



# Acta de Otorrinolaringología & Cirugía de Cabeza y Cuello

www.revista.acorl.org.co



## Trabajos de investigación

### Propiedades antimicrobianas del cobre en tapones nasales de acetato de polivinilo y silicona. Un modelo in vitro de adherencia y supervivencia

### Antimicrobial properties of copper in polyvinyl acetate and silicone nasal packs. An in vitro model of bacterial adhesion and survival

Bravo G. \*, Bahamonde H. \*\*, Durán C. \*\*\*, Alzerreca E. \*\*\*\*, Herrera J. \*\*\*\*\*

\* Hospital Clínico de la Universidad de Chile, Servicio de Otorrinolaringología. Clínica Alemana de Santiago, Servicio de Otorrinolaringología.

\*\* Hospital Clínico de la Universidad de Chile, Servicio de Otorrinolaringología. Clínica Alemana de Santiago, Servicio de Otorrinolaringología.

\*\*\* Facultad de Medicina Universidad de Chile, Programa de Microbiología, Laboratorio de Enterobacterias y Antimicrobianos.

\*\*\*\* Médico Cirujano. Magister en Derecho de la Salud.

\*\*\*\*\* Internista de Medicina. Hospital Clínico Universidad de Chile.

Forma de Citar: Bravo G, Bahamonde H, Durán C, Alzerreca E, Herrera J. Propiedades antimicrobianas del cobre en tapones nasales de acetato de polivinilo y silicona. Un modelo in vitro de adherencia y supervivencia. Acta otorrinolaringol. cir. cabeza cuello. 2015;43(2):147-152.

#### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

##### Historia del artículo:

Recibido: 15 de Marzo de 2015

Revisado: 12 de Mayo de 2015

Aceptado: 29 de Mayo de 2015

##### Palabras clave (DeCS):

Cobre, bacterias, Antiinfecciosos, Procedimientos Quirúrgicos Nasales.

#### RESUMEN

**Introducción:** Los tapones nasales más utilizados son los compuestos por acetato de polivinilo y silicona, existiendo complicaciones asociadas a su uso, como la cacosmia y el síndrome de shock tóxico, producido por *S.aureus*, con alta mortalidad. El cobre ha demostrado tener propiedades antimicrobianas en materiales biomédicos. **Objetivo:** Evaluar las propiedades antimicrobianas del cobre en tapones nasales modificados con cobre, frente a bacterias de la mucosa nasal. **Diseño:** Estudio Experimental. **Materiales y Métodos:** Se usó un sistema experimental in vitro utilizando tapones de acetato de polivinilo y silicona con láminas de cobre y sin cobre, que se cultivaron en un medio con cepas de *S.aureus* meticilino-sensible (SAMS) y *S.aureus* meticilino-resistente (SAMR). **Resultados:** Se observó una reducción en el porcentaje de sobrevida bacteriana en los distintos tapones nasales con cobre, respecto a aquellos sin cobre, tanto para los medios inoculados con SAMS

#### Correspondencia:

Santos Dumont 999, Independencia, Santiago, Chile.

Teléfono: 978 8000

E-mail: guztab@gmail.com

y SAMR, los cuales fluctuaron entre un 61% y un 66% para tapones de acetato de polivinilo y entre un 78% y 86% para aquellos tapones siliconados. *Conclusión:* Se sugiere la incorporación de cobre en tapones nasales, abriéndose un amplio campo de investigación sobre el uso de tapones con cobre y la disminución de complicaciones infecciosas asociadas.

## ABSTRACT

### Key words (MeSH):

Copper, bacteria, Anti-Infective Agents, Nasal Surgical Procedures.

*Background:* Nasal packs are mostly made of polyvinyl acetate and silicone, being complications associated to their use such as cacosmia and toxic shock syndrome, produced by *S. aureus*, with high mortality rates. Copper has proven antimicrobial properties in biomedical materials. *Objective:* The purpose of this study is to evaluate the antimicrobial properties of copper in a modified prototype of nasal packs with copper, against bacteria of the nasal mucosa. *Design:* Experimental Study. *Methods:* An in vitro model was used with polyvinyl acetate and silicone nasal packs with and without copper, that were grown in a medium with strains of methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA) and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA). *Results:* There was a significant reduction of bacterial survival percentages in all modified nasal packs with copper, for both the culture medium inoculated with MSSA and MRSA, which ranged between 61% and 66% for the modified polyvinyl acetate nasal packs and between 78% and 86% for the modified silicone nasal packs. *Conclusion:* we suggest the incorporation of copper in the use of nasal packing, generating a wide investigating field about the use of copper in nasal packs and the decrease of infectious complications.

