

Análisis microbiológico e histomorfométrico de la interfaz clavo-hueso en diferentes clavos de fijación externa (acero, titanio y recubiertos de plata). Estudio experimental en corderos

Microbiological and histomorphometric analysis of the nail-bone interface with different external fixation nails (stainless steel, titanium, and silver-plated stainless steel). Experimental study in lambs

MORA, G.; ÁLVAREZ, E.; OTEIZA, C.*; RIPALDA, P.; LEIVA, J.* y FORRIOL, F.

*Laboratorio de Ortopedia Experimental. Departamento de Cirugía Ortopédica y Traumatología. *Departamento de Microbiología. Clínica Universitaria. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra.*

RESUMEN: *Objetivo:* Estudiar la integración en el hueso y la contaminación de tres tipos de clavos de fijación externa con la misma geometría y construidos de tres materiales distintos (acero, titanio y recubiertos de plata).

Diseño experimental: Se analizaron 18 corderos, con un peso de 30-45 k, divididos en 3 grupos, para estudiar la integración del hueso y el desarrollo de microorganismos en la superficie de clavos de fijación externa (de 5 mm de diámetro) y en relación con el tipo de material (acero inoxidable, titanio y acero inoxidable con recubrimiento de plata) y su posición en el hueso.

El análisis microbiológico se efectuó en la entrada del clavo en el hueso y en la punta del mismo.

Resultados: Los clavos que presentaron mayor número de bacterias, fueron los de plata. La entrada de los clavos situados en hueso esponjoso mostró un mayor número de bacterias.

En el análisis histomorfométrico se observó que los clavos que presentaban mayor superficie ósea de contacto, fueron los de titanio, seguidos por los de acero y los de plata.

PALABRAS CLAVE: Clavo. Fijación externa. Interfaz.

ABSTRACT: *Objective:* Bone integration and contamination were studied in three types of external fixa-

tion nail of the same geometry made of different materials (stainless steel, titanium, and silver-plated stainless steel).

Experimental design: The study was made of 18 lambs weighing 30-45 kg, which were divided into 3 groups. Bone integration and microbacterial growth on the surface of external fixation nails (5 mm in diameter) were studied in relation to the type of material (stainless steel, titanium, and silver-plated stainless steel) and nail position in the bone. A microbiological analysis was made of the point of nail entry in the bone and the tip of the nail.

Results: The nails that with the greatest bacterial proliferation were the silver-plated stainless steel nails. The entry point of nails placed in cancellous bone had more bacteria. In the histomorphometric analysis, the nails that had the largest bone contact surface were the titanium nails, followed by the stainless steel and silver-plated stainless steel nails.

KEY WORDS: Nail. External fixation. Interface.

Correspondencia:

Dr. F. FORRIOL.
Dpto. COT.
CUN.
Avda. Pio XII, s/n.
31008 Pamplona.

Recibido: Junio 2000.
Aceptado: Marzo 2001.

En los sistemas de fijación externa monolaterales se producen movimientos relativos entre el clavo y el hueso, generado por los momentos de flexión y el brazo de palanca desde el hueso a la barra del fijador, así como la inestabilidad que produce la fractura y que aumenta durante el apoyo.^{2,5}

El anclaje de un clavo en el hueso depende de su diseño y de las propiedades del hueso,⁸ sin olvidar el método de inserción y la lesión térmica que puede producir su introducción.¹⁴ En el anclaje de los clavos de fijación externa, influyen factores de tipo bio-

lógico, tipo y calidad del hueso, y otros mecánicos relacionados con las características del clavo, diámetro y núcleo del tornillo; geometría y forma de la rosca; tipo de material y sistema de introducción.

La infección, también interfiere con la estabilidad del anclaje y se ha relacionado con una técnica inadecuada en la inserción del clavo, siendo la principal complicación asociada a la fijación externa, con una frecuencia entre el 0,5 y 10%.^{3,11}

La microbiota bacteriana de la piel, (*Staphylococcus aureus* y el *Staphylococcus epidermidis*), puede colonizar los implantes sin presentar manifestaciones clínicas y las bacterias se adhieren fuertemente a los implantes secretando un exopolisacárido que recubre su superficie, «biofilm», que protege, mejora la nutrición e incrementa la actividad bacteriana.

