



COMILLAS

UNIVERSIDAD PONTIFICIA

ICAI

GRADO EN INGENIERÍA EN TECNOLOGÍAS INDUSTRIALES (GITI)

TRABAJO FIN DE GRADO

ESTUDIO DE ENVEJECIMIENTO IN VITRO DE CEMENTOS ÓSEOS ENRIQUECIDOS CON ANTIBIÓTICOS

Autor: Alicia Vivas Hernando

Director: Eva Paz Jiménez

Co-Director: María Yolanda Ballesteros Iglesias

Madrid

Junio de 2019

AUTORIZACIÓN PARA LA DIGITALIZACIÓN, DEPÓSITO Y DIVULGACIÓN EN RED DE PROYECTOS FIN DE GRADO, FIN DE MÁSTER, TESIS O MEMORIAS DE BACHILLERATO

1º. Declaración de la autoría y acreditación de la misma.

El autor D. ALICIA VIVAS HERNANDO

DECLARA ser el titular de los derechos de propiedad intelectual de la obra: ESTUDIO DE ENVEJECIMIENTO “IN VITRO” DE CEMENTOS ÓSEOS ENRIQUECIDOS CON ANTIBIÓTICOS, que ésta es una obra original, y que ostenta la condición de autor en el sentido que otorga la Ley de Propiedad Intelectual.

2º. Objeto y fines de la cesión.

Con el fin de dar la máxima difusión a la obra citada a través del Repositorio institucional de la Universidad, el autor CEDE a la Universidad Pontificia Comillas, de forma gratuita y no exclusiva, por el máximo plazo legal y con ámbito universal, los derechos de digitalización, de archivo, de reproducción, de distribución y de comunicación pública, incluido el derecho de puesta a disposición electrónica, tal y como se describen en la Ley de Propiedad Intelectual. El derecho de transformación se cede a los únicos efectos de lo dispuesto en la letra a) del apartado siguiente.

3º. Condiciones de la cesión y acceso

Sin perjuicio de la titularidad de la obra, que sigue correspondiendo a su autor, la cesión de derechos contemplada en esta licencia habilita para:

- a) Transformarla con el fin de adaptarla a cualquier tecnología que permita incorporarla a internet y hacerla accesible; incorporar metadatos para realizar el registro de la obra e incorporar “marcas de agua” o cualquier otro sistema de seguridad o de protección.
- b) Reproducir la en un soporte digital para su incorporación a una base de datos electrónica, incluyendo el derecho de reproducir y almacenar la obra en servidores, a los efectos de garantizar su seguridad, conservación y preservar el formato.
- c) Comunicarla, por defecto, a través de un archivo institucional abierto, accesible de modo libre y gratuito a través de internet.
- d) Cualquier otra forma de acceso (restringido, embargado, cerrado) deberá solicitarse expresamente y obedecer a causas justificadas.
- e) Asignar por defecto a estos trabajos una licencia Creative Commons.
- f) Asignar por defecto a estos trabajos un HANDLE (URL *persistente*).

4º. Derechos del autor.

El autor, en tanto que titular de una obra tiene derecho a:

- a) Que la Universidad identifique claramente su nombre como autor de la misma
- b) Comunicar y dar publicidad a la obra en la versión que ceda y en otras posteriores a través de cualquier medio.
- c) Solicitar la retirada de la obra del repositorio por causa justificada.
- d) Recibir notificación fehaciente de cualquier reclamación que puedan formular terceras personas en relación con la obra y, en particular, de reclamaciones relativas a los derechos de propiedad intelectual sobre ella.

5º. Deberes del autor.

El autor se compromete a:

- a) Garantizar que el compromiso que adquiere mediante el presente escrito no infringe ningún derecho de terceros, ya sean de propiedad industrial, intelectual o cualquier otro.
- b) Garantizar que el contenido de las obras no atenta contra los derechos al honor, a la intimidad y a la imagen de terceros.
- c) Asumir toda reclamación o responsabilidad, incluyendo las indemnizaciones por daños, que pudieran ejercitarse contra la Universidad por terceros que vieran infringidos sus derechos e intereses a causa de la cesión.
- d) Asumir la responsabilidad en el caso de que las instituciones fueran condenadas por infracción de derechos derivada de las obras objeto de la cesión.

6º. Fines y funcionamiento del Repositorio Institucional.

La obra se pondrá a disposición de los usuarios para que hagan de ella un uso justo y respetuoso con los derechos del autor, según lo permitido por la legislación aplicable, y con fines de estudio, investigación, o cualquier otro fin lícito. Con dicha finalidad, la Universidad asume los siguientes deberes y se reserva las siguientes facultades:

- La Universidad informará a los usuarios del archivo sobre los usos permitidos, y no garantiza ni asume responsabilidad alguna por otras formas en que los usuarios hagan un uso posterior de las obras no conforme con la legislación vigente. El uso posterior, más allá de la copia privada, requerirá que se cite la fuente y se reconozca la autoría, que no se obtenga beneficio comercial, y que no se realicen obras derivadas.

- La Universidad no revisará el contenido de las obras, que en todo caso permanecerá bajo la responsabilidad exclusiva del autor y no estará obligada a ejercitar acciones legales en nombre del autor en el supuesto de infracciones a derechos de propiedad intelectual derivados del depósito y archivo de las obras. El autor renuncia a cualquier reclamación frente a la Universidad por las formas no ajustadas a la legislación vigente en que los usuarios hagan uso de las obras.
- La Universidad adoptará las medidas necesarias para la preservación de la obra en un futuro.
- La Universidad se reserva la facultad de retirar la obra, previa notificación al autor, en supuestos suficientemente justificados, o en caso de reclamaciones de terceros.

Madrid, a 11 de junio de 2019

ACEPTA *Alina Viana Henando*

Fdo. 

Motivos para solicitar el acceso restringido, cerrado o embargado del trabajo en el Repositorio Institucional:

Declaro, bajo mi responsabilidad, que el Proyecto presentado con el título
ESTUDIO DE ENVEJECIMIENTO "IN VITRO" DE CEMENTOS ÓSEOS
ENRIQUECIDOS CON ANTIBIÓTICOS en la ETS de Ingeniería - ICAI de la
Universidad Pontificia Comillas en el

curso académico 2018-2019 es de mi autoría, original e inédito y
no ha sido presentado con anterioridad a otros efectos. El Proyecto no es
plagio de otro, ni total ni parcialmente y la información que ha sido tomada
de otros documentos está debidamente referenciada.

Fdo.: Alicia Vivas Hernando Fecha: 11 / 06 / 2019

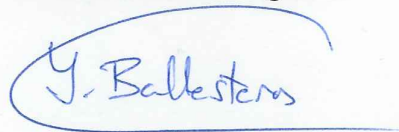


Autorizada la entrega del proyecto
EL DIRECTOR DEL PROYECTO

Fdo.: Eva Paz Jiménez Fecha: 11 / 06 / 2019



Fdo.: María Yolanda Ballesteros Iglesias Fecha: 11 / 06 / 2019





COMILLAS

UNIVERSIDAD PONTIFICIA

ICAI

GRADO EN INGENIERÍA EN TECNOLOGÍAS INDUSTRIALES (GITI)

TRABAJO FIN DE GRADO

ESTUDIO DE ENVEJECIMIENTO IN VITRO DE CEMENTOS ÓSEOS ENRIQUECIDOS CON ANTIBIÓTICOS

Autor: Alicia Vivas Hernando

Director: Eva Paz Jiménez

Co-Director: María Yolanda Ballesteros Iglesias

Madrid

Junio de 2019

ESTUDIO DEL ENVEJECIMIENTO IN VITRO DE CEMENTOS ÓSEOS ENRIQUECIDOS CON ANTIBIÓTICOS

Autor: Vivas Hernando, Alicia
Directores: Paz Jiménez, Eva
Ballesteros Iglesias, María Yolanda
Entidad Colaboradora: ICAI - Universidad Pontificia Comillas

RESUMEN DEL PROYECTO

Introducción

En este proyecto de investigación se desea evaluar el comportamiento “in vitro” de un cemento óseo enriquecido con tres antibióticos distintos: vancomicina, gentamicina y microcápsulas de rifampicina.

Para ello, se crearán probetas de cemento sin antibiótico, así como probetas que contengan cada tipo de antibiótico por separado y probetas que contengan los tres antibióticos mezclados entre sí. Para fabricar dichas probetas se crearán una fase polvo y una fase líquida, que se homogeneizarán en un vaso mezclador en vacío, y a continuación se insertarán en moldes de silicona o teflón. Una vez extraídas de los moldes, se mecanizarán para ajustar las medidas a la norma, tras lo cual estarán listas para ser ensayadas o se someterán a condiciones de envejecimiento que simulen su comportamiento dentro del cuerpo humano. Esto permitirá hacer un análisis de la variación de las propiedades mecánicas del cemento óseo, enriquecido con antibióticos, cuando se encuentra dentro del cuerpo humano tras su inserción y a lo largo del tiempo.

Para realizar dicho análisis, se realizarán cuatro ensayos: flexión, compresión, fractura y elución. Los tres primeros indicarán propiedades mecánicas de resistencia a flexión, tenacidad a fractura y resistencia a compresión, mientras que el cuarto ayudará a explicar los tres primeros mejor, pues ofrecerá una idea de la porosidad de las probetas. Dichos ensayos se realizarán tras dejar envejecer las probetas en una solución salina a 37°C durante 1, 3 y 7 meses, y los resultados se compararán tanto con el cemento sin envejecer como con el cemento sin antibiótico.

Metodología

Materiales

En este proyecto se usa un cemento óseo formado por una fase en polvo y otra líquida, cuya composición exacta se muestra en la Tabla 1. La fase en polvo es principalmente

polimetilmetacrilato (PMMA) con peróxido de benzolio, el iniciador de la reacción de curado, y sulfato de bario, un agente radio opaco. La fase líquida está compuesta por metilmetacrilato (MMA) y dimetil para toluidina (DmpT).

Fase polvo		
Polímero pre-polimerizado	Colacryl B866 - Polimetilmetacrilato (PMMA)	36,36 g
Iniciador	Colacryl B866 - Peróxido de Benzolio (BPO)	
Agente Radio-opaco	Sulfato de Bario (BaSO ₄)	3,64 g
Fase líquida		
Monómero	Metilmetacrilato (MMA)	19,9 mL
Activador	Dimetil para Toluidina (DmpT)	160 µL

Tabla 1: composición del cemento óseo.

Adicionalmente, a la fase en polvo de estos cementos se ha añadido 1g de antibiótico a algunas probetas, pudiendo ser este gramo de un antibiótico solo o de una mezcla de los tres antibióticos que se han estudiado en este proyecto. Estos antibióticos son:

- Gentamicina: es la más utilizada en cementos óseos, pero presenta la desventaja de que un gran porcentaje de bacterias ya tienen resistencia antibiótica contra éste.
- Vancomicina: su principal problema es la toxicidad para el cuerpo humano, y es uno de los antibióticos que se ha empezado a utilizar como sustituto de la gentamicina.
- Rifampicina: hasta ahora, no se podía añadir al cemento óseo por no permitir la reacción de curado. No obstante, en este proyecto se van a utilizar microcápsulas de rifampicina, que sí que lo permiten. Estas microcápsulas se han creado y estudiado en proyectos pasados de este grupo de investigación.

Método experimental

Preparación de los cementos

Para preparar los cementos, se han preparado primero las fases individuales:

- La fase en polvo se mezcla en un vaso de plástico, mezclando primero con una espátula metálica y luego agitando el bote cerrado.
- La fase líquida se prepara en un tubo de ensayo, echando primero el DmpT y luego el MMA.

Una vez preparadas estas fases, se homogeneizan en un vaso mezclador en vacío durante 1 minuto.

Preparación de las probetas

Tras este proceso, se mete la masa en unos moldes de silicona o teflón, dependiendo del tipo de ensayo que se le vaya a realizar a la probeta. Estos moldes siguen las medidas establecidas por la norma correspondiente.

El mecanizado de las probetas depende también del tipo de ensayo al que esté destinada la probeta. Las probetas de fractura se mecanizan con una fresadora y la rebaba se lija con una lija eléctrica, mientras que a las probetas de flexión, compresión y elución sólo se les lija la rebaba.

Envejecimiento de las probetas

Las probetas se envejecen sumergidas en una solución salina (buffer fosfato salino) en una estufa a 37°C, durante 1, 3 y 7 meses, para poder ser comparadas con las probetas sin envejecer.

Ensayos realizados

Los ensayos de flexión, fractura y compresión se realizan con una máquina de ensayos universal, siguiendo la norma ISO 5833 para flexión y compresión, y la norma ASTM D 5045 para fractura. Los ensayos de elución se hacen por medio de una balanza, donde se pesan las probetas antes y después de envejecer y con ello se mide, por desplazamiento de volumen, la variación de densidad de la probeta.

Cálculos y análisis estadístico

A partir de los ensayos realizados, se determinan la resistencia a flexión, el módulo de Young, la deformación máxima a flexión, la tenacidad a fractura, la resistencia a compresión y la porosidad, en algunos casos siguiendo las fórmulas que establece la norma.

Una vez obtenidos los datos, se hace uso de un software estadístico que detecta los outliers y las diferencias significativas.

Resultados

Los resultados se han visto influenciados, en gran medida, por la plastificación del cemento a lo largo de su tiempo de envejecimiento y por su porosidad, que en el caso del cemento con antibiótico iba aumentando debido a la elución de dicho antibiótico.

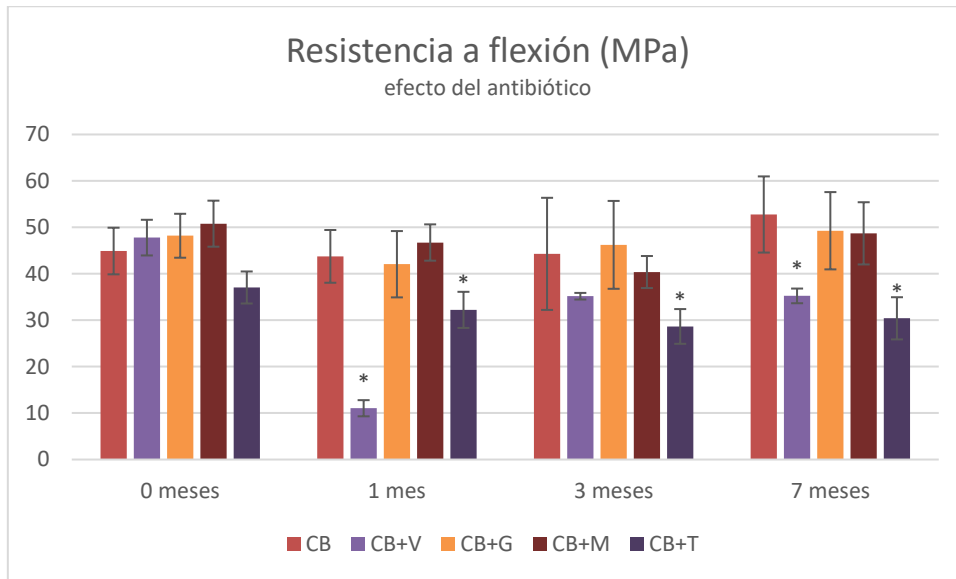


Figura 1: resistencia a flexión (MPa) de las probetas estudiadas.

Respecto a las propiedades a flexión, empeoran significativamente al añadir vancomicina, y en cuanto a su evolución en el tiempo, la porosidad inicial hace que empeoren, pero a los 7 meses las propiedades mejoran por la plastificación del cemento.

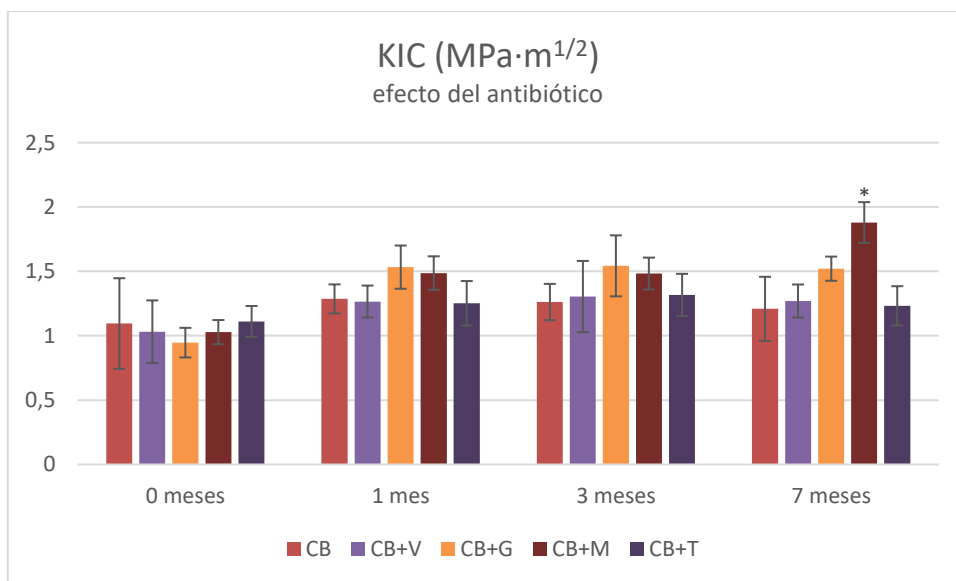


Figura 2: tenacidad a fractura de las probetas estudiadas.

Respecto a la tenacidad a fractura, mejora notablemente con el paso del tiempo, probablemente debido a la plastificación del cemento, y especialmente con las microcápsulas de rifampicina.

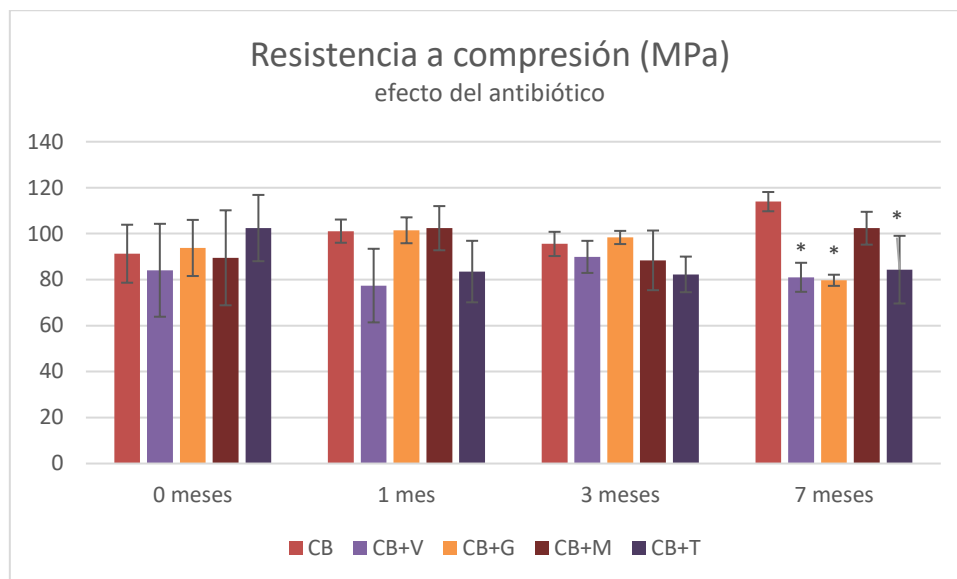


Figura 3: resistencia a compresión (MPa) de las probetas estudiadas.

Respecto a la resistencia a compresión, no parece verse influida por el paso del tiempo de envejecimiento, pero sí por la adición de vancomicina, a los 7 meses, donde disminuye significativamente respecto al cemento sin enriquecer.

Respecto a la porosidad, aunque los ensayos de elución no hayan salido como se esperaba y no hayan dado resultados coherentes, las fotografías al microscopio sugieren que la vancomicina deriva en un cemento más poroso.

Conclusiones

Por un lado, se concluye que las microcápsulas de rifampicina tienen un gran comportamiento al ser añadidas al cemento óseo, siendo las que mejores propiedades mecánicas ofrecen en comparación con la adición de otros antibióticos.

Por otro lado, se ha comprobado que la vancomicina es la que dota de peores propiedades mecánicas al cemento óseo, probablemente porque su difícil manejabilidad y su alta elución inicial deriva en un cemento más poroso.

STUDY OF THE IN VITRO PROPERTIES OF ANTIBIOTIC-LOADED BONE CEMENTS

Author: Vivas Hernando, Alicia
Directors: Paz Jiménez, Eva
Ballesteros Iglesias, María Yolanda
Collaborating Entity: ICAI – Universidad Pontificia Comillas

PROJECT SUMMARY

Introduction

This research project aims to study the “in vitro” behaviour of bone cement when loaded with three different antibiotics: vancomycin, gentamicin and rifampicin microcapsules.

In order to do so, bone cement specimens will be created: some without antibiotics, some loaded with one antibiotic at a time and others loaded with the three antibiotics at the same time. To make these specimens, a powder phase and a liquid phase will be created, and these will be homogenised in a vacuum mixing bowl. The dough will be inserted into either silicon or teflon moulds, to be then extracted from those moulds and mechanized in order to achieve the measurements required by the norm. After this, the specimens will either be ready to be tested or will be subjected to ageing conditions, which will aim to simulate their behaviour inside the human body. This will allow for the variation of the mechanical properties of the antibiotic-loaded bone cement to be analysed, when inserted in the human body and over time.

In order to carry out the analysis, four different tests will be performed: flexion, compression, fracture and elution. The first three will indicate the mechanical properties of flexural strength, fracture toughness and compression strength, while the fourth will help better explain the first three, as it will offer an idea of the porosity of the specimens. These tests will be carried out after leaving the specimens to age in a saline solution, at 37°C, for 1, 3 and 7 months, and the results will be compared not only to the non-aged bone cement, but also to the bone cement that has not been loaded with antibiotics.

Methodology

Materials

In this Project we use an acrylic bone cement composed of a powder and a liquid phase, whose exact composition is shown in Table 1. The powder phase is mainly polymethylmethacrylate (PMMA) with benzoyl peroxide, the initiator of the polymerisation reaction, and barium sulphate, a radio-opaque agent. The liquid phase is formed by methylmetacrilate (MMA) and dimethyl para toluidine (DmpT).

Powder phase		
Pre-polymerised polymer	Colacryl B866 – Polimethylmethacrilate (PMMA)	36,36 g
Initiator	Colacryl B866 – Benzoyl peroxide (BPO)	
Radio-opaque agent	Barium sulphate (BaSO ₄)	3,64 g
Liquid phase		
Monomer	Methylmetacrilate (MMA)	19,9 mL
Activator	Dimethyl para Toluidine (DmpT)	160 µL

Table 1: composition of the acrylic bone cement.

Additionally, 1g of antibiotic is added to the powder phase in some test specimens, this gram being one single antibiotic or a mixture of the three that have been used in this project. These antibiotics are:

- Gentamicin sulphate: it is the most commonly used antibiotic in bone cements but has the disadvantage of having a high percentage of antibiotic-resistant microorganisms.
- Vancomycin: its main problem is its toxicity for the human body, and it is one of the antibiotics that has been used to substitute gentamicin.
- Rifampicin: before, this antibiotic could not be used because it prevented the correct curing of the bone cement. However, in this project this antibiotic will be used in the form of microcapsules, that do permit this curing. These have been created and studied with previous projects from this research group.

Experimental method

Cement preparation

To prepare the cements, the individual phases have been prepared first:

- The powder phase has been made in a plastic cup, mixing the components first with a metallic spatula and then shaking the closed cup.
- The liquid phase has been prepared in a test tube, adding first the DmpT and then the MMA.

Once prepared, these have been homogenized in a vacuum mixing bowl for 1 minute.

Test specimen preparation

After this process, the dough is inserted into silicon or Teflon moulds, depending on the type of test that the specimen is going to be subjected to. These moulds follow the measurements established by the corresponding norm.

The machining of these specimens also depends on the type of test that these are destined to. The fracture specimen is machined with a milling machine and sandpaper, while the flexure, compression and elution specimens are only sanded.

Specimen ageing

The specimens are aged immersed in a saline solution (phosphate buffer sulphate) in a stove at 37°C for 1, 3 and 7 months, so that they can be compared to the specimens that have not been aged.

Tests

The flexure, fracture and compression tests are done with a universal testing machine, following the ISO 5833 norm (flexure and compression) and the ASTM D 5045 (fracture). The elution tests have been done with the use of a scale, where the specimens were weighed before and after being aged, and with this data the density variation was obtained.

Calculations and statistical analysis

Following the tests, the flexural strength, Young's modulus, the maximum flexural deformation, the fracture toughness, the compression strength and the porosity are determined, in some cases using formulas established by the norm.

Once the data is obtained, a statistical software is used to detect the outliers and the significative differences.

Results

The results have been influenced, mainly, by the plastification of the bone cement during the ageing time and the porosity, which increased as the antibiotic eluded from the cement.

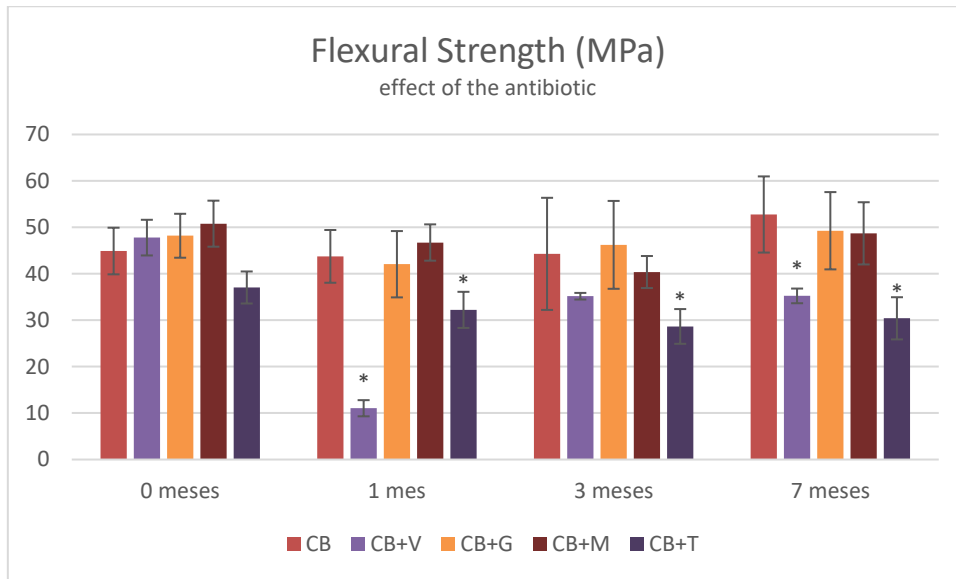


Figure 1: flexural strength (MPa) of the specimens.