## Introducción

La utilización de taponamientos nasales como técnica terapéutica en otorrinolaringología se encuentra ampliamente difundida y cuenta a la actualidad con diversas indicaciones. Dentro de ellas, destacan su empleo en el manejo de episodios de epistaxis, mediante la compresión mecánica de los vasos que irrigan la mucosa nasal, y en el post operatorio de una cirugía de cavidades paranasales o de una rinoseptoplastía, a manera de favorecer la cicatrización de la mucosa nasal (1).

Sin embargo, su uso no esta exento de complicaciones, las cuales pueden ocurrir en forma temprana o tardía y dependen de una serie de factores determinantes. Dentro de las complicaciones de aparición temprana, el hematoma del tabique septal producto de una inserción traumática del taponamiento nasal, requiere de una atención inmediata para prevenir una necrosis del tabique septal. A su vez, dentro de las complicaciones de aparición tardía destacan aquellas de carácter infeccioso como el síndrome de shock tóxico (SST) (2), razón por la cual se usan antibióticos de forma profiláctica lo que aumenta no sólo el costo de su uso sino también las reacciones adversas secundarias al uso de antibióticos. Otra de las complicaciones que se pueden encontrar de forma permanente es la cacosmia, produciendo no sólo al paciente sino que también a los que lo rodean.

El SST es una de las complicaciones mas temidas en el uso de taponamientos nasales y es producto de una infección estafilocócica o estreptocócica, cada una con una presentación

clínica y un pronóstico diferenciados. El SST en respuesta a la toxina del *Staphylococcus Aureus*, puede originarse en el curso de infecciones postoperatorias, quemaduras o en casos de celulitis, y su presentación clínica suele tener un inicio abrupto con fiebre alta, vómitos, mialgias, cefalea, dolor abdominal y erupción cutánea, que suele descamarse una o dos semanas después (2,3). En caso de producirse una falla multiorgánica, esta suele responder al tratamiento, presentando una mortalidad aproximada del 5%. El SST producto de una infección por *Estreptococo* Grupo A, suele tener la fiebre como síntoma inicial, cursa con menor frecuencia mialgias o sintomatología digestiva y las manifestaciones cutáneas aparecen solo en el 10% de los pacientes. La aparición de una falla multiorgánica es más esperable, siendo intensa con signos de hipoperfusión, insuficiencia renal aguda y distrés respiratorio. La mortalidad en estos casos puede llegar a un 30 a 70% de los pacientes (2).

El SST resulta de la habilidad o cualidad de toxinas bacterianas producidas por estos patógenos Gram positivos, para actuar como superantígenos, estimulando una respuesta inmune celular que culmina en una cascada de expresión de citoquinas que finalmente alteran el funcionamiento y procesamiento normal de antígenos por el complejo de histocompatibilidad mayor. Esta producción alterada de citoquinas ocasiona daño tisular, coagulación intravascular diseminada y disfunción orgánica múltiple. El tratamiento en estos casos, se centra en la identificación temprana de la

causa y la administración precoz de antibioticoterapia capaz de suprimir la producción de toxinas. Se ha estudiado también el uso de inmunoglobulina intravenosa, que presenta el potencial para neutralizar a los superantígenos y mitigar el daño tisular.

La aparición de SST posterior a una intervención quirúrgica nasal ha de ser considerada puesto que la mucosa nasal frecuentemente se encuentra colonizada por *Staphylococcus aureus*. A ello se suma como factores favorecedores la injuria quirúrgica sobre la mucosa y la colocación de un taponamiento en el periodo postoperatorio inmediato en la gran mayoría de los casos. En un estudio de Jacobson y cols. se cifró la incidencia de SST en 16,5 casos por cada 100.000 pacientes intervenidos de cirugía nasal en una población de UTAH (4).

Los taponamientos nasales pueden ser realizados con múltiples materiales. Uno de los tipos de tapones más utilizados en la actualidad son los de acetato de polivinilo, los cuales se presentan en un estado comprimido y deshidratado que favorece su inserción en las fosas nasales. Al contacto con sangre o exudado presente en la superficie de la mucosa nasal, estos se rehidratan, aumentando de tamaño y ocupando las fosas nasales. Los compuestos de acetato de polivinilo presentan una serie de propiedades que los hacen una buena elección como tapones nasales como su capacidad de absorción, su biocompatibilidad y su elasticidad y duración, sin embargo para efectos de la prevención de infecciones asociadas, como un SST, se requiere de un material con propiedades bacteriostáticas o bactericidas activas (5).