Por todo esto, se ha intentado mejorar la integración del hueso y el clavo perfeccionando la técnica de inserción, evitando dejar espacios libres por donde puedan penetrar las bacterias, probando diversos tipos de materiales con propiedades antibacterianas, como la plata, que crean un ambiente hostil en la superficie de los clavos y previene la adherencia de las bacterias y evita la formación del «biofilm».

El objetivo de este trabajo es analizar la integración de hueso y el clavo y los microorganismos en dos zonas distintas, en clavos de diferentes materiales (titánio, acero y plata) insertados en hueso cortical y esponjoso de la tibia del cordero.

Material y método

Como modelo experimental se utilizó el cordero de la raza *Ovis aries*, hembras, con edades comprendidas entre los 5-6 meses y un peso entre los 30-45 k, divididos en 3 grupos de 6 corderos cada uno. Se utilizaron 72 clavos tipo Apex® (Jaquet, Stryker-Howmedica®, Ginebra, Suiza), de 5 mm de diámetro, de tres tipos distintos de materiales (acero inoxidable, titanio y acero inoxidable recubierto de plata).

El cordero fue premedicado con antibiótico: un día antes de la intervención se le administró 1 g iv de cefazolina sódica. El procedimiento quirúrgico se realizó bajo anestesia general. En la cara externa de tibia izquierda se colocaron cuatro clavos manualmente, a través de pequeñas incisiones en la piel. Dos de ellos se introdujeron en la metáfisis, y otros dos en la diáfisis, siendo numerados de proximal a distal.

No se realizó ningún tipo de osteotomía o fractura y se colocó un fijador externo monolateral (Monotubo-Triax®, Jaquet, Stryker-Howmedica, Ginebra, Suiza) para mantener los clavos unidos.

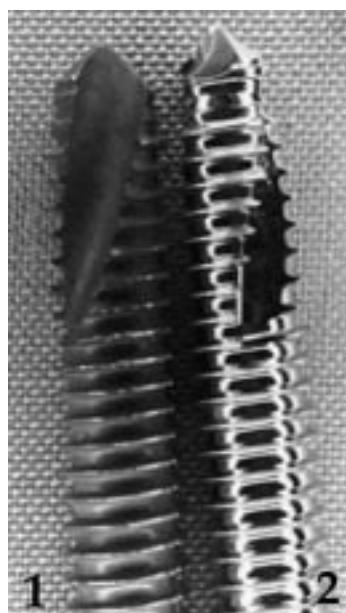


Figura 1. Punta de los clavos Apex® de titanio (1) y de acero (2).

Los corderos permanecieron estabulados individualmente, permitiendo el apoyo inmediato; se limpian las heridas, diariamente, con jabón y solución salina. En ningún caso se administraron antibióticos. Los animales fueron sacrificados al mes de la intervención.

Para el análisis microbiológico, se eligieron tres animales de cada grupo y se tomaron muestras con hisopos de la zona de entrada de cada clavo en el hueso, en condiciones de esterilidad. Los hisopos se introdujeron en 5 cc, de solución fisiológica y se agitaron en un Vortex. Se realizó un estudio semicuantitativo mediante cultivo para aerobios en agar sangre, a 35°C y 10% CO₂, y para anaerobios en medio de Mc Conkey.

También se estudió la punta de cada clavo, que se cortó con una cizalla estéril, y se introdujo en 5 cc de solución fisiológica y se agitaron en un Vortex. Con la solución obtenida se realizó un estudio cuantitativo de la carga bacteriana en diluciones seriadas. Se consideró infectado un recuento superior a 10⁴ bacterias.¹

Para el análisis histológico de la interfaz en los tres tipos de clavos, se estudió en los otros tres animales de cada grupo el contacto de ésta con el clavo. Se extrajeron las piezas de cada animal, incluyendo los clavos y el tejido periférico, y se procesaron mediante la técnica del metilmetacrilato (Technovit 7200 VLC®), después de fijarlas en formaldehído al 4%, y deshidratadas mediante concentraciones de alcoholes de graduación creciente; se sumergieron durante una semana en una mezcla 1:1 de alcohol absoluto y metacrilato puro y 3 semanas en metacrilato puro (Technovit 7200 VLC®), antes de ser polimerizadas.