Regarding the flexural properties, they worsen significantly when adding vancomycin and, in terms of their evolution with ageing time, initial porosity makes them worse but, due to the cement plastification, they improve at the 7-month measurements.

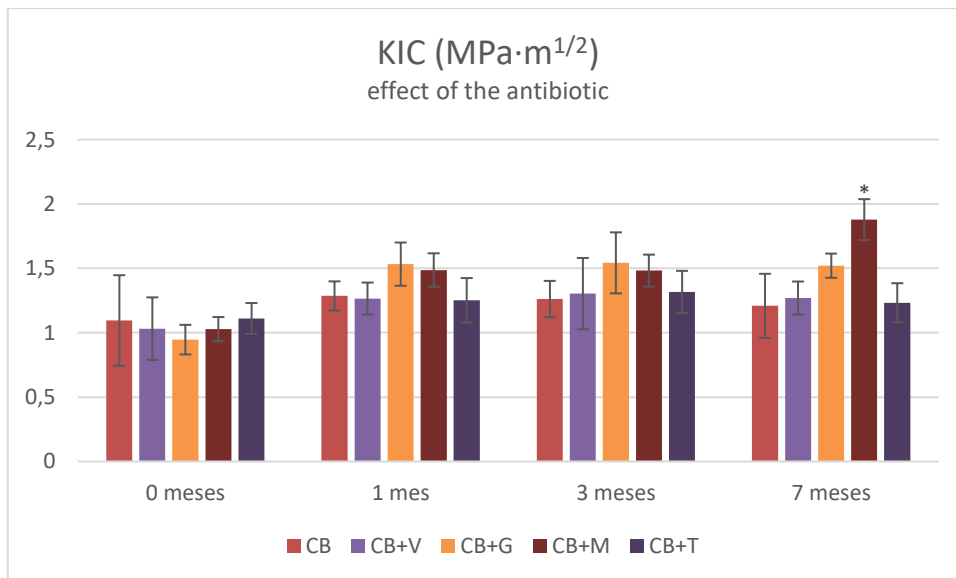


Figure 2: fracture toughness of the specimens.

Regarding the fracture toughness, it improves notably with ageing, probably due to the plastification of the bone cement, and specially when using the rifampicin microcapsules.

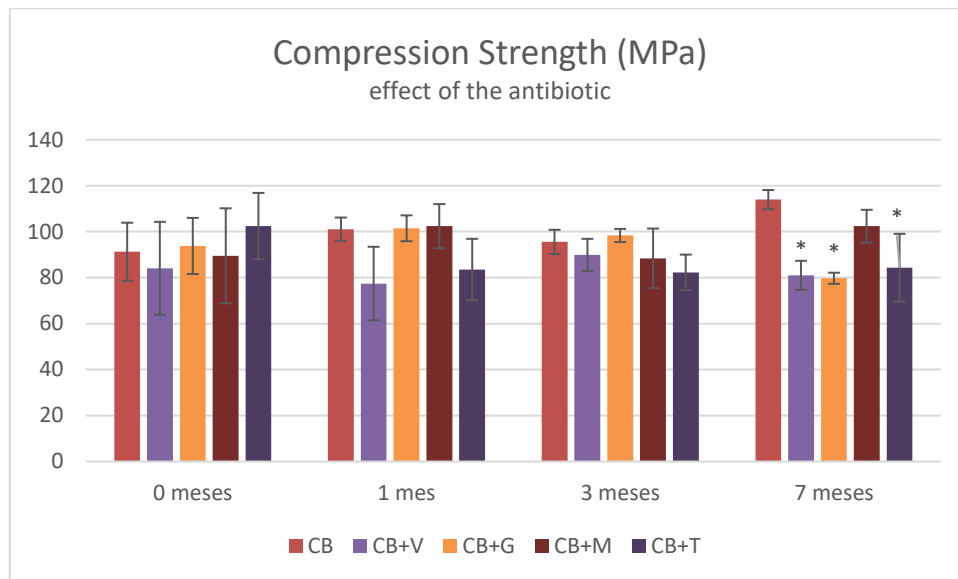


Figure 3: compression strength (MPa) of the specimens.

Regarding the compression strength, it does not seem to be influenced by ageing time, but it does change when adding vancomycin, at 7 months, where it decreases significantly with respect to the un-loaded cement.

Regarding the porosity, even though the elution tests were not done correctly and therefore did not give significant data, microscope pictures suggested that vancomycin-loaded cement was much more porous than the rest.

Conclusions

On the one hand, we conclude that the microencapsulated rifampicin has a great behaviour when being added to the cement, as it offers the best mechanical properties in comparison with the use of the other antibiotics.

On the other hand, it has been proven that vancomycin-loaded cement has the worst mechanical properties, probably due to its difficult workability and its high initial elution, which makes the cement more porous.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quería agradecer este proyecto a Eva Paz, pues eres quien, desde el primer momento, me ha guiado cuando estaba perdida en el laboratorio y me ha sabido dar las pautas para que esto salga bien. He sentido siempre que contaba con tu apoyo y ayuda.

A Yolanda Ballesteros el haberme ofrecido su ayuda siempre que la necesitaba, tanto si era para saber cómo funciona una máquina como para analizar los resultados que habían salido.

A Juan Carlos del Real, que para mí merece una mención especial en este proyecto. Para empezar, eres la razón por la que he hecho este proyecto, pues fue a raíz de la beca que me propusiste que lo acabé realizando. Además, tengo que agradecerte tu gran apoyo y el empujón que, entre tú y otros, me habéis dado para que persiga mis sueños y continúe mis estudios sobre materiales.

A Fernando Pérez, porque no sólo me has ayudado con todo lo que necesitaba del laboratorio, sino que también has sido un gran compañero de trabajo y me has aportado mucho con nuestras conversaciones. Gracias a ti, esas horas en el laboratorio se me han hecho mucho más amenas.

A Alba, Gema, Pablo, Roberto y los demás becarios de laboratorio, pues siempre habéis estado ahí para ayudarme en lo que necesitara o para hacer más amenos los ratos en el laboratorio con conversaciones.

Al Departamento de Ingeniería Mecánica de ICAI, por haberme dado la oportunidad de tener esta beca que para mí no sólo ha derivado en la consecución de este proyecto, sino en el descubrimiento de lo que me apasiona y a lo que me quiero dedicar.

Y a todo el que haya estado ahí para mí, muchas gracias a todos.

ÍNDICE

Capítulo 1: Introducción y objetivos	pág. 21
Capítulo 2: Estado del arte	pág. 27
Capítulo 3: Materiales y método experimental	pág. 47
Capítulo 4: Resultados y discusión	pág. 75
Capítulo 5: Conclusiones y trabajo futuro	pág. 103
Capítulo 6: Bibliografía	pág. 109

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

ÍNDICE

Introducción	pág. 23
Objetivos	pág. 24

INTRODUCCIÓN

Los cementos se llevan usando durante más de 50 años para la fijación de prótesis tras las artroplastias. Se trata de una masa compuesta por una fase en polvo (sólida) y una fase líquida, de manera que cuando estas fases se mezclan se genera una reacción de polimerización altamente exotérmica. Una vez introducida en el organismo, actúa como una interfaz entre prótesis y hueso, amortiguando los esfuerzos que surjan en dicha zona y redistribuyendo las presiones.

Aunque el uso de cementos óseos presenta grandes ventajas, también ofrece desventajas como el aflojamiento protésico, sus propiedades mecánicas, la necrosis térmica, la necrosis química, la osteólisis, la biocompatibilidad y la infección protésica. Esta última es una de las mayores causas de fallo de estas operaciones, y en muchos casos se está enriqueciendo el cemento con antibióticos que eviten que en la zona donde se ha realizado la artroplastia surja una infección.

En este proyecto de investigación se va a evaluar el comportamiento “in vitro” de un cemento óseo enriquecido con distintos tipos antibióticos: vancomicina, gentamicina y microcápsulas de rifampicina. Se estudiará el efecto que pueda tener la adición de dichos antibióticos, por separado y mezclados, en las propiedades mecánicas del cemento sometido a condiciones de envejecimiento que simulen su comportamiento dentro del cuerpo humano. Para realizar dicho análisis, se realizarán ensayos de flexión, compresión, fractura y elución tras dejar envejecer las probetas en una solución salina a 37°C durante 1, 3 y 7 meses, y los resultados se compararán tanto con el cemento sin envejecer como con el cemento sin antibiótico.

OBJETIVOS

MOTIVACIÓN

Para este proyecto se ha decidido investigar más a fondo el efecto que tiene la adición de antibióticos en los cementos óseos, ya que en general disminuyen sus propiedades mecánicas y es importante que aun así se mantengan a un nivel aceptable para poder soportar los esfuerzos a los que el cemento estará expuesto. Se realizará como continuación a otros proyectos ya realizados por este grupo de investigación, de la Universidad Pontificia de Comillas.

En particular, en este grupo de investigación ya se han analizado estos efectos, pero este proyecto muestra algunas características diferenciadoras respecto a los hechos previamente:

- Primero, en este proyecto no sólo se va a analizar el efecto de los tres antibióticos por separado, sino que también se estudiará su efecto cuando se encuentran mezclados en una misma probeta de cemento óseo.
- Segundo, en este proyecto no sólo se estudiará el efecto sobre las propiedades mecánicas con el cemento recién fabricado, sino que se dejará envejecer 1, 3 y 7 meses, en unas condiciones que simulen las del cuerpo humano (en una solución salina a 37°C), para así poder analizar la variación de las propiedades mecánicas a lo largo del tiempo de envejecimiento.

Por otro lado, este grupo de investigación también ha estado investigando un antibiótico en particular, la rifampicina, pues tenía el problema de que, al ser añadida sin haber realizado sobre ella ningún tratamiento, no permitía que el cemento curara adecuadamente. No obstante, se ha descubierto que mediante su microencapsulación se puede conseguir que el cemento cure correctamente. Es por ello que parte de este proyecto consistirá en analizar el efecto que tienen sobre el cemento estas microcápsulas de rifampicina, en especial, frente a los otros antibióticos.

Por lo tanto, este proyecto continuará un trabajo ya empezado por el grupo de investigación para investigar la adición de antibióticos a los cementos óseos, añadiendo las novedades previamente mencionadas y prestando especial atención al efecto producido por las microcápsulas de rifampicina.

OBJETIVOS

El objetivo principal del proyecto es estudiar el comportamiento del cemento cargado con antibiótico “in vitro”, evaluando el efecto que el tipo y la cantidad de antibiótico tienen sobre las propiedades mecánicas del mismo en función del tiempo de envejecimiento.

Para la consecución de dicho objetivo se definen los siguientes objetivos parciales:

- Determinación del comportamiento mecánico del cemento cargado con diferentes tipos de antibiótico, comparando el uso de otros antibióticos con la utilización de rifampicina microencapsulada sola y en combinación con ellos. La rifampicina microencapsulada es de especial interés para este proyecto, pues se trata de una nueva manera de procesar un antibiótico que, con anterioridad, no se ha podido utilizar debido a que no dejaba curar el cemento correctamente.
- Estudio del efecto que la presencia de los antibióticos en el cemento tiene sobre las propiedades mecánicas del mismo, tras someterlo a condiciones de envejecimiento que simulen las condiciones del cuerpo humano y permitan la elución de los mismos. Esto pretende obtener resultados lo más fieles posibles a la realidad, pues normalmente se hacen ensayos en seco que no proporcionan resultados fiables sobre el comportamiento que tendría el cemento dentro del organismo.

CAPÍTULO 2

ESTADO DEL ARTE

CAPÍTULO 2

ESTADO DEL ARTE

ÍNDICE

Introducción	pág. 29
Cementos óseos	pág. 30
Cementos óseos en cirugía	pág. 30
Manipulación de los cementos	pág. 31
Propiedades de los cementos óseos	pág. 32
Problemas actuales	pág. 37
Mejoras planteadas	pág. 40
Cementos óseos cargados con antibióticos	pág. 44
Problemas actuales	pág. 45

INTRODUCCIÓN

En este capítulo se realizará un Estado del Arte de los cementos óseos. Con ello se pretende ofrecer un marco teórico a partir del cual realizar y explicar este proyecto.

Para ello, se va a explicar primero la historia de los cementos óseos, desde su uso en cirugía, pasando por manipulación, propiedades, inconvenientes y mejoras planteadas, para terminar con la adición de antibióticos, donde se detallará el desarrollo de la técnica a lo largo del tiempo y los usos y ventajas, así como desventajas, que ofrece su uso en los cementos óseos.

CEMENTOS ÓSEOS EN CIRUGÍA

Formulado por primera vez a principios del siglo XX por Otto Rohm, el cemento óseo, compuesto fundamentalmente por polimetilmetacrilato (PMMA), es un compuesto que desde hace casi 50 años se utiliza para fijar las prótesis al hueso tras la realización de una artroplastia, pues entre otras cualidades tiene una buena biocompatibilidad.

En 1936, la compañía Kulzer demostró que se podía obtener una masa al mezclar polvo de PMMA con un monómero en estado líquido, y que ésta curaba al añadir peróxido de benzolío (BPO) y calentar la mezcla a 100°C. No obstante, en 1943 se descubrió que la reacción de polimerización necesaria podía ocurrir a temperatura ambiente si se añadía un iniciador previamente a la mezcla. En 1958, fue Charnley quien utilizó este cemento para fijar una prótesis al fémur, siendo el primero que hacía este uso del cemento. No fue hasta los años 70 cuando se propuso enriquecer los cementos con antibióticos, en un intento de evitar las infecciones protésicas que causaba el uso de dichos cementos. A día de hoy, el cemento óseo es el material más utilizado para fijar prótesis en las artroplastias.

La artroplastia es una operación quirúrgica que se realiza en pacientes cuyas articulaciones se encuentran destruidas o deterioradas, mediante la cual se extraen las áreas dañadas y se inserta en dicha zona una prótesis que sirve tanto para recuperar la función de las articulaciones como para suprimir el dolor producido por su deterioro. Dentro de las artroplastias, las más comunes se realizan en hombro, codo, cadera y rodilla.

En el contexto de esta intervención quirúrgica, el cemento óseo se inserta entre prótesis y hueso, sirviendo como interfaz entre ambos elementos. Dicho cemento se fabrica en el propio quirófano, mezclando una fase en polvo y otra líquida en el momento de la operación, e introduciendo dicha masa en el hueco existente entre hueso y prótesis. Al ser un material auto curable, una vez introducido se debe dejar endurecer durante unos 30 minutos, pudiendo variar este tiempo ligeramente de un cemento comercial a otro. La función del cemento consiste en, además de fijar la prótesis al hueso, amortiguar los esfuerzos que se producen en la zona y proporcionar una mejor redistribución de presiones, lo que se consigue gracias a su gran elasticidad. Para ello, es importante conocer las propiedades del cemento y asegurar que se adaptan a los esfuerzos a los que estará expuesto, pues es crucial que aguante en el cuerpo del paciente a largo plazo. Si los esfuerzos superaran los soportables por el cemento, se correría el riesgo de producirse grietas por fatiga.

Al principio, había un 85% de probabilidades de que la prótesis, utilizando la técnica del cemento óseo, sobreviviera tras 15 años de ser insertada. Con el paso del tiempo, se han ido haciendo modificaciones y mejoras de manera que, a día de hoy, se tiene una tasa de supervivencia de las prótesis de cadera del 85-90% a los 15 años y de 80-85% a los 20 años.

MANIPULACIÓN DE LOS CEMENTOS

Como se ha comentado previamente, el cemento óseo para ser insertado en la prótesis se prepara en el propio quirófano. Se distinguen cuatro fases dentro de la manipulación de los cementos óseos:

1. La fase de mezcla (hasta 1 minuto) es aquella en la cual se homogeneizan la fase polvo y la líquida, lo que se puede hacer de manera manual o mediante el uso de un vaso mezclador en vacío. Mezclar el cemento demasiado rápida o agresivamente acelerará la reacción de polimerización
2. La fase de espera (tiempo en función del tipo de cemento y la temperatura, pero generalmente del orden de minutos) comprende el tiempo hasta el cual el cemento adquiere un estado “no pegajoso” que facilite la manipulación del cemento. En el quirófano, esto se suele comprobar palpando el cemento con guantes cada 5 segundos.
3. La fase de trabajo (5-8 minutos) es aquella durante la cual el cemento puede ser inyectado e insertado en la prótesis. Es importante para esta etapa la viscosidad del cemento: por un lado, el cemento ha de ser lo suficientemente viscoso para soportar la presión de sangrado, para evitar la intrusión de sangre en el cemento (lo que alteraría las propiedades y la estabilidad del cemento); por otro lado, la viscosidad debe ser lo suficientemente baja como para facilitar la inyección del cemento desde una jeringa hasta el hueso y penetrar en los intersticios, asegurando una buena fijación. Durante esta fase la polimerización sigue teniendo lugar, lo que hace que el cemento se haga cada vez más viscoso.
4. La fase de endurecimiento (10-20 minutos) es aquella en la cual el cemento cura hasta solidificarse completamente. Durante esta fase el cemento alcanza el pico de temperatura de la reacción de polimerización, que es altamente exotérmica, para luego enfriarse hasta la temperatura corporal. Esto a su vez producirá una contracción del cemento. Los factores que influyen en los tiempos de endurecimiento incluyen el método de mezclado, la viscosidad del cemento y el pre-enfriamiento o pre-calentamiento del monómero, polvo y/o prótesis.

De estas cuatro fases, las de espera, trabajo y endurecimiento dependen de la temperatura ambiente, de manera que a mayor temperatura menor duración tendrá cada fase, y también hay que tener en cuenta que cada cemento tiene tiempos de curado distintos, por lo que dependiendo del cemento que se utilice los tiempos de duración de cada fase variarán. Otro factor que influye en la duración de las fases es el ratio polvo/líquido, pues si no se siguen las pautas del fabricante esto también alterará los tiempos de curado.

PROPIEDADES DE LOS CEMENTOS ÓSEOS

Los cementos óseos se componen de un polímero en fase de polvo y un monómero en fase líquida, normalmente en una proporción 2:1 (se estima que dicha proporción puede variar en $\pm 0,3$ unidades). La fase líquida está compuesta en su mayoría (97%-99%) por metilmetacrilato (MMA), acompañado de un activador, comúnmente la dimetil para toluidina (DmpT), que permite que el polímero y el monómero polimericen a temperatura ambiente. La fase en polvo varía más en su composición, pero generalmente se compone de PMMA en polvo (83%-99%) mezclado con peróxido de benzoilo, que es el iniciador de la reacción de curado, y un agente radio-opaco, que puede ser sulfato de bario (BaSO_4) o dióxido de circonio (ZrO_2), los cuales permiten que el cemento se vea a través de rayos X.

Cuando se mezclan ambas fases, el iniciador (presente en el sólido) y el activador (presente en el líquido) reaccionan dando lugar a la formación de radicales libres, que son los encargados de desencadenar la reacción de curado, produciéndose una reacción altamente exotérmica por la cual el monómero se polimeriza. La causa del calor producido es la energía que se libera debido a la rotura de dobles enlaces de carbono durante la propagación de la cadena polimérica donde, a medida que la temperatura aumenta, aumenta la energía y se aumenta la velocidad de propagación, lo que a su vez aumenta rápidamente la temperatura. A partir de aquí, se va creando una pasta blanca que se endurecerá a los 5 – 6 minutos, variando la temperatura del proceso de curado entre los 40-110°C “in vitro”. Aun así, cabe mencionar que las temperaturas registradas “in vivo” son menores que aquellas registradas “in vitro”.

Respecto a las propiedades de los cementos óseos, se tienen:

PROPIEDADES TÉRMICAS

Como ya se ha explicado, la reacción de polimerización es altamente exotérmica, liberando 52KJ por cada mol de monómero, lo que equivale a una generación de $1,4-1,7 \cdot 10^8$ J por m^3 de cemento. Esto provoca que, durante dicha reacción, el cemento pueda llegar hasta los 110°C. Esto puede resultar dañino para el cuerpo humano, pues la necrosis térmica del tejido óseo sucede a temperaturas a partir de los 50°C con tiempos de exposición superiores a 1 minuto, y la desnaturalización de los nervios sensoriales a temperaturas superiores a 45°C con tiempos de exposición superiores a 30 minutos. No obstante, la temperatura de curado “in vivo” es más baja que la “in vitro” (40-46°C), por lo que el riesgo disminuye. Esto se debe a distintos factores, como pueden ser que el cemento tenga menor espesor “in vivo” que “in vitro”, que los fluidos corporales o una prótesis metálica ayuden a disipar el calor desprendido, que haya una superficie de interfaz mayor y la baja conductividad térmica del cemento.

En general, la temperatura máxima exhibida durante la reacción de polimerización se ve influenciada por la composición del monómero líquido, la proporción polvo/líquido y el contenido en agente radio opaco. Se ha demostrado que una manera de reducir la temperatura de la reacción es aumentando la proporción fase polvo – líquida (pasando de 2:1 a 3:1 se ha conseguido reducir en 10°C la temperatura de curado), lo que no altera la resistencia del material resultante. Otra manera de reducir la temperatura de curado, que a la vez podría mejorar las propiedades mecánicas del cemento, sería añadir grafeno a la fase líquida de la mezcla, lo que a día de hoy se sigue investigando.

PROPIEDADES MECÁNICAS

El módulo de Young del cemento óseo ronda los 2GPa y su tensión de rotura es de 50MPa. Teniendo en cuenta que el módulo de Young de un hueso sano es de 15-20 GPa y el de una prótesis metálica 220GPa, el cemento se puede considerar como una interfaz elástica entre estos dos elementos. Por lo tanto, como se ha comentado antes, unas propiedades mecánicas adecuadas son indispensables para el buen funcionamiento del cemento óseo dentro del cuerpo humano, pues ha de ser capaz de soportar los esfuerzos a los que está expuesto. Se trata de un material frágil, con una tenacidad a la fractura y aguante a fatiga bajos, aunque, igual que con las propiedades térmicas, estas propiedades mejoran “in vitro”, pues los fluidos corporales lo plastifican y reducen su temperatura de transición vítrea.

Las propiedades mecánicas que generalmente se deberían tener en cuenta a la hora de analizar y utilizar un cemento óseo son:

Propiedades cuasiestáticas a tracción

Los esfuerzos de tracción se pueden notar en diversos puntos de una artroplastia, y para analizar esta propiedad se utilizan probetas de “hueso de perro”. Dado que el cemento es un material relativamente frágil, las propiedades de módulo, resistencia máxima a tracción y deformación se obtienen fácilmente a partir de su curva tensión-deformación, que es lineal, observándose valores de 30-50 MPa de tensión máxima, 1500-4000 MPa de módulo y 0,85-2,5% de deformación, siendo los rangos dependientes de factores como el tipo de cemento, el método de fabricación/mezclado o la temperatura.

Propiedades cuasiestáticas a compresión

Para analizar esta propiedad se utilizan probetas cilíndricas, siguiendo la norma ISO 5833, y la resistencia a compresión y el módulo se sacan a partir de la curva tensión-deformación, hallando el valor donde la probeta falla a compresión. Los valores observados de resistencia a compresión son de aproximadamente 70-110 MPa, mientras que los del módulo son de 1900-3200 MPa, siendo los rangos dependientes de factores como el tipo de cemento, el método de fabricación/mezclado o la temperatura.

Propiedades a flexión

Las propiedades a flexión del cemento son cruciales, pues implican esfuerzo cortante, tracción y compresión, y en particular en el cemento óseo se han observado una resistencia a flexión de aproximadamente 10-90 MPa y un módulo de 1900-3100 MPa, siendo los rangos dependientes de factores como el tipo de cemento, el método de fabricación/mezclado o la temperatura. Estos datos se han tomado en base a un ensayo a flexión de cuatro puntos, siguiendo la norma ISO 5833.

Propiedades a esfuerzo cortante

En el cemento óseo se han observado tensiones cortantes máximas de 30-70 MPa, con probetas siguiendo la norma D732, siendo los rangos dependientes de factores como el tipo de cemento, el método de fabricación/mezclado o la temperatura.

Tenacidad a fractura

La existencia de cargas cíclicas y de puntos más sensibles a la aparición de grietas en las artroplastias hacen que esta propiedad sea de gran importancia a la hora de caracterizar un cemento óseo, pues indica la tolerancia de dicho cemento a los posibles defectos. Para determinar esta propiedad, se parte de que la mayoría de las grietas se abren en modo I, y se hace uso de la norma ASTM D 5045. Se han observado en el cemento óseo valores de tenacidad a fractura de aproximadamente $1-2,3 \text{ MPa}\cdot\text{m}^{1/2}$, siendo los rangos dependientes de factores como el tipo de cemento, el método de fabricación/mezclado o la temperatura.