Se han realizado estudios de caracterización de las propiedades antibacterianas de polímeros basados en acetato de polivinilo y elementos inorgánicos como la plata y el nitrato de zinc con resultados variables en cuanto a seguridad y estabilidad. Otro elemento inorgánico que ha demostrado propiedades antimicrobianas de uso biomédico es el cobre, con estudios sobre adherencia y sobrevida en superficies de uso clínico que avalan sus resultados. El cobre actúa activamente sobre las bacterias tanto a nivel de membranas como en su citoplasma formando compuestos oxidados que dañan estas estructuras, determinando un desbalance en su actividad biológica alterando la síntesis de proteínas necesarias para su sobrevida.

Basados en estos antecedentes, este estudio pretende investigar las propiedades antimicrobianas del cobre en tapones nasales de acetato de polivinilo, mediante la utilización de un modelo in vitro de adherencia y supervivencia bacteriana.

El objetivo de este trabajo es evaluar la adherencia y sobrevida bacteriana en tapones nasales de acetato de polivinilo con láminas de cobre, versus tapones nasales sin cobre y estudiar las diferencias de sobrevida y adherencia en tapones nasales de cepas bacterianas de *Staphylococcus Aureus* y *Escherichia coli* grupo A.

## Material y métodos

El trabajo consiste en un sistema experimental in vitro utilizando tapones de acetato de polivinilo y silicona con lá-

minas de cobre y sin cobre, los cuales se cultivaron en un medio con cepas de *S.aureus* meticilino-sensible (SAMS) y *S.aureus* meticilino-resistente (SAMR) para posteriormente determinar la sobrevida bacteriana en cada caso. En el estudio se utilizaron cepas de referencia (ATCC) de los patógenos más prevalentes en la mucosa nasal y de cavidades paranasales. Las cepas bacterianas estudiadas fueron: SAMS ATCC y SAMR ATCC. Cada cepa bacteriana fue cultivada en placas de Agar sangre cordero a 37°C por 24 horas con el fin de obtener colonias aisladas. En forma simultánea se elaboraron tapones nasales prototipo a partir de tapones nasales de acetato de polivinilo marca *Fabco Surgical products*® modelo *Ivalon 4000 plus* de 8 cm de largo x 1,5 cm de ancho y 2 cm de alto y tapones nasales de silicona marca *INVOTEC*® modelo *breathe-easy splint*. A cada prototipo de tapón nasal confeccionado para el estudio, se le insertaron láminas de cobre metálico (99.9% cobre), siendo posteriormente tratados con luz UV por 15 minutos, conservándose también tapones nasales control, sin la lámina de cobre en su interior.

A partir de los cultivos iniciales, se prepararon inóculos con concentración de  $1.5 \times 10^2$  CFU/ml de SAMS y SAMR, los que fueron inoculados de forma separada en medios de cultivo líquido, a los que se incorporaron tapones de acetato de polivinilo y silicona modificados con Cu y control. Posteriormente, se realizaron períodos de incubación por (4,6,10) y 24 horas a 37°C. Concluido el período de incubación final, las alícuotas de cada modelo fueron subcultivadas a 37°C, por 18 a 24 horas adicionales para obtener un recuento de bacterias sobrevivientes, expresado en UFC/ml. Finalmente se determinó la sobrevida bacteriana en cada caso y se compararon estadísticamente usando el programa JMP 9 con un p-value de 0.05.