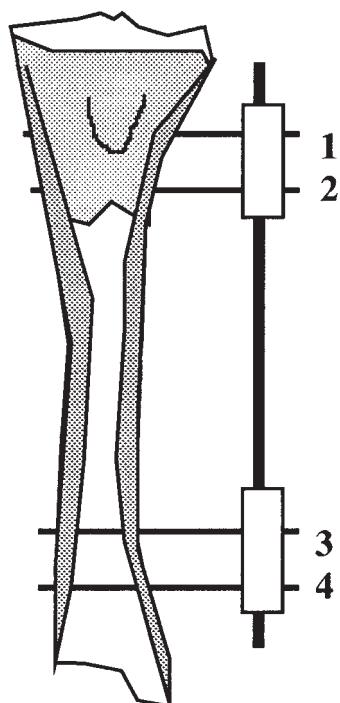


Figura 2. Disposición de los clavos en la tibia. Los clavos 1 y 2 atraviesan hueso esponjoso y los clavos 3 y 4 hueso cortical.

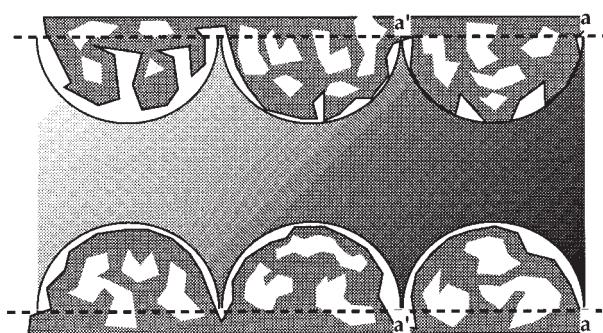


Figura 3. Parámetros histomorfométricos analizados: 1. Porcentaje de hueso en contacto con una espira de la rosca (a-a') y 2. Porcentaje de la superficie ósea por espira (a-a').

cos se aplicó el test de Kruskal-Wallis, para variables de 3 categorías, y la U de Mann-Whitney, para variables de 2 categorías y una regresión multivariante para conocer la dependencia de la cantidad bacteriana con el tipo de material y la posición del clavo.

El estudio estadístico se realizó con el programa SPSS 9.0 para Windows.

Resultados

Los resultados del análisis microbiológico, señalaron el número de bacterias encontradas en las muestras de los hisopos (tabla 1) y en el cultivo de las puntas de los clavos (tabla 2).

Las muestras de los clavos de plata en la entrada del hueso presentaron cuentas bacterianas superiores con respecto a las de titanio y acero ($p < 0,02$). Por otro lado, los clavos con recubrimiento de plata presentaron el mayor número de bacterias totales, especialmente en las posiciones 1 y 2 ($p < 0,038$), es decir, en las posiciones metafisarias y en la unión metafisodiafisaria proximal (tabla 1).

Se realizaron cortes paralelos al eje longitudinal del clavo, de 1 mm de grosor con una sierra de diamante (Exakt®), incluyendo el clavo, puliendo cada corte hasta alcanzar un grosor de 30 μ m. Las preparaciones se tiñeron con Tricrómico de Masson-Goldner.

Se analizaron los cortes con un estereomicroscopio (Wild®), midiendo el porcentaje medio de tejido óseo dispuesto entre las espiras de cada clavo y el porcentaje de hueso en contacto con la superficie del clavo (Fig. 2).

Con los resultados histológicos y microbiológi-

Tabla 1. Número de bacterias ($\times 10^{-3}$) e identificación, en hisopos, en la entrada

| | Plata | | | Titanio | | | Acero | | |
|---------|--|--------------------------------|--------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|--|
| | Animal 1 | Animal 2 | Animal 3 | Animal 1 | Animal 2 | Animal 3 | Animal 1 | Animal 2 | Animal 3 |
| Clavo 1 | 0,5 (2) 1,4 (6) | 103 (1) 25,8 (2) 336 (6) | 22,4 (1) 136 (6) | 0,1 (4) | 0,1 (6) | 0 | 0 | 0 | 0,1 (3) |
| Clavo 2 | 0,3 (1) 89,2 (2) 0,1 (3) 96 (6) | 0,1 (1) 0,1 (2) 224 (6) | 18 (1) 2 (3) 6 (6) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 (1) 40 (2) 10 (5) 37,2 (6) |
| Clavo 3 | | | 0,1 (4) | | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Clavo 4 | 0,2 (4) | 0 | 0 | 0,1 (4) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

1. *Streptococcus B hemolítico*. 2. *Streptococcus spp*. 3. *Pasteurella multocida*. 4. *Estafilococo coagulasa negativa*. 5. *Escherichia coli*. 6. Bacterias anaerobias

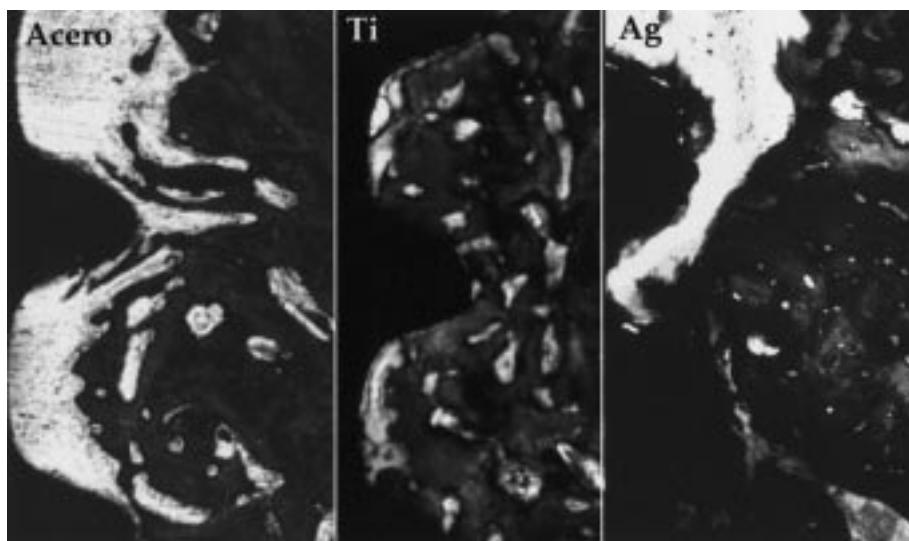


Figura 4. Preparaciones histológicas del anclaje de los clavos en hueso esponjoso (Acero, Ti = titanio, Ag = plata) (Tricrómico de Masson, 40x).

Los clavos de plata también mostraron un mayor número de bacterias en la punta que los de titanio ($p < 0,001$) y que los de acero ($p < 0,006$) aunque no se encontraron diferencias significativas según su posición; sin embargo, en las posiciones 1 y 2, clavos proximales metafisarios había mayor conteo bacteriano en los clavos de plata, seguidos por los clavos de acero y, en último lugar por los de titanio (tabla 2).

En el análisis histológico e histomorfométrico (tabla 3), se observó que los clavos que presentaban mayor superficie ósea de contacto con el clavo fueron los clavos de titanio (22,58%), seguidos por los de acero (13,46%) y los de plata (9,95%), resultando significativa la diferencia de los clavos de titanio con respecto a los de acero ($p < 0,029$). No se encontra-

ron diferencias entre los diferentes tipos de clavos y el hueso dispuesto en sus espiras (tabla 4).

Discusión

En la actualidad, la fijación externa es un método ampliamente utilizado, siendo importante conseguir un anclaje sólido y duradero de los clavos con el hueso cortical y esponjoso, para obtener garantía de buenos resultados. El aflojamiento es un problema clínico que puede llevar al fracaso del método de fijación.^{6,12}

El movimiento en la unión clavo-hueso predispone a la infección. Un clavo en hueso esponjoso, produce una rotura de las trabéculas y un movimiento no deseado que establece un espacio mecánico, que

Tabla 2. Número de bacterias ($\times 10^{-4}$) e identificación en la punta del clavo

| | Plata | | | Titanio | | | Acero | | |
|---------|----------|----------|----------|---------------|---------------|---------------|----------|----------|--------------|
| | Animal 1 | Animal 2 | Animal 3 | Animal 1 | Animal 2 | Animal 3 | Animal 1 | Animal 2 | Animal 3 |
| Clavo 1 | 195,15 | 824 | 1.074 | 0,54 0,05* | 0,22 3,4* | 0,43 1,17* | 160 | 48,25 | 7,27 0,3* |
| Clavo 2 | 910,9 | 13,22 | 1.728 | 0,43 | 32 37* | 14,5 40* | 244,5 | 0,55 | 5,39 0,1* |
| Clavo 3 | 85,3 | 244 | 76,55 | 0,01 | 0,13 0,58* | 25 7* | 72,48 | 0,04 | 6,66 0,3* |
| Clavo 4 | 102,83 | 992 | 331 | 0 | 3,49 0,08* | 2 | 0 | 0,18 | 34 4,2* |