Fatiga

Diversos estudios han demostrado que la fatiga es el principal mecanismo de fallo de los cementos óseos, especialmente contribuyendo al aflojamiento protésico. El fenómeno de fatiga es una propiedad importante a tener en cuenta, pues en las actividades diarias de un ser humano intervienen una gran cantidad de cargas cíclicas. Los factores más contribuyentes a los fallos por fatiga son las grietas o defectos existentes, las zonas de acumulación de agente radio opaco, los poros y las zonas de desgaste de la superficie del cemento.

A partir de aquí es también importante analizar la resistencia a la propagación de grietas por fatiga.

Deformación por fluencia (creep)

Consiste en la lenta deformación del cemento al estar sometido a continuos esfuerzos mecánicos. En su inserción en el cuerpo humano, el *creep* tiene importancia, pues a través de él se permite que, tras la reacción de curado, el cemento pueda seguir penetrando lentamente en las cavidades y las selle. Esto no sólo proporciona una mejor fijación al hueso, sino que le da mayor flexibilidad.

CONTRACCIÓN

Por otro lado, debido a que muchas moléculas de monómero de MMA se combinan y forman largas (pero menos) moléculas de polímero, ocurrirá siempre en el cemento una disminución de volumen tras el curado. En MMA puro, esta disminución de volumen es de aproximadamente el 21%. No obstante, el uso de polvos pre-polimerizados en el cemento comercial resulta en un menor contenido de MMA en la mezcla, lo que reduce la contracción a un 6-7%. A esta disminución de volumen habría que restarle los poros y otras inclusiones de aire en el cemento, por lo que en la práctica la contracción del cemento es menor a esos valores. De esto también se deduce que un cemento mezclado a mano tendrá una menor disminución de volumen que uno mezclado en vacío, siendo la primera una reducción del 3-5% del volumen, y la segunda del 5-7%. Por otro lado, el cemento “in vivo” absorbe líquido, lo que la contracción es contrarrestada por la absorción de agua, que es de un 1-2% para cementos óseos y ligeramente superior estando enriquecidos con antibióticos.

La densidad también se ve afectada por la reacción. Para empezar, la densidad del MMA es de $0,937-0,940 \text{ g/cc}$, mientras que la del PMMA es de $1,18 \text{ g/cc}$, por lo que la polimerización del MMA en PMMA genera un aumento de densidad. Si a esto se le suman

los otros constituyentes del cemento óseo (agentes radio-opacos, iniciadores, activadores), el cemento óseo curado tendrá una densidad superior a la del PMMA puro.

La contracción del cemento tiene un efecto positivo, pues permite por un lado la revascularización, y por otro el crecimiento del hueso en huecos de entre 100 y 500 μm , lo que facilita la buena sujeción del implante y reduce el riesgo de aflojamiento protésico.

VISCOSIDAD

El cemento óseo curado se comporta como un fluido no-Newtoniano, cuya viscosidad disminuye al aumentar la velocidad de corte. No obstante, durante la polimerización la viscosidad aumenta al alargarse las cadenas poliméricas. Por lo tanto, el cemento comienza como un líquido viscoso durante el mezclado, luego se vuelve un material viscoelástico y, finalmente, se endurece y convierte en un sólido elástico.

Los cementos óseos se pueden dividir, según su viscosidad, en:

- Baja viscosidad: tienen una fase de espera larga (aproximadamente 3 minutos), pero luego la viscosidad aumenta rápidamente en las fases de trabajo y endurecimiento (1-2 minutos).
- Viscosidad media: tienen una fase de espera larga (3 minutos), pero, a diferencia de los cementos de baja viscosidad, la viscosidad de los cementos medios aumenta lentamente durante la fase de trabajo. El endurecimiento, por su parte, tarda alrededor de 1 a 2 minutos.
- Alta viscosidad: se tiene una fase de espera corta, seguida de una larga fase de trabajo, donde la viscosidad se mantiene constante. El endurecimiento dura de 1 a 2 minutos. Por lo tanto, los cementos de alta viscosidad son los más buscados para las operaciones quirúrgicas, pues ofrecen una manera más cómoda de trabajar.

La viscosidad del cemento óseo está determinada principalmente por su composición química y el ratio polvo/líquido. No obstante, para cambiar la viscosidad del cemento no se debe alterar esta composición, pues esto alteraría también otras propiedades. En su lugar, la manera de correctamente modificar la viscosidad del cemento consiste en alterar la velocidad de la reacción de polimerización, que depende de la temperatura. Para ello, la técnica habitual se basa en enfriar o calentar previamente los componentes del cemento para ralentizar o acelerar la reacción, respectivamente. Otra manera que utilizan los fabricantes para modificar la viscosidad del cemento es cambiar el peso molecular, mediante el uso de co-polímeros y variando los métodos de esterilización.

POROSIDAD

En un cemento totalmente polimerizado pueden encontrarse dos tipos de poros: macroporos (diámetro $> 1\text{mm}$) y microporos (diámetro $\approx 0,1 - 1\text{mm}$), cuyas causas principales son el aire que inicialmente rodea los constituyentes de las fases polvo o líquida del cemento, entrada de aire en la mezcla al combinar las fases líquida y polvo, el aire atrapado durante el mezclado, las burbujas que aparecen durante el proceso de curado por la evaporación de monómero y el aire atrapado durante la inyección del cemento.

Por lo general, los poros empeoran las propiedades mecánicas de los cementos, pues disminuyen su resistencia a esfuerzos y proporcionan un lugar donde iniciarse una

grieta. No obstante, también se especula que los poros sirvan como manera de frenar la propagación de las grietas. Sin embargo, la tendencia general es a intentar reducir al máximo la porosidad de los cementos.

PROBLEMAS ACTUALES

A partir de lo comentado anteriormente, se deducen algunas desventajas del uso de cementos óseos en prótesis:

Aflojamiento protésico

El aflojamiento protésico ocurre cuando el cemento y el hueso pierden contacto, y los factores que contribuyen a este aflojamiento pueden ser factores mecánicos, factores relacionados con las propiedades de los implantes o factores de carácter biológico.

En relación al uso de cementos óseos, el aflojamiento protésico se puede dar por diferentes causas, como pueden ser la osteólisis (detallada posteriormente), la fractura del cemento, la propagación de grietas por fatiga, la presencia de poros y la necrosis del hueso. Aproximadamente el 70% de las artroplastias de cadera y el 44% de las de rodilla fallan a raíz de este suceso.

Propiedades mecánicas

Como se ha explicado anteriormente, es crucial que el cemento óseo tenga unas propiedades mecánicas adecuadas para realizar correctamente su función. Sin embargo, se trata de un material bastante frágil, que, a pesar de sufrir cierta plastificación dentro del cuerpo humano, es muy sensible al fallo por generación y propagación de grietas.

Necrosis térmica

La necrosis térmica es un fenómeno por el cual mueren células óseas debido a una exposición a altas temperaturas. En relación al cemento óseo, esto ocurre durante su reacción de polimerización, pues como se ha explicado previamente se trata de una reacción altamente exotérmica.

Necrosis química

Si hay restos de monómero que no ha reaccionado, éste es tóxico y puede causar la inflamación y muerte de tejido óseo. El contenido habitual de monómero residual directamente tras el curado del cemento es de 2-6%, pero estos niveles disminuyen hasta aproximadamente un 0,5% en las primeras 2-3 semanas, pues la reacción de polimerización sigue ocurriendo a una menor velocidad. De este monómero residual, el 80% es lentamente polimerizado, siendo el 20% restante el que se infiltra en el cuerpo humano y entra en el torrente sanguíneo, a partir del cual abandona el organismo por respiración o es metabolizado por él mediante el ciclo Krebs.

Osteólisis

La osteólisis es un proceso mediante el cual se libera material particulado al organismo.

En relación a los cementos óseos, se puede producir el fenómeno de osteólisis al desgastarse dicho cemento, expulsando partículas de polimetilmetacrilato. Esto provoca la invasión de células inflamatorias (estimulando un proceso inflamatorio en la zona afectada) y la formación de granulomas. A su vez, estas partículas también pueden provocar el desgaste de las superficies con las que estén en contacto, como pueden ser el propio

cemento óseo o el hueso. Estudios demuestran que la fagocitosis por parte de las células del cuerpo humano de polimetilmetacrilato estimula la producción de factor de necrosis tumoral, una proteína perteneciente al grupo de las citocinas que, en pequeñas cantidades, tiene efectos biológicos, como pueden ser la inducción a la apoptosis (muerte celular) y a la citotoxicidad de células tumorales o la resorción ósea (por la cual

Biocompatibilidad

Al ser un material inerte biológicamente, el cemento óseo no promueve el crecimiento y la regeneración de células en la zona donde reside, lo que disminuye su fijación al hueso. Por lo tanto, se podría dar lugar el rechazo de la prótesis por parte del cuerpo, lo que produciría inflamación.

Una manera de mejorar la biocompatibilidad del cemento consiste en incorporar agentes bioactivos a la formulación, como puede ser la hidroxiapatita.

Infección protésica

Junto con el aflojamiento protésico, es de los mayores problemas que surgen del uso de cementos óseos, pues el tratamiento requiere extraer la prótesis, limpiar y tratar la zona y realizar una nueva operación. Una solución a este problema es cargar el cemento con antibióticos que combatan esta infección. Debido a la importancia de esta complicación, y su gran relevancia para este proyecto, se tratará en mayor profundidad en el siguiente apartado.

INFECCIÓN PROTÉSICA

La infección protésica es un gran problema en las operaciones de artroplastia, siendo el riesgo mayor en las artroplastias de rodilla que de cadera. Respecto a las primeras afecta a un 1,7% de los pacientes con osteoartritis y a un 4,4% de aquellos con artritis reumatoide que se hayan sometido a una artroplastia, y el riesgo es mayor con artroplastias de revisión que con artroplastias primarias. Se trata de una gran complicación en este tipo de operaciones quirúrgicas, pues en la mayoría de los casos su solución implica la realización de múltiples operaciones, donde no siempre se solventa el problema y a partir de lo cual la situación puede derivar a una amputación o incluso a la muerte.

El problema radica, principalmente, en que la zona alrededor del implante tiende a ser inmunológicamente incompetente; es decir, el haber un agente externo en el cuerpo hace que el sistema inmunológico no actúe correctamente en esa zona, por lo que las bacterias pueden reproducirse sin apenas verse afectadas por este sistema inmunológico. En cuanto a las causas de la actividad microbiana en la zona, esta infección puede ser causada por contaminación directa del cemento y los tejidos adyacentes, por la propagación de una infección superficial o por la sangre. Una vez contaminada la zona, las bacterias crean una barrera protectora, o *biofilm*, que las protege de los antibióticos. Las bacterias más comunes que causan esta infección son *Staphylococcus aureus* y *staphylococci* de coagulasa negativa.

Es a raíz de esto que se ha planteado, como medida preventiva, la inserción de antibiótico en el cemento óseo, pues es imprescindible que la aplicación del antibiótico sea local y que sea capaz de romper el biofilm, para luego poder atacar a las bacterias. Esta dosis de antibiótico debe ser una cantidad suficiente y eluir durante suficiente tiempo para conseguir eliminar eficazmente estos microorganismos.

MEJORAS PLANTEADAS

A raíz de los problemas descritos anteriormente, se han planteado a lo largo de los años distintas mejoras. Estas incluyen la dispersión de pequeñas partículas en la matriz del cemento, alterar los métodos de mezclado del cemento, pre-calentar o pre-enfriar los constituyentes del cemento, crear nuevas formulaciones de cementos, cambiar los métodos de inserción del cemento y enriquecer el cemento con antibióticos.

DISPERSIÓN DE PARTÍCULAS

Este método consiste, normalmente, en la dispersión de pequeñas cantidades (1-2% del volumen) de carbono, grafito, aramidas, partículas óseas, polietileno, tereftalato de polietileno, titanio, polietileno de peso molecular ultra elevado o fibras de PMMA en la matriz del cemento.

En particular, se ha estado investigando en la Universidad la adición de grafeno y óxido de grafeno a los cementos óseos, buscando una mejora no sólo en las propiedades mecánicas sino también en las térmicas.

MÉTODOS DE MEZCLADO

Actualmente se utilizan tres métodos principales de mezclado del cemento óseo: a mano, por centrifugación y en vacío, y cada uno ofrece distintas propiedades finales de la masa.

El mezclado a mano consiste en añadir la fase polvo a la fase líquida en un bol polimérico, para luego remover estos componentes con una espátula de polipropileno a 1 o 2 Hz durante 45 a 120 segundos.

En el mezclado por centrifugación, la masa mezclada a mano se transfiere a un compartimento acoplado a una máquina que centrifuga el cemento a una velocidad de entre 2300 y 4000 rpm, durante un tiempo de 30 a 180 segundos. Respecto al primero, este método pretende homogeneizar en mayor profundidad la mezcla, para evitar irregularidades en el cemento, y prevenir la aparición de poros, intentando eliminar la mayoría de macroporos y algún microporo.

Para mezclar el cemento en vacío, se utiliza un vaso mezclador y se mezclan los componentes con el uso de una máquina de vacío. Este método pretende reducir en mayor medida la porosidad final de los cementos, pues la mezcla en vacío reduce la probabilidad de aparición de burbujas durante el mezclado.

TEMPERATURA PREVIA

Como se ha mencionado anteriormente, la manera más habitual que se tiene de modificar la viscosidad del cemento óseo sin alterar otras propiedades es la de controlar a temperatura de los constituyentes del cemento. Normalmente, lo que se hace es enfriar los constituyentes, o al menos el monómero, previamente a la creación del cemento para así influir en la reacción de polimerización, de manera que ésta sea más lenta, y así obtener un cemento óseo menos viscoso.

NUEVAS FORMULACIONES

Estas nuevas formulaciones se pueden dividir en 16 categorías, en función de las desventajas que pretenden solventar con el uso de esa nueva formulación:

Cementos con contenido reducido de DmpT

Reducir el contenido en DmpT de los cementos (de 0,8-1,4% hasta 2,5% de volumen) ha resultado en un cemento con un tiempo de curado un 54% mayor (lo que podría ser un problema a la hora de trabajar con el cemento), una temperatura máxima un 7% menor, una resistencia a compresión un 4% menor y una velocidad de polimerización un 97% menor.

Cementos de doble solución

Se trata, como bien dice su nombre, de una solución formada por dos componentes: polvo de PMMA disuelto en monómero de MMA formando dos soluciones de alta viscosidad, añadiendo el iniciador a una y el acelerador a otra. Presenta dos ventajas frente a la formulación típica: por un lado, no tienen poros, lo que dota a estos cementos de unos mayores valores de resistencia a flexión y módulo; por otro lado, se consigue reducir la cantidad de monómero *in vivo*.

Cementos antioxidantes

Se trata de cementos enriquecidos con algún antioxidante, como puede ser la vitamina E, de manera que tengan propiedades antioxidantes como pueden ser la prevención de la acumulación de peróxidos o la protección de las células contra los radicales libres residuales de la reacción de curado.

Cementos con aceleradores alternativos

Se trata de sustituir el DmpT por otros aceleradores, para obtener propiedades distintas. Estos aceleradores pueden ser: unos con un peso molecular mayor que el DmpT, para reducir la difusión; aminas terciarias polimerizables, para poder incorporar el acelerador en la cadena polimérica del PMMA; y aminas terciarias a partir de largas cadenas de ácidos grasos.

Cementos con monómero modificado

En estos cementos, la fase líquida está constituida por MMA como monómero base, con un co-monómero soluble en MMA, que puede ser alifático o aromático (respecto al alifático: mayores mojabilidad y propiedades hidrófobas, menor tiempo de curado y mayores resistencias a flexión y compresión). Éstos presentan mayor contenido en monómero residual y temperatura máxima y menores tiempos de curado y resistencia a compresión que el cemento sin modificar.

Cementos con agente radio opaco uniformemente distribuido

Este cemento se consigue utilizando nanopartículas de sulfato de bario (diámetro de 100nm), y presenta unos mayores valores de módulo de compresión, trabajo a fractura y aguante a fatiga, respecto al cemento con macropartículas de sulfato de bario.

Cementos con agentes radio opacos alternativos

Se pueden distinguir los siguientes subgrupos de agentes radio opacos alternativos: los materiales orgánicos no polares e hidrófobos con contenido en metales pesados (añadidos a la fase polvo o a la líquida, con hasta una concentración de 25% en peso), polvo de tantalio (añadido a la fase polvo, con una concentración de 5-40% en peso), un compuesto de bismuto (añadido a la fase polvo o a la líquida), un co-polímero con contenido en yodo (que puede ser añadido a la fase polvo o a la líquida) y un material con contenido de bromo.

Cementos con agentes de entrecruzamiento (reticulantes)

La adición de estos agentes pretende crear una red polimérica insoluble, pues estos compuestos forman puentes de unión entre las moléculas poliméricas, de manera que se aumente la rigidez del cemento a la par que se disminuya su contracción.

Cementos de fase sólida

En la fase polvo de estos cementos, el MMA es parcialmente sustituido por un co-polímero de hidroxipropilmetacrilato (HPMA) en una concentración de 5 a 80% en volumen. Respecto al cemento sin modificar, presenta un tiempo de curado menor, una temperatura máxima superior, un menor contenido en monómero residual y unos valores de resistencia a compresión, módulo a compresión y resistencia a tracción menores.

Cementos de adhesión mejorada

A estos cementos se les añaden distintos compuestos que mejoran su adhesión tanto al hueso como al implante, lo que reduce los huecos en las interfaces consecuencia de la contracción del cemento.

Cementos de módulo reducido

Los cementos de módulo reducido tienen dos funciones principales. La primera sería mejorar la distribución de esfuerzos entre la prótesis y el hueso. La segunda consistiría en reducir dichos esfuerzos, actuando como un muelle.

Cementos reforzados

Se trata de cementos, como bien indica su nombre, reforzados con distintos componentes, dentro de los cuales se destacarán cuatro grupos: fibras largas (generalmente de 1 mm de largo, con un contenido en peso de 1 a 15% en la fase polvo), partículas (generalmente 1-5% en peso en la fase polvo), fibras de carbono cortas (generalmente de 100-250 μm de largo, y 8-20 μm de diámetro, con un contenido en peso de 14%) y nanotubos de carbono (contenido de 0,5 – 10% en peso).

Cementos parcialmente degradables

Su funcionamiento se basa en que, al ser introducidos, se biodegraden dejando poros alrededor de y dentro de los cuales crecerá el hueso, de manera que haya una mejor fijación.

Cementos biodegradables

Se trata de cementos óseos que contienen compuestos biodegradables pero inactivos, y se pueden clasificar en dos grupos: aquellos cuyo elemento biodegradable se mezcla con la fase polvo de un cemento de PMMA, y aquellos en los que uno o varios compuestos biodegradables están mezclados en una fase polvo que no sólo está compuesta por MMA, sino que contiene otros polímeros.

Cementos bioactivos

Estos cementos se pueden dividir en tres grupos: aquellos cuyo elemento bioactivo se mezcla con la fase polvo de un cemento de PMMA, aquellos en los que uno o varios compuestos bioactivos están mezclados en una fase polvo que no sólo está compuesta por MMA, sino que contiene otros polímeros y aquellos en los que la bioactividad se consigue sin añadir compuestos bioactivos.

Cementos de acción mixta

Se pueden distinguir seis grupos: cementos que contienen partículas de Al_2O_3 previamente tratadas con un silano, cementos cuya fase polvo contiene un compuesto con estroncio, cementos hidrófobos y parcialmente degradables, cementos bioactivos y parcialmente degradables, cementos hidrófobos, bioactivos y parcialmente degradables y cementos donde se ha utilizado un monómero, iniciador o acelerador alternativo.

MÉTODOS DE INSERCIÓN

Normalmente los cementos óseos se suelen inyectar con una jeringa. No obstante, ahora se han ideado nuevas maneras de insertar el cemento o variaciones de este método, como pueden ser la inyección a alta presión, con el fin de evitar la aparición de poros y otros defectos al insertar dicho cemento en la prótesis.

USO DE ANTIBIÓTICOS

Esta mejora se introdujo principalmente a raíz de la infección protésica: un problema que puede poner en serio riesgo la prótesis y cuya solución implica costosas y múltiples operaciones que pueden derivar incluso en amputación. Consiste en añadir antibióticos a la fase en polvo del cemento, de manera que al ser introducido en el cuerpo vaya liberando antibiótico con el paso del tiempo y así prevenga la aparición de la infección protésica.

Los cementos óseos proporcionan una superficie ideal para la adhesión, colonización y crecimiento de bacterias, permitiendo la formación de un *biofilm* que aísla a estos microorganismos y los protege del exterior. Esto, como se ha comentado previamente, puede resultar en una difícilmente tratable y poco deseada infección protésica. Es por esto que, a partir de los años 70, se ha desarrollado un nuevo método de prevención de estas infecciones que consiste en cargar los cementos óseos con antibióticos que combatan dicha infección, añadiéndolos en la fase en polvo de la mezcla. Esto permite que los antibióticos sean liberados directamente en la zona de posible infección. En cuanto al uso de estos cementos, se debate actualmente si debe darse sólo en caso de pacientes de alto riesgo de infección o como norma general.

Los cementos óseos se pueden clasificar, según su contenido en antibióticos, como de alta dosis (>2g de antibiótico por cada 40g de cemento) y de baja dosis (<2g de antibiótico por cada 40g de cemento). Aunque se comenzó usando gentamicina (pues tenía un amplio espectro de protección antibacteriana, solubilidad excelente en agua, estabilidad térmica y baja alergenicidad), hoy en día se usan una gran variedad de antibióticos, como pueden ser la tobramicina, la vancomicina, la penicilina, la eritromicina, la colistina, las cefalosporinas y la polimixina. Todos ellos deben cumplir, entre otras, la condición de ser termoestables, pues de lo contrario se verían afectados por las altas temperaturas de la reacción de curado, y de ser solubles en agua, pues de lo contrario no eluirían de manera efectiva al organismo. Uno de los mayores problemas en torno a los cementos óseos enriquecidos con antibióticos es la aparición de organismos resistentes, y es por ello que se investigan constantemente nuevos antibióticos en vistas a sustituir a los anteriores. Aunque el mecanismo de elución de estos antibióticos no se ha llegado a comprender del todo, a día de hoy se entiende que éstos son liberados, al principio, directamente desde la superficie del cemento óseo, y más adelante eluyen desde poros y grietas en dicho cemento. Es probable que la absorción de agua del PMMA influya en la elución de estos antibióticos, pues esta consigue penetrar la matriz sólida y hace que el cemento se hinche. Es por esto que la actividad de los antibióticos es altamente efectiva entre los 7-10 días tras el implante, y se cree que puede durar hasta los 10 años posteriores a la operación. No obstante, esta liberación de antibiótico nunca es completa, y en la mayoría de los casos quedará antibiótico atrapado en partes del cemento donde los fluidos corporales no pueden acceder.

Estudios anteriores llevados a cabo por el grupo de investigación donde se realiza este proyecto han demostrado que la utilización de rifampicina microencapsulada es una buena alternativa en la lucha contra la infección protésica. La rifampicina es uno de los pocos antibióticos capaces de atacar al *biofilm* que se forma durante el desarrollo de la infección protésica, siendo muy efectivo contra la misma. Sin embargo, su utilización se ha visto limitada debido a que la presencia del antibiótico inhibe la polimerización del cemento, dando lugar a una masa gomosa que no acaba de endurecer nunca. Sin embargo, esta limitación ha conseguido solventarse mediante la microencapsulación de la rifampicina, utilizando un polímero biodegradable capaz de aislar el antibiótico durante el curado del cemento, pero capaz de degradarse para liberarlo una vez el cemento ha curado. Además de una buena eficacia antimicrobiana, el uso de la rifampicina microencapsulada ha demostrado ser una buena alternativa también desde el punto de vista de las propiedades mecánicas del cemento.

PROBLEMAS ACTUALES

La adición de antibióticos a los cementos óseos presenta, a día de hoy, algunas desventajas, como pueden ser: riesgo de aparición de organismos resistentes, reacciones alérgicas, potencial toxicidad para el organismo, efectos sobre las propiedades mecánicas y elevado coste.

Resistencia antibiótica

Probablemente la desventaja más importante de todas, la aparición de organismos resistentes a los antibióticos presenta un riesgo de cara al uso de cementos óseos cargados con dichos antibióticos. Debido a la exposición prolongada del antibiótico, por la lenta expulsión de dicho antibiótico por parte del cemento, se da pie a que los organismos se modifiquen genéticamente, desarrollando una resistencia al antibiótico en cuestión.

Reacciones alérgicas

Aunque no es un tema que esté demasiado estudiado, se cree que el creciente uso de antibióticos en cementos podría aumentar la aparición de reacciones alérgicas por parte del organismo, tras las cuales podría ser necesario extraer el cemento y la prótesis.

Toxicidad

Aunque diversos estudios demuestran que, con bajas dosis de antibióticos, el daño al organismo por parte de la adición de antibióticos es despreciable, la toxicidad para el cuerpo humano sigue siendo un factor a tener en cuenta a la hora de usar cementos cargados con antibióticos.

Efectos sobre las propiedades mecánicas

La adición de antibióticos a los cementos óseos puede empeorar las propiedades mecánicas de los cementos óseos, comprometiendo la estabilidad de la prótesis. Esto se puede deber, principalmente, a dos factores: por un lado, al añadir antibiótico a la mezcla se reduce el porcentaje en peso de matriz de PMMA, lo que debilita la estructura del cemento; por otro lado, al eluir el antibiótico el cemento queda más poroso, lo que posteriormente debilita dicho cemento.

Costes

Aunque dependen del tipo de antibiótico y método que se utilice, los costes asociados a la inserción de un cemento óseo cargado con antibióticos son mayores que aquellos asociados a la inserción de cemento óseo sin enriquecer, pues para empezar se añade el precio adicional de los antibióticos.