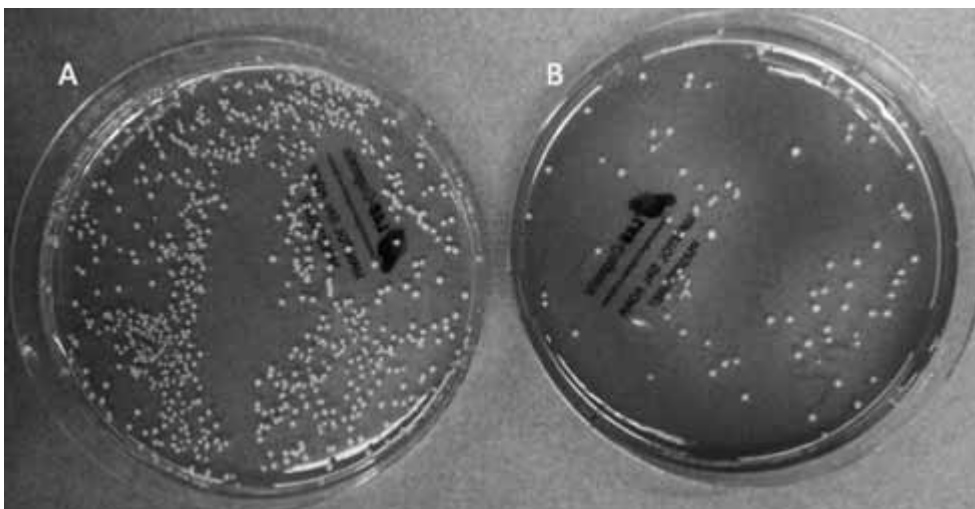
## Resultados

Las concentraciones de bacterias encontradas después de incubación por (4,6,10) y 24 horas fueron para SAMS en tapones nasales de acetato de polivinilo (TAPV) con Cu:  $2 \times 10^2$ ,  $9 \times 10^2$ ,  $3 \times 10^5$  y  $5.5 \times 10^7$  CFU/mL, mientras que en aquellos sin Cu fueron:  $8 \times 10^2$ ,  $3.1 \times 10^3$ ,  $6 \times 10^5$  y  $1.4 \times 10^8$  CFU/mL.

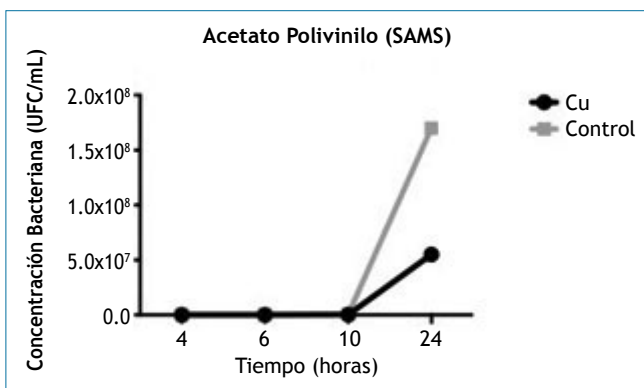
Por otra parte, para SAMR sobre tapones de acetato de polivinilo con Cu, las concentraciones fueron:  $5 \times 10^2$ ,  $1.5 \times 10^3$ ,  $2.7 \times 10^5$  y  $5.8 \times 10^7$  CFU/mL, versus sin Cu:  $1.5 \times 10^3$ ,  $4.4 \times 10^3$ ,  $1.5 \times 10^6$  y  $1.7 \times 10^8$  CFU/mL. (Ver Figura 1 y Gráfico 1 y 2).

Respecto a los tapones nasales de silicona (tS), para SAMS en tS con Cu, las concentraciones observadas fueron:  $5.5 \times 10^2$ ,  $2.1 \times 10^3$ ,  $2.4 \times 10^6$  y  $1.4 \times 10^7$  CFU/mL, versus tS sin Cu:  $1.1 \times 10^3$ ,  $3.6 \times 10^3$ ,  $3.6 \times 10^6$  y  $9.7 \times 10^7$  CFU/mL. Finalmente, para SAMR en tS, las concentraciones observadas en el modelo con Cu fueron:  $9 \times 10^1$ ,  $3.1 \times 10^3$ ,  $3 \times 10^5$  and  $2.2 \times 10^7$  CFU/mL, versus tS sin Cu:  $2.3 \times 10^2$ ,  $4.5 \times 10^3$ ,  $5.2 \times 10^5$  y  $1.0 \times 10^8$  CFU/mL. (Ver Figura 2 y Gráficos 3 y 4)

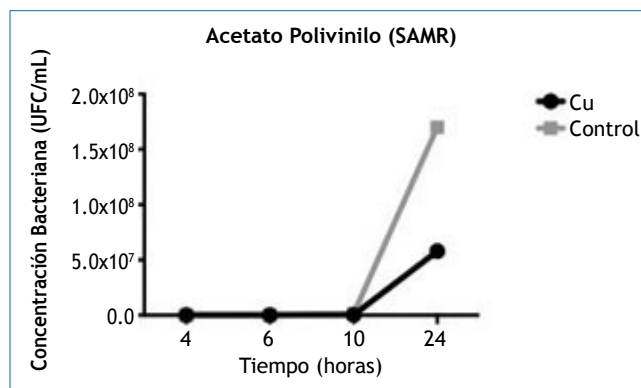
Globalmente, a partir de los datos anteriores, se observó una reducción en el porcentaje de sobrevida bacteriana en los distintos tapones nasales con cobre, respecto a aquellos



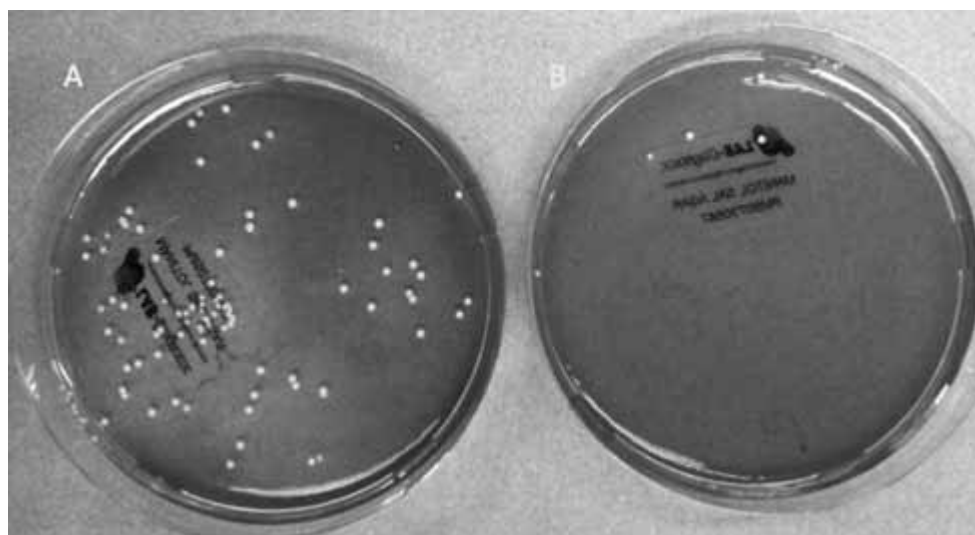
**Figura 1:** A) Placa Agar Manitol Sal para medio de cultivo con inoculo de SAMR y tapón de acetato de polivinilo sin cobre a las 24 hrs. B) Placa Agar Manitol Sal para medio de cultivo co inoculo de SAMR y tapón de acetato de polivinilo con cobre a las 24 hrs.



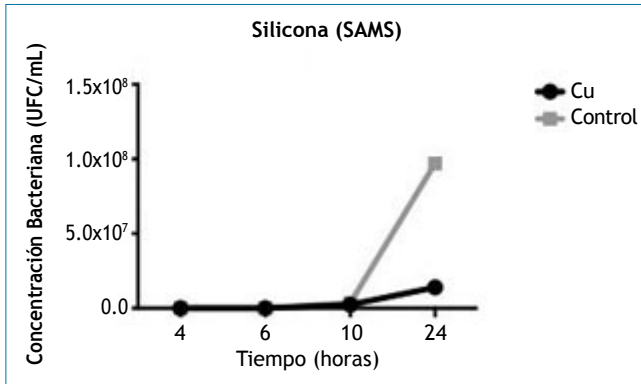
**Gráfico 1:** Concentración de bacterias SAMS en UFC/ml v/s tiempo de incubación en horas. Cu: tapones de acetato de polivinilo con cobre, control: tapones de acetato de polivinilo sin cobre



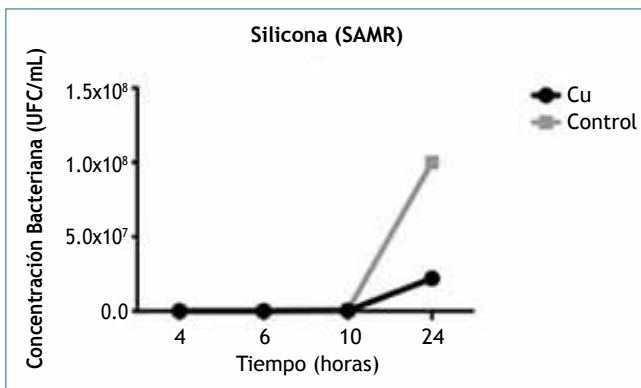
**Gráfico 2:** Concentración de bacterias SAMR en UFC/ml v/s tiempo de incubación en horas. Cu: tapones de acetato de polivinilo con cobre, control: tapones de acetato de polivinilo sin cobre.



**Figura 2:** A) Placa Agar Manitol Sal para medio de cultivo con inoculo de SAMR y tapón de silicona sin cobre a las 24 hrs. B) Placa Agar Manitol Sal para medio de cultivo con inoculo de SAMR y tapón de silicona con cobre a las 24 hrs.



**Gráfico 3:** Concentración de bacterias SAMS en UFC/ml v/s tiempo de incubación en horas. Cu: tapones de silicona con cobre, control: tapones de silicona sin cobre.



**Gráfico 4:** Concentración de bacterias SAMR en UFC/ml v/s tiempo de incubación en horas. Cu: tapones de silicona con cobre, control: tapones de silicona sin cobre.

sin cobre, tanto para los medios inoculados con SAMS y SAMR, los cuales fluctuaron entre un 61% y un 66% para tapones de acetato de polivinilo y entre un 78% y 86% para aquellos tapones siliconados.

## Discusión

El cobre es largamente conocido por su actividad antimicrobiana y su relativo bajo costo, lo que lo hace un antiséptico atractivo, con una historia probada en control de agentes biológicos a nivel industrial (9). De hecho en febrero de 2008, la *Environmental Protection Agency (EPA)*, organización encargada de proteger la salud humana y el ambiente en los Estados Unidos, aprobó el registro de aleaciones de cobre al valorar su propiedad bactericida, para su uso en superficies de contacto sólidas con aplicaciones en salud (11), existiendo más de 300 de ellas.

Siempre ha sido un desafío para la medicina diseñar materiales seguros como antibacterianos y a un precio accesible de modo de permitir un uso masivo (12), lo que pone a Chile en ventaja dado que el cobre es la principal riqueza minera del país, y las mayores reservas mundiales probadas del mineral se encuentran en él.

Como grupo de investigación uno de los objetivos ha sido velar por la creación de dispositivos en el área otorrinolaringológica que puedan ser un aporte en el constante desarrollo de nuestra especialidad, siendo el taponamiento nasal con cobre una alternativa que podría prevenir infecciones potencialmente mortales, disminuir el discomfort que produce el uso de estos dispositivos en el paciente, y que eventualmente podría lograr prescindir de la profilaxis antibiótica, generando una disminución del costo asociado a su uso.

En la literatura científica, no hay precedentes hasta ahora de algún estudio que evalúe el uso de cobre como bactericida en tapones nasales, por lo que es técnicamente imposible comparar estadísticamente el estudio con otros de la misma línea.

## Conclusión

El uso de cobre en los tapones nasales tanto de silicona como de acetato de polivinilo, redujo la sobrevida bacteriana significativamente respecto a los tapones sin cobre incorporado en su interior.

Aún considerando la ausencia de estudios precedentes en esta línea de investigación, los hallazgos de este estudio permiten sólidamente sugerir la incorporación de cobre en tapones de uso nasal, abriendo un interesante desafío para el desarrollo de estudios clínicos orientados a comprobar si el uso de tapones con cobre disminuyen las complicaciones infecciosas asociadas y poder estudiar las dosis mínimas que logren el efecto deseado.

## REFERENCIAS

- Weber R, Hochapfel F, Draf W. Packing and stents in endonasal surgery. *Rhinology*. 2000;38(2):49-62.
- Márquez Moyano JA, Jiménez Luque JM, Sánchez Gutiérrez R, Rodríguez Tembleque L, Ostos Aumente P, Roldán Nogueras J, et al. Shock tóxico estafilocócico asociado a cirugía nasal. *Acta Otorrinolaringol Esp* 2005; 56:376-378.
- Kaygusuz I, Kizirgil A, Karlidağ T, Yalçın S, Keles E, Yakupoğullari Y, et al. Bacteriemia in septoplasty and septorhinoplasty surgery. *Rhinology*. 2003; 41(2):76-79
- Jacobson J, Kasworm E. Toxic Shock Syndrome in Utah—1976 to 1983. *West J Med*. 1985; 143(3):337-341.
- Prabhu V, Kaushik V, Rhodes S, Tay H. Foam nasal packs: a prospective, randomised, patient-controlled study. *Rhinology*. 2007;45(3):242-247.
- McDonald SE, Slater J, Powell R, Khalil HS, Garth RJ. A randomised controlled trial comparing Rapid Rhino Mannheim and Netcell series 5000 packs following routine nasal surgery. *Rhinology* 2009; 47(1): 41-44.
- Obeