarios. Además afirman que la contribución de las esponjas de colágeno impregnadas al resultado exitoso de cada uno de los casos estudiados fue difícil de determinar.

En nuestro país se están realizando trabajos de implantes de esponjas de colágeno en heridas incisionales en equinos con buenos resultados postquirurgicos, pero faltan aun seguir implantando las mismas en mas pacientes, para poder llegar a concluir un uso efectivo sobre su utilización en heridas quirurgicas (Comunicación personal Dra. Cuns M. C., 2019).

Los estudios que realizaron diferentes autores en humanos y en la bibliografía utilizada, adquieren trascendencia en esta revisión debido a que existen muchos registros de los mismos con amplios datos registrados, obteniendo información de miles de pacientes, lo que hace el resultado de su utilización más certero(Ruszczak y col., 2003).

El uso de terapia sistémica en paralelo a la implantación de la esponja con antimicrobianos pareciera ser de carácter subjetivo, quedando su uso a discreción del veterinario a cargo, sabiendo que tanto el uso de la terapia sistémica con los implantes y el uso solamente de los implantes son efectivos en el tratamiento (Owen y col., 2004; Delfosse y col., 2011; Invernizzi, 2014). Aunque el uso de la terapia sistémica no brinda el beneficio de no alcanzar concentraciones con posibles efectos tóxicos, mientras que las esponjas, si bien alcanzan niveles sistémicos tras su implantacion, estos no alcanzan los niveles tóxicos estimados (Mehta y col., 1996; Ruszczak y col., 2003; Delfosse y col. 2011; Invernizzi, 2014).

Por otro lado la utilización de transportadores de antimicrobianos de tipo no biodegradables como el caso del PMMA demostró ser eficaz al ser utilizado como transportador de antimicrobianos en el tratamiento de las infecciones musculo esqueléticas, a pesar de su desventaja de tener que recurrir a una segunda intervención para ser retirado del sitio de implante. (Invernizzi, 2014).

El mecanismo por el cual se libera la droga es controversial. Por un lado Shurman y col., (1978) plantean que la liberación de la droga de la matriz es por difusión, al igual que lo hace Bayston y Milner (1988), donde ambos estudios plantean que el mecanismo de liberación es a través de la difusión pasiva, desde donde hay mayor concentración hacia donde hay menor.

Pero sin embargo, Marks y col., (1976), mencionan que la liberación se daba por el fenómeno de disolución a través de los poros o agujeros de la matriz. Esta teoría de la década de los años 70, fue afirmada por Baker y Greenham (1988), en un estudio donde probaron que la liberación no era gracias al fenómeno de difusión, sino que el antimicrobiano era liberado por disolución a través de poros o agujeros y roturas en la matriz.

Esto, también fue comprobado por la adición de antimicrobiano al cemento de PMMA, ya que cuanto más antimicrobiano se mezcle con el cemento, mayor será su porosidad, más áspera su superficie y abran más canales en la superficie de la perla, aumentando de esta forma la liberación del antimicrobiano (Calhoun y Mader, 1989). Según Streppa y col., (2001) e Invernizzi (2014), afirman que la liberación del antimicrobiano del PMMA nunca va a ser del 100%, porque el mismo está suspendido dentro de la matriz no absorbible, siendo solamente liberado hasta el 25% del antimicrobiano (Rushtone, 1997). Esto ocurre en las perlas de 7mm de diámetro, ya que, se mostró que se podía liberar hasta el 93% del antimicrobiano en las perlas si éstas tenían un tamaño menor (Walenkamp, 1989).

Varios autores coinciden en que la porosidad de la matriz del cemento aumenta la elución del antimicrobiano a medida que aumenta la porosidad de su matriz (Godel y col., 1986; Flick y col., 1987; Baker y Greenham, 1988; Henry y col., 1991; Invernizzi, 2014).

Como ya se ha mencionado, la adición de antimicrobiano al cemento aumenta la porosidad de la matriz, y cuanto más antimicrobiano se le agregue, más porosa será su matriz y mayor será la elución del mismo (Marks y col., 1976; Calhoun y Mader, 1989; Tobías y col., 1996; Ethell y col., 2000).

Cuando se aumenta la cantidad de antimicrobiano en los implantes, además de que aumenta la porosidad de la matriz, se están, utilizando diferentes proporciones de antimicrobiano y cemento para formular las perlas. Esto trae como consecuencia, dependiendo de las proporciones utilizadas, un aumento en la elución del antimicrobiano sin pérdida de las propiedades mecánicas o con pérdida de las propiedades mecánicas.

Para mantener las propiedades mecánicas del cemento, las proporciones de antimicrobiano no deben superar el 10% (Lautenschlager y col., 1976; Ethell y

col., 2000), aunque para Calhoun y Mader, (1989) y Tobías y col., (1996), no deben superar el 5%. Por otro lado, de no importar mantener las propiedades mecánicas del cemento, se pueden utilizar hasta un 20% de antimicrobiano, pero no se debe pasar de esa proporción ya que eso afectaría el fraguado y endurecimiento del cemento, Cierny y col., (2003).

Las propiedades mecánicas del cemento, además de poder ser modificadas con la proporción de antimicrobiano utilizada en la formulación de las perlas, también podría ser alterada al utilizar el antimicrobiano en forma de polvo o líquido. Según(Marks y col. , 1976;Diefenbeck y col., 2006; Invernizzi,2014), la forma líquida de la gentamicina, impacta en forma negativa en las características mecánicas que la que se aplica en forma en polvo del antimicrobiano , aunque ninguna de estas dos formas impacta negativamente en la efectividad de la terapia. Además, para las formas en polvo y líquida del antimicrobiano, las tasas de elución no presentaban diferencias significativas. A pesar de esto, la amikacina en forma de polvo fue liberada más rápido que la preparación en su forma líquida, Ethell y col., (2000).

La combinación de más de un antimicrobiano a las perlas, disminuye el tiempo de elución de los mismos según (Ethell y col., 2000; Phillips y col., 2007). En reflejo de esto cuando se combinó metronidazol-gentamicina aumentó la elución en comparación con las preparaciones con los antimicrobianos en forma individual (Ramos y col., 2003). Phillips y col., (2007), argumentan que no todos los antimicrobianos son aptos para ser utilizados en forma combinada en preparaciones con el cemento, como es el caso de la amikacina y la cefazolina. Esto se debe a que la amikacina con la cefazolina en la preparación de las perlas no mantiene la CIM necesaria para eliminar la infección de una herida.

Hasta el día de hoy según Cancienne (2015), la elución de los antimicrobianos impregnada en perlas de PMMA se ha estudiado ampliamente y sigue siendo un tema de debate que aun no se comprende por completo.

La utilización de PMMA en equinos y la efectividad en los tratamientos de diferentes infecciones es buena para este transportador, y fue aprobado para su uso en el tratamiento de la osteomielitis (Seligston y col. 1993; Klemm, 2001; Invernizzi, 2014), además representa el actual estándar de oro para el depósito local de antimicrobianos en procedimientos quirúrgicos ortopédicos en humanos (Nelson, 2004).

Asimismo diferentes autores afirman que el uso del PMMA, ha sido utilizado en animales desde hace varios años, obteniendo buenos resultados en el tratamiento de infecciones musculoesqueléticas y de tejidos blandos (Brown y Bennett. 1988; Butson y col., 1996; Trostle y col., 1996; Tobías y col., 1996;

Holcombe 1997; Booth y col., 2001; Hartley y Sanderson, 2003; Invernizzi, 2014).

Por otro lado Hanson (2018) afirma que las perlas de PMMA impregnadas con antimicrobianos son útiles para el tratamiento de heridas en equinos con una baja perfusión de sangre y aquellos que contienen implantes quirúrgicos que deben permanecer en su lugar.

Buston y col., (1996) muestran diversos trabajos sobre las PPMM impregnadas en gentamicina, en los cuales se utilizaron con éxito en el tratamiento de infecciones sinoviales en 11 equinos. Donde 6 de 11 caballos (54,5%) volvieron a sus actividades normales.

También Holcombe (1997), Invernizzi (2014) describieron un estudio retrospectivo en equinos con fracturas expuestas o infectadas donde se utilizaron PPMM para el depósito local de antimicrobiano. De este estudio describieron que, la infección se resolvió y la unión de los huesos ocurrió en 15 de 19 equinos (78,9%).

Por otro lado Booth y col. (2001) realizó un trabajo con PPMM impregnadas con gentamicina para tratar la artritis infecciosa en las articulaciones del tarso de 11 caballos gravemente cojos, donde fueron colocadas entre 5 y 10 y se dejaron aplicadas durante 14 días. Como resultado se obtuvo que nueve sobrevivieron y siete de ellos regresaron a su nivel anterior de rendimiento deportivo.

Smith (2010) afirma que el tratamiento de artritis sépticas en equinos basado en la implantación de materiales biocompatibles impregnados de antimicrobianos puede ser una opción ya que se ha comprobado que los aminoglucósidos (gentamicina, amikacina) y ceftiofur mantienen unos niveles por encima de la concentración mínima inhibitoria (CMI) durante 24 h tras una única aplicación intraarticular.

Tanto Sayegh y col. (2003) como Ludwig y van Harreveld (2018) afirman que en el tratamiento de las artritis sépticas en equinos la implantación de PMMA resulta ser beneficioso porque la concentración local de antimicrobiano liberado por PMMA puede ser hasta 200 veces mayor que la lograda por la administración sistémica de antimicrobianos.

Orsini y col. (2017) afirman que en las heridas se pueden mantener altas concentraciones de antimicrobianos a nivel local cuando se aplican PPMM pudiendo ser útiles para el tratamiento de heridas infectadas en pacientes problemáticos.

Es importante discutir en esta revisión la posibilidad de las PPMM pueden generar resistencia bacteriana, ya que la liberación del antimicrobiano en su

etapa final, es caracterizada por una liberación de bajas concentraciones predisponiendo a la aparición de resistencia (Tsourvakas, 2012).

Además existe la capacidad de adhesión de las bacterias a la superficie de las perlas y de formar un biofilm, esto fue demostrado por Kendall y col., (1996), predisponiendo la recurrencia de la infección y la resistencia bacteriana (vonEif y col., 1997).

Cuando comparamos las PPMM y el colágeno, en lo que refiere a las concentraciones sistémicas logradas tras su implantación, podemos observar que ambos logran cierta concentración, aunque ninguno de los transportadores alcanza concentraciones terapéuticas ni tóxicas. Las diferencias se encuentran en las concentraciones en el exudado que son alcanzadas a las 48 horas por la esponja de colágeno, las cuales eran mucho mayores que las generadas por el PMMA (Invernizzi; 2014).

En suero, las concentraciones logradas por la esponja, si bien eran detectables, estaban muy por debajo de los niveles tóxicos para el antimicrobiano, mientras que para el PMMA, las concentraciones séricas no pudieron ser detectables (Letsch y col., 1993).

En relación a la efectividad, cuando comparamos a las PPMM y el colágeno, ambos son descritos como métodos efectivos, logrando un éxito del 90 y 80% respectivamente en el tratamiento, por ejemplo, de una osteomielitis; las ventajas de la utilización del colágeno para estos casos, es su biodegradación, no siendo necesaria una segunda intervención para retirar el implante como sucede en el caso de las PPMM (Letsch y col., 1993).

Los polímeros sintéticos biodegradables (PSB) han sido estudiados como transportadores de antimicrobianos (El-Husseini y col., 2011).

Diferentes polímeros biodegradables se han investigado como transportadores, como el caso de ácido poli L-láctico (L-PLA), ácido poli DL láctico (PLA), ácido poliglicólico (PGA), y sus copolímeros, el poli L-láctico-coglicólico (L-PLGA) y el poli DL láctico-coglicólico (PLGA) en diferentes antimicrobianos como ampicilina, gentamicina, polimixina B y quinolonas (Kanellakopoulou y col., 1994; Nie y col, 1995; Calhoun, 1997).

Tsouvkas (2012) describe que varios estudios preliminares han concluido que estos materiales tienen compatibilidad con una gran variedad de antimicrobianos y la liberación in vivo de los mismos, es producida durante un periodo de tiempo establecido, minimizando la liberación residual de forma lenta (de concentraciones subóptimas).

Cribb y col. (2005) plantearon que el Hialuronato puede ser reabsorbible e inocuo para las articulaciones, esto se vio reflejado cuando utilizaron este compuesto como transportador de amikacina en el tratamiento de artritis séptica, pero Invernizzi (2014) describe en su trabajo que el antimicrobiano es liberado muy rápidamente del transportador por lo cual concluye que usar el Hialuronato como sistema en tratamientos a largo plazo es muy difícil.

En los últimos años se han utilizado materiales estructurales similares al colágeno, como es el caso del quitosán. Este material ofrece una buena protección a la herida y se ha investigado que este estimula la reparación de la misma, sin crear un tejido de granulación y cicatriz exuberante, teniendo gran actividad contra un amplio espectro de bacterias (Invernizzi, 2014).

Scott y col. en el año 2010 estudiaron el quitosán cargado con vancomicina y amikacina, realizando un ensayo *in-vitro*. Los antimicrobianos fueron cargados a la matriz, a través de la técnica de inmersión en solución con los antimicrobianos por 1 minuto. La conclusión de este estudio fue que las cantidades liberadas de antimicrobiano eran suficientes como para prevenir una infección musculoesquelética.

Los selladores de fibrina son materiales hemostáticos tópicos que están siendo utilizados cada vez más en los procedimientos quirúrgicos (Jackson, 2001; Invernizzi, 2014). Estos podrían llegar a tener un gran potencial para la entrega de antimicrobianos, (Jackson, 2001).

McDuffee (2012), realizó un trabajo en equinos en el cual depositó fibrina en el cuarto metatarsiano, con el fin de que esta sirva como vehículo de depósito local.

La ventaja que tienen estos materiales es la compatibilidad en las heridas quirúrgicas, logrando que los mismos sean buenos candidatos para utilizar como transportadores de liberación controlada de antimicrobianos en forma local (Woolverton y col., 2001; Invernizzi, 2014).

Por último el injerto óseo, ya sea en forma de autoinjerto o aloinjerto, es utilizado como transportador para la administración local de antimicrobianos, como lo afirma McLaren (2004) donde describe que estos han sido utilizados clínicamente durante muchos años. El mismo autor describe que este se absorbe directamente a las superficies óseas y la liberación posterior de antimicrobianos está basada en una cinética que se basa en la concentración del mismo.

Tambien Tsouvkas (2012) describe que existen muy pocos estudios con respecto a los niveles reales de concentración de los antimicrobianos locales y los efectos clínicos de los mismos, pero afirma que uno de los beneficios de esta clase de materiales es que la implantación brinda la oportunidad de transportar a los antimicrobianos en altas concentraciones y simultáneamente participa en el proceso de regeneración ósea durante el período de degradación del material.

14 CONCLUSIONES.

- El correcto manejo de las infecciones de heridas en equinos es muy importante, existiendo varias terapias practicables.

-El uso de transportadores de antimicrobianos en el tratamiento de infecciones óseas y de tejidos blandos en equinos es una excelente alternativa, dado que se evita la toxicidad ocasionada por los antimicrobianos de uso sistémico y posee ventajas como el ahorro en costo, mano de obra y tiempo.

-Para algunos tipos de heridas infectadas en equinos la terapia basada en transportadores de antimicrobianos no es efectiva, pero si sirve como tratamiento coadyuvante de la terapia antimicrobiana sistémica.

- El desbridamiento quirúrgico de las infecciones es primordial en la terapia con transportadores.

- Para prevenir las infecciones en tejido blando y en las incisiones quirúrgicas de equinos, el uso de las esponjas de colágeno sería el material adecuado a utilizar.

-Faltan hoy en día más estudios sobre la utilización de esponjas de colágeno en equinos, no siendo así para las PPMM en esta especie.

-En humanos existe un gran avance en estudios sobre diferentes transportadores antimicrobianos para el tratamiento ortopédico y de tejidos blandos.

- De utilizar transportadores en forma de PPMM, el tamaño de las mismas es importante para lograr mayores concentraciones. Sabiendo que si disminuye el tamaño, se aumenta la relación superficie-volumen y se alcanza una concentración más elevadas en menor tiempo.

- Las proporciones de antimicrobianos para la formulación de PPMM no deben superar el 10%.

- La necesidad de combinar los antimicrobianos estaría relacionada a la susceptibilidad de la bacteria y al criterio clínico del veterinario tratante.
- Los polímeros sintéticos de tipo biodegradables son excelentes para ser utilizados como transportadores, pero la desventaja es que son caros, difíciles de fabricar y no existen presentaciones en nuestro país en forma de perlas. Existe a disposición, hilos de sutura que tienen poder antibacterial, como es el ejemplo del vicryl plus.
- Otros sistemas biodegradables como el caso del Chitosan, Fibrina, Hialuronato e injertos oseos ya existen en el mundo, pero no se encontraron trabajos publicados sobre su utilización en equinos como transportadores antimicrobianos.

15 BIBLIOGRAFÍA.

1. Adam E. (2006). Surgical and Traumatic Wound Infections, Cellulitis, and Myositis in Horses. *Vet Clin North Am Eq Pract*, 22 (2): 335- 361.
2. Adams K, Couch L, Cierny G, Calhoun J, Mader JT. (1992). In vitro and in vivo evaluation of antibiotic diffusion from antibiotic-impregnated polymethylmethacrylates beads. *Clin Orthop Relat Res*, 278: 244-252.
3. Adams OR. (1998). Enfermedades Quirúrgicas de los miembros del caballo. Montevideo, Hemisferio Sur, 465 p.
4. Aleman M; Spier S.J., Wilson W.D., Doherr M. (1996). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in horses: 538 cases (1982-1993). *J Am Vet Med Assoc*, 209(4):804-9.
5. Almeida, E.V.S.; Wagner, R. (2017). Análise da concentração de gentamicina comercializada nas farmácias de Curitiba-PR. *Cadernos da Escola de Saúde, Curitiba*, 12: 99-108
6. Alós, J. I. (2015). Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 33(10):692-699.
7. Amsterdam, D. (2015). *Antibiotics in laboratory medicine*. 6. ed., Kingston, Wolters Kluwer ,807p.
8. Anagnostakos, K., Hitzler, P., Pape, D., Kohn, D., Kelm, J. (2008). Persistence of bacterial growth on antibiotic-loaded beads: is it actually a problem? *Acta Orthop* ,79(2):302-307.

9. Anagnostakos, K., Kelm, J., Regitz, T., Schmitt, E., Jung, W. (2005). In vitro evaluation of antibiotic release from and bacteria growth inhibition by antibiotic-loaded acrylic bone cement spacers. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 72(2): 373-378.
10. Anderson S. L., Devick I., Bracamonte J. L., Hendrick S., Barber S. M., Carmalt J. L., Wilson D. G. (2015). Occurrence of Incisional Complications After Closure of Equine Celiotomies With USP 7Polydioxanone. *Vet Surg*, 44: 521–526.
11. Antoci V Jr, Adams CS, Parvizi J, Ducheyne P, Shapiro IM, Hickok NJ. (2007). Covalently attached vancomycin provides a nanoscale antibacterial surface. *Clin Orthop Relat Res*, 461: 81-87.
12. Anusavice, K. J., dos Santos, J., Shen, C. (2004). *Phillips ciencia de los materiales dentales*. 11° ed. Madrid, Elsevier, 854 p.
13. Aran JM, Erre JP, Lima da Costa D, Debarh I, Dulon D. (1999). Acute and chronic effects of aminoglycosides on cochlear hair cells, *Ann. N.Y. Acad. Sci*, 884: 60– 68.
14. Auer JA, Stick JA. (2019). *Equine Surgery*. 5a ed. St Louis, Saunders Elsevier. 1882 p.
15. Azzetti R. (2013). Manejo médico quirúrgico de las heridas en equinos. Tesis. Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad de Bs. As, 35 p.
16. Baar S, Schoerner C, Roellinghoff M, Radespiel-Troeger M, Huemmer HP, Carbon RT. (2001). Collagen patches impregnated with antimicrobial agents have high local antimicrobial efficacy and achieve effective tissue gluing. *Infection*, 29 (1): 27–31.
17. Baker AS, Greenham LW. (1988). Release of gentamicin from acrylic bone cement: elution and diffusion studies. *J Bone Joint Surg Am*, 70 (10): 1551-1557.
18. Baxter G.M. (1999). Wounds and wound healing. En: Colahan, P.T., Merrit, A.M., Moore, J. N., Mayhew, I.G.J. (ed). *Equine medicine and surgery*. 5ª ed. Missouri, Mosby, 2076 p.
19. Baxter G.M. (2014). Adams y Stashak, *Claudicación en el caballo*. 6ª ed. Buenos Aires, Intermedica, 1392 p.
20. Baxter, G.M. (1998). Wound management. En: White N.A., Moore, J.N. (ed). *Current techniques in equine surgery and lameness*. 2ª ed. Philadelphia, Saunders, pp. 389–397.
21. Bayston R, Milner RDG. (1982). The sustained release of antimicrobial drugs from bone cement. *J Bone Joint Surg Br*, 64 (4): 460-464.

22. Bayston R, Rodgers J. (1990). Production of extra-cellular slime by *Staphylococcus epidermis* during stationary phase of growth: its association with adherence to implantable devices. *J Clin Pathol*, 43 (10): 866-870.
23. Becker, P. L., Smith, R. A., Williams, R. S., Dutkowsky, J. P. (1994). Comparison of antibiotic release from polymethylmethacrylate beads and sponge collagen. *J Orthop Res*, 12(5): 737-741.
24. Beraud R, Huneault L, Bernier D. (2008). Comparison of the selection of antimicrobial resistance in fecal *E.coli* during enrofloxacin administration with local drug delivery system or with intramuscular injections. *Can J Vet Res*; 72: 311–319.
25. Bertazzoni Minelli E, Benini A, Magnan B, Bartolozzi P.(2004). Release of gentamicin and vancomycin from temporary human hip spacers in two-stage revision of infected arthroplasty. *J Antimicrob Chemother.*,53(2):329-341.
26. Bertone A.L. (1989). Principles of wound healing. *Vet Clin. North Am. Eq Pract.* 5(3):449-463.
27. Bertran, J., Farrell, M., Fitzpatrick, N. (2013). Successful wound healing over exposed metal implants using vacuum-assisted wound closure in a dog. *J Small Anim Pract*, 54(7): 381-385.
28. Biberstein E.L., Jang S.S., Hirsh D.C. (1984). Species distribution of coagulase-positive staphylococci in animals. *J Clin Microbiol.*, 19(5):610-615.
29. Bidgood T, Papich MG. (2002) Plasma pharmacokinetics and tissue fluid concentrations of meropenem after intravenous and subcutaneous administration in dogs. *Am J Vet Res*, 63(12): 1622-1628.
30. Bistolfi, A., Massazza, G., Verné, E., Massè, A., Deledda, D., Ferraris, S., Crova, M. (2011). Antibiotic-loaded cement in orthopedic surgery: a review. *ISRN orthop*, doi:10.5402/2011/290851
31. Booth DM. (2010). Interpreting culture and susceptibility data in critical care: perks and pitfalls. *J Vet Emerg Crit Care*, 20 (1): 110-131.
32. Booth TM, Butson RJ, Clegg PD, Schramme MC, Smith RK. (2001). Treatment of sepsis in the small tarsal joint of 11 horses with gentamicina impregnated polymethyl methacrylate beads. *Vet Rec*, 148 (12): 276-280.

33. Borg, H., Carmalt, J. L. (2013). Postoperative septic arthritis after elective equine arthroscopy without antimicrobial prophylaxis. *Vet Surg*, 42(3):262-266.
34. Boyen, F., Verstappen, K. M., De Bock, M., Duim, B., Weese, J. S., Schwarz, S., Wagenaar, J. A. (2012). In vitro antimicrobial activity of miconazole and polymyxin B against canine meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* and meticillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolates. *Vet Derm*, 23(4): 381-e70.
35. Bratzler DW, Houck PM. (2005). Antimicrobial prophylaxis for surgery: an advisory statement from the National Surgical Infection Prevention Project. *Am J Surg*, 189:395–404.
36. Brook I. (2008) Microbiology and management of soft tissue and muscle infections. *Int J Surg*, 6: 328-338.
37. Brown A, Bennett D. (1988). Gentamycin impregnated polymethyl methacrylate beads for the treatment of septic arthritis. *Vet Rec* ,123 (24): 625-626.
38. Brown C. M., Kaneene J. B., Walker R. D. (1988). Intramuscular injection techniques and the development of clostridial myositis or cellulitis in horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 193: 668-670.
39. Buchholz HW, Elson RA, Heinert K. (1984). Antibiotic-loaded acrylic cement: current concepts. *Clin Orthop Rel Res*, 190: 96-108.
40. Buchholz HW, Engelbrecht H. (1970). Uber die depotwirkung einiger antibiotica bei vermischung mit dem kunstharz Palacos. *Chirurg*, 41 (11): 511-515.
41. Bunetel L, Sequi A, Cormier M, Langlais F. (1990). Comparative study of gentamicina release from normal and low viscosity acrylic bone cement. *Clin Pharm*, 19 (4):333-340.
42. Burke JF. (1961). The effective period of preventive antibiotic action in experimental incisions and dermal lesions. *Surgery*, 50: 161-168.
43. Buston RJ, Schramme MC, Garfick J, Davies JV. (1996). Treatment of intrasynovial infection with gentamicina impregnated polymethyl methacrylate beads. *Vet Rec*, 138 (19): 460-464.
44. Calhoun JH, Mader JT. (1989). Antibiotic beads in the management of surgical infections. *Am J Surg*, 157(4): 443-449.
45. Calhoun JH, Mader JT. (1997). Treatment of osteomyelitis with a biodegradable antibiotic implant. *Clin Orthop Rel Res*, 341: 206-214.

46. Campton-Johnston Sk, Wilson J. (2001). Infected wound management: advanced technologies, moisture-retentive dressings, and die-hard methods. *Crit Care Nurs Q* ,24(2): 64–77.
47. Cancienne, J. M., Burrus, M. T., Weiss, D. B., Yarboro, S. R. (2015). Applications of local antibiotics in orthopedic trauma. *Orthop Clin North Am*, 46(4):495-510.
48. Chambers, H. F. (2006). Ceftobiprole: in-vivo profile of a bactericidal cephalosporin. *Clin Micro Infec*, 12:17-22.
49. Chang WK, Srinivasa S, MacCormick AD, Hill AG. (2013). Gentamicin-collagen implants to reduce surgical site infection: systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Ann Surg*, 258(1):59-65.
50. Chiu FY, Chen CM, Lin CF, Lo WH. (2002). Cefuroxime-impregnated cement in primary total knee arthroplasty: a prospective randomized study of three hundred and forty knees. *J Bone Joint Surg*, 84-A (5): 759-762.
51. Christophersen, M. T., Tnibar, A., Pihl, T. H., Andersen, P. H., Ekstrøm, C. T. (2011). Sporting activity following colic surgery in horses: a retrospective study. *Equine Vet. J*, 43: 3-6.
52. Chvapil M., Pfister T., Escalada S., Ludwi, J., Peacock Jr E. E. (1979). Dynamics of the healing of skin wounds in the horse as compared with the rat. *Experi. Molec. Patho.*, 30(3):349-359.
53. Cierny G, Mader JT, Penninck JJ (2003). A clinical staging system for adult osteomyelitis. *Contemp Orthop*, 414: 7-24.
54. Cierny G. (1999). Infected tibial nonunions (1989-1995). The evolution of change. *Clin Orthop Rel Res*, 360: 97-105.
55. Clark C, Greenwood S, Dowling PM. (2004) A review of bacterial isolates of equine origin (1998-2003) and implications for antimicrobial therapy. *J Vet Pharm Ther*, 27: 385-387.
56. Clodagh K. (2009). Management of Wounds in horses. *Irish Vet J* ,62 (7): 477- 482.
57. Colahan P., Mayhew I., Merritt A., Moore J. (1998) *Medicina y Cirugía Equina*. 4ª ed. BsAs, Inter-Médica, 1733p.
58. Colahan P.T., Mayhew I.G., Merritt A.M., Moore J.N. (1999). *Equine Medicine and Surgery*. 5ª ed. St. Louis, Mosby, 2 Vol, 2076 p.
59. Colbath A. C., Patipa L., Berghaus R. D. Parks, A. H. (2014). The influence of suture pattern on the incidence of incisional drainage following exploratory laparotomy. *Equine Vet J*, 46: 156–160.

60. Cortés-Delgadillo, F. D. J. (2007). Terapia con antimicrobianos en equinos. *Rev San Mil*, 61(1): 45-54.
61. Costa-Farre C., Prades M., Ribera T., Valero, O., Taur, P. (2014). Does intraoperative low arterial partial pressure of oxygen increase the risk of surgical site infection following emergency exploratory laparotomy in horses? *Vet J*, 200:175-180.
62. Cox H.U., Newman S.S., Roy A.F., Hoskins J.D. (1984). Species of *Staphylococcus* isolated from animal infections. *Cornell Vet* ,74(2):124-35.
63. Cribb NC, Boure LP, Weese JS. (2005). Development of amikacina impregnated hyaluronan implants for the treatment of septic arthritis in horses. *Vet Surg* ,34: E5.
64. Cruz AM, Rubio-Martinez L, Dowling T. (2006). New antimicrobials, systemic distribution, and local methods of antimicrobial delivery in horses. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 22(2): 297-322.
65. Darnaud, S. J. M., Southwood, L. L., Aceto, H. W., Stefanovski, D., Tomassone, L., Zarucco, L. (2016). Are horse age and incision length associated with surgical site infection following equine colic surgery? *Vet J*, 217:3-7.
66. Davis, W., Fogle, C. A., Gerard, M. P., Levine, J. F., Blikslager, A. T. (2013). Return to use and performance following exploratory celiotomy for colic in horses: 195 cases (2003–2010). *Equine Vet J*, 45(2): 224-228.
67. De Jonge, B. L., Chang, Y. S., Gage, D., Tomasz, A. (1992). Peptidoglycan composition of a highly methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain. The role of penicillin binding protein 2A. *J Biol Chem*, 267(16): 11248-11254.
68. Delfosse V, El Warrak A, Clerfond P, Lussier B. (2011). Clinical investigation of local implantation of gentamicin-impregnated collagen sponges in dogs. *Can Vet J*,52(6):627–630.
69. Dellinger, E.P. (2007). Prophylactic antibiotics: administration and timing before operation are more important than administration after operation. *Clin Infect Dis*, 44:928-930.
70. Diefenbeck M, Muckley T, Hofmann G. (2006). Prophylaxis and treatment of implant-related infections by local application of antibiotics. *Injury*, 37: 95-104.
71. DiPisa JA, Sih GS, Berman AT. (1976). The temperature problem at the bone–acrylic cement interface of the total hip replacement. *Clin Orthop Relat Res*, 12: 95–98.

72. Doherr M.G., Carpenter T.E., Wilson W.D., Gardner I.A. (1999). Evaluation of temporal and spatial clustering of horses with *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection. *Am J Vet Res*, 60(3):284-91.
73. Dombrowski ET, Dunn AW. (1965). Treatment of osteomyelitis by debridement and closed wound irrigation-suction. *Clin Orthop Relat Res*, 43: 215-231.
74. Drancourt M., Stein A., Argenson J.N., Zannier A., Curvale G., Raoult D. (1993). Oral Rifampin plus ofloxacin for treatment of *Staphylococcus*-infected orthopedic implants. *Antimicrob Agen Chemother*, 37: 1214-1218.
75. Durham, M. E., Effenbein, J. R. (2019). Evaluation of vaporized hydrogen peroxide sterilization on the in vitro efficacy of meropenem-impregnated polymethyl methacrylate beads. *Am J Vet Res*, 80(1): 45-50.
76. Durich J.O. (2000), Resistencia bacteriana a los antibióticos. *Med. Integr*, 36: 367–370.
77. Durward-Akhurst, S.A., Mair, T.S., Boston, R., Dunkel, B., (2013). Comparison of two antimicrobial regimens on the prevalence of incisional infections after colic surgery. *Vet Rec*, 172: 287.
78. Edin ML, Miclau T, Lester GE, Lindsey RW, Dahners LE. (1996). Effect of cefazolin and vancomycin on osteoblasts in vitro. *Clin Orthop Relat Res*, 333: 245–251.
79. El-Husseini M, Patel S, MacFarlane RJ, Haddad FS. (2011). Biodegradable antibiotic delivery systems. *J Bone Joint Surg*, 93(2): 151-157.
80. Esposito S. (1999). Is single-dose antibiotic prophylaxis sufficient for any surgical procedure? *J Chemoth*, 11(6): 556-564.
81. Esposito, S., Blasi, F., Allegra, L., Principi, N., Mowgli Study Group. (2001). Use of antimicrobial agents for community-acquired lower respiratory tract infections in hospitalised children. *Eur. J. Clin Microbiol. Infect Dis*, 20(9):647-650.
82. Ethell MT, Bennett RA, Brown MP, Merritt K, Davidson JS, Tran T. (2000). In vitro elution of gentamicin, amikacin and ceftiofur from polymethylmethacrylate and hydroxyapatite cement. *Vet Surg*, 29(5): 375-382.
83. Farhi, D., Buffard, V., Roujeau, J. C. (2006). Infecciones agudas de los tejidos blandos. *EMC-Tratado de Medicina*, 10(3): 1-11.

84. Fitch R.B., Swaim S.F. (1995). The role of epithelialization in wound healing. *Compend. Contin. Educ Pract Vet*, 17(29): 167-177
85. Flick AB, Herbert JC, Goodell J, Kristiansen T. (1987). Non-commercial application of AIPMMA beads. Technical note. *Clin Orthop Rel Res*, 223: 282-286.
86. Freeman, K. D., Southwood, L. L., Lane, J., Lindborg, S., Aceto, H. W. (2012). Post operative infection, pyrexia and perioperative antimicrobial drug use in surgical colic patients. *Equine Vet J*, 44(4): 476-481.
87. French, N. P., Smith, J., Edwards, G. B., Proudman, C. J. (2002). Equine surgical colic: risk factors for postoperative complications. *Equine Vet J*, 34(5): 444-449.
88. Fux CA, Costerton JW, Stewart PS, Stoodley P. (2005). Survival strategies of infections biofilm. *Trends Microbiol*, 13(1): 34-40.
89. Galuppo, L. D., Pascoe, J. R., Jang, S. S., Willits, N. H., Greenman, S. L. (1999). Evaluation of iodophor skin preparation techniques and factors influencing drainage from ventral midline incisions in horses. *J Am Vet Med Assoc*, 215(7): 963-969.
90. Gardner SY, Papich MG. (2001). Comparison of cefepime pharmacokinetics in neonatal foals and adult dogs. *J Vet Pharmacol Ther*, 24: 187-192.
91. Garvin KL, Miyono JA, Robinson D, Giger D, Novak J, Radio S. (1994). Polylactide/polyglycolide antibiotic implants in the treatment of osteomyelitis. A canine model. *J Bone Joint Surg*, 76-A (10):1500- 1506.
92. Gbureck U, Probst J, Thull R. (2002). Surface properties of calcium phosphate particles for self setting bone cements. *Biomol Eng*, 19 (2-6):51-55.
93. Gemeinder, J. L. P. (2016). Desenvolvimento e avaliação de um sistema de liberação sustentada de gentamicina em biomembranas de látex natural. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/138114/gemeinder_jlp_me_int.pdf?sequence=4&isAllowed=y .Fecha de consulta: Abril 2019
94. Gibson, K. T., Curtis, C. R., Turner, A. S., Mcilwraith, C. W., Aanes, W. A., Stashak, T. S. (1989). Incisional hernias in the horse incidence and predisposing factors. *Vet Surg*, 18(5):360-366.
95. Gitelis S, y Brebach GT. (2002). The treatment of chronic osteomyelitis with a biodegradable antibiotic-impregnated implant. *J Orthop Surg (Hong-Kong)*, 10(1):53-60.

96. Gogia JS, Meehan JP, Di Cesare PE, Jamali AA. (2009). Local Antibiotic Therapy in Osteomyelitis. *Semin Plast Surg*, 23(2): 100-107.
97. Goodell JA, Flick AB, Hebert JC, Howe JG. (1986). Preparation and release characteristics of tobramycin-impregnated polymethylmethacrylate beads. *Am J Hosp Pharm*, 43(6):1454-1461.
98. Goodrich L.R. (2006). Osteomyelitis in horses. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 22: 389-417.
99. Gracia E, Lacteriga A, Monzon M, Leiva J, Oteiza C, Amorena B. (1998). Application of a rat osteomyelitis model to compare in vivo and in vitro the antibiotic efficacy against bacteria with high capacity to form biofilms. *J Surg Res*, 79(2): 146-153.
100. Gran Diccionario de la Lengua Española (2016). Definicion de Elucion. Disponible en: [https://es.thefreedictionary.com/eluci%. Fecha de consulta: Abril 2019.](https://es.thefreedictionary.com/eluci%c3%b3n)
101. Greene N, Holtom PD, Warren CA, Ressler RL, Shepherd L, McPherson E J, Patzakis M J. (1998). In vitro elution of tobramycin and vancomycin polymethylmethacrylate beads and spacers from Palacos and Simplex. *Am J Orthop*, 27(3):201–5.
102. Greene, N., Holtom, P. D., Warren, C. A., Ressler, R. L., Shepherd, L., McPherson, E. J., Patzakis, M. J. (1998). In vitro elution of tobramycin and vancomycin polymethylmethacrylate beads and spacers from Simplex and Palacos. *Am J Orthop*, 27(3):201-205.
103. Grönlund, U., Bergström, K. (2013). Monitoring of surgical site infections in three equine hospitals in Sweden. *Vet Surg*, 42(5):E67.
104. Gruskay, J., Smith, J., Kepler, C. K., Radcliff, K., Harrop, J., Albert, T., Vaccaro, A. (2013). The seasonality of postoperative infection in spine surgery. *J Neurosurg: Spin*, 18(1): 57-62.
105. Grzybowski J, Kołodziej W, Trafny EA, Struzyna J. (1997). A new anti-infective collagen dressing containing antibiotics. *J Biomed Mater Res*, 36(2): 163-166.
106. Guardabassi, L., Houser, G. A., Frank, L. A., Papich, M. G. (2008). Guide for antimicrobial use in dogs and cats. En: Guardabassi, L., Jensen, L.B., Kruse, H. *Guide to Antimicrobial use in animals*. Oxford, Blackwell, pp. 183-206.
107. Guglick MA, MacAllister CG, Clarke CR, Pollet R, Hague C, Clarke JM. (1998). Pharmacokinetics of cefepime and comparison with those of ceftiofur in horses. *Am J Vet Res*, 59(4):458-463.

108. Gursel I, Korkusuz F, Turesin F, Alaeddinoglu NG, Hasirci V. (2001). In vivo application of biodegradable controlled antibiotic release system for the treatment of implant-related osteomyelitis. *Biomaterials*, 22(1):73-80.
109. Hagemoser W. A., Hoffman L. J., Lundvall R. L. (1980) Clostridium chauvoei infection in a horse. *J Am Vet Med Assoc*, 176:631-633.
110. Hall, K., McCluskey, B. J., Cunningham, W. (2001). Corynebacterium pseudotuberculosis infections (Pigeon Fever) in horses in Western Colorado: An epidemiological investigation. *J Equine Vet Sci*, 21(6): 284-286.
111. Hall, R. M., Collis, C. M. (1995). Mobile gene cassettes and integrons: capture and spread of genes by site-specific recombination. *Mol Microbiol*, 15(4): 593-600.
112. Hanselka D.V. (1982). Wounds and their management. En: Mansmann R.A., McAllister E.S. (ed). *Equine medicine and surgery*. 3^a ed. Santa Bárbara, American Veterinary Publications, pp. 857-880.
113. Hanson, R. (2008). Complications of Equine Wound Management and Dermatologic Surgery. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 24 (3): 663- 696.
114. Hanson, R.R. (2018). Medical Therapy in Equine Wound Management. *Vet. Clin North Am Equine Pract*, 34(3): 591-603.
115. Hanssen AD. (2004). Prophylactic use of antibiotic bone cement: an emerging standard-in opposition. *J Arthroplasty*, 19(4): 759-762.
116. Hanssen AD. (2005). Local antibiotic delivery vehicles in the treatment of musculoskeletal infection. *Clin Orthop Relat Res*, 437: 91-96.
117. Hardy J., Rakestraw P. C. (2006). Postoperative care and Complications associated with abdominal surgery. En: Auer, J., Stick, J.A. *Equine Surgery*. 3rd ed. St. Louis, Saunders Elsevier, pp. 499–515.
118. Hardy, J., Rakestraw, P. C. (2012). Postoperative care, complications, and reoperation. En: Auer, J., Stick, J.A. *Equine surgery*. 4^a ed. St. Louis, Saunders Elsevier, pp. 514-529.
119. Hartley MP, Sanderson S. (2003). Use of antibiotic impregnated polymethylmethacrylate beads for the treatment of chronic mandibular osteomyelitis in a Bennett's wallaby (*Macropus rufogriseus rufogriseus*). *Aust Vet J*, 81(12): 742-744.
120. Hassel, D. M. (2017). Postoperative Complications. En: Blikslager AT., White II NA., Moore JN., Mair TS. *The Equine Acute Abdomen*. 3^a ed. Hoboken NJ, Wiley & Sons. pp. 624-638.

121. Hayes G, Moens N, Gibson T. (2013). A review of local antibiotic implants and applications to veterinary orthopaedic surgery. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 26: 251–259.
122. Hayes GM, Gibson TW, Moens NM, Monteiro B, Johnson RJ. (2014). Intra-articular pharmacokinetics of a gentamicin impregnated collagen sponge in the canine stifle: an experimental study. *Vet Surg*, 43(2):166-173.
123. Heikkilä, E., Siitonen, A., Jahkola, M., Fling, M., Sundström, L., Huovinen, P. (1990). Increase of trimethoprim resistance among *Shigella* species, 1975–1988: analysis of resistance mechanisms. *J Infect Dis*, 161(6): 1242-1248.
124. Henry SL, Galloway KP. (1995). Local antibiotic therapy for the management of orthopaedic infections. Pharmacokinetic considerations. *Clin Pharmacol*, 29(1):36-45.
125. Henry SL, Seligson D, Mangino P, Popham GJ. (1991). Antibiotic-impregnated beads. Part I: bead implantation versus systemic therapy. *Orthop Rev*, 20(3): 242-247.
126. Henry, S. L., Ostermann, P. A., Seligson, D. (1990). The prophylactic use of antibiotic impregnated beads in open fractures. *J. Trauma*, 30(10):1231-1238.
127. Holcombe SJ, Schneider RK, Bramlage LR, Embertson RM. (1997). Use of antibiotic-impregnated polymethylmethacrylate in horses with open or infected fractures or joints: 19 cases (1987-1995). *J Am Vet Med Assoc*, 211(7): 889-893.
128. Hollis, A.R., Wilkins, P.A. (2009). Current controversies in equine antimicrobial therapy. *Equine Vet Ed*, 21(4): 216-224.
129. Holtom, P. D., M. J. Patzakis. (2000). Open fractures and postoperative orthopedic infections. *Curr Treat Options Infect Dis*, 2:208-213.
130. Holtom, P. D., Patzakis, M. J. (2003). Newer methods of antimicrobial delivery for bone and joint infections. *Instr Course Lect*, 52: 745-752.
131. Honnas, C. M., Cohen, N. D. (1997). Risk factors for wound infection following celiotomy in horses. *J Am Vet Med Assoc*, 210(1): 78–81.
132. Hooper, D. C. (1999). Mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Drug Res Up*, 2(1):38-55.
133. Horan, T. C., Andrus, M., Dudeck, M. A. (2008). CDC/NHSN surveillance definition of health care–associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Cont*, 36(5):309-332.

134. Hubbert WT ; Mcculloch, WF ; Schnurrenberger PR (1975). Diseases transmitted from animals to man. 6ª ed. Springfield, Charles C. Thomas Publishers, 1206 p.
135. Humphrey, S. J., Mehta, S., Seaber, A. V., Vail, T. P. (1998). Pharmacokinetics of a degradable drug delivery system in bone. *Clin Orthop Relat Res*, 349: 218-224.
136. Hunyadi, L., Sundman, E. A., Kass, P. H., Williams, D. C., Aleman, M. (2017). Clinical implications and hospital outcome of immune-mediated myositis in horses. *J Vet Int Med*, 31(1): 170-175.
137. Ingle-Fehr, J. E., Baxter, G. M., Howard, R. D., Trotter, G. W., Stashak, T. S. (1997). Bacterial culturing of ventral median celiotomies for prediction of postoperative incisional complications in horses. *Vet Surg*, 26(1): 7-13.
138. Invernizzi J.P. (2014). Usos de transportadores de antibiótico en el tratamiento de infecciones óseas y de otros tejidos. Tesis. Universidad de la República, Facultad de Veterinaria; 111 p.
139. Ipsen T, Jorgensen PS, Damholt V, Torholm C. (1991). Gentamicin-collagen sponge for local applications. 10 cases of chronic osteomyelitis followed for 1 year. *Acta Orthop Scand*, 62(6): 592-594.
140. Isgren, C. M., Salem, S. E., Archer, D. C., Worsman, F. C. F., Townsend, N. B. (2017). Risk factors for surgical site infection following laparotomy: Effect of season and perioperative variables and reporting of bacterial isolates in 287 horses. *Equine Vet J*, 49(1): 39-44.
141. Isiklar ZU, Demirörs H, Akpinar S, Tandogan RN, Alparslan M.(1999). Two-stage treatment of chronic staphylococcal orthopaedic implant-related infections using vancomycin impregnated PMMA spacer and rifampin containing antibiotic protocol. *Bull Hosp Jt Dis* ,58(2):79-85.
142. Ivester KM, Adams SB, Moore GE, Van Sickle DC, Lescun TB. (2006). Gentamicin concentrations in synovial fluid obtained from the tarsocrural joints of horses after implantation of gentamicin-impregnated collagen sponges. *Am J Vet Res*, 67(9):1519-1526.
143. Jackson MR. (2001). Fibrin sealants in surgical practice: An overview. *Am J Surg*, 182(2): 1-7.
144. Jaramillo E. (2018). Poliartritis en Potros. Tesis. Corporación Universitaria Lasallista Facultad Ciencias Administrativas y Agropecuarias, 32 p.

145. Jenny G. (1988). Local antibiotic therapy using gentamicin-PMMA chains in post-traumatic bone infections. Short and long-term results. *Reconst Surg Traumatol*, 157(4): 36-46.
146. Jensen, N. K., Johnsrud, L. W., Nelson, M. C. (1939). The local implantation of sulfanilamide in compound fractures: A preliminary report. *Surgery*, 6(1): 1-12.
147. Josafsson G, Gudmudsson G, Kolmert L, Wijkstrom S. (1990). Prophylaxis with systemic antibiotics versus gentamicin bone cement in total hip arthroplasty. A five-year survey of 1688 hips. *Clin Orthop Relat Res*, 253: 173-178.
148. Joseph TN, Chen AL, Di Cesare PE. (2003). Use of antibiotic-impregnated cement in total joint arthroplasty. *J Am Acad Orthop Surg*, 11(1): 38–47.
149. Kahn C., Line S. (2007). *Manual Merck de veterinaria*. 6^a ed. Barcelona, Océano/Centrum, 2682 p.
150. Kanellakopoulou K, Giamarellos-Bourboulis EJ. (2000). Carrier systems for the local delivery of antibiotics in bone infections. *Drugs*, 59(6): 1223-1232.
151. Kawanabe K, Okada Y, Matsusue Y, Iida H, Nakamura T. (1998). Treatment of osteomyelitis with antibiotic-soaked porous glass ceramic. *J Bone Joint Surg Br*, 80(3): 527-530.
152. Kelmer, G., Tatz, A., Bdoolah-Abram, T. (2012). Indwelling cephalic or saphenous vein catheter use for regional limb perfusion in 44 horses with synovial injury involving the distal aspect of the limb. *Vet Surg*, 41(8):938-943.
153. Kendall RW, Duncan CP, Smith JA, Nqui-Yen JH. (1996). Persistence of bacteria on antibiotic loaded acrylic depots. A reason of caution. *Clin Orthop Relat Res*, 329: 273-280.
154. Kent, K.C. (1999). Wound healing. En: Auer J. A., Stick, J (ed). *Equine surgery*. 2^a ed. Philadelphia, Saunders, 937 p.
155. Khan R, Khan MH, Bey A. (2011). Use of collagen as an implantable material in the reconstructive procedures. *Biol Med*, 3 (4): 25-32.
156. Khan, R., Khan, M. H. (2013). Use of collagen as a biomaterial: An update. *J Indian Soc Periodonto*, 17(4): 539–542.
157. Klemm K. (2001). The use of antibiotic-containing bead chains in the treatment of chronic bone infections. *Clin Microbiol Infect*, 7(1): 28-31.

158. Klohnen, A., Biedrzycki, A. (2009). New approach to the detection of incisional site infections in horses after colic surgery. Proceedings of the 48th British Equine Veterinary Association Congress. Newmarket, Inglaterra, 244p.
159. Knottenbelt D.C. (2003). Handbook of equine wound management. London, Saunders, 95 p.
160. Kobluk, C. N., Ducharme, N. G., Lumsden, J. H., Pascoe, P. J., Livesey, M. A., Hurtig, M., Arighi, M. (1989). Factors affecting incisional complication rates associated with colic surgery in horses: 78 cases (1983-1985). *J Am Vet Med Assoc*, 195(5): 639-642.
161. Koch C.G, Li L, Hixson E, Tang A, Gordon S, Longworth D, Phillips S, Blackstone E. Henderson JM. (2013) Is it time to refine? An exploration and simulation of optimal antibiotic timing in general surgery. *J Am Coll Surg*, 217: 628-635.
162. Korzybski, T.; Kowszyk-Gindifer, Z.; Kurylowicz, W. (2013) Antibiotics: origin, nature and properties. Kent, Elsevier, 526p.
163. Kram HB, Bansal M, Timberlake O, Shoemaker WC. (1991). Antibacterial effects of fibrin glue-antibiotic mixtures. *J Surg Res*, 50(2): 175-178.
164. Kuechle DK, Landon GC, Musher DM, Noble PC. (1991). Elution of vancomycin, daptomycin, and amikacin from acrylic bone cement. *Clin Orthop Relat Res*, 264: 302-308.
165. Lautenschlager EP, Marshall GW, Marks KE, Schwartz J, Nelson CL. (1976). Mechanical strength of acrylic bone cements impregnated with antibiotics. *J Biomed Mater Res*, 10(6):8 37-845.
166. Lazzarini L, Mader TT, Calhoun JH. (2004). Osteomyelitis in long bones. *J Bone Joint Surg*, 86 (10): 230.
167. Lees M.J., Andrews G.C., Bailey J.V., Fretz P.B. (1989). Tunnel grafting of equine wounds. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet*, 11(8):962-970.
168. Letsch R, Rosenthal E, Joka T. (1993). Local antibiotic administration in osteomyelitis treatment: a comparative study with two different carrier substances. *Aktuelle Trauma*, 23(7) 324-329.
169. Leunig, M., Chosa, E., Speck, M., Ganz, R. (1998). A cement spacer for two-stage revision of infected implants of the hip joint. *Int Orthop*, 22(4): 209-214.
170. Levin PD. (1975). The effectiveness of various antibiotics in methyl methacrylate. *J Bone Joint Surg Br*, 57(2): 234-237.
171. Lew D.P., Waldvogel F.A. (2004). Osteomyelitis. *Lancet*, 364: 369-379.

172. Li XD, Hu YY. (2001). The treatment of osteomyelitis with gentamicin-reconstituted bone xenograft-composite. *J Bone Joint Surg Br*, 83(7): 1063-1068.
173. Li XZ, Nikaido H. (2004). Efflux mediated drug resistance in bacteria. *Drugs*,64(2): 159-204.
174. Lozano J S, Sebastián M S, González F, Hernández-Sampelayo T, Gómez M L N. (2011). Infecciones bacterianas de la piel y tejidos blandos. *Protocolos de infectologíaAEP*. Disponible en: <http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/piel.pdf> Fecha de consulta: Abril 2019.
175. Ludwig EK., van Harreveld PD.(2018). Equine Wounds over Synovial Structures. *Vet Clin North Am Equine Pract*,34(3):575-590.
176. Lugo J. (2006). Septic arthritis, tenosynovitis, and infections of the hoof structures. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 22: 363-388.
177. Lupescu, O., Nagea, M., Patru, C., Dimitriu, A., Ciurea, N., Lupescu, D., Marcov, N. (2016). Treatment of chronic bone infections using the Collagen based haemostatic-Collatamp. *Key Eng Mater* ,695: 133-138.
178. Maddox, T. W., Clegg, P. D., Williams, N. J., Pinchbeck, G. L. (2015). Antimicrobial resistance in bacteria from horses: Epidemiology of antimicrobial resistance. *Equine Vet J*, 47(6):756-765.
179. Maddox, Thomas W. (2011). Biofilms and Antimicrobial Resistance in Companion Animals. En: Percival, S.L., Knottenbelt, D., Cochrane, C. *Biofilms and Veterinary Medicine*. Berlin, Springer, pp. 223-252.
180. Mair, T. S., Smith, L. J. (2005). Survival and complication rates in 300 horses undergoing surgical treatment of colic. Part 1: short-term survival following a single laparotomy. *Equine Vet J*, 37(4):296-302.
181. Mair, T. S. Smith, L. J. (2005a). Survival and complication rates in 300 horses undergoing surgical treatment of colic. Part 1: short-term survival following a single laparotomy. *Equine Vet J*, 37: 296–302.
182. Mair, T. S., Smith, L. J. (2005b) Survival and complication rates in 300 horses undergoing surgical treatment of colic. Part 2: short-term complications. *Equine Vet J*, 37: 303–309.
183. Mair T. S., Smith L. J. (2005c). Survival and complication rates in 300 horses undergoing surgical treatment of colic. Part 3: Long-term complications and survival. *Equine Vet J*, 37: 310–314.
184. Makinen TJ, Veiranto M, Lankinen P, Moritz N, Jalava J, Tormala P, Aro HT. (2005). In vitro and in vivo release of ciprofloxacin from

- osteoconductive bone defect filler. *J Antimicrob Chemother*, 56(6):1063-1068.
185. Malchau H, Herberts P, Ahnfelt L. (1993). Prognosis of total hip replacement in Sweden. Follow up of 92675 operations performed 1978-1990. *Acta Orthop Scand*, 64(5): 497-506.
 186. Mangram A.J., Horan T.C., Pearson M.L., Silver L.C., Jarvis W.R. (1999). Guideline for prevention of surgical site infection. The Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, *Am J Infect Control*,(2):97-132
 187. Marks KE, Nelson CL, Lautenschlager EP. (1976). Antibiotic-impregnated acrylic bone cement. *J Bone Joint Surg*, 58(3): 358-364.
 188. Martindale, W (2011). *Martindale: The Complete Drug Reference*. 37^a. ed. London, Pharmaceutical Press, 4113 p.
 189. Masri B A, Duncan C P, Beauchamp C P, Paris N J, Arntorp J. (1994). Tobramycin and Vancomycin elution from bone cement. An in vivo and in vitro study. *Orthop Trans*, 18:130.
 190. Mattson S, Bouré L, Pearce S, Hurtig M, Burger J, Black W. (2004). Intraosseous gentamicin perfusion of the distal metacarpus in standing horses. *Vet Surg*, 33(2) 180-186.
 191. Mc Ilwraith C.W., Nixon A.J., Wright I.M. (2014). *Diagnostic and surgical arthroscopy in the horse*. 4^a ed. Philadelphia, Elsevier, 464 p.
 192. Mc Ilwraith C.W., Trotter G.W. (1997). *Joint Disease in the Horse*. Philadelphia, Saunders, 505 p.
 193. McDuffee LA, Pack L, Lores M, Wright GM, Esparza-Gonzalez B, Masaoud E. (2012). Osteoprogenitor cell therapy in an equine fracture model. *Vet Surg*, 41(7): 773-783.
 194. McLaren A. (1988). Antibiotic-impregnated bone graft: Postop levels of vancomycin and tobramycin. *Orthop Traum Assoc Meet*, 758-9.
 195. McLaren AC. (2004). Alternative materials to acrylic bone cement for delivery of depot antibiotics in orthopaedic infections. *Clin Orthop Relat Res*, 42: 101-106.
 196. McLaren, A. C., McLaren, S. G., Hickmon, M. K. (2007). Sucrose, xylitol, and erythritol increase PMMA permeability for depot antibiotics. *Clin Orthop Relat Res*, 461: 60-63.
 197. McLaren, A. C., Miniaci, A. (1986). In vivo study to determine the efficacy of cancellous bone graft as a delivery vehicle for antibiotics. *Trans Soc Biomat*, 12(1): 32-35.

198. McLaren, A. C., Nelson, C. L., McLaren, S. G., Wassell, D. L. (2005). Phenolphthalein used to assess permeability of antibiotic-laden polymethylmethacrylate: a pilot study. *Clin Orthop Relat Res*, 439: 48-51.
199. Mehta S, Humphrey JS, Schenkman DI, Seaber AV, Vail TP. (1996). Gentamicin distribution from a collagen carrier. *J Orthop Res*, 14(5): 749-54.
200. Meijer MC, van Weeren PR, Rijkenhuizen AB. (2000). Clinical experiences of treating septic arthritis in the equine by repeated joint lavage: a series of 39 cases. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*. 47(6): 351-365.
201. Miclau, T., Dahners, L. E., & Lindsey, R. W. (1993). In vitro pharmacokinetics of antibiotic release from locally implantable materials. *J Orthop Res*, 11(5): 627-632.
202. Milner, P. I., Bardell, D. A., Warner, L., Packer, M. J., Senior, J. M., Singer, E. R., Archer, D. C. (2014). Factors associated with survival to hospital discharge following endoscopic treatment for synovial sepsis in 214 horses. *Equine Vet J*, 46(6): 701-705.
203. Mishra, P. K., Ashoub, A., Salhiyyah, K., Aktuerk, D., Ohri, S., Raja, S. G., Luckraz, H. (2014). Role of topical application of gentamicin containing collagen implants in cardiac surgery. *J Cardio Surg*, 9(1):122-126.
204. Morton AJ. (2005). Diagnosis and treatment of septic arthritis. *Vet Clin North Am Equine Pract.* ; 21(3):627-49.
205. Murray WR. (1984). Use of antibiotics containing bone cement. *Clin Orthop*, 190: 89-95.
206. Nandi, S. K., Mukherjee, P., Roy, S., Kundu, B., De, D. K., Basu, D. (2009). Local antibiotic delivery systems for the treatment of osteomyelitis—A review. *Mat Sci Enginn*, 29(8): 2478-2485.
207. Nelson CL, Griffin FM, Harrison B material used for depot delivery of drugs. *Clinical Orthop Rel Res*, Vol. 4H, y Cooper RE. (1992). En: vitro elution characteristics of commercially and noncommercially prepared antibiotic PMMA beads. *Clin Orthop Relat Res*, 284: 303-309.
208. Nelson CL. (2004). The current status of material used for depot delivery of drugs. *Clin Orthop Relat Res*, 427: 72-78.
209. Nelson, C. L., Evans, R. P., Blaha, J. D., Calhoun, J. A. S. O. N., Henry, S. L., Patzakis, M. J. (1993). A comparison of gentamicin-impregnated polymethylmethacrylate bead implantation to conventional parenteral antibiotic therapy in infected total hip and knee arthroplasty. *Clin Orthop Rel Res*, 295: 96-101.

210. Neu, H. C. (1992). The crisis in antibiotic resistance. *Science*, 257(5073): 1064-1073.
211. Neut D, van der Belt H, Stokroos L, van Hom JR, van der Mei HC, y Busscher HJ. (2001). Biomaterial-associated infection of gentamicin-loaded PMMA beads in orthopaedic revision surgery. *J Antimicrob Chemother*, 47(6): 885-891.
212. Nie L, Nicolau DP, Nightingale CH, Browner BD, Quintiliani R. (1995). In vitro elution of ofloxacin from a bioabsorbable polymer. *Acta Orthop Scand*, 66(4): 365-368.
213. Olds, A. M., Stewart, A. A., Freeman, D. E., Schaeffer, D. J. (2006). Evaluation of the rate of development of septic arthritis after elective arthroscopy in horses: 7 cases (1994–2003). *J Am. Vet. Med. Assoc.*, 229(12): 1949-1954.
214. Oliveira, J.F.P.; Cipullo, J.P.; Burdmann, E.A. (2006). Aminoglycoside nephrotoxicity. *Rev Bras Cir Cardiovasc*, 21:444-452.
215. Organ CH. (1971). The utilization of massive doses of antimicrobial agents with isolation perfusion in the treatment of chronic osteomyelitis. *Clin Orthop.Relat Res*, 76: 185-193
216. Organización Mundial de la Salud (2000). Resistencia a los antimicrobianos: una amenaza mundial. *Bol. Medicam. esenciales*, 28–29:1–36.
217. Organización Mundial de la Salud (2017). Centro de prensa. Resistencia a los antibióticos. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/es/>
Fecha de consulta: Abril 2019.
218. Oromí Durich J. (2000). Resistencia bacteriana a los antibióticos. *Med Integr*, 36:367-70.
219. Orsini J.A., Elce Y.A., Kraus B. (2017). Management of severely infected wounds. En: Theoret C., Schumacher J., (ed). *Equine wound management*. 3ª ed. Ames, Wiley, pp. 449–475.
220. Orsini J.A., Moate P.J., Engiles J., Norman T., Poppenga R., Benson C.E., Boston R.C. (2004). Cefotaxime kinetics in plasma and synovial fluid following intravenous administration in horses. *J Vet Pharmacol Ther*, 27(5): 293-298.
221. Orsini JA, Divers T. (2008). *Equine Emergencies: Treatment and Procedures*. 3a ed. Philadelphia, Saunders Elsevier, 838 p.

222. Orsini JA, Moate PJ, Boston RC, Norman T, Engiles J, Benson CE, Poppenga R. (2005). Pharmacokinetics of imipenem-cilastatin following intravenous administration in healthy adult horses. *J Vet Pharmacol Ther*, 28(4): 355-361.
223. Owen MR, Moores AP, Coe RJ. (2004). Management of MRSA septic arthritis in a dog using a gentamicin-impregnated collagen sponge. *J Small Anim Pract*. 45(12): 609-612.
224. Pascoe, R. R., Knottenbelt, D. C. (1999). *Manual of equine dermatology*. Londres, Saunders, 320 p.
225. Peek, S. F., Semrad, S. D., Perkins, G. A. (2003). Clostridial myonecrosis in horses (37 cases 1985–2000). *Equine Vet. J* 35(1): 86-92.
226. Perry, C. R., Pearson, R. L. (1991). Local antibiotic delivery in the treatment of bone and joint infections. *Clin Orthop Relat Res*, (263):215-226.
227. Phillips H, Boothe DM, Shofer F, Davidson JS, Bennett RA. (2007). In vitro elution studies of amikacin and cefazolin from polymethylmethacrylate. *Vet Surg*, 36(3): 272-278.
228. Picknell B, Mizen L, Sutherland R. (1977). Antibacterial activity of antibiotics in acrylic bone cement. *J Bone Joint Surg Br*, 59(3): 302-307.
229. Popham GJ, Mangino P, Seligson D, Henry SL. (1991). Antibiotic-impregnated beads. Part II: Factors in antibiotic selection. *Orthop Rev*, 20(4): 331-337.
230. Quinn PJ, Carter ME, Markey BK, Donnelly WJ, Leonard FC (2002). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. Oxford, Wiley, 544 p.
231. Ramos JR, Howard RD, Pleasant RS, Moll HD, Blodgett DJ, Magnin G, Inzana TJ. (2003). Elution of metronidazole and gentamicin from polymethylmethacrylate beads. *Vet Surg*, 32(3): 251-61.
232. Ramshaw, J. A., Werkmeister, J. A., Glattauer, V. (1996). Collagen-based biomaterials. *Biotec Gen Engin Rev* , 13(1): 335-382.
233. Rathbone, C. R., Cross, J. D., Brown, K. V., Murray, C. K., Wenke, J. C. (2011). Effect of various concentrations of antibiotics on osteogenic cell viability and activity. *J Orthop Res*, 29(7):1070-1074.
234. Rebhun W. C., Shin S. J., King J. M., Baum K. H., Patten V. (1985) Malignant edema in horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 187:732-736.

235. Richardson D, Ahern B. (2012 Infecciones sinoviales y óseas) En: Auer J, Stick J. Cirugía equina. 4ª ed. San Luis, Saunders Elsevier; pp. 1192–1193.
236. Roblot, F., Besnier, J. M., Juhel, L., Vidal, C., Ragot, S., Bastides, F., Becq- Giraudon, B. (2007). Optimal duration of antibiotic therapy in vertebral osteomyelitis. *Semin Arthritis Rheum*, 36: 269-277.
237. Rodriguez, F., Kramer, J., Fales, W., Wilson, D., Keegan, K. (2009). Evaluation of intraoperative culture results as a predictor for short-term incisional complications in 49 horses undergoing abdominal surgery. *Vet Ther*, 10(4): E1-13.
238. Rosenkrantz, B. E., Greco, J. R., Hoogerheide, J. G., Oden, E. M. (1981). Gentamicin sulfate. In *Anal Profiles Drug Subs*, 9: 295-340.
239. Ross M.W., Dyson S.J. (2011). *Diagnosis and Management of Lameness in the horse*. 2ª ed. Pensilvania, Elsevier Saunders, 1396 p.
240. Roupas, A., Pitton, J. S. (1974). R factor-mediated and chromosomal resistance to ampicillin in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*, 5(2): 186-191.
241. Ruiz-Garbajosa P., Canton R. (2017). Update in Bacteriology Epidemiology of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Implications for empiric and definitive therapy. *Rev Esp Quimoter*, 30(Sup): 8– 12.
242. Rushton N. Applications of local antibiotic therapy. (1997). *Eur J Surg*, 163 (Sup), 578: 27-30.
243. Ruszczak Z, Mehrl R, Jeckle J, Stoltz M. (2000 a). Improved natural polymer-based material for use in human and veterinary medicine and method of manufacturing such. Patent application No. WO-01/66159.
244. Ruszczak Z, Mehrl R, Stoltz M, Jeckle J. (2000 b). Multilayer collagen material for tissue reconstruction. Patent application No. WO-01/66162.
245. Ruszczak Z., Friess W. (2003). Collagen as a carrier for on-site delivery of antibacterial drugs. *Adv Drug Deliv Rev*, 55(12): 1679-1698.
246. Sandberg, T., Skoog, G., Hermansson, A. B., Kahlmeter, G., Kuylenstierna, N., Lannergård, A., Ekman, G. S. (2012). Ciprofloxacin for 7 days versus 14 days in women with acute pyelonephritis: a randomised, open-label and double-blind, placebo-controlled, non-inferiority trial. *Lancet.*, 380 (9840): 484-490.
247. Sayegh AI, Moore RM. (2003). Polymethylmethacrylate beads for treating orthopedic infections. *Comp Cont Ed Pract Vet*, 25:788–95.

248. Scharner, D., Gittel, C., Winter, K., Blaue, D., Schedlbauer, C., Vervuert, I., Brehm, W. (2018). Comparison of incisional complications between skin closures using a simple continuous or intradermal pattern: a pilot study in horses undergoing ventral median celiotomy. *Peer J*, 6:e5772.
249. Schumacher, J., Hanselka, D. V. (1989). Skin grafting of the horse. *Vet Clinics North Am: Equine Pract*, 5(3): 591-614.
250. Schurman, D. J., Hirshman, H. P., Kajiyama, G., Moser, K., Burton, D. S. (1978). Cefazolin concentrations in bone and synovial fluid. *JBJS*, 60(3): 359-362.
251. Schwartz A. J., Wilson D. A., Keegan K. G., Ganjam V. K., Sun Y., Weber, K. T., Zhang, J. (2002). Factors regulating collagen synthesis and degradation during second-intention healing of wounds in the thoracic region and the distal aspect of the forelimb of horses. *Am J Vet Res*, 63(11): 1564-1570.
252. Scott P, Noel MS, Harry S, Courtney, Joel D, Bumgardner, Warren O, Haggard. (2010). Chitosan Sponges to Locally Deliver Amikacin and Vancomycin. A Pilot In Vitro Evaluation. *Clin Orthop Relat Res*, 468: 2074–2080.
253. Scott, D. W., Miller, W. H. (2010). Bacterial Skin Diseases. En: Scott, D. W., Miller, W. H. *Equine Dermatology*. 2^a ed., Philadelphia, Elsevier. pp. 130-170.
254. Seligson D, Popham GJ, Voos K, Henry SL, Faghri M. (1993). Antibiotic-leaching from Polymethylmethacrylate beads. *J Bone Joint Surg*, 75(5): 714-720.
255. Shinto Y, Uchida A, Korkusuz F, Araki N, Ono K. (1992). Calcium Hydroxyapatite ceramic used as a delivery system for antibiotics. *J Bone Joint Surg*, 74(4): 600-604.
256. Simon S., Ojeda F. (2012). Heridas en miembros del equino por alambre. Tesis. Universidad de la República, Facultad de Veterinaria; 67 p.
257. Sisson S. (1994). Tegumentos. En: Sisson. S, Grossman J.D. (ed). *Anatomía de los animales domésticos*. 5a ed. Mexico, Salvat. pp. 350-370.
258. Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, M. M., Knottenbelt, D. C. (2001). *The practitioners guide to equine dermatology*. Leeuwarden, Uitgeverij Libre BV. 120 p.

259. Słowikowska, M., Siwińska, N., Żak, A., Borowicz, H., Kubiak, K., Niedźwiedz, A. (2018). Myonecrosis in a horse after an intramuscular injection of menbutone1. *Med Wet*, 74(12):795-798.
260. Smith BP. (2010). *Medicina interna de grandes animales*. 4^a ed. Madrid, Elsevier. 1868 p.
261. Smith, L. J., Mellor, D. J., Marr, C. M., Reid, S. W. Mair, T. S. (2007). Incisional complications following exploratory celiotomy: Does an abdominal bandage reduce the risk? *Equine Vet J*, 39(3), 277–283.
262. Sorensen TS, Sorensen AL, Merser S. (1990). Rapid release of gentamicina from collagen sponge: in vitro comparison with plastic beads. *Acta Orthop Scand*, 61(4): 353-356.
263. Southwood L.L. (2014) Perioperative antimicrobials: Should we be concerned about antimicrobial drug use in equine surgical patients? *Vet J*, 46: 267–269.
264. Southwood LL. (2006). Principles of antimicrobial therapy: What should we be using? *Vet Clin North Am Equine Pract*, 22: 279-296.
265. Stashak T. (1994). *Manejo de las heridas en equinos*. BsAs, Intermédica, 236 p.
266. Stashak, T.S. (1997). Current concepts in wound management in horses. *Curso Internacional Medicina y Cirugía de Equinos*, Santiago de Chile, pp.1-14
267. Steel CM, Hunt AR, Adams PL, Robertson ID, Chicken C, Yovich JV, Stick JA. (1999). Factors associated with prognosis for survival and athletic use in foals with septic arthritis: 93 cases (1987-1994). *J Am Vet Med Assoc*, 215(7): 973-977.
268. Steiner A, Hirsbrunner G, Miserez R, Tschudi P. (1999). Arthroscopic lavage and implantation of gentamicin-impregnated collagen sponges for treatment of chronic septic arthritis in cattle. *Vet Comp Orthop Traumat*, 12: 64–69.
269. Streppa HK, Singer MJ, Budsberg SC. (2001). Applications of local antimicrobial delivery systems in veterinary medicine. *J Am Vet Med Assoc.*, 219(1): 40-48.
270. Summerhays GE. (2000). Treatment of traumatically induced synovial sepsis in horses with gentamicin-impregnated collagen sponges. *Vet Rec*, 147(7): 184–188.
271. Sussman C., Bates-Jensen B.M. (2001). *Wound Care: A Collaborative Practice Manual for Physical Therapists and Nurses*. 2^a ed. Gaithersburg, Aspen, 712 p.

272. Swaim S. F., Henderson, R. A., Pidgeon, R. S. (1990). Small animal wound management. Philadelphia, Lea & Febiger. 252 p.
273. Swaim S.F., Hinkle S.H., Bradley D.M. (2001). Wound contraction: Basic an clinical factors. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.* 23(1):20-33.
274. Swaim S.F., Lee A. H. (1987). Tropical wound medications. A review. *J Am Vet Med Assoc*,190(12):1588-1593.
275. Takechi M, Miyamoto Y, Ishikawa K, Nagayama M, Kon M, Asaoka K, Suzuki K. (1998). Effects of added antibiotics on the basic properties of anti-washout-type fast-setting calcium phosphate cement. *J Biomed Mater Res*, 39(2): 308-16.
276. Tenover, F. C. (2006). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *Am J Med*, 119(6): S3-S10.
277. ter Boo, G. J. A., Grijpma, D. W., Moriarty, T. F., Richards, R. G., Eglin, D. (2015). Antimicrobial delivery systems for local infection prophylaxis in orthopedic-and trauma surgery. *Biomaterials.*; 52:113-125.
278. Theoret C.L., Barber S.M., Gordon J.R. (2002). A temporal localization of immunoreactive transforming growth factor β 1 in normal equine skin and in full-thickness dermal wounds. *Vet. Surg*; 31(3): 274-280.
279. Theoret C., Schumacher J. (2017). *Equine wound management*. 3 ed. Ames, Wiley Blackwell; 550 p.
280. Theoret, C. L., Barber, S. M., Moyana, T. N., Gordon, J. R. (2001). Expression of transforming growth factor β 1, β 3, and basic fibroblast growth factor in full-thickness skin wounds of equine limbs and thorax. *Vet Surg*, 30(3):269-277.
281. Tnibar, A., Grubbe Lin, K., Thurøe Nielsen, K., Christophersen, M. T., Lindegaard, C., Martinussen, T., Ekstrøm, C. T. (2013). Effect of a stent bandage on the likelihood of incisional infection following exploratory coeliotomy for colic in horses: a comparative retrospective study. *Equine Vet J*, 45(5): 564-569.
282. Tobias KM, Schneider RK, Besser TE. (1996). Use of antimicrobial-impregnated polymethylmethacrylate. *J Am Vet Med Assoc*, 208(6): 841-845.
283. Tomczak RL, Dowdy N, Storm T, Lane J, Caldarella D. (1989). Use of ceftazidime impregnated polimethyl methacrylate beads in the treatment of *Pseudomonas osteomyelitis*. *J Foot Surg*, 28(6): 542-546.
284. Torfs, S., Levet, T., Delesalle, C., Dewulf, J., Vlaminck, L., Pille, Martens, A. (2010). Risk factors for incisional complications after

exploratory celiotomy in horses: do skin staples increase the risk? *Vet Surg.*, 39(5): 616-620.

285. Traub-Dargatz JL, George JL, Dargatz DA, Morley PS, Southwood LL, Tillotson K. (2002) Survey of complications and antimicrobial use in equine patients at veterinary teaching hospitals that underwent surgery because of colic. *J Am Vet Med Assoc.*; 220(9): 1359-1365.
286. Tremaine H. (2000). Infection of joints and tendon sheaths in horses. In *Practice*. 22(5): 262-275.
287. Trostle SS, Hendrickson DA, Stone WC, Klohn AA. (1996). Use of antimicrobial-impregnated polymethylmethacrylate beads for treatment of chronic, refractory septic arthritis and osteomyelitis of the digit in a bull. *J Am Vet Med Assoc.*, 208(3): 404-407.
288. Trostle SS, Hartmann FA. (1999). Surgical infection. *Equine surgery*. 2^a ed. Philadelphia, Saunders. pp. 47-54.
289. Tsourvakas S, Hatzigrigoris P, Tsibinos A, Kanellakopoulou K, Giamarellou H, Dounis E. (1995). Pharmacokinetic study of fibrin clot-ciprofloxacin complex: an in vitro and in vivo experimental investigation. *Arch Orthop Trauma Surg*, 114(5): 295-297.
290. Tsourvakas S. (2012). Local Antibiotic Therapy in the Treatment of Bone and Soft Tissue Infections, Selected Topics in Plastic Reconstructive Surgery, 242p. Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/selected-topics-in-plastic-reconstructive-surgery/localantibiotic-therapy-in-the-treatment-of-bone-and-soft-tissue-infections>. Fecha de consulta: Abril, 2019.
291. Turner T.M., Urban R.M., Hall D.J., Chye P.C., Segreti J., Gitelis S. (2005). Local and systemic levels of tobramycin delivered from calcium sulfate bone graft substitute pellets. *Clin Orthop*, 437: 97-104.
292. Turner TM, Urban RM, Gitelis S, Sumner DR, Haggard WO, Parr JE. (1998). Antibiotic delivery from calcium sulfate as a synthetic bone graft in a canine defect. *Trans Orthop Res Soc*, 597: 110-111.
293. Van Den Boom R., Wilmink J. M., O'kane S., Wood, J., Ferguson, M. W. (2002). Transforming growth factor- β levels during second-intention healing are related to the different course of wound contraction in horses and ponies. *Wound Repair. Regen.*, 10(3):188-194.
294. von Eiff C., Bettin D., Proctor RA., Lindner N., Winkelmann W., Peters G. (1997). Recovery of small colony variants of *Staphylococcus aureus* following gentamicin bead placement for osteomyelitis. *Clin Infect Dis*, 25:1250-1251.

295. Wachol-Drewek Z, Pfeiffer M, Scholl E. (1996). Comparative investigation of drug delivery of collagen implants saturated in antibiotics solutions and a sponge containing gentamicin. *Biomaterials*, 17(17): 1733-1738.
296. Wahlig H, Dingeldein E. (1980). Antibiotics and bone cements: experimental and clinical long-term observations. *Acta Orthop Scand*, 51(1): 49-56.
297. Walenkamp GH. (1989). Small PMMA beads improve gentamicin release. *Acta Orthop Scand.*; 69(6): 668-669.
298. Webb, J. C. J., Spencer, R. F. (2007). The role of polymethylmethacrylate bone cement in modern orthopaedic surgery. *J Bone Joint Surg Br* 89(7):851-857.
299. Weese JS, Archambault M, Willey BM, Hearn P, Kreiswirth BN, Said-Salim B, McGeer A, Likhoshvay Y, Prescott JF, Low DE. (2005) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses and horse personnel, 2000-2002. *Emerg. Infect. Dis.*; 11(3):430-435.
300. Weisman DL, Olmstead ML, Kowalski JJ. (2000). In vitro evaluation of antibiotic elution from polymethyl methacrylate (PMMA) and mechanical assessment of antibiotic PMMA composites. *Vet Surg.*, 29(3): 245-251.
301. Welsh R.D. (1990). *Corynebacterium pseudotuberculosis* in the horse. *Equine Pract.*, 12:7-16.
302. Westropp, J. L., Sykes, J. E., Irom, S., Daniels, J. B., Smith, A., Keil, D., Chew, D. J. (2012). Evaluation of the efficacy and safety of high dose short duration enrofloxacin treatment regimen for uncomplicated urinary tract infections in dogs. *J Vet Int Med*, 26(3): 506-512.
303. Wilmink J.M., Nederbragt H., Van Weeren P. R., Stolk P. W. T., Barneveld, A. (2001). Differences in wound contraction between horses and ponies: the in vitro contraction capacity of fibroblasts. *Equine Vet J*; 33(5): 499-505.
304. Wilmink J.M., Veenman J.N., Van Den Boom R., Rutten V.P.M.G., Niewold T.A., Broekhuisen-Davies J.M., Lees P., Armstrong S., Van Weeren P.R., Barneveld A. (2003). Differences in polymorphonucleocyte function and local inflammatory response between horses and ponies. *Equine Vet. J.* 35(6):561-569.
305. Wilson DA, Baker GI, Boero MJ. (1995). Complications of celiotomy incisions in horses. *Vet Surg*, 24(6): 506-514.
306. Wilson, C. J., Kermeci, S., Weinrauch, P. C. (2018). Absorbable collagen implants localise delivery of gentamicin in uncemented primary total hip arthroplasty. *Int. J Adv Jt Reconstr.*, 5(1):19-29.

307. Witso E, Persen L, Loseth K, Benum P, y Bergh K. (2000). Cancellous bone as an antibiotic carrier. *Acta Orthop Scand*, 71(1): 80-84.
308. Wong ES. (1996). Surgical site infections. En: Mayhal CG, Hospital epidemiology and infection control. Baltimore (MD), Williams y Wilkins. pp. 154-175.
309. Woolverton CJ, Fulton JA, Salstrom SJ, Hayslip J, Haller NA, Wildrout ML, McPhee M. (2001). Tetracycline delivery from fibrin controls peritoneal infection without measurable systemic antibiotic. *J Antimic Chemother*, 48(6): 861-867.
310. Wu P, Grainger DW. (2006). Drug/device combinations for local drug therapies and infection prophylaxis. *Biomaterials*, 27(11): 2450–2467.
311. Zilberman M, Elsner JJ. (2008) Antibiotic-eluting medical devices for various applications. *J Control Release*, 130(3): 202–215.
312. Zulauf M, Jordan P, Steiner A. (2001). Fenestration of the abaxial hoof wall and implantation of gentamicin-impregnated collagen sponges for the treatment of septic arthritis of the distal interphalangeal joint in cattle. *Vet Rec*, 149(17): 516–518.