AEROBIOS

1. *Aureobacterium spp/C. Aquaticum*- 2. *Corynebacterium spp*. 3. *Pasteurella multocida*. 4. *Escherichia coli*. 5. *Streptococcus spp*. 6. *Arcanobacterium pyogenes*. 7. *Enterococcus hirae*. 8. *Alcaligenes faecalis*. 9. *Corynebacterium spp*

ANAEROBIOS*

1. *Prevotella oralis*. 2. *Porphyromonas asaccharolytica*

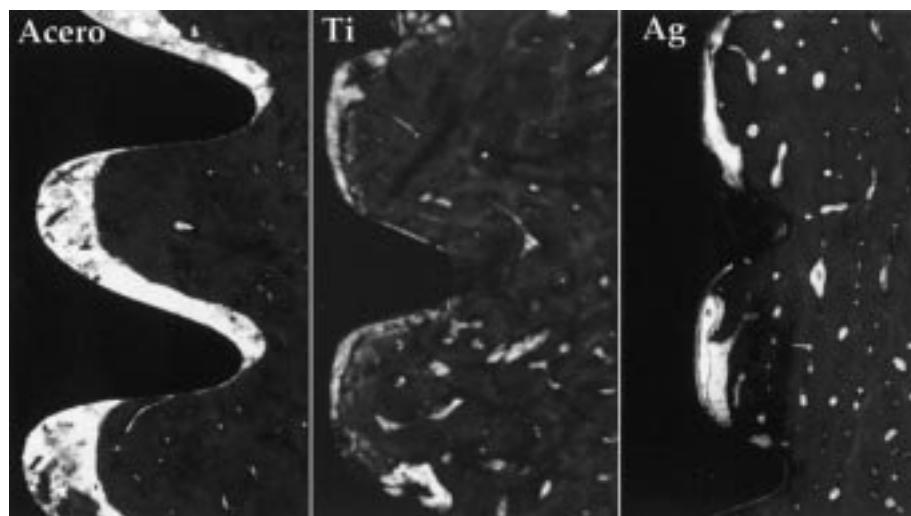


Figura 5. Preparaciones histológicas del anclaje de los clavos en hueso cortical (Acero, Ti = titanio, Ag = plata) (Tricrómico de Masson, 40x).

puede servir como portal de entrada para los microorganismos que llegan a la punta del clavo.^{6,13}

Se ha modificado el diseño y el tipo de material de los clavos para mejorar la interfaz entre el clavo y el hueso y evitar la contaminación del mismo, pues la mayoría de los clavos son colonizados rápidamente por la microbiota bacteriana propia de la piel que con el tiempo puede progresar a una infección, comprometiendo la estabilidad del método de fijación. Mahan y cols.,¹¹ vieron que el 75% de las puntas de los clavos estaban colonizados, encontrando una correlación entre el aflojamiento y la influencia de los

organismos y entre el aflojamiento y la inflamación del punto de entrada del clavo. Checketts y cols.,³ distinguen entre infecciones mayores y menores; las menores son aquellas que una vez tratadas, no impiden que continúe el tratamiento de fijación externa y las mayores, generalmente, incluyen más de un clavo, y no se resuelven hasta que se retira el clavo.

Osteólisis y reacción perióstica no siempre son sinónimos de infección, por el contrario, una inflamación, con o sin bacterias, puede significar la presencia de clavos flojos y mecánicamente inestables.

Lee y cols.,⁹ estudiaron los tornillos utilizados en la epifisiolisis de cadera, encontrando un aumento de los problemas tanto en los tornillos de acero como en los de titanio, si bien, también observaron zonas de osteointegración y un contacto directo entre el hueso y el metal en más del 90% de la interfaz. Los clavos recubiertos de hidroxiapatita han sido estudiados por numerosos autores^{4,10} pero son clavos con un proceso de fabricación caro y el inconveniente de una buena integración que puede producir microfracturas óseas y fuerte dolor en el momento de su extracción.

Collinge y cols.,¹ propusieron crear un ambiente hostil para la actividad bacteriana recubriendo de plata la superficie de los clavos y evitar la infección en la unión clavo-hueso. Los resultados de este trabajo, sin embargo, difieren de los obtenidos en sus series, al encontrar un mayor número de bacterias y una menor integración ósea, estadísticamente significativa, en los clavos recubiertos de plata frente a los de acero y titanio, sin hallar diferencias significativas en la posición de los clavos, en el hueso.

Tabla 3. Superficie en contacto hueso-clavo (%)

| | Acero | | Plata | | Titanio | |
|---------|-------|------|-------|------|---------|------|
| | X | SD | X | SD | X | SD |
| Clavo 1 | 13,95 | 1,58 | 9,8 | 1,03 | 23,11 | 1,83 |
| Clavo 2 | 13,44 | 1,36 | 16,82 | 1,59 | 30,43 | 1,13 |
| Clavo 3 | 12,94 | 0,98 | 10,27 | 1,75 | 16,41 | 1,45 |
| Clavo 4 | 13,97 | 1,34 | 3,76 | 1,66 | 18,11 | 0,75 |
| Total | 13,64 | 0,69 | 9,95 | 2,34 | 22,58 | 6,59 |

Tabla 4. Hueso en la rosca del clavo (%)

| | Acero | | Plata | | Titanio | |
|---------|-------|-------|-------|-------|---------|-------|
| | X | SD | X | SD | X | SD |
| Clavo 1 | 63,28 | 6,21 | 30,18 | 2,43 | 33,17 | 2,94 |
| Clavo 2 | 36,9 | 3,43 | 43,25 | 3,74 | 53,29 | 3,56 |
| Clavo 3 | 44,54 | 6,52 | 63,39 | 2,86 | 25,32 | 1,13 |
| Clavo 4 | 35,11 | 1,25 | 56,92 | 5,96 | 45,94 | 2,01 |
| Total | 47,25 | 12,88 | 49,02 | 14,78 | 42,75 | 12,55 |

Bibliografía

1. Collinge, CA; Günter, G, y David, S: Pin Tract Infections: Silver vs. Uncoated Pins. *Orthopedics*, 17: 445-448, 1994.
2. Cunningham, JL; Evans, M, y Kenwright, J: Measurement of fracture movement in patients treated with unilateral external skeletal fixation. *J Biomed Eng*, 11: 118-122, 1989.
3. Checketts, RG; Otterburn, M, y McEachern, G: Pin track infection: definition, incidence and prevention. *Int J Orthop Trauma*, 3: 16-18, 1993.
4. David, A; Pommer, A; Eitenmüller, J, y Muhr, G: Der Einfluß der Hidroxyapatit- Beschichtung von AO/ASIF-Schrauben auf die Haftfestigkeit im Knochen. *Unfallchirurg*, 96: 12-17, 1993.
5. Evans, M; Spencer, M; Wang, Q; White, SH, y Cunningham, JL: Design and testing of external fixator bone screws. *J Biomed Eng*, 12: 457-462, 1990.
6. Green, SA: Complications of external skeletal fixation. *Clin Orthop*, 180: 109-116, 1983.
7. Huiskes, R; Chao, EYS, y Crippen, TE: Parametric analyses of pin-bone stresses in external fracture fixation devices. *J Orthop Res*, 3: 341-349, 1985.
8. Kleeman, BC; Takeuchi, T; Gerhart, TN, y Hayes, WC: Holding power and reinforcement of cancellous screws in human bone. *Clin Orthop*, 284: 260-266, 1992.
9. Lee, TK; Haynes, RJ; Longo, JA, y Chu, JR: Pin removal in slipped capital femoral epiphysis: the unsuitability of titanium devices. *J Pediatric Orthopaedics*, 16: 49-52, 1996.
10. Magyar, G; Toksvig-Larsen, S, y Moroni, A: Hydroxyapatite coating of threaded pins enhances fixation. *J Bone Joint Surg*, 79B: 487-489, 1997.
11. Mahan, J; Seligson, D; Henry, SL; Hynes, P, y Dobbins, J: Factors in pin tract infections. *Orthopedics*, 14: 305-308, 1991.
12. Matthews, LS; Green, CA, y Goldstein, SA: The thermal effects of skeletal fixation-pin insertion in bone. *J Bone Joint Surg*, 66A: 1077-1083, 1984.
13. Pettine, KA; Chao, EYS, y Kelly, PJ: Analysis of the external fixator pin bone interface. *Clin Orthop*, 293: 18-27, 1993.
14. Wikenheiser, MA; Markel, MD; Lewallen, DG, y Chao, EYS: Thermal response and torque resistance of five cortical half-pins under simulated insertion technique. *J Orthop Res*, 13: 615-619, 1995.