CAPÍTULO 3

MATERIALES Y MÉTODO EXPERIMENTAL

CAPÍTULO 3

MATERIALES Y MÉTODO EXPERIMENTAL

ÍNDICE

Introducción	pág. 49
Cronología de proyecto	pág. 50
Materiales	pág. 51
Cementos óseos	pág. 51
Antibióticos y microencapsulación	pág. 52
Método experimental	pág. 55
Preparación de los cementos	pág. 55
Fases individuales	pág. 55
Mezcla del cemento	pág. 56
Preparación de las probetas	pág. 56
Moldeo de probetas	pág. 56
Mecanizado de probetas	pág. 58
Envejecimiento de las probetas	pág. 63
Ensayos realizados	pág. 65
Cálculos	pág. 70
Análisis estadístico	pág. 73
Matriz de ensayos	pág. 74

INTRODUCCIÓN

En este capítulo se expondrá la metodología de trabajo seguida para realizar el proyecto de investigación.

Por un lado, se aportará información sobre los materiales utilizados para dicho proyecto, esto es, sobre los cementos óseos y los distintos antibióticos empleados.

Por otro lado, se explicará el método experimental seguido para abordar el proyecto. Dicho método experimental consta de varias fases:

1. Preparación de los cementos. Aquí se explicará la composición de las distintas fases del cemento, así como la manera de mezclarlas.
2. Preparación de las probetas. Aquí se explicará tanto el moldeo como el mecanizado de las probetas, según los distintos tipos de ensayos.
3. Envejecimiento de las probetas. Aquí se explicará el procedimiento y condiciones bajo las cuales se envejecían las probetas.
4. Ensayos realizados. Aquí se detallará la manera de realizar los ensayos.
5. Análisis de los resultados. Aquí se detallará la manera de analizar los datos obtenidos, aportando fórmulas y análisis estadísticos.

Para ilustrar el proceso seguido, se insertará al final del capítulo una matriz de ensayos donde se exponga la cantidad de probetas fabricadas, correspondientes a los distintos tipos de ensayos, tiempos de envejecimiento y composición de dichas probetas.

CRONOLOGÍA DE PROYECTO

El proyecto comenzó como parte de una beca de colaboración con el departamento de Ingeniería Mecánica de la Universidad Pontificia de Comillas (ICAI), por lo que la primera parte de dicho proyecto se realizó durante esos meses de beca.

En el siguiente cronograma se indica el reparto de tareas durante el tiempo de realización del proyecto.

	BECA DE INVESTIGACIÓN							TFG				
	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May
Búsqueda de información												
Aprendizaje de la fabricación de probetas												
Fabricación de probetas												
Mecanización de probetas												
Envejecimiento de probetas												
Ensayo de las probetas												
Análisis de los resultados												
Redacción del documento												

Tabla 1: cronograma del Proyecto.

MATERIALES

CEMENTOS ÓSEOS

En este proyecto se usa un cemento óseo formado por una fase en polvo y otra líquida, cuya composición exacta se muestra en la Tabla 2.

Por un lado, la fase en polvo consiste principalmente en Colacryl B866 (Lucite International Ltd., UK), que a su vez se compone de Polimetilmetacrilato (PMMA) y peróxido de benzolío (BPO), siendo este último el iniciador de la reacción de curado. En este caso, estos dos componentes vienen previamente mezclados. El otro componente de la fase en polvo es el Sulfato de Bario (BaSO_4) (Sigma Aldrich, UK), que es un agente radio-opaco por el cual se consigue ver el cemento a través de rayos X.

Por otro lado, la fase líquida consta de dos componentes: el Metilmetacrilato (MMA) (Sigma Aldrich, UK), con la Dimetil para Toluidina (DmpT) (Sigma Aldrich, UK), que es el activador de la reacción de polimerización.

Fase polvo		
Polímero pre-polimerizado	Colacryl B866 - Polimetilmetacrilato (PMMA)	36,36 g
Iniciador	Colacryl B866 - Peróxido de Benzolío (BPO)	
Agente Radio-opaco	Sulfato de Bario (BaSO_4)	3,64 g
Fase líquida		
Monómero	Metilmetacrilato (MMA)	19,9 mL
Activador	Dimetil para Toluidina (DmpT)	160 μL

Tabla 2: composición del cemento óseo.

Adicionalmente, a esta mezcla se pueden añadir antibióticos, y en este proyecto se añadirán a la fase en polvo de la siguiente manera:

- 1g de antibiótico si se trata del antibiótico solo.
- 0,33g de cada antibiótico si se trata de una mezcla de los tres (total siendo 1g de antibióticos).

Los antibióticos utilizados en este proyecto son tres: vancomicina, gentamicina y rifampicina microencapsulada, y su información más detallada de expondrá en el apartado siguiente.

ANTIBIÓTICOS Y MICROENCAPSULACIÓN

Como se ha mencionado anteriormente, en este proyecto se han utilizado distintos antibióticos para enriquecer al cemento óseo y así poder analizar el efecto que éstos tienen sobre dicho cemento. En concreto, se han utilizado tres antibióticos: vancomicina, gentamicina y microcápsulas de rifampicina.

El motivo detrás del uso de varios antibióticos, aparte de para analizar las diferencias entre el efecto sobre el cemento óseo que tienen unos y otros, es comprobar el efecto que tienen los tres mezclados, pues como se detallará a continuación cada uno de los utilizados tiene un espectro de bacterias afectadas distintos, o una función distinta dentro de la protección antibacteriana, por lo que puede ser interesante cargar el cemento óseo con esta mezcla para tener un menor margen de error en cuestión de protección contra las infecciones.

GENTAMICINA

La gentamicina es un antibiótico aminoglicosídeo que funciona impidiendo el crecimiento de un amplio rango de bacterias. Tiene también un amplio rango de usos: contra infecciones operatorias, endocarditis, fibrosis quística, etc.

En cuanto a su uso en cementos óseos, fue el primer antibiótico en ser utilizado en este ámbito por su amplio espectro de protección antibacteriana, solubilidad excelente en agua, estabilidad térmica y baja alergenicidad. También se ha demostrado que, frente a otros antibióticos comunes en esta técnica, suele ofrecer una elución más prolongada. Un gran problema con la gentamicina es que, a día de hoy, casi un 50% de los *Staphylococcus* responsables de las infecciones protésicas son resistentes a ella, por lo que en poco tiempo será necesario encontrar nuevas alternativas.

Para este proyecto se ha utilizado sulfato de gentamicina de la marca Sigma Aldrich, UK. En cuanto a su apariencia, se trata de un polvo blanco de textura fina.

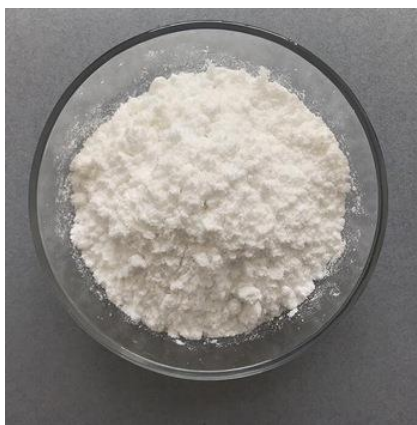


Imagen 1: muestra de sulfato de gentamicina.

VANCOMICINA

La vancomicina surgió en los años 50 fruto de investigaciones para encontrar antibióticos con actividad contra las infecciones por estafilococo resistentes a la penicilina. No obstante, poco después se dejó de usar por la aparición de otros antibióticos con igual o mayor efectividad y menor toxicidad, como pueden ser la cefazolina y la metilicina, y se

reservó para aquellos pacientes con alergias al β -lactama o con infecciones causadas por organismos resistentes a los nuevos antibióticos. No obstante, en los años 80 el uso de vancomicina volvió a subir debido a dos factores principales. El primero fue la llegada de la enterocolitis pseudomembranosa, que está causada predominantemente por dos agentes: el *Clostridium difficile* y el *Staphylococcus aureus*. La vancomicina no sólo funcionaba contra ambos, sino que no era absorbida en gran medida por el intestino, por lo que se convirtió en el antibiótico elegido para tratar esta enfermedad. El segundo fue el crecimiento de patógenos resistentes a los antibióticos utilizados hasta el momento: *S. aureus* resistente a la meticilina, y *Streptococcus pneumoniae* resistente a la penicilina.

El principal problema relacionado con el uso de la vancomicina, como ya se ha mencionado antes, es su toxicidad. En los ensayos iniciales no pareció observarse gran toxicidad pues, aunque se observara ototoxicidad, ésta fue atribuida a altas concentraciones de suero sanguíneo encontradas en pacientes con insuficiencia renal o a impurezas en la vancomicina. No obstante, más adelante se demostró que, en efecto, era la vancomicina quien causaba dicha complicación, aunque era una ocurrencia poco frecuente. Con el tiempo se fueron descubriendo otras formas de toxicidad causadas por el uso de vancomicina, como la flebitis (que afectaba a un 13% de los pacientes), nefrotoxicidad (que afectaba a un 5% de los pacientes), neutropenia (que afectaba a un 2% de los pacientes), trombocitopenia e insuficiencia renal.

Para este proyecto se ha utilizado Vancomicina de la marca Normon. En cuanto a su apariencia, se trata de un polvo blanco con textura un poco apelmazada.



Imagen 2: muestra de vancomicina.

RIFAMPICINA

La rifampicina es un antibiótico que, por su alta efectividad contra bacterias en fase estacionaria, su actividad intracelular y su capacidad de difusión del biofilm, es muy recomendable como antibiótico a añadir a los cementos óseos, normalmente en combinación con otros que tengan un mayor espectro de actividad antibacteriana.

Un gran problema en su uso en cementos óseos es que no permite que la reacción de curado tenga lugar correctamente, lo que hace que el cemento nunca llegue a endurecerse del todo y quede una consistencia “gomosa”. Lo que se cree que ocurre es que este antibiótico reacciona con el peróxido de benzolío o el DmpT, impidiendo la formación de radicales de benzolío y que éstos formen enlaces covalentes con el MMA.

En cuanto a su apariencia, se trata de un polvo de color rojizo y de textura fina, razón por la cual las probetas que contienen este antibiótico son de color rosáceo.



Imagen 3: muestra de rifampicina.

Microencapsulación

Estudios previos llevados a cabo por este grupo de investigación han demostrado que una buena alternativa para poder utilizar rifampicina es mediante su microencapsulación utilizando un polímero biocompatible y biodegradable, aislando la rifampicina para así conservar las propiedades y permitir el curado del cemento.

Para este proyecto, se ha estudiado previamente la microencapsulación de la rifampicina comercial Rifaldin (Sanofi, Barcelona, España) mediante dos métodos: la gelificación de alginato o la evaporación del disolvente utilizando polihidroxibutirato. El primer método se basa en la habilidad del alginato de reticular y formar hidrogeles en presencia de contraiones. Con este método, la morfología de las micropartículas resultó ser irregular. El segundo método proporciona una morfología de micropartículas esférica. Debido a sus mejores resultados, pues favorecen mejor la elución de la rifampicina, en este proyecto se han utilizado las sintetizadas a partir de alginato.

Por otro lado, también se han investigado dos maneras de secar estas microcápsulas: al aire y liofilizadas, comprobándose que las secadas al aire funcionaban mejor al dotar de mejores propiedades mecánicas y de elución a los cementos.

Para este proyecto se han utilizado microcápsulas de rifampicina suministradas por INESCOP.

MÉTODO EXPERIMENTAL

En el proyecto se han pretendido realizar cuatro tipos de ensayos (flexión, fractura, compresión y elución) a probetas de cementos óseos con cinco composiciones distintas (cemento blanco, con vancomicina, con gentamicina, con rifampicina microencapsulada y con una mezcla de los tres antibióticos) y distintos tiempos de envejecimiento (0, 1, 3 y 7 meses).

Con ese fin, se han seguido los siguientes pasos:

PREPARACIÓN DE LOS CEMENTOS

La preparación de los cementos se basa en la creación de una fase en polvo y otra fase líquida, a partir de los compuestos que se muestran en la . En algunos casos, a la fase polvo se añade 1g de antibiótico (vancomicina, gentamicina, rifampicina microencapsulada o una mezcla de los tres).

FASES INDIVIDUALES

Fase en polvo

La fase en polvo contiene Colacryl B866 (Lucite International Ltd., UK) mezclado con Sulfato de Bario (Sigma Aldrich, UK), en las proporciones que se indican en la Tabla 2.

Primero, se van echando pequeñas cantidades de cada uno para conseguir que se mezcle bien ese polvo inicial, pues el sulfato de bario tiende a apelmazarse. Para los casos con antibióticos, se añade en este momento 1g de antibiótico (vancomicina, gentamicina o rifampicina microencapsulada) o 0,33g de cada antibiótico si se trata del cemento que contiene la mezcla de los tres. Una vez ha quedado bien integrado el sulfato de bario, se añade el Colacryl B866 restante y se mezcla bien, primero con una espátula y luego, una vez cerrado el bote donde se realiza la mezcla, agitando manualmente hasta conseguir una mezcla homogénea.

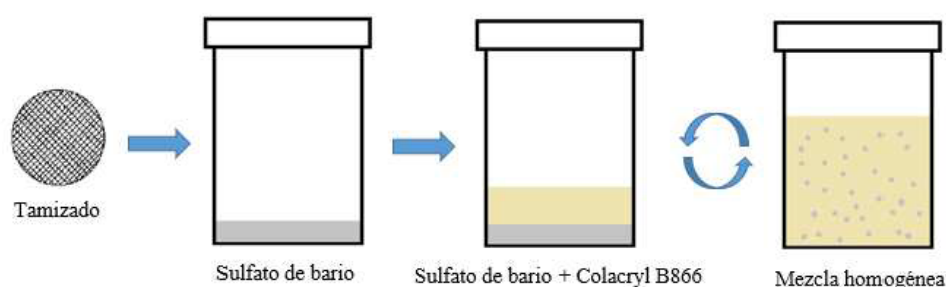


Imagen 4: demostración del proceso de mezclado de la fase en polvo.

Fase líquida

La fase líquida se prepara añadiendo primero la cantidad mencionada en la Tabla 2 de Dimetil para toluidina (Sigma Aldrich, UK) a un tubo de ensayo, con una pipeta. A continuación, se añade la cantidad requerida de Metacrilato de Metilo (Sigma Aldrich, UK).

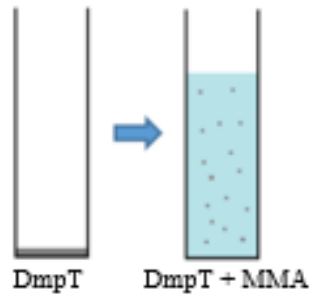


Imagen 5: demostración del proceso de mezclado de la fase líquida del cemento óseo.

MEZCLA DEL CEMENTO

Una vez preparadas las dos fases, es el momento de crear el cemento. Para ello, se utiliza un agitador a vacío HiVac (Summit Medical, Gloucestershire, UK), con el que se intentará evitar la aparición de burbujas que puedan aumentar la porosidad del cemento y alterar los resultados de los posteriores ensayos.



Imagen 6: vaso agitador de vacío HiVac.

En este agitador se vierten el polvo y el líquido, que se mezclarán a temperatura ambiente. Una vez dentro, se mezcla ligeramente con una espátula para humedecer el polvo, y luego se cierra el recipiente y, conectado a una bomba de vacío, se agita durante aproximadamente 1 minuto. Durante este proceso de agitación, el cemento pasará de una textura granulosa a una más líquida, a partir de la cual el cemento curará una vez insertado en los moldes.

PREPARACIÓN DE LAS PROBETAS

Las probetas se han fabricado siguiendo la norma ISO 5833 y la ASTM D 5045.

MOLDEO DE PROBETAS

Una vez mezcladas las fases polvo y líquida, se insertan en los moldes y, con ayuda de una espátula, se presiona la masa para rellenar la cavidad del molde. Dependiendo del ensayo a realizar, hay tres tipos de moldes distintos.

- Para los ensayos de flexión, se utilizan moldes de silicona. Dichos moldes se han fabricado con la geometría y dimensiones requeridas para el ensayo, siguiendo la norma ISO 5833, por la cual las probetas deben de ser prismas rectangulares de 3,3 x 75,0 x 10.0 mm



Imagen 7: molde de silicona de probetas de flexión.

- Para los ensayos de fractura, se utilizan moldes de silicona. Dichos moldes se han fabricado con la geometría y dimensiones requeridas para el ensayo, siguiendo la norma ISO 5833.



Imagen 8: molde de silicona de probetas de fractura.

- Para los ensayos tanto de compresión como de elución, se utilizan moldes de teflón. Dichos moldes se han fabricado con la geometría y dimensiones requeridas para el ensayo, siguiendo la norma ISO 5833, por la cual las probetas deben ser cilíndricas y tener un diámetro de 6 mm y una altura de 12 mm.

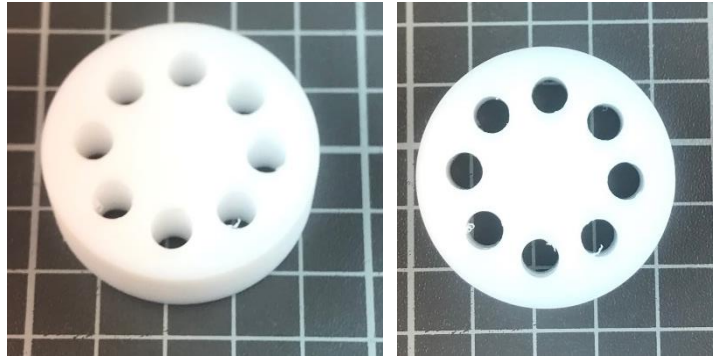


Imagen 9: molde de teflón de probetas de compresión y elución.

Para compactar el cemento y asegurar la planitud de las superficies, se pondrá sobre los moldes un bloque de acero que actúe como prensa.

Las probetas deberán permanecer un mínimo de 24 horas en el molde antes de poder desmoldarlas, para asegurar que se haya completado el proceso de curado del cemento.

MECANIZADO DE PROBETAS

El siguiente paso tras extraer las probetas del molde es mecanizarlas, lo que, dependiendo del ensayo al que estén destinadas, se hará de una manera concreta.

Mecanizado de probetas de fractura

Las probetas de fractura se han fabricado acorde con la norma ASTM D 5045, por la cual las medidas de dichas probetas deben seguir las siguientes pautas:

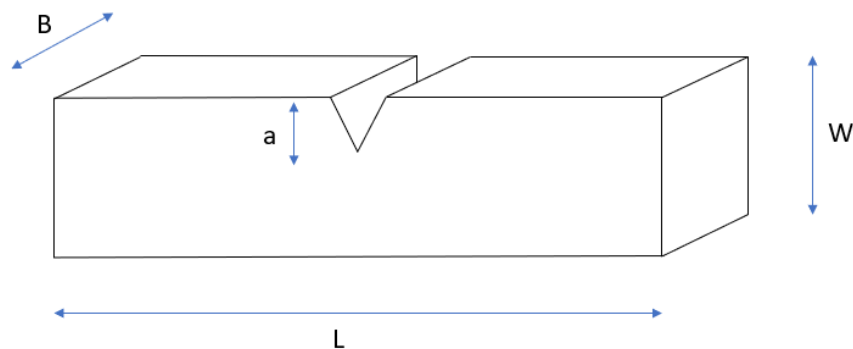


Figura 1: medidas de la probeta de fractura según la norma ASTM D 5045.

$$B = \frac{W}{2} \qquad L = 4,4 \cdot W \qquad a = 0,55 \cdot W - 1,3$$

En el pasado hubo problemas en la puesta a punto del ensayo de fractura, y se llegó a la conclusión de que, al acortar la longitud de las probetas acorde con la norma, se inducía en ellas un par previo al ensayo que falseaba los resultados al hacer dicho ensayo, pues la probeta ya había sido expuesta a un esfuerzo parecido al del ensayo de fractura. Por este motivo, se decidió para este proyecto mecanizar las probetas evitando disminuir su longitud a no ser que la longitud a eliminar fuera mayor a 2 mm.

Previo al mecanizado, se deben lijar los cantos de las probetas para eliminar la rebaba existente debido al moldeo, para lo cual se utiliza la lijadora mostrada en la Imagen 10.



Imagen 10: lijadora eléctrica.

Para el mecanizado de las probetas se ha utilizado una máquina fresadora BF20L VARIO (Optimum) de 230V/50Hz/850W.



Imagen 11: fresadora VARIO (Optimum) de 230V/50Hz/850W.

Primero, se han planeado las probetas con una fresa para ajustar la altura de la probeta a la requerida por la norma. A continuación, mediante el uso de una sierra, se ha realizado la entalla de dicha probeta, de nuevo acorde con la norma.

Por último, se miden las dimensiones (longitud (L), ancho (W), altura (B) y profundidad de entalla (a)) de las probetas y se marcan con un rotulador permanente para poder ser distinguidas más adelante.

Las probetas de fractura terminadas se muestran en la Imagen 12.

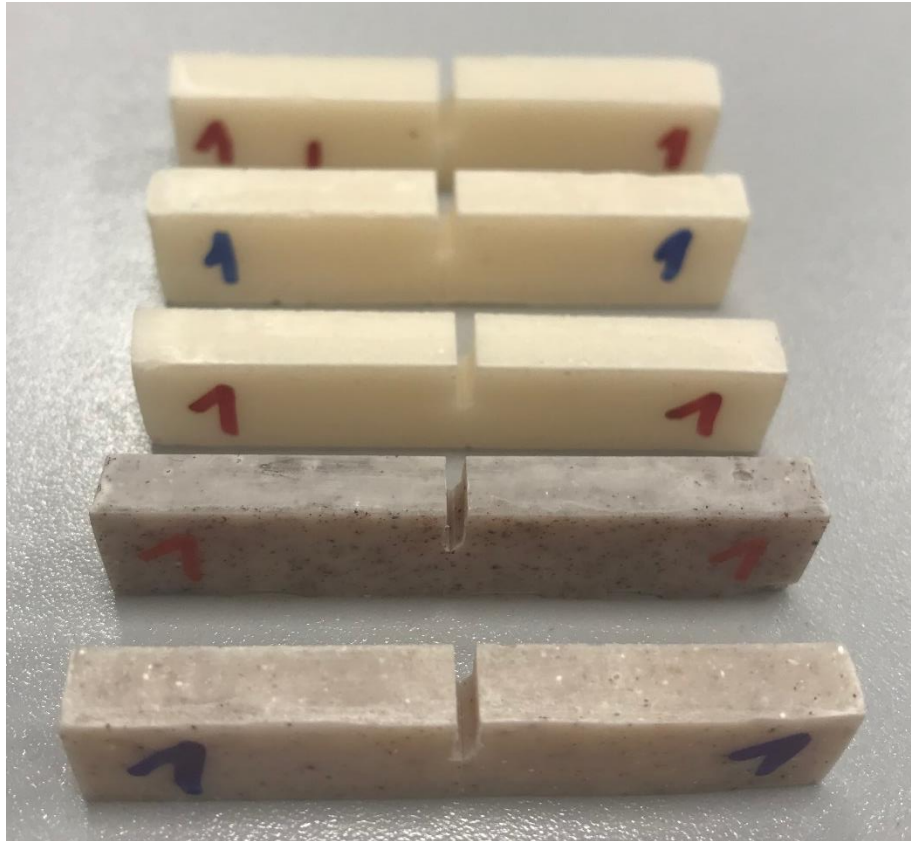


Imagen 12: probetas de fractura terminadas de (arriba abajo) cemento blanco, con vancomicina, con gentamicina, con microcápsulas de rifampicina y con la mezcla de los tres antibióticos.

Mecanizado de las probetas de flexión

Las probetas de flexión se han fabricado según la norma ISO 5833, por la cual las medidas de dichas probetas deben seguir las siguientes pautas:

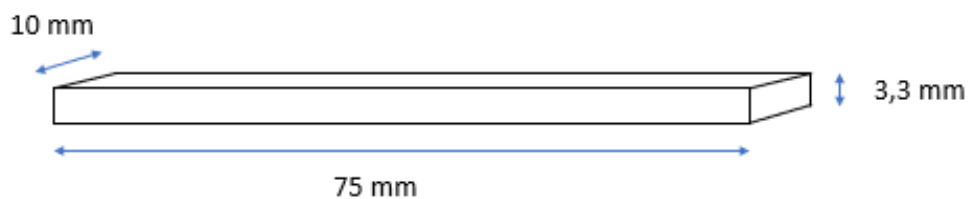


Figura 2: medidas de la probeta de flexión según la norma ISO 5833.

Para el mecanizado de las probetas de flexión, ha sido necesario lijar la rebaba existente en los cantos de las probetas, debido a su proceso de moldeo. Esta lija es la misma utilizada para las probetas de fractura, mostrada en la Imagen 10.

Por último, se miden las dimensiones (longitud (L), ancho (W) y altura (B)) de las probetas y se marcan con un rotulador permanente para poder ser distinguidas más adelante.

Las probetas de flexión terminadas se muestran en la Imagen 13.



Imagen 13: probetas de flexión terminadas de (arriba abajo) cemento blanco, con vancomicina, con gentamicina, con microcápsulas de rifampicina y con la mezcla de los tres antibióticos.

Mecanizado de las probetas de compresión

Las probetas de compresión se han fabricado según la norma ISO 5833, por la cual las medidas de dichas probetas deben seguir las siguientes pautas:

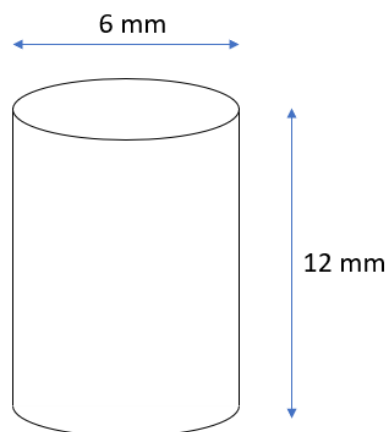


Figura 3: medidas de la probeta de compresión según la norma ISO 5833.

Para el mecanizado de las probetas de compresión, ha sido necesario lijar la rebaba existente en los cantos de las probetas, debido a su proceso de moldeo. Esta lija es la misma utilizada para las probetas de fractura, mostrada en la Imagen 10. A su vez, si la superficie de la probeta estaba inclinada, se ha procedido a lijarla también para que quede lo más horizontal posible, evitando que se vean falseados los resultados del ensayo.

Por último, se miden las dimensiones (altura (L) y diámetro(D)) de las probetas y se marcan con un rotulador permanente para poder ser distinguidas más adelante.

Un ejemplo de probeta de compresión terminada se muestra en la Imagen 14.



Imagen 14: probeta de compresión terminada.

Mecanizado de las probetas de elución

Las probetas de elución se han fabricado según la norma ISO 5833, por la cual las medidas de dichas probetas deben seguir las siguientes pautas (se trata de probetas de compresión):

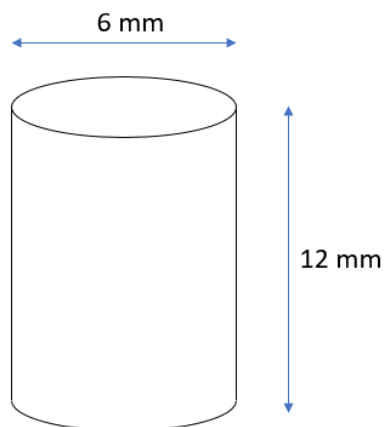


Figura 4: medidas de la probeta de elución.

Para el mecanizado de las probetas de elución, ha sido necesario lijar la rebaba existente en los cantos de las probetas, debido a su proceso de moldeo. Esta lija es la misma utilizada para las probetas de fractura, mostrada en la Imagen 10.

ENVEJECIMIENTO DE LAS PROBETAS

Una vez mecanizadas las probetas, están listas para ser envejecidas. Las probetas de 0 meses son aquellas que se ensayan sin envejecer. No obstante, las probetas de 1, 3 y 7 meses es necesario envejecerlas antes de que puedan ser ensayadas.

Para ello, primero se ha de crear una solución que simule las condiciones del interior del cuerpo humano. Éste se consigue mezclando agua desionizada y buffer fosfato salino (PBS) en las proporciones indicadas en la Tabla 3.

Agua desionizada	200 mL
PBS	1 pastilla (XX g)

Tabla 3: composición de la solución salina.

Las probetas se meterán en un bote de plástico y se cubrirán con dicha solución. A continuación, dicho bote se meterá en una estufa J.P Selecta modelo 0427741 de 230V/50-60Hz/1200W, mostrada en la Imagen 15, que se mantendrá a 37°C durante la totalidad del tiempo de envejecimiento. Con esto se pretende simular de la manera más precisa las condiciones que experimentaría la probeta de ser introducida en el cuerpo humano; es decir, las condiciones “in vitro”.



Imagen 15: estufa JP Selecta de 230V/ 50-60Hz/ 1200W.

En cuanto a la manera de distinguir las probetas, los botes se clasifican como se muestra en la Figura 5.

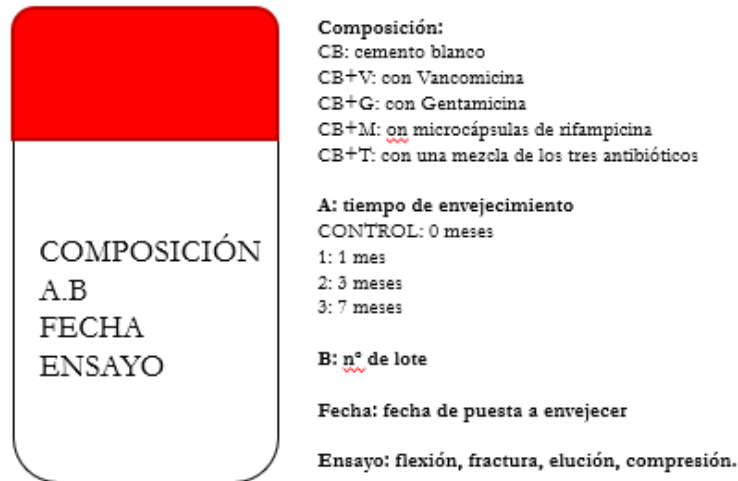


Figura 5: manera de clasificar los botes para el envejecimiento de las probetas.

El envejecimiento de las probetas durará 1, 3 o 7 meses, y tras este tiempo se extraerán las probetas de la estufa para poder ser ensayadas.

Existe el caso particular de las probetas de elución, pues su envejecimiento es distinto. Estas probetas no se pueden marcar con rotulador, pues la solución en la que se meten se planea analizar en el futuro, y el rotulador disuelto en el líquido alteraría los resultados. Por lo tanto, cada probeta se mete en un tubo de ensayo en el que se distingue con rotulador qué probeta es, sumergida en 10 mL de PBS.

ENSAYOS REALIZADOS

Los ensayos se han realizado siguiendo la norma ISO 5833 y la ASTM D 5045.

En el caso de las probetas de 0 meses, las probetas se ensayarán tras haber sido mecanizadas.

En el caso de las probetas que hayan tenido que ser envejecidas, dichas probetas se ensayarán cuando haya pasado el tiempo correspondiente (1, 3 o 7 meses). Tras este tiempo, se secarán y ensayarán directamente según los procedimientos expuestos en los siguientes apartados:

FLEXIÓN

El ensayo de flexión pretende analizar la tensión máxima que aguantan las probetas cuando son sometidas a un esfuerzo de flexión, para así determinar su tensión máxima a flexión y su módulo de Young.

Al extraer las probetas de flexión de la estufa, se secarán con papel y se ensayarán en el momento, con el objetivo de que estén en condiciones lo más próximas a las del interior del cuerpo humano. Para realizar dicho ensayo, se utilizarán dos máquinas, indistintamente:

- Máquina universal de ensayos Ibertest. Modelo ELIB 20-W de 220V/50Hz/600W. Con ésta, se ha utilizado la célula de carga de 0,5 kN, pues es la fuerza de célula mínima que no se supera en el ensayo.



Imagen 16: máquina universal Ibertest ELIB 20-W.

- Máquina universal de ensayos Ibertest. Modelo IBTH-5/500. Con ésta, se ha utilizado la célula de carga de 0,5 kN, pues es la fuerza de célula mínima que no se supera en el ensayo.



Imagen 17: máquina universal Ibertest IBTH-5/500

La utilización de cada máquina depende de su disponibilidad, pero con las dos se obtienen los mismos resultados. Respecto al puente de flexión, se utiliza un puente de cuatro puntos, con una distancia de separación de 60 mm en los inferiores y 20 mm en los superiores, acorde con la norma ISO 5833. Este puente se muestra en la Imagen 18.

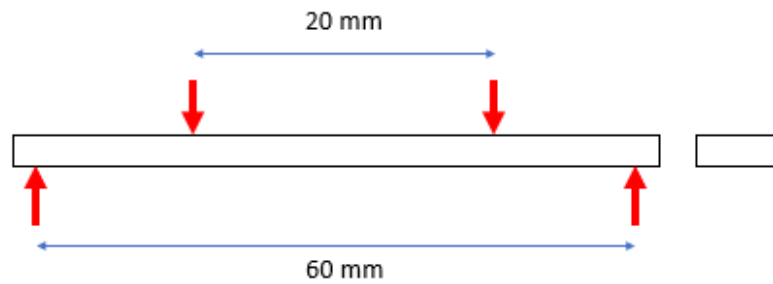


Figura 6: distancias y puntos de apoyo del puente de flexión.

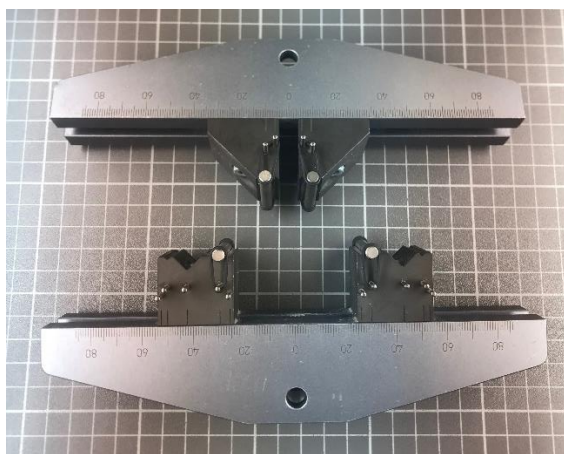


Imagen 18: Puente de flexion.

Los ensayos se han realizado a una velocidad de 5 mm/min y a 23°C, acorde con la norma ISO 5833.

FRACTURA

El ensayo de fractura pretende analizar la tenacidad a fractura de las probetas, para así determinar su fragilidad. Se realiza según la norma ASTM D 5045.

Al extraer las probetas de fractura de la estufa, se secarán con papel y se ensayarán en el momento, con el objetivo de que estén en condiciones lo más próximas a las del interior del cuerpo humano. Para realizar dicho ensayo, se utilizarán dos máquinas, indistintamente:

- Máquina universal de ensayos Ibertest. Modelo ELIB 20. Con ésta, se ha utilizado la célula de carga de 0,5 kN, pues es la fuerza de célula mínima que no se supera en el ensayo. Dicha máquina se puede observar en la Imagen 16.
- Máquina universal de ensayos Ibertest. Modelo IBTH-5/500. Con ésta, se ha utilizado la célula de carga de 0,5 kN, pues es la fuerza de célula mínima que no se supera en el ensayo. Dicha máquina se puede observar en la Imagen 17.

La utilización de cada máquina depende de su disponibilidad, pero con las dos se obtienen los mismos resultados. Respecto al puente de fractura, se utiliza uno de 3 puntos, donde la separación entre los inferiores es de 52 mm.

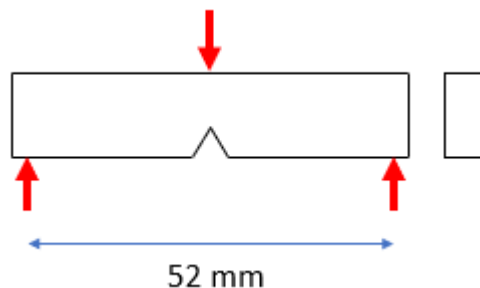


Figura 7: distancias y puntos de apoyo del puente de fractura.

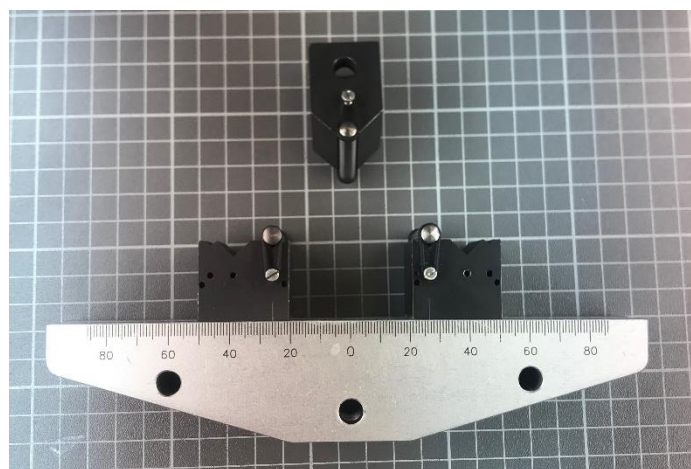


Imagen 19: Puente de fractura.

Los ensayos se han realizado a una velocidad de 1 mm/min.

COMPRESIÓN

El ensayo de compresión pretende analizar la tensión máxima que aguantan las probetas cuando son sometidas a un esfuerzo de compresión, para así determinar su tensión máxima a compresión.

Al extraer las probetas de compresión de la estufa, se secarán con papel y se ensayarán en el momento, con el objetivo de que estén en condiciones lo más próximas a las del interior del cuerpo humano. Para realizar dicho ensayo, se utilizarán dos máquinas, indistintamente:

- Máquina universal de ensayos Ibertest. Modelo ELIB 20. Con ésta, se ha utilizado la célula de carga de 20 kN, pues es la fuerza de célula mínima que no se supera en el ensayo. Dicha máquina se puede observar en la Imagen 16.
- Máquina universal de ensayos Ibertest. Modelo IBTH-5/500. Con ésta, se ha utilizado la célula de carga de 5 kN, pues es la fuerza de célula mínima que no se supera en el ensayo. Dicha máquina se puede observar en la Imagen 17.

La utilización de cada máquina depende de su disponibilidad, pero con las dos se obtienen los mismos resultados. Respecto a los útiles empleados, se han utilizado los platos de compresión mostrados en la Imagen 20.

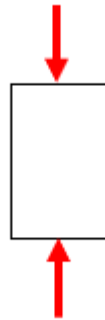


Figura 8: ilustración del ensayo de compresión.



Imagen 20: platos de compresión.

Los ensayos se han realizado a una velocidad de 20 mm/min y a una temperatura de 23°C, acorde con la norma ISO 5833, por la cual la velocidad ha de ser 19,8-25,4 mm/min, y la temperatura $23\pm 1^\circ\text{C}$.

ELUCIÓN

El ensayo de elución pretende analizar el cambio de densidad y porosidad de las probetas para así determinar la cantidad y ritmo al que los antibióticos salen del cemento. Para ello, es necesario medir la densidad antes y después del envejecimiento de las probetas, y este ensayo no se realiza con probetas de 0 meses (pues no se envejecen, y por lo tanto el antibiótico no va a eluir). La densidad se mide con la balanza AG285 de Metler Toledo, analizando el volumen de agua desplazado (teniendo en cuenta la temperatura de realización del ensayo) y utilizando el principio de Arquímedes. Para ello, se pesa la probeta en seco (A) y sumergida en agua desionizada (B).

El procedimiento de secado de las probetas de elución es distinto al del resto de probetas, pues en este caso sí que interesa que el líquido se haya evaporado completamente antes de volver a medir la densidad. Para ello, se meten en una estufa a 45°C durante un mínimo de 4 días, y luego se desecan en un desecador.

Por lo tanto, en este ensayo se tendrán dos medidas por probeta: la de antes y la de después de envejecer.

CÁLCULOS

Una vez ensayadas las probetas, se procede al análisis de los resultados. Para ello, se ha hecho uso de distintas ecuaciones según la norma ISO 5833 o la ASTM D 5045 para fractura.

FLEXIÓN

Tras hacer los ensayos de flexión, lo que se guarda de la máquina es una tabla de datos de tiempo, carrera y fuerza, en un archivo de Excel. A partir de estos datos, y por cada probeta ensayada, se calculan:

Fuerza máxima (N)

Se trata de la fuerza máxima que aguanta la probeta, y se saca directamente de los datos de la tabla proporcionada por la propia máquina de ensayos (que vienen dados en cada instante de tiempo).

Resistencia a flexión (MPa)

Por cada instante de tiempo medido por la máquina se tiene la fuerza correspondiente. A partir de ahí, se calcula la tensión soportada en cada uno de esos instantes temporales con la siguiente fórmula:

$$B = \frac{3Fa}{bh^2}$$

- F es la fuerza máxima aguantada por la probeta, en Newtons
- b es la anchura de la probeta, en milímetros
- h es el grosor de la probeta, en milímetros
- a es la distancia entre los puntos de carga interiores y exteriores (20 mm)

Una vez se tienen las tensiones para cada instante de tiempo, se halla la máxima de entre todas ellas y de ahí sale la σ_{\max} .

Módulo de Young (MPa)

A partir de las medidas de las probetas, y conociendo datos anteriores de flechas, se calcula el módulo de Young de la siguiente manera:

$$E = \frac{\Delta Fa}{4fbh^3} \cdot (3l^2 - 4a^2)$$

- f es la diferencia entre las flechas bajo 15N y 50N, en milímetros
- b es la anchura de la probeta, en milímetros
- h es el grosor de la probeta, en milímetros
- l es la distancia entre los puntos de carga exteriores (60 mm)

ΔF es el rango de fuerzas (50-15=35N)

a es la distancia entre los puntos de carga interiores y exteriores (20 mm)

Deformación máxima (mm)

La deformación máxima se calcula a partir de la carrera proporcionada por la máquina de ensayos. No obstante, al no estar hecho el ensayo con un extensómetro, los resultados no serían comparables con resultados externos, pero sí se pueden comparar deformaciones entre las probetas de este proyecto, pues en todas se ha utilizado el mismo criterio.

FRACTURA

Tras hacer los ensayos de fractura, lo que se guarda de la máquina es una tabla de datos de tiempo, carrera y fuerza, en un archivo de Excel. A partir de estos datos, y por cada probeta ensayada, se calcula la tenacidad a fractura de cada probeta siguiendo la norma ASTM D 5045, por la cual el cálculo sigue la siguiente fórmula:

$$K_Q = f \frac{P_Q}{BW^{1/2}}$$

COMPRESIÓN

Tras hacer los ensayos de compresión, lo que se guarda de la máquina es una tabla de datos de tiempo, carrera y fuerza, en un archivo de Excel. A partir de estos datos, y por cada probeta ensayada, se calculan:

Tensión media (MPa)

Primero, se calcula la tensión soportada por cada probeta, de la siguiente manera:

$$\sigma = \frac{F}{S} = \frac{F}{\pi \cdot (D/2)^2}$$

Una vez se tiene la tensión aguantada por probeta, se hace la media de todas las probetas y con ello se saca la tensión media.

ELUCIÓN

Conociendo la masa de la probeta en seco (A) y sumergida en agua desionizada (B), así como la densidad del agua a una temperatura determinada ($\rho_o(T)$) y la densidad del aire (ρ_L), se halla la densidad de la probeta con la siguiente fórmula:

$$\rho = \frac{A}{A - B} \cdot (\rho_o - \rho_L) + \rho_L$$

Esta densidad se ha medido, por cada probeta, antes y después de meter dicha probeta a envejecer. Con ello, se ha pretendido a partir de la diferencia de densidades hallar cuánto antibiótico eluye de la probeta.

No obstante, este método no ha salido como se esperaba, pues por algún motivo las densidades no se medían bien de esta manera. Se han detectado varias fuentes de fallo posibles, por lo que en el capítulo de trabajos futuros se detallarán los errores y cómo se cree que se pueden solventar.

Por otro lado, el líquido sobrante del envejecimiento se ha guardado en un congelador, para que en un futuro se pueda analizar la concentración de antibiótico en ese líquido y compararla con la solución salina sin antibiótico.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Una vez obtenidos los datos a partir de los ensayos, se ha procedido a hacer un análisis estadístico de dichos datos para determinar:

- Cuáles de esos datos son *outliers*, y por lo tanto no se deberían tener en cuenta a la hora de analizar los resultados.
- Entre qué conjunto de datos hay diferencias estadísticamente significativas, y entre cuáles no (se pueden considerar iguales).

Para ello se ha utilizado el software estadístico SPSS 24.0 para Windows (IBM SPSS, Chicago, USA), con el que se ha hecho un análisis ANOVA de un factor y se ha tomado un P-valor menor de 0,05 como indicador de lo estadísticamente significativo.

MATRIZ DE ENSAYOS

Para la fabricación y los ensayos de las probetas se ha seguido la siguiente matriz de ensayos:

		Control	1 mes	3 meses	7 meses	TOTAL
CB	Flexión	15	15	15	15	60
	Compresión	15	15	15	15	60
	Fractura	15	15	15	15	60
	Elución	0	9	9	9	27
CB+V	Flexión	15	15	15	15	60
	Compresión	15	15	15	15	60
	Fractura	15	15	15	15	60
	Elución	0	9	9	9	27
CB+G	Flexión	15	15	15	15	60
	Compresión	15	15	15	15	60
	Fractura	15	15	15	15	60
	Elución	0	9	9	9	27
CB+MIC	Flexión	15	15	15	15	60
	Compresión	15	15	15	15	60
	Fractura	15	15	15	15	60
	Elución	0	9	9	9	27
CB+V+G+MIC	Flexión	15	15	15	15	60
	Compresión	15	15	15	15	60
	Fractura	15	15	15	15	60
	Elución	0	9	9	9	27
TOTAL		225	270	270	270	1035

Tabla 4: matriz de ensayos del proyecto.

Por lo tanto, se han fabricado un total de 1.035 probetas, todas ellas ensayadas y analizadas.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ÍNDICE

Introducción	pág. 77
Resultados	pág. 78
Flexión	pág. 78
Resistencia a flexión	pág. 78
Módulo de Young	pág. 81
Deformación máxima a flexión	pág. 84
Fractura	pág. 87
Compresión	pág. 90
Elución y porosidad	pág. 93
Estudio de la porosidad al microscopio	pág. 93
Discusión de resultados	pág. 98
Conceptos importantes	pág. 98
Discusión de resultados	pág. 99

INTRODUCCIÓN

En este capítulo se expondrán los resultados obtenido tras hacer los ensayos de flexión, fractura, compresión, elución y observación de la porosidad al microscopio, para luego ser discutidos al final.

Estos resultados se basan en los ensayos realizados y en un estudio estadístico que se ha realizado posteriormente. Es por ello que, en las distintas tablas, se representarán como valor \pm desviación típica.

RESULTADOS

FLEXIÓN

En los apartados siguientes se expondrán los resultados obtenidos a partir de la realización de ensayos de flexión, una vez habiendo analizado los datos a través de un software estadístico.

RESISTENCIA A FLEXIÓN

En las siguientes tablas se muestran los resultados obtenidos de la resistencia a flexión de las probetas, expresada en MPa.

	CB	CB+V	CB+G	CB+M	CB+T
0 meses	44,9 ± 5,02	47,79 ± 3,84	48,19 ± 4,73	50,79 ± 4,96	37,05 ± 3,45
1 mes	43,75 ± 5,68	11,05 ± 1,74	42,06 ± 7,14	46,73 ± 3,91	32,23 ± 3,89
3 meses	44,29 ± 12,07	35,17 ± 0,71	46,23 ± 9,46	40,38 ± 3,45	28,66 ± 3,74
7 meses	52,77 ± 8,2	35,24 ± 1,58	49,27 ± 8,32	48,71 ± 6,7	30,41 ± 4,54

Tabla 1: Resistencia a flexión de las probetas, en MPa.

En la Tabla 1 se pueden observar los datos de resistencia a flexión obtenidos.

Efecto del antibiótico sobre la resistencia a flexión

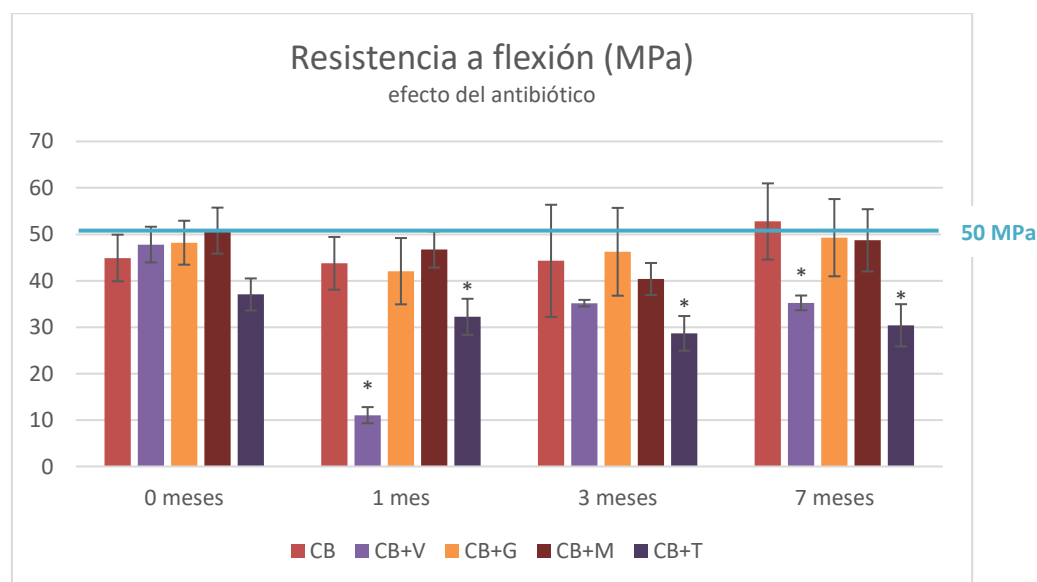


Figura 1: Resistencia a flexión (MPa) que representa el efecto de cada antibiótico.

*: variaciones significativas respecto al cemento blanco (CB), por cada tiempo de envejecimiento.

Respecto a las probetas sin envejecer, se comprueba en la Figura 1 que no hay diferencias estadísticamente significativas entre el cemento blanco y aquellas enriquecidas con antibióticos, aunque sí parece aumentar la resistencia a flexión en las probetas

enriquecidas con microcápsulas de rifampicina, mientras que parece disminuir en aquellas que contienen la mezcla de los tres antibióticos.

Respecto a las probetas envejecidas durante 1 mes, se ven diferencias estadísticamente significativas tanto en el cemento enriquecido con vancomicina como en aquel que contiene la mezcla de los 3 antibióticos. En cuanto a la vancomicina, añadirla al cemento supone una disminución del 74,74% de su resistencia a flexión respecto al cemento blanco. Cuando se observa el cemento que contiene la mezcla de los tres antibióticos, se comprueba que su resistencia a flexión disminuye un 26,33%. No obstante, la resistencia a flexión parece aumentar en las probetas enriquecidas con microcápsulas de rifampicina, mientras que parece disminuir en aquellas que contienen la mezcla de los 3 antibióticos.

Respecto a las probetas envejecidas durante 3 meses, se ven diferencias estadísticamente significativas entre el cemento blanco y aquel que contiene una mezcla de los 3 antibióticos, en el cual la resistencia a flexión se reduce un 35,29%. Sin embargo, observando la Figura 1, la resistencia a flexión parece disminuir al añadir vancomicina.

Por último, en cuanto al envejecimiento de 7 meses, se observan diferencias significativas respecto al cemento blanco en aquel con vancomicina (la resistencia a flexión disminuye un 33,22%) y aquel con la mezcla de los 3 antibióticos (la resistencia a flexión disminuye un 42,37%).

Efecto del tiempo de envejecimiento sobre la resistencia a flexión

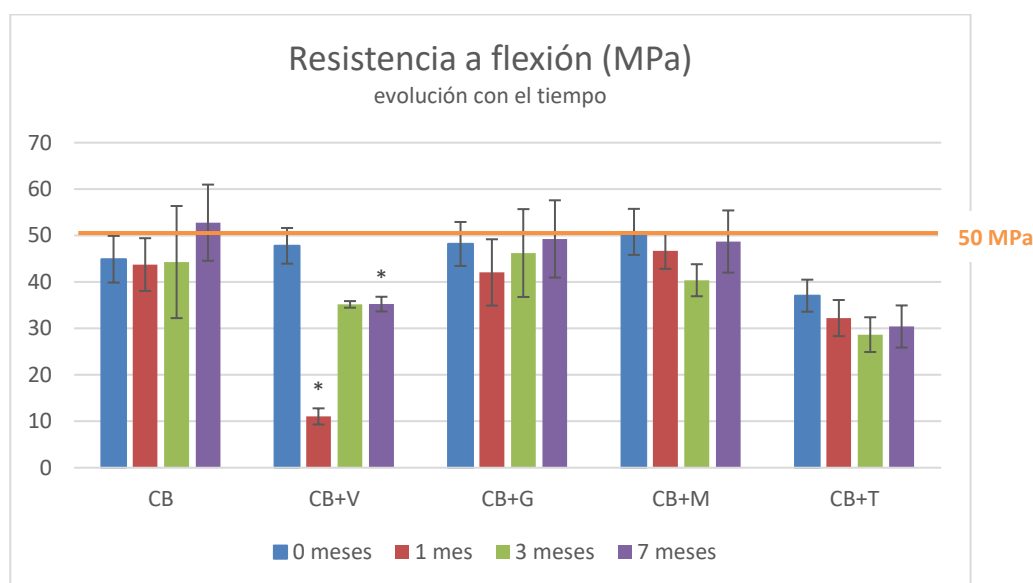


Figura 2: Resistencia a flexión (MPa) que representa la evolución con el tiempo.

*: variaciones significativas respecto a los 0 meses de envejecimiento, por cada antibiótico.

Respecto al cemento blanco, se comprueba observando la Figura 2 que su resistencia a flexión se mantiene constante salvo a los 7 meses, que parece aumentar ligeramente.

Respecto al cemento enriquecido con vancomicina, existen diferencias significativas entre la resistencia a flexión del cemento al pasar un mes, respecto a aquel sin

envejecer, pues dicha tensión disminuye en un 76,88%, y luego parece aumentar a los 3 meses para estabilizarse.

Respecto al cemento enriquecido con gentamicina, no existen diferencias significativas en la variación de la resistencia a flexión a lo largo del tiempo, aunque sí parece que disminuye ligeramente en el primer mes para luego aumentar en los meses siguientes.

Respecto al cemento enriquecido con microcápsulas de rifampicina, no existen diferencias significativas en la variación de la resistencia a flexión a lo largo del tiempo, aunque sí parece que disminuye ligeramente hasta el tercer mes para luego aumentar en los meses siguientes.

Respecto al cemento que contiene una mezcla de los 3 antibióticos, no existen diferencias significativas en la variación de la resistencia a flexión a lo largo del tiempo, aunque sí parece que disminuye ligeramente a lo largo del tiempo.

Por último, cabe destacar que los valores de resistencia a flexión, en el caso de estas probetas, sólo alcanzan el valor mínimo permitido por la norma ISO 5833, 50 MPa, en el caso del cemento blanco a los 7 meses y el enriquecido con microcápsulas de rifampicina a los 0 meses.

MÓDULO DE YOUNG

En las siguientes tablas se muestran los resultados obtenidos del módulo de Young de las probetas, expresado en MPa.

	CB	CB+V	CB+G	CB+M	CB+T
0 meses	2450 ± 248	2665 ± 182	2716 ± 119	2735 ± 96	2573 ± 250
1 mes	2175 ± 294	690 ± 238,9	1810 ± 415	2119,9 ± 127	1429 ± 137
3 meses	2391 ± 848	2217 ± 120	2434 ± 669	2042 ± 244	1899 ± 212
7 meses	2862 ± 494	2314 ± 75	2691 ± 478	2530 ± 248	2019 ± 266

Tabla 2: módulo de Young de las probetas, en MPa.

En la Tabla 2 se pueden observar los datos de módulo de Young obtenidos.

Efecto del antibiótico sobre el módulo de Young

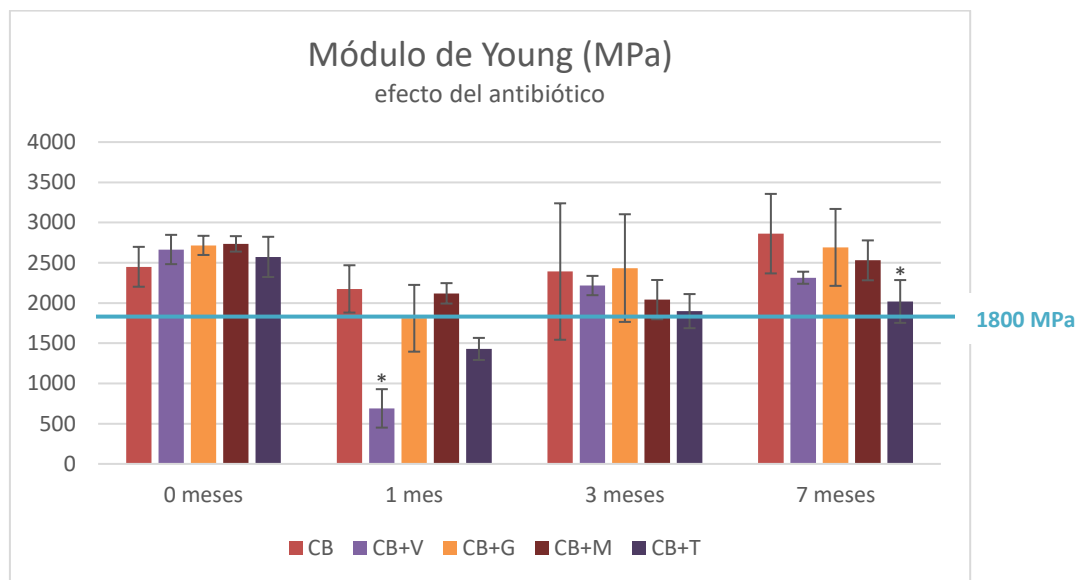


Figura 3: módulo de Young de las probetas (MPa) que representa el efecto del antibiótico.

*: variaciones significativas respecto al cemento blanco (CB), por cada tiempo de envejecimiento.

Respecto a las probetas sin envejecer, se comprueba en la Figura 3 que no hay diferencias estadísticamente significativas entre el cemento blanco y aquellas enriquecidas con antibióticos, aunque sí parece aumentar ligeramente el módulo de Young.

Respecto a las probetas envejecidas durante 1 mes, se ven diferencias estadísticamente significativas en el cemento enriquecido con vancomicina, pues añadirla al cemento supone una disminución del 68,28% de su módulo de Young respecto al cemento blanco. No obstante, el módulo parece disminuir en las probetas enriquecidas gentamicina y en aquellas que contienen la mezcla de los 3 antibióticos.

Respecto a las probetas envejecidas durante 3 meses, no se ven diferencias estadísticamente significativas entre el cemento blanco y aquellas enriquecidas con

antibióticos. Sin embargo, observando la Figura 3, el módulo de Young parece disminuir al añadir la mezcla de los 3 antibióticos.

Por último, en cuanto al envejecimiento de 7 meses, se observan diferencias significativas respecto al cemento blanco en aquel con la mezcla de los 3 antibióticos, pues el módulo de Young disminuye un 29,45%. También parece que disminuya ligeramente al añadir vancomicina.

Efecto del tiempo de envejecimiento sobre el módulo de Young

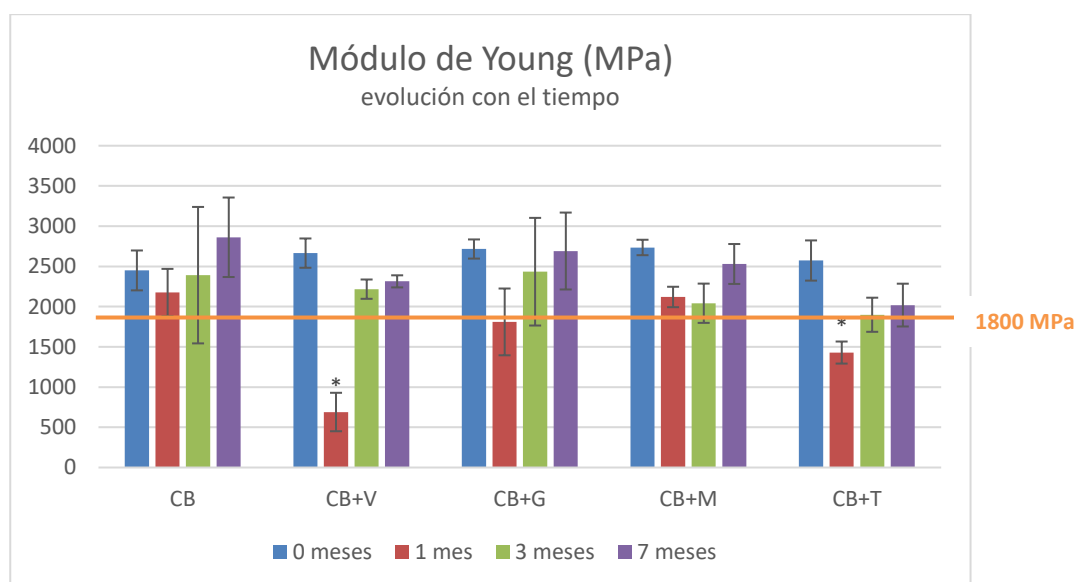


Figura 4: módulo de Young de las probetas (MPa) que representa la evolución con el tiempo.

*: variaciones significativas respecto a los 0 meses de envejecimiento, por cada antibiótico.

Respecto al cemento blanco, se comprueba que no hay diferencias estadísticamente significativas en la variación de su módulo de Young a lo largo del tiempo, aunque, observando la Figura 4, parece que la tendencia es a disminuir ligeramente en los meses 1 y 3 para luego aumentar de nuevo.

Respecto al cemento enriquecido con vancomicina, existen diferencias significativas entre el módulo de Young del cemento al pasar un mes, respecto a aquel sin envejecer, pues dicha tensión disminuye en un 74,11%, y luego parece aumentar a los 3 meses para estabilizarse.

Respecto al cemento enriquecido con gentamicina, no existen diferencias significativas en la variación del módulo de Young a lo largo del tiempo, aunque sí parece que disminuye en el primer mes para luego volver a aumentar en los meses siguientes.

Respecto al cemento enriquecido con microcápsulas de rifampicina, no existen diferencias significativas en la variación del módulo de Young a lo largo del tiempo, aunque sí parece que disminuye hasta el tercer mes para luego aumentar en los meses siguientes.

Respecto al cemento que contiene una mezcla de los 3 antibióticos, existen diferencias significativas en la variación del módulo de Young al pasar un mes, donde se

produce una disminución del módulo del 44,46%. Sí parece que disminuye ligeramente hasta los 3 meses, a partir de los cuales vuelve a aumentar.

Por último, cabe destacar que el valor mínimo de módulo de Young establecido por la norma ISO 5833, 1800 MPa, se supera en la mayoría de los casos, salvo en el cemento enriquecido con vancomicina y con la mezcla de los tres antibióticos, ambos al mes de estar envejeciendo.

DEFORMACIÓN MÁXIMA A FLEXIÓN

En las siguientes tablas se muestran los resultados obtenidos de la deformación a flexión de las probetas.

	CB	CB+V	CB+G	CB+M	CB+T
0 meses	3,56 ± 0,48	3,16 ± 0,65	3,35 ± 0,34	3,27 ± 0,24	2,54 ± 0,21
1 mes	3,09 ± 0,43	3,61 ± 0,69	3,55 ± 0,35	3,36 ± 0,11	3,94 ± 0,26
3 meses	3,01 ± 0,22	3,07 ± 0,12	3,47 ± 0,28	3,48 ± 0,21	3,52 ± 0,3
7 meses	3,21 ± 0,21	3,03 ± 0,21	3,42 ± 0,28	3,27 ± 0,35	3,17 ± 0,3

Tabla 3: deformación máxima a flexión de las probetas, en mm.

En la Tabla 3 se pueden observar los datos de deformación máxima a flexión obtenidos.

Efecto del antibiótico sobre la deformación máxima a flexión

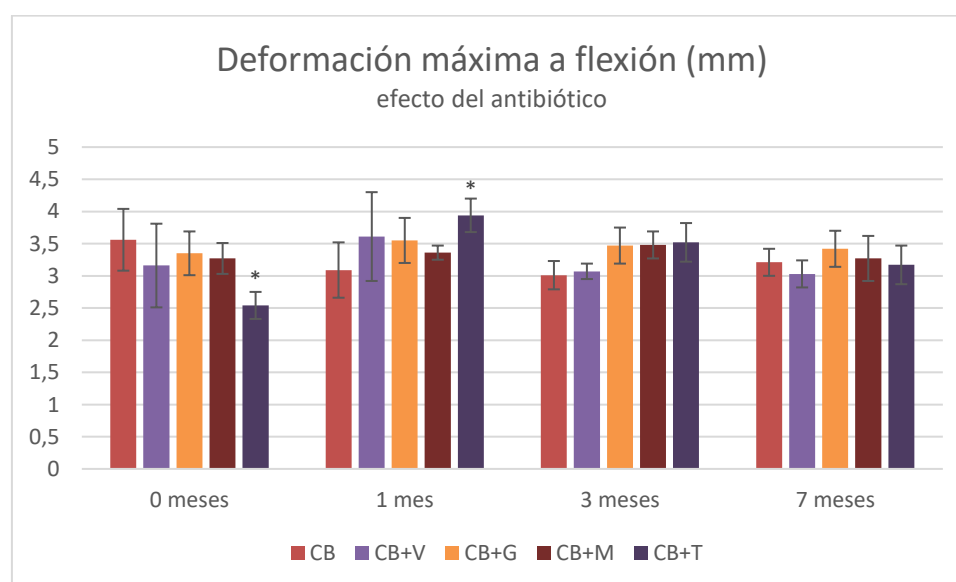


Figura 5: deformación máxima a flexión (mm) que representa el efecto del antibiótico.

*: variaciones significativas respecto al cemento blanco (CB), por cada tiempo de envejecimiento.

Respecto a las probetas sin envejecer, se comprueba en la Figura 5 que no hay diferencias estadísticamente significativas entre el cemento blanco y aquellas enriquecidas con antibióticos, salvo en el caso del cemento blanco en comparación con aquel que contiene la mezcla de los 3 antibióticos, donde hay una disminución de la deformación de un 28,65%. También parece disminuir la deformación ligeramente en el cemento blanco con vancomicina.

Respecto a las probetas envejecidas durante 1 mes, se ven diferencias estadísticamente significativas en el cemento que contiene la mezcla de los 3 antibióticos, pues añadirlos al cemento supone un aumento del 27,51% en su deformación, respecto al cemento blanco. No obstante, la deformación parece aumentar en todas las demás probetas, especialmente en las enriquecidas con vancomicina.

Respecto a las probetas envejecidas durante 3 meses, no se observan diferencias estadísticamente significativas entre el cemento blanco y aquellas enriquecidas con antibióticos. Sin embargo, observando la Figura 5, la deformación a flexión parece aumentar ligeramente al añadir la gentamicina, las microcápsulas de rifampicina y la mezcla de los 3 antibióticos.

Por último, en cuanto al envejecimiento de 7 meses, no se observan diferencias estadísticamente significativas entre el cemento blanco y aquellas enriquecidas con antibióticos.

Efecto del tiempo de envejecimiento sobre la deformación máxima a flexión

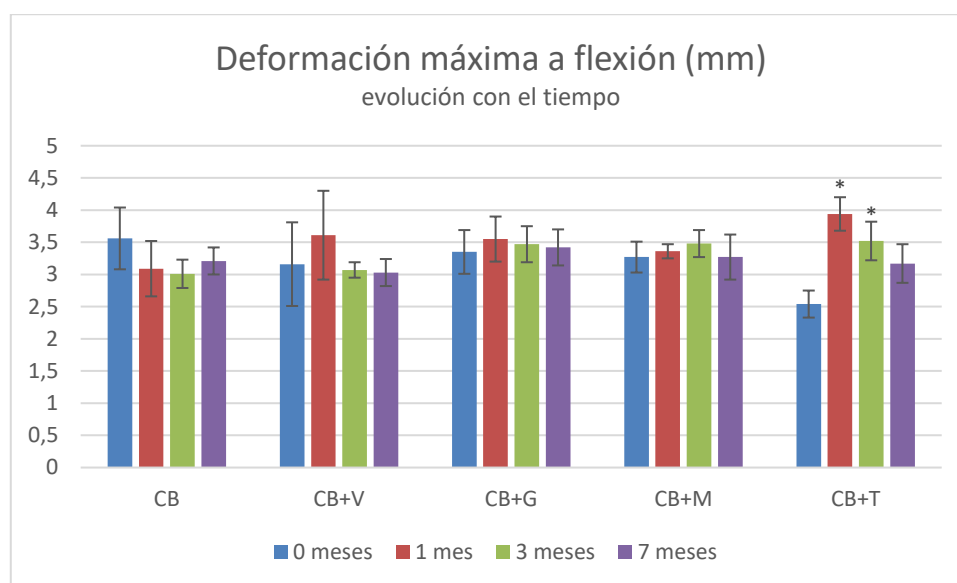


Figura 6: deformación máxima a flexión (mm) que representa la evolución con el tiempo.

*: variaciones significativas respecto a los 0 meses de envejecimiento, por cada antibiótico.

Respecto al cemento blanco, se comprueba que no hay diferencias estadísticamente significativas en la variación de su deformación a flexión a lo largo del tiempo, aunque, observando la Figura 6, parece que la tendencia es a disminuir ligeramente en los meses 1 y 3 para luego aumentar de nuevo.

Respecto al cemento enriquecido con vancomicina, no existen diferencias significativas entre la deformación a flexión del cemento al pasar un mes, respecto a aquel sin envejecer. No obstante, sí parece aumentar su deformación en el primer mes, para luego volver a disminuir.

Respecto al cemento enriquecido con gentamicina, no existen diferencias significativas en la variación de la deformación a flexión a lo largo del tiempo.

Respecto al cemento enriquecido con microcápsulas de rifampicina, no existen diferencias significativas en la variación de la deformación a flexión a lo largo del tiempo.

Respecto al cemento que contiene una mezcla de los 3 antibióticos, existen diferencias significativas en la variación de la deformación a flexión al pasar un mes, donde se produce un aumento de la deformación a flexión del 55,12%, y al pasar 3 meses, donde

se produce un aumento del 38,58%. Sí parece que, a los 7 meses, la deformación ha vuelto a disminuir.

FRACTURA

En los apartados siguientes se expondrán los resultados obtenidos a partir de la realización de ensayos de fractura, una vez habiendo analizado los datos a través de un software estadístico.

Estos datos muestran la tenacidad a fractura obtenida de los ensayos, expresada como $MPa \cdot \sqrt{m}$.

	CB	CB+V	CB+G	CB+M	CB+T
0 meses	1,095 ± 0,352	1,032 ± 0,243	0,9464 ± 0,115	1,028 ± 0,094	1,111 ± 0,12
1 mes	1,286 ± 0,113	1,266 ± 0,124	1,533 ± 0,168	1,487 ± 0,13	1,252 ± 0,173
3 meses	1,2618 ± 0,141	1,304 ± 0,277	1,543 ± 0,237	1,483 ± 0,124	1,317 ± 0,164
7 meses	1,209 ± 0,249	1,27 ± 0,128	1,521 ± 0,094	1,879 ± 0,159	1,233 ± 0,152

Tabla 4: tenacidad a fractura de las probetas, en $MPa\sqrt{m}$.

En la Tabla 4 se pueden observar los datos de tenacidad a fractura obtenidos.

Efecto del antibiótico sobre la tenacidad a fractura

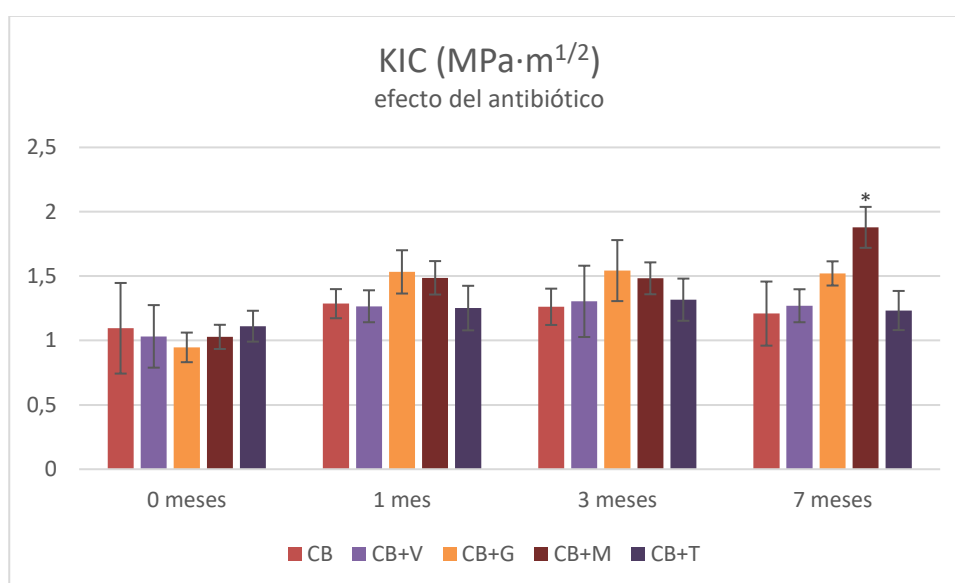


Figura 7: tenacidad a fractura ($MPa\sqrt{m}$) que representa el efecto del antibiótico.

*: variaciones significativas respecto al cemento blanco (CB), por cada tiempo de envejecimiento.

Respecto a las probetas sin envejecer, se comprueba en la Figura 7 que no hay diferencias estadísticamente significativas entre el cemento blanco y aquellas enriquecidas con antibióticos. No obstante, la tenacidad a fractura parece disminuir ligeramente tanto en el cemento blanco con vancomicina, como en el de gentamicina y el de microcápsulas de rifampicina.

Respecto a las probetas envejecidas durante 1 mes, no se ven diferencias estadísticamente significativas en el cemento enriquecido con antibióticos, respecto del

cemento blanco. No obstante, la tenacidad a fractura parece aumentar al añadir gentamicina o microcápsulas de rifampicina.

Respecto a las probetas envejecidas durante 3 meses, no se observan diferencias estadísticamente significativas entre el cemento blanco y aquellas enriquecidas con antibióticos. Sin embargo, observando la Figura 7, la tenacidad a fractura parece aumentar ligeramente al añadir la gentamicina o las microcápsulas de rifampicina.

Por último, en cuanto al envejecimiento de 7 meses, se observan diferencias estadísticamente significativas entre las probetas de cemento blanco y aquellas enriquecidas con microcápsulas de rifampicina, donde la tenacidad a fractura aumenta en un 55,41%. No obstante, sí parece aumentar también al añadir gentamicina.

Efecto del tiempo de envejecimiento sobre la tenacidad a fractura

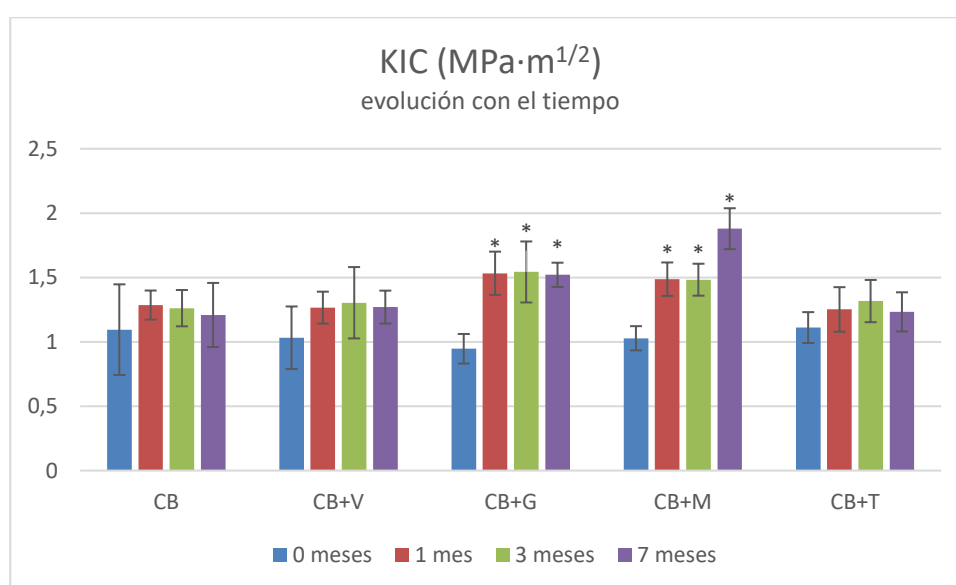


Figura 8: tenacidad a fractura ($MPa\sqrt{m}$) que representa la evolución con el tiempo.

*: variaciones significativas respecto a los 0 meses de envejecimiento, por cada antibiótico.

Respecto al cemento blanco, se comprueba que no hay diferencias estadísticamente significativas en la variación de su tenacidad a fractura a lo largo del tiempo, aunque, observando la Figura 8, parece que la tendencia es a aumentar ligeramente en el primer mes, para luego estabilizarse.

Respecto al cemento enriquecido con vancomicina, no existen diferencias significativas entre la tenacidad a fractura del cemento al pasar un mes, respecto a aquel sin envejecer. No obstante, sí parece aumentar su tenacidad a fractura en el primer mes, para luego volver a estabilizarse.

Respecto al cemento enriquecido con gentamicina, se comprueba que existen diferencias significativas en la variación de la tenacidad a fractura con respecto al cemento sin envejecer tanto al primer mes, donde aumenta un 61,98%, en el tercer mes, donde aumenta un 63,03% y en el séptimo mes, donde aumenta un 60,71%. Entre estos 3 periodos de tiempo, no obstante, no parece variar significativamente la tenacidad a fractura, por lo que se puede decir que aumenta en el primer mes para estabilizarse.

Respecto al cemento enriquecido con microcápsulas de rifampicina, se comprueba que existen diferencias significativas en la variación de la tenacidad a fractura con respecto al cemento sin envejecer tanto al primer mes, donde aumenta un 44,65%, en el tercer mes, donde aumenta un 44,26% y en el séptimo mes, donde aumenta un 82,78%.

Respecto al cemento que contiene una mezcla de los 3 antibióticos, no existen diferencias significativas en la variación de la tenacidad a fractura con el paso del tiempo.

COMPRESIÓN

En los apartados siguientes se expondrán los resultados obtenidos a partir de la realización de ensayos de compresión, una vez habiendo analizado los datos a través de un software estadístico.

Estos datos muestran la resistencia a compresión obtenida de los ensayos, expresada en MPa

	CB	CB+V	CB+G	CB+M	CB+T
0 meses	91,28 ± 12,62	84,08 ± 20,21	93,79 ± 12,21	89,5 ± 20,66	102,44 ± 14,42
1 mes	101,1 ± 5,05	77,42 ± 16,01	101,47 ± 5,63	102,39 ± 9,61	83,52 ± 13,38
3 meses	95,54 ± 5,27	89,9 ± 6,98	98,35 ± 2,87	88,39 ± 12,98	82,28 ± 7,75
7 meses	113,93 ± 4,19	81,02 ± 6,31	79,72 ± 2,43	102,37 ± 7,14	84,35 ± 14,72

Tabla 5: Resistencia a compresión de las probetas, en MPa.

En la Tabla 1 se pueden observar los datos de resistencia a compresión obtenidos.

Efecto del antibiótico sobre la resistencia a compresión

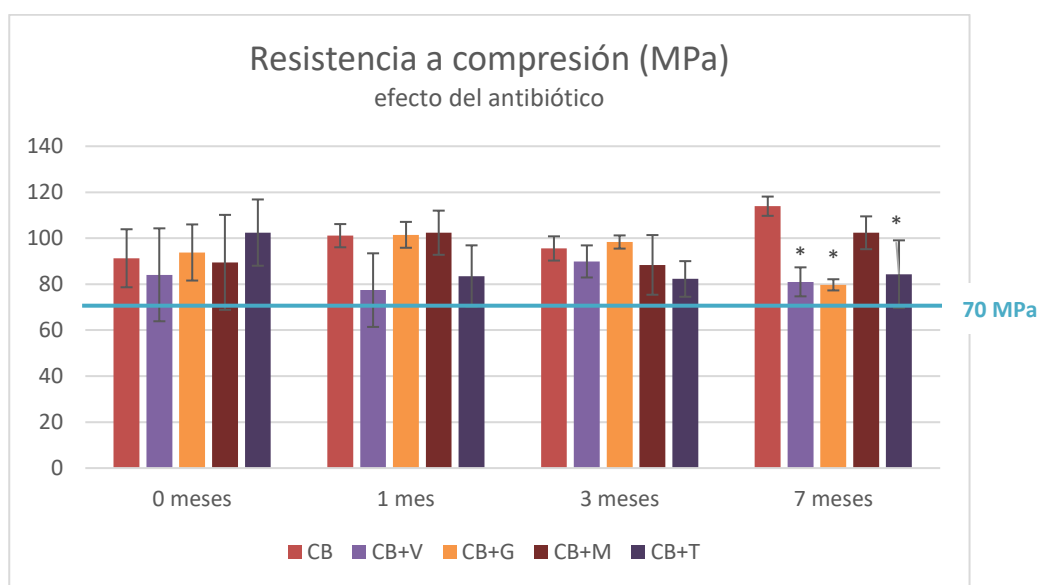


Figura 9: Resistencia a compresión (MPa) que representa el efecto del antibiótico.

*: variaciones significativas respecto al cemento blanco (CB), por cada tiempo de envejecimiento.

Respecto a las probetas sin envejecer, se comprueba en la Figura 9 que no hay diferencias estadísticamente significativas entre el cemento blanco y aquellas enriquecidas con antibióticos. No obstante, resistencia a compresión parece disminuir ligeramente en el cemento blanco con vancomicina, mientras que parece aumentar en aquel que contiene la mezcla de los 3 antibióticos.

Respecto a las probetas envejecidas durante 1 mes, no se ven diferencias estadísticamente significativas en el cemento enriquecido con antibióticos, respecto del

cemento blanco. No obstante, la resistencia a compresión sí parece disminuir al añadir vancomicina, y en menor medida con la mezcla de los 3 antibióticos.

Respecto a las probetas envejecidas durante 3 meses, no se observan diferencias estadísticamente significativas entre el cemento blanco y aquellas enriquecidas con antibióticos. Sin embargo, observando la Figura 9, la resistencia a compresión parece disminuir en el cemento que contiene a la mezcla de los tres antibióticos.

Por último, en cuanto al envejecimiento de 7 meses, se observan diferencias estadísticamente significativas entre las probetas de cemento blanco y aquellas enriquecidas con vancomicina, donde la resistencia a compresión disminuye en un 28,89%, con gentamicina, donde disminuye un 30,03%, y con la mezcla de los tres antibióticos, donde disminuye un 25,96%. No obstante, también parece disminuir la resistencia a compresión en las probetas con microcápsulas de rifampicina, aunque en menor medida.

Efecto del tiempo de envejecimiento sobre la resistencia a compresión

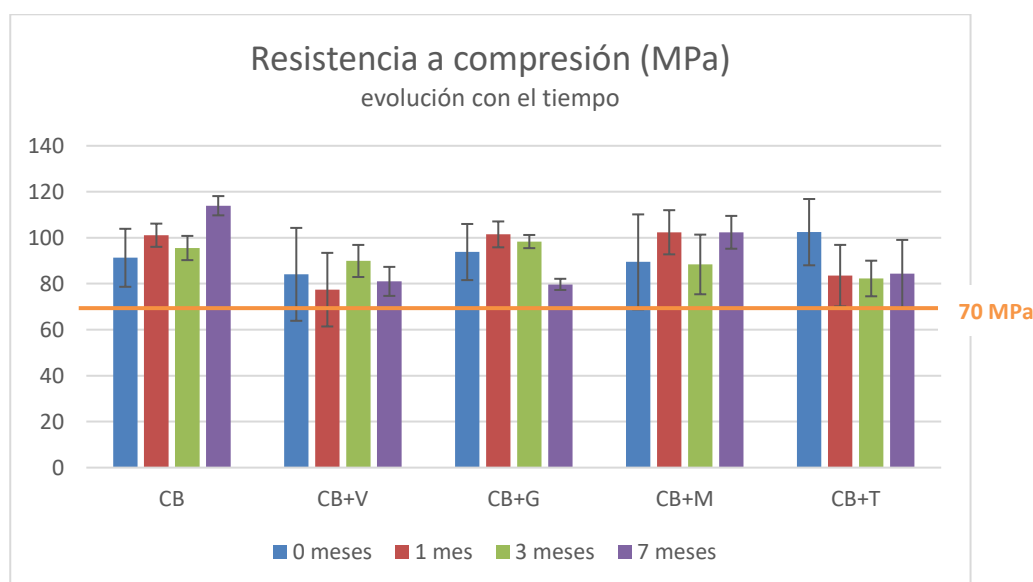


Figura 10: Resistencia a compresión (MPa) que representa la evolución con el tiempo.

*: variaciones significativas respecto a los 0 meses de envejecimiento, por cada antibiótico.

Respecto al cemento blanco, se comprueba que no hay diferencias estadísticamente significativas en la variación de su tenacidad a fractura a lo largo del tiempo, aunque, observando la Figura 10, parece que la tendencia es a aumentar.

Respecto al cemento enriquecido con vancomicina, no existen diferencias significativas entre la resistencia a compresión del cemento, respecto a aquel sin envejecer.

Respecto al cemento enriquecido con gentamicina, no existen diferencias significativas entre la resistencia a compresión del cemento, respecto a aquel sin envejecer.

Respecto al cemento enriquecido con microcápsulas de rifampicina, no existen diferencias significativas entre la resistencia a compresión del cemento, respecto a aquel sin envejecer.

Respecto al cemento que contiene una mezcla de los 3 antibióticos, no existen diferencias significativas en la variación de la tenacidad a fractura con el paso del tiempo, aunque en vistas de la Figura 10, sí parece que la resistencia a compresión disminuye con el paso del tiempo.

Por último, cabe destacar que los valores de resistencia a compresión de las probetas superan siempre el valor mínimo establecido por la norma ISO 5833, que son 70 MPa.

ELUCIÓN Y POROSIDAD

Como se ha explicado en capítulos anteriores, los ensayos de elución no han salido como se esperaba. Es por este motivo que los resultados obtenidos a partir de este ensayo sólo de usarán de manera orientativa y si corresponde, pues no son fiables.

La Tabla 1 muestra la pérdida de masa de las probetas de elución con el paso del tiempo. Todos los valores están referidos a la probeta sin envejecer.

	CB	CB+V	CB+G	CB+M	CB+T
1 mes	-0,7%	-1,1%	-0,5%	-0,7%	-2,3%
3 meses	-2,6%	-2,4%	-0,7%	-2,8%	-0,4%
7 meses	n/a	-4,1%	-1,7%	-3,5%	-5,8%

Tabla 6: pérdida de masa de las probetas de elución, en % respecto a la probeta sin envejecer.

Aunque claramente se observa que los datos de elución con la mezcla de los tres antibióticos no son correctos, pues la probeta no puede haber perdido más masa en un mes que en tres meses (respecto a la probeta sin envejecer), sí se pueden sacar algunas conclusiones de los datos.

Para empezar, parece que el cemento blanco, de por sí, pierde masa a medida que pasa el tiempo de envejecimiento. Esto podría ser debido a la pérdida de monómero residual, u otros agentes, aunque como se ha dicho anteriormente estos datos se han de mirar con ojo crítico.

Por otro lado, podría decirse que, comparando los tres antibióticos, parece que la vancomicina eluye más rápidamente que el resto, mientras que la elución de la gentamicina parece ser la más lenta.

ESTUDIO DE LA POROSIDAD AL MICROSCOPIO

Ya que estos datos no son fiables, y necesitando para la explicación de los demás resultados obtenidos alguna medida de porosidad, se ha procedido a observar las probetas bajo un microscopio.

Cabe destacar que el color amarillento / azulado que adquieren las probetas durante el envejecimiento, aunque en parte sea por ese envejecimiento en sí del cemento, también es debido a los rotuladores permanentes utilizados para marcar las probetas, que coloreaban el agua al estar dichas probetas inmersas en la solución salina.

Cemento blanco

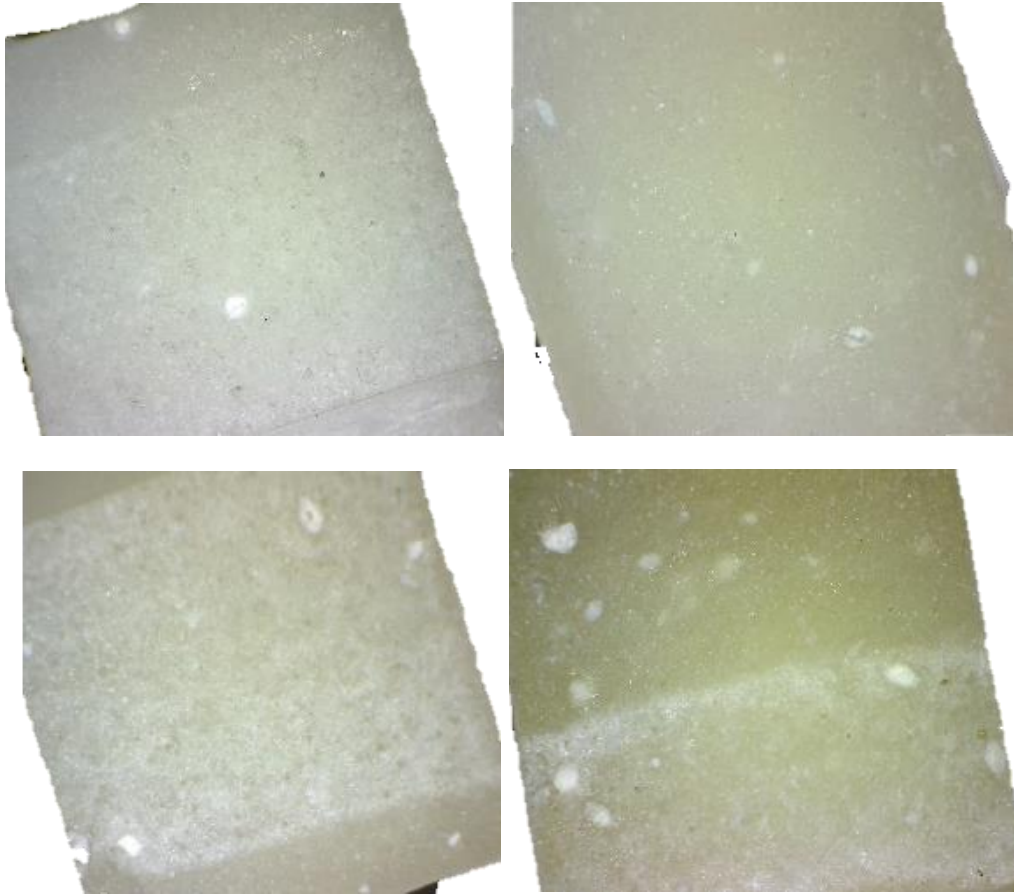


Imagen 1: porosidad del cemento blanco a los 0 (arriba izquierda), 1 (arriba derecha), 3 (abajo izquierda) y 7 meses (abajo derecha).

Como se puede comprobar en la Imagen 1, el cemento blanco no parece ser muy poroso. No obstante, se aprecian puntos blancos que probablemente sean cúmulos de agente radio opaco. A lo largo del tiempo, la porosidad tampoco parece aumentar.

Vancomicina



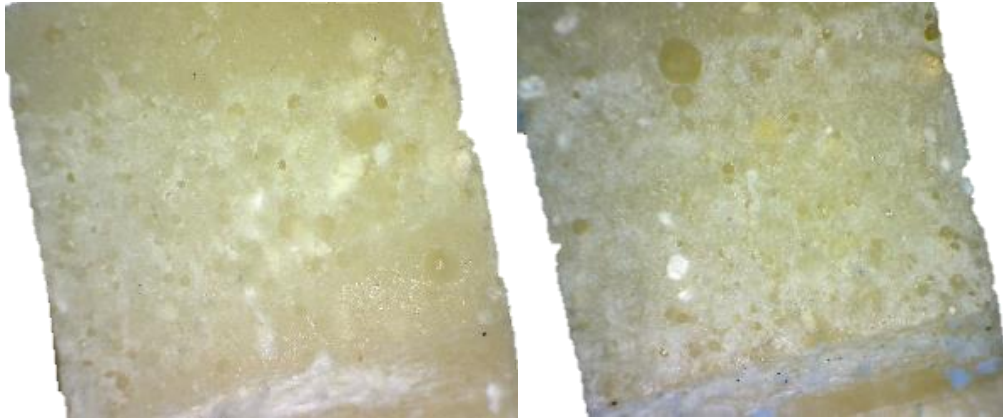


Imagen 2: porosidad del cemento con vancomicina a los 0 (arriba izquierda), 1 (arriba derecha), 3 (abajo izquierda) y 7 meses (abajo derecha).

La vancomicina, como se puede apreciar en la Imagen 2, es porosa desde el principio (antes de poner a envejecer). A su vez, se comprueba por las imágenes que a lo largo del tiempo dicha porosidad parece aumentar.

Gentamicina

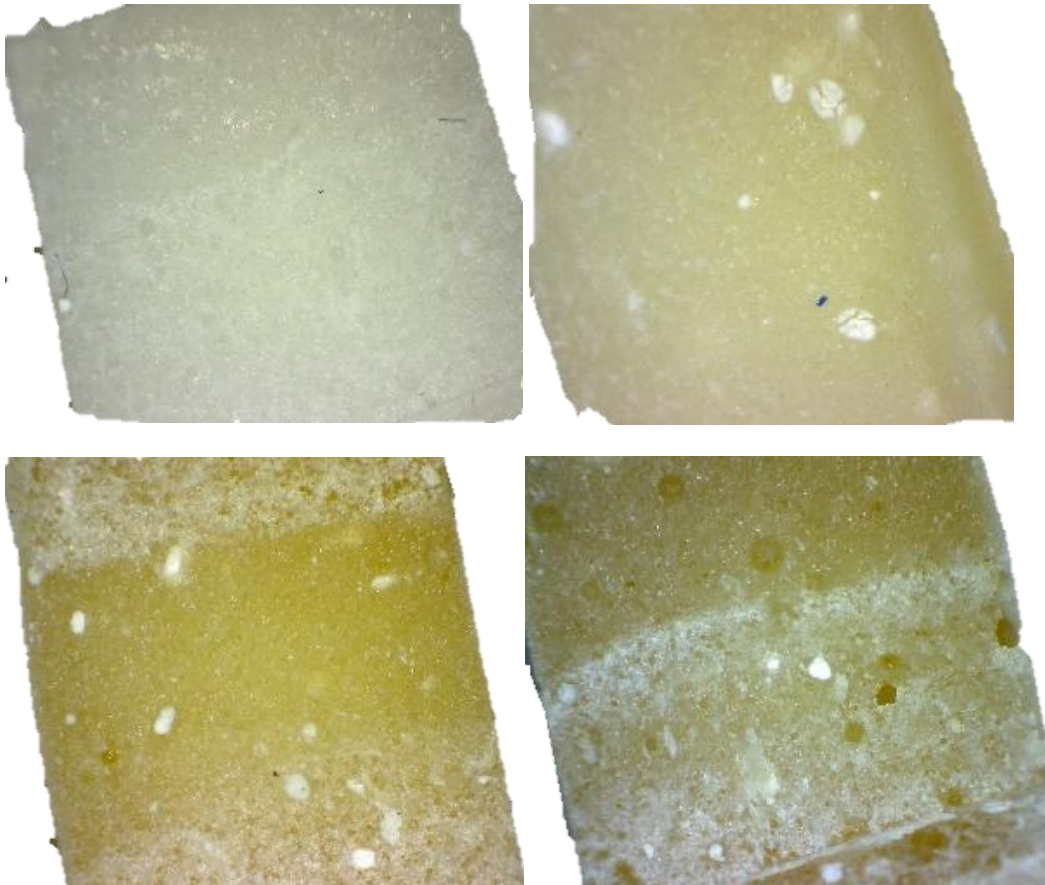


Imagen 3: porosidad del cemento con gentamicina a los 0 (arriba izquierda), 1 (arriba derecha), 3 (abajo izquierda) y 7 meses (abajo derecha).

En la Imagen 3, el cemento con gentamicina parece no ser muy poroso a los 0 meses, pero sí va adquiriendo porosidad con el paso del tiempo.

Microcápsulas de rifampicina

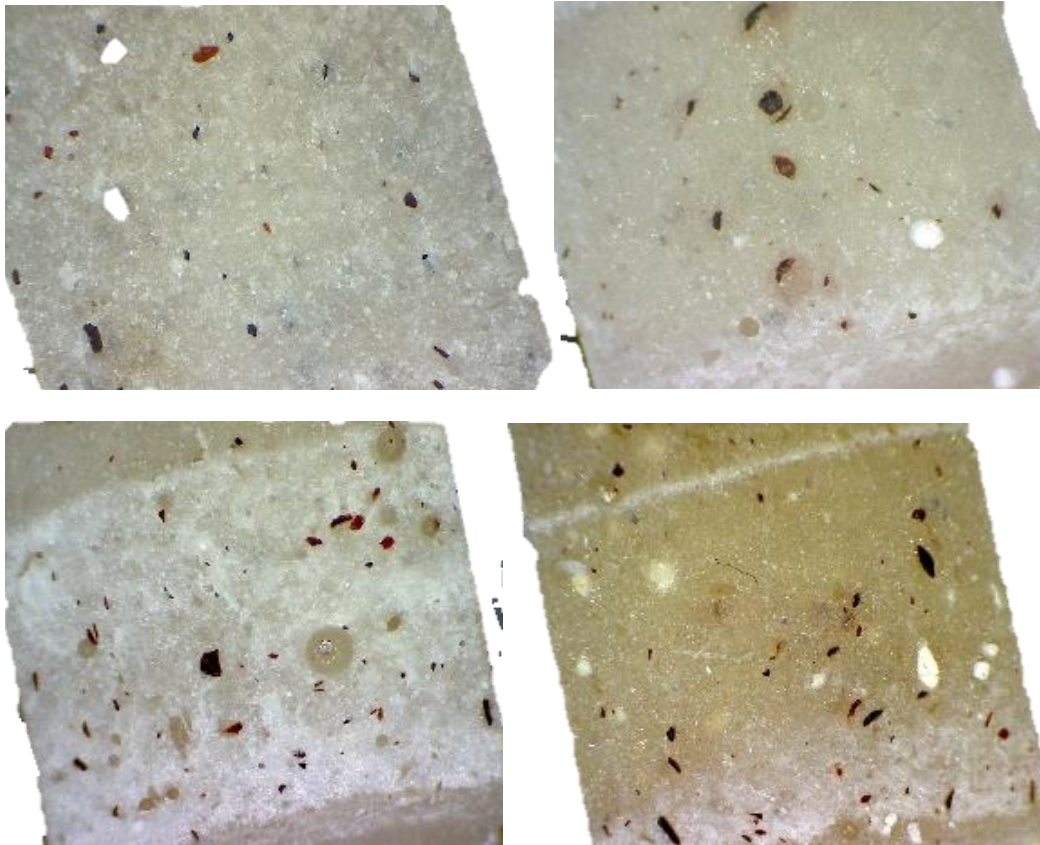
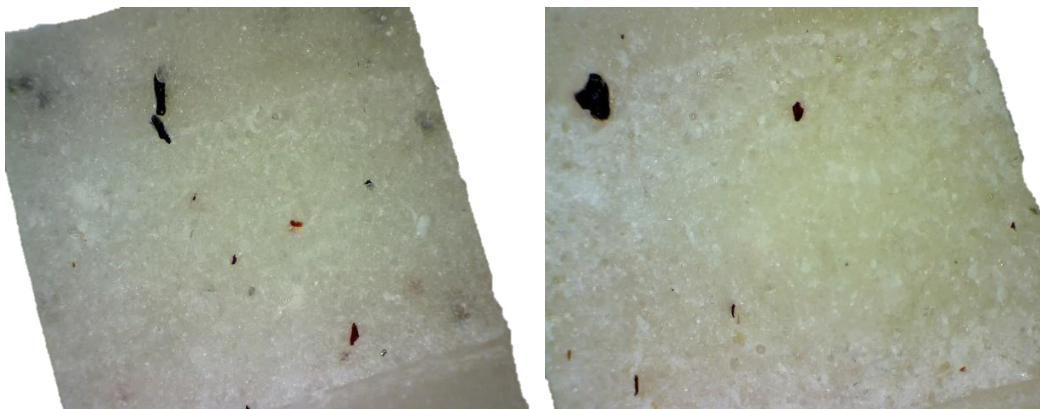


Imagen 4: porosidad del cemento microcápsulas de rifampicina a los 0 (arriba izquierda), 1 (arriba derecha), 3 (abajo izquierda) y 7 meses (abajo derecha).

Al añadir microcápsulas de rifampicina al cemento blanco no parece haber mucha porosidad, ni al principio ni tras envejecer la probeta.

Mezcla de los 3 antibióticos



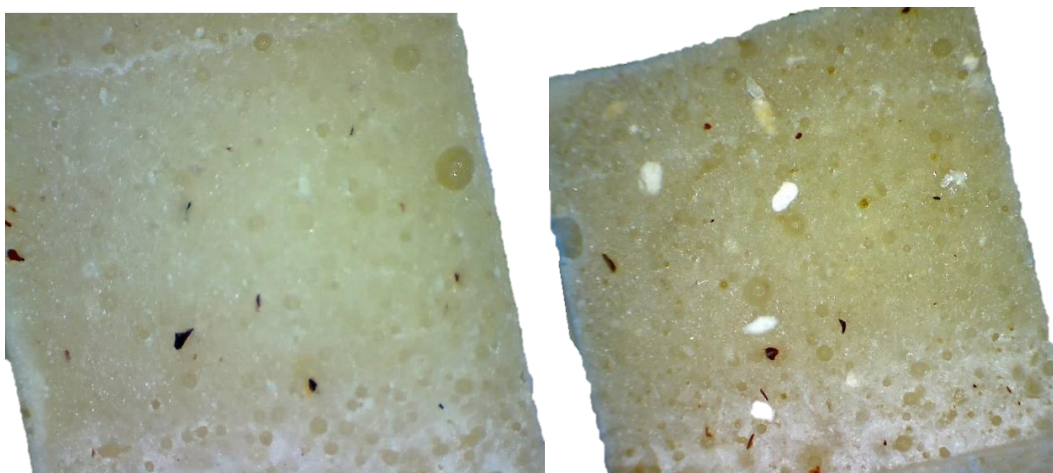


Imagen 5: porosidad del cemento con los tres antibióticos a los 0 (arriba izquierda), 1 (arriba derecha), 3 (abajo izquierda) y 7 meses (abajo derecha).

Añadiendo al cemento blanco una mezcla de los 3 antibióticos, se observa en la Imagen 5 que el cemento no empieza muy poroso (a los 0 meses), pero sí acaba siéndolo a medida que pasa el tiempo.

Como observaciones generales respecto a la porosidad de las probetas, se tienen las siguientes:

Para empezar, la vancomicina parece ser con diferencia el antibiótico que más porosidad ocasiona en las probetas de cemento, mientras que las microcápsulas de rifampicina son las que menor porosidad causan.

Por otro lado, el cemento blanco es el menos poroso de todos, tanto al principio como con el paso del tiempo.

Por último, cabe destacar que el paso del tiempo sí parece afectar a la porosidad de las probetas que contienen antibióticos, lo que probablemente se deba a que éstos eluyen a medida que la probeta se va envejeciendo.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

CONCEPTOS IMPORTANTES

Antes de nada, es necesario comentar dos cambios importantes que sufrirá el cemento, y a través de los cuales se explicarán la mayoría de las variaciones de propiedades mecánicas en las probetas.

PLASTIFICACIÓN

Por un lado, a medida que el cemento vaya envejeciéndose en el líquido, sufrirá un fenómeno de plastificación debido a la absorción de agua que se da lugar y a la temperatura a la que estará expuesto el cemento, y por el cual el cemento se “ablandará”.

Por la aparición de este fenómeno, tanto el módulo de Young como la resistencia a flexión deberían aumentar, y la deformación máxima a flexión debería disminuir. A su vez, la plastificación debería producir un aumento en la tenacidad a fractura.

POROSIDAD

Por otro lado, factores como la elución del antibiótico o la presencia de monómero residual harán que, a medida que pasa el tiempo, las probetas vayan adquiriendo mayor porosidad. Esto afectará negativamente a las propiedades mecánicas del cemento, en ocasiones contrarrestando la plastificación.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Efecto de los antibióticos sobre las propiedades mecánicas

Las propiedades de resistencia a flexión y módulo de Young, en vista a los resultados de la Figura 1 y la Figura 3, respectivamente, no parecen variar, sin estar las probetas envejecidas, en función de si se añaden o no cualquiera de los antibióticos. La tenacidad a fractura tampoco sufre variaciones debidas a la adición de antibióticos, y lo mismo pasa con la resistencia a compresión, por lo que se puede deducir que, salvo en el caso de la deformación máxima con la mezcla de los 3 antibióticos, enriquecer el cemento con antibióticos no altera las propiedades mecánicas del cemento estudiadas si la probeta no está envejecida.

Al pasar un mes de envejecimiento, no obstante, la situación cambia. Tanto las probetas con vancomicina como aquellas con la mezcla de los tres antibióticos muestran una reducción significativa de su resistencia a flexión y su módulo de Young, así como un aumento en su deformación máxima, respecto a las probetas de cemento blanco o las que contienen otros antibióticos. La tenacidad a fractura, sin embargo, se mantiene constante, lo que ocurre también con la resistencia a compresión. De estos datos se deduce que probablemente la vancomicina eluya más que el resto de los antibióticos, y como resultado sea más porosa que el resto al mes de estar envejecida, lo que explica la variación en las propiedades a flexión. No obstante, de alguna manera estos poros se contrarrestan con la plastificación para no alterar la tenacidad a fractura. Observando las imágenes al microscopio (Imagen 2), y con ayuda de los datos de elución, se concluye que la vancomicina, efectivamente, no sólo proporciona la mayor porosidad al mes, sino que también es la que más eluye (datos que son complementarios, pues probablemente la aparición de más poros se deba a la elución de la vancomicina). Lo que ocurre con las probetas con mezcla de los tres antibióticos es lo mismo que con la vancomicina, en menor medida, lo que tiene sentido ya que contienen una menor cantidad de vancomicina.

Este patrón se repite tanto a los 3 meses como a los 7 meses: las propiedades de flexión disminuyen significativamente en aquellos cementos que contienen vancomicina, mientras que no varían significativamente para los demás cementos, por lo que se concluye que la vancomicina claramente empeora la resistencia a flexión y el módulo de Young del cemento, con el paso del tiempo, probablemente debido a la mayor porosidad del cemento con vancomicina frente a aquel con otros antibióticos.

A los 7 meses también ocurren otros sucesos notables. Por un lado, tanto la tenacidad a fractura como la resistencia a compresión de los cementos óseos con microcápsulas de rifampicina aumentan significativamente respecto a las probetas de cemento blanco o las que contienen otros antibióticos. Por otro lado, la resistencia a compresión del cemento con gentamicina disminuye significativamente respecto al cemento sin enriquecer.

Efecto de los tiempos de envejecimiento sobre las propiedades mecánicas

Comenzando por los resultados de los ensayos de flexión, el primer dato destacable es que el cemento blanco, sin añadir ningún antibiótico, parece presentar una ligera subida en su resistencia a flexión con el paso del tiempo (observar Figura 2), especialmente a los 7 meses, lo que se ve acompañado de otro ligero, pero no significativo, aumento de su módulo de Young (observar Figura 4). A su vez, por los datos de elución (Tabla 6) parece que el cemento, aún sin estar enriquecido con algún antibiótico, pierde masa de por sí, lo

que hace que se vaya haciendo más poroso con el tiempo. A raíz de estos resultados, se ha planteado la hipótesis de que, de alguna manera, el cemento empieza haciéndose más poroso pero, a medida que absorbe líquido, y teniendo en cuenta que se encuentra a una temperatura de 37°C (superior a la ambiente), esos poros se vayan cerrando o sellando con el tiempo (posiblemente por hincharse debido al líquido absorbido) y esto haga que el cemento vuelva a ganar la resistencia perdida por esa porosidad inicial. Para que ocurriera esto, deberíamos estar en presencia de unos poros pequeños y una porosidad más marcada en el primer mes, y menos marcada tanto a los 0 meses como a los 3 y 7 meses. Analizando las imágenes al microscopio, se podría confirmar la hipótesis al observar que la porosidad de las probetas al mes es mayor que la porosidad de los otros meses. Esta propiedad se tendrá en cuenta al analizar el resto de datos. No obstante, otra opción podría ser que realmente no exista ningún aumento de la resistencia a flexión o el módulo de Young, pues como se ha comentado antes los aumentos observados no son estadísticamente significativos. Puesto que esta característica de aumento de resistencia a flexión y módulo de Young se repite con todas las probetas (cemento blanco, con vancomicina, con gentamicina, con microcápsulas de rifampicina y con la mezcla de los 3 antibióticos), se supondrá que este suceso de reducción de los poros ocurre también en todas ellas, siendo una característica del cemento óseo en sí. También cabe destacar que la tenacidad a fractura del cemento no varía significativamente con el paso del tiempo.

Respecto a las probetas de vancomicina, se observa en la Figura 2 una clara disminución en la resistencia a flexión al mes de envejecerse, así como en el módulo de Young, acompañados de un incremento en la deformación máxima a flexión. Sin embargo, observando los resultados de tenacidad a fractura (Figura 8), dicha tenacidad se mantiene constante, si se mira desde un punto de vista estadístico, aunque sí que es verdad que parece presentar una ligera subida en el primer mes. Esto podría explicarse diciendo que la vancomicina eluye rápidamente en ese primer mes, lo que provocaría muchos poros. Estos poros deberían ser pequeños, y a la vez la probeta debería estar plastificándose, para que estos dos efectos se contrarrestaran de cara a la tenacidad a fractura, haciendo que ésta no varíe. Por lo tanto, en la flexión sólo se observará una plastificación de la probeta en forma de disminución de la resistencia a flexión y el módulo de Young y un aumento de la deformación máxima, pues los poros serán demasiado pequeños para provocar un cambio significativo en estas propiedades. Esto se corrobora con los resultados de elución, donde se comprueba en la Tabla 6 que la vancomicina parece eluir, en gran medida, en los primeros meses de envejecimiento. A su vez, en vista de la Imagen 2, se comprueba que la porosidad de las probetas de vancomicina es mayor que la de aquellas con otros antibióticos o las de cemento sin enriquecer.

Tanto el cemento enriquecido con gentamicina como el enriquecido con las microcápsulas de rifampicina no parecen verse afectados por los tiempos de envejecimiento, en los ensayos a flexión. No obstante, ambos experimentan un aumento de su tenacidad a fractura con el paso del tiempo, lo que se puede explicar a partir de la plastificación del cemento por estar en contacto con el líquido.

Respecto a las probetas que contienen una mezcla de los tres antibióticos, éstas siguen, de manera menos pronunciada, la tendencia de aquellas con vancomicina, lo que tiene sentido, pues un tercio de su contenido de antibióticos es vancomicina. Esto causa la disminución de la resistencia a flexión y el módulo de Young en el primer mes, así como la no variación de su tenacidad a fractura.

La resistencia a compresión, en vista de los resultados observados en la Figura 10, no parece verse afectada por la acción de envejecer el cemento óseo.

Uso de microcápsulas de rifampicina vs. Gentamicina o vancomicina

Una conclusión clara de este proyecto es que el uso de vancomicina ofrece unas peores propiedades mecánicas no sólo en comparación con los cementos sin enriquecer o enriquecidos con otros antibióticos, sino también con el paso del tiempo. De hecho, es la que en menos casos alcanza los valores mínimos establecidos por la norma ISO 5833. Una característica que se ha observado en vista de la Imagen 2 es que la vancomicina es el antibiótico que más porosidad causa, en comparación con la adición de otros antibióticos o con el cemento blanco. Una posible explicación para este suceso es que se ha observado que este antibiótico es más difícil de trabajar, y su fase de mezclado es más larga que la de los demás antibióticos (tarda más en adquirir la consistencia adecuada para ser moldeado). Esto podría haber causado que, durante ese proceso de mezclado, se hubieran introducido más burbujas en la masa, haciendo las probetas de cemento más porosas desde un primer momento. La vancomicina también tiende a apelmazarse, lo que sugiere que puede ser un antibiótico que absorbe mucha humedad, y esto podría estar influyendo en las propiedades del cemento

En cuanto a la gentamicina, aunque las propiedades mecánicas de los cementos no parezcan verse afectadas en gran medida al ser enriquecidos con ella, sí aumenta su tenacidad a fractura a lo largo del tiempo, aunque parece que su resistencia a compresión disminuye. En cuanto a su porosidad, aunque no es tanta como la de las probetas con vancomicina, sí que se puede observar que, a lo largo del tiempo, aumenta, sobre todo en forma de macroporos.

Las microcápsulas de rifampicina no sólo no empeoran las propiedades del cemento, sino que incluso consiguen mejorar algunas. El factor tiempo de envejecimiento sólo influye en la tenacidad a fractura de las probetas, que de hecho aumenta a medida que pasa el tiempo. En comparación con la adición de otros antibióticos o el cemento blanco, no altera significativamente las propiedades mecánicas salvo con la tenacidad a fractura a los 7 meses, donde es claramente superior. Aunque la resistencia a compresión disminuya respecto al cemento blanco, se trata del antibiótico que menos disminuye esta propiedad de los tres analizados. Estas buenas propiedades se podrían relacionar también con la poca porosidad de las probetas.

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES

ÍNDICE

Introducción	pág. 105
Conclusiones	pág. 106
Trabajo futuro	pág. 107

INTRODUCCIÓN

En este capítulo se expondrán, a partir de todos los capítulos anteriores, las conclusiones sacadas en este proyecto de investigación, a partir de las cuales se sentarán las bases para el trabajo futuro que se pueda hacer en relación al tema tratado.

CONCLUSIONES

Uno de los principales objetivos de este proyecto era demostrar la efectividad de utilizar microcápsulas de rifampicina como antibiótico con el que cargar los cementos óseos. Hasta ahora, enriquecer los cementos óseos con rifampicina no era posible, pues ésta no permitía el correcto curado del cemento. No obstante, se ha investigado en la Universidad Pontificia de Comillas una manera en la que la adición de rifampicina a los cementos sí se podría realizar, y esta es, microencapsulando la rifampicina. En este proyecto de investigación se pretendía estudiar las propiedades mecánicas del cemento al añadir la rifampicina microencapsulada, en comparación con el uso de otros antibióticos y con el cemento blanco, y en función del tiempo de envejecimiento.

La conclusión a la que se ha llegado respecto al uso de microcápsulas de rifampicina es que no sólo es el antibiótico que dota al cemento de mejores propiedades mecánicas entre todos los analizados (rifampicina, vancomicina, gentamicina), sino que en algunos casos incluso consigue mejorar las propiedades mecánicas del cemento blanco, como puede ser la tenacidad a fractura a lo largo del tiempo.

Por otro lado, se ha llegado a la conclusión de que la adición de vancomicina, en la mayoría de los casos, empeora las propiedades mecánicas del cemento óseo. Es probable que esto se deba a que añadir vancomicina resulta en un cemento muy poroso, y esta porosidad aumenta significativamente con el tiempo. A su vez, este antibiótico ha probado ser aquel que con más dificultad se trabaja, pues tiende a apelmazarse, lo que es una desventaja tanto para su uso en el quirófano, pues dificulta el trabajo del cirujano, como para su uso como antibiótico añadido al cemento, pues genera una situación desfavorable para la creación de un cemento adecuado.

En cuanto al envejecimiento, se ha comprobado que, en líneas generales, éste provoca una plastificación del cemento que lo “ablanda” y hace más resistente a la flexión. No obstante, al añadir antibióticos éstos generan mayor porosidad en el cemento con el tiempo, pues van eluyendo, y esto causa que a veces esta propiedad de plastificación se vea contrarrestada o complementada con esta porosidad. En general, la tenacidad a fractura se ve beneficiada por este tiempo de envejecimiento, mientras que en las propiedades a flexión hay un “valle” por el cual éstas empeoran a los pocos meses pero acaban mejorando a largo plazo, probablemente debido a una gran elución (y por tanto, porosidad) inicial que luego se va contrarrestando con una mayor plastificación.

TRABAJO FUTURO

Este proyecto tiene mucho potencial de cara al futuro, pudiendo seguir distintas líneas de trabajo.

Para empezar, sería necesario encontrar la manera de realizar un ensayo de elución que diera resultados coherentes. Los consejos o las observaciones que se pueden aportar, a raíz de lo observado durante la realización de este proyecto y en vista de los errores que se hayan podido cometer, son los siguientes:

1. Al principio se deseó medir la variación de densidad de las probetas, mediante un cálculo que tuviera en cuenta el volumen de agua desplazado al pesar la probeta en seco y sumergida en esa agua. No obstante, se ha llegado a la conclusión de que, en este caso, este método no parece efectivo y tal vez sea más recomendable enfocar la elución desde la ganancia/pérdida de masa, más que de densidad.
2. En este proyecto, al medir las probetas antes de envejecer, no se tuvo en cuenta ni la humedad inicial de la probeta ni la humedad relativa del entorno. Se aconseja meter las probetas en un horno o deshidratarlas previamente a la medida de la masa, y anotar también la humedad relativa del ambiente.
3. En este proyecto se midió la pérdida de masa al haber estado las probetas envejeciéndose. Para ello, se desecaron previamente a esta segunda medida de masa. No obstante, esto no ha parecido funcionar bien, puede que porque los poros sean tan pequeños que el agua queda retenida en ellos. Una posible solución a esto sería medir las probetas según salgan de envejecer, para así registrar la ganancia de masa que éstas hayan tenido y tomar esa ganancia de masa como ganancia de porosidad.

La porosidad también se podría estudiar con más detenimiento utilizando un microscopio de mayor resolución, o midiendo el tamaño de los poros y así pudiendo determinar con mayor exactitud el efecto de los antibióticos y del envejecimiento en la porosidad de los cementos. También sería recomendable hallar el tamaño de las partículas de vancomicina, gentamicina y microcápsulas de rifampicina y compararlo con los poros de las probetas, para poder relacionar la porosidad causada por los antibióticos.

A su vez, se podría hacer este mismo estudio para las propiedades de fatiga del cemento. En este proyecto sólo se han analizado propiedades mecánicas bajo cargas estáticas, pero la realidad es que el cemento estará también sometido a cargas cíclicas, pues el cuerpo humano, al moverse, crea también estas condiciones dinámicas, y para poder tener un estudio más exhaustivo del efecto de los antibióticos o del tiempo de envejecimiento en las propiedades mecánicas del cemento sería importante investigar también sus propiedades dinámicas.

Otro camino que se podría tomar es intentar hacer que la vancomicina fuera más manejable, lo que podría derivar en un mejor cemento y en unas mejores propiedades. Se podría empezar analizando la humedad previamente existente en este antibiótico, que puede ser que absorba del aire, y se podrían buscar maneras de reducirla antes de añadirla al cemento, intentando que se “apelmace” menos. Con esto se podrían comparar los resultados obtenidos con los de este proyecto, averiguando si la manera de procesar la

vancomicina cambia las propiedades del cemento y si hay alguna manera de conseguir buenas propiedades con vancomicina si se cambia este procesado.

Por supuesto, hay infinidad de otros campos que se podrían explorar a partir de este proyecto, como pueden ser otros tiempos de envejecimiento, diferentes métodos de mezclado, más ensayos a realizar, etc.

CAPÍTULO 6

BIBLIOGRAFÍA

CAPÍTULO 6

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Dr. Eva Paz Jiménez (2017). Bone cements reinforced with carbon based nanomaterials.
- [2] J.G.E. Hendricks, J.R. van Horn, H.C. van der Mei, H.J. Busscher (2004). Backgrounds of antibiotic-loaded bone cement and prosthesis-related infection. *Elsevier*.
- [3] Robert B. Bourne (2004). Prophylactic Use of Antibiotic Bone Cement. *The Journal of Arthroplasty, Vol. 19 No. 4 Suppl. 1*.
- [4] A. Stegel, L. Frommelt, W. Runde y E. Engelbrecht (2001). Primary Arthroplasty of Infected Hips and Knees in Special Cases Using Antibiotic-Loaded Bone-Cement for Fixation. *The Journal of Arthroplasty, Vol. 16 No. 8 Suppl. 1*.
- [5] John F. Nettrour, John A. Polikandriotis, Thomas L. Bernasek, Kenneth A. Gustke y Steven T. Lyons (2013). Articulating Spacers for the Treatment of Infected Total Knee Arthroplasty: Effect of Antibiotic Combinations and Concentrations. *Healio.com/Orthopedics Feature Article Vol. 36 No. 1*.
- [6] D. Iarikov, H. Demian, D. Rubin, J. Alexander y S. Nambiar (2013). Choice and Doses of Antibacterial Agents for Cement Spacers in Treatment of Prosthetic Joint Infections: Review of Published Studies. *Oxford Academic CID 2012:55*.
- [7] Arlen D. Hanssen (2004). Prophylactic Use of Antibiotic Bone Cement. *The Journal of Arthroplasty, Vol. 19 No. 4 Suppl. 1*.
- [8] Hilbrand van de Belt, Daniëlle Neut, Willen Schenk, Jim R. Van Horn, Hennt C. Van der Mei y Henk J. Busscher (2001). Staphylococcus aureus biofilm formation on different gentamicin-loaded polymethylmethacrylate bone cements. *Elsevier Biomaterials 22 1607-1611*.
- [9] Rajiv Gandhi, Fahad Razak, Rubini Pathy, J. Roderick Davey, Khalid Syed y Nizar N. Mahomed (2009). Antibiotic Bone Cement and the Incidence of Deep Infection after Total Knee Arthroplasty. *The Journal of Arthroplasty, Vol. 24 No. 7*.
- [10] Pietro Randelli, Francesco R. Evola, Paolo Cabitza, Luca Polli, Matteo Denti y Luca Valenti (2009). Prophylactic use of antibiotic-loaded bone cement in primary total knee replacement. *Springer Verlag. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc (2010) 18:181-186*.
- [11] J. C. J. Webb y R. F. Spencer (2007). The role of polymethylmethacrylate bone cement in modern orthopaedic surgery. *The Journal of Bone and Joint Surgery (Br) 2007; 89-B:851-7*.
- [12] Hamid Reza Seyyed Hosseinzadeh, Mohammad Emami, Farivarabdollahzadeh Lahiji, Ali Sina Shahi, Aidin Masoudi y Sina Emami (2012). The Acrylic Bone Cement in Arthroplasty. *Intech DOI: 10,5772/53252 Ch. 5*.
- [13] N. Dunne y J. Clements (2008). Acrylic cements for bone fixation in joint replacement. *Joint replacement technology. Woodhead Publishing. Ch. 10*.

- [14]Raju Vaishya, Mayank Chauhan y Abhishek Vaish (2013). Bone Cement. *Elsevier. Journal of Orthopaedics and Trauma* 157-163.
- [15]Samena Chaudhry y David Dunlop (2012). Bone cement in arthroplasty. *Elsevier. Orthopaedics and trauma* 26:6 391-396.
- [16]Klaus-Dieter Kuehn, Wemer Ege y Udo Gopp (2005). Acrylic bone cements: mechanical and physical properties. *Elsevier Saunders. Orthop Clin N Am* 36 (2005) 29-39.
- [17]Dr. Jose Luis del Pozo León. Diagnóstico y tratamiento de las infecciones de prótesis articulares en la clínica. *Universidad Clínica de Navarra www.cun.es*
- [18]Donald P. Levine (2006). Vancomycin: A History. *Oxford Academic. Clinical Infectious Diseases Vol. 42 Issue Supplement 1* 5-12.
- [19]M. Chohfi, F. Langlais, J. Fourastier, J. Minet, H. Thomazeau y M. Cormier (1997). Pharmacokinetics, uses and limitations of vancomycin-loaded bone cement. *International Orthopaedics. July 1998 Vol. 22 Issue 3* 171-177
- [20]Dall'Oca, C., Maluta, T., Micheloni, G. M., Cengarle, M., Morbioli, G., Bernardi, P., ... Magnan, B. (2017). The biocompatibility of bone cements: progress in methodological approach. *European journal of histochemistry : EJH*, 61(2), 2673. doi:10.4081/ejb.2017.2673
- [21]Dall'Oca, C., Maluta, T., Cavani, F., Morbioli, G. P., Bernardi, P., Sbarbati, A., ... Magnan, B. (2014). The biocompatibility of porous vs non-porous bone cements: a new methodological approach. *European journal of histochemistry : EJH*, 58(2), 2255. doi:10.4081/ejb.2014.2255
- [22]Gladius Lewis (1997). Properties of Acrylic Bone Cement: State of the Art Review. *Wiley Online Library. Journal of Biomedical Materials Research Vol. 38 Issue 2* 155-182.
- [23]S. R. Goldring, C. R. Clark and T. M. Wright (1993). The Problem in Total Joint Arthroplasty: Aseptic Loosening. *The Journal of Bone and Joint Surgery Vol. 75-A No. 6*.
- [24]Ramírez Alvarado, M.^a M., & Sánchez Roitz, C.. (2012). El factor de necrosis tumoral- α , la resistencia a la insulina, el metabolismo de lipoproteínas y la obesidad en humanos. *Nutrición Hospitalaria*, 27(6), 1751-1757.
- [25]JAFFE HL. The resorption of bone: a consideration of the underlying processes particularly in pathologic conditions. *Arch Surg*. 1930;20(3):355–385. doi:10.1001/archsurg.1930.01150090002001.
- [26]G. Pearce, C. Bainbridge, J. Patrick, K. Kibble, M. Lenz y G. Jones (2005). An investigation into thermal necrosis of bone associated with surgical procedures. *WIT Transactions on Biomedicine and Health Vol. 8*.
- [27]Stańczyk, M., & van Rietbergen, B. (2004). Thermal analysis of bone cement polymerisation at the cement–bone interface. *Journal of Biomechanics*, 37(12), 1803–1810. doi:10.1016/j.jbiomech.2004.03.002.

- [28]Kühn, K.-D. (n.d.). What is Bone Cement? *The Well-Cemented Total Hip Arthroplasty*, 52–59. doi:10.1007/3-540-28924-0_5.
- [29]Lewis, G. (2008). Alternative acrylic bone cement formulations for cemented arthroplasties: Present status, key issues, and future prospects. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 84B(2), 301–319. doi:10.1002/jbm.b.30873.
- [30]https://www.rxlist.com/consumer_gentamicin/drugs-condition.htm
- [31]Chang, Y., Tai, C.-L., Hsieh, P.-H., & Ueng, S. W. N. (2013). Gentamicin in bone cement. *Bone & Joint Research*, 2(10), 220–226. doi:10.1302/2046-3758.210.2000188.
- [32]Parker M, Gurusamy K, Azegami S. Artroplastias (con y sin cemento óseo) para la fractura proximal de fémur en adultos. *Cochrane Database of Systematic Reviews 2010 Issue 6*. Art. No.: CD001706. DOI: 10.1002/14651858.CD001706.
- [33]Vaishya, R., Chauhan, M., & Vaish, A. (2013). Bone cement. *Journal of clinical orthopaedics and trauma*, 4(4), 157–163. doi:10.1016/j.jcot.2013.11.005.
- [34]https://www.alibaba.com/product-detail/100-good-quality-vancomycin-hydrochloride-crystalline_60635626198.html
- [35]<https://www.alibaba.com/countrysearch/CN/rifampicin-intermediate.html>
- [36]https://www.alibaba.com/product-detail/High-quality-Gentamicin-sulfate-powder_60670581765.html
- [37]<https://patents.google.com/patent/US6217581B1/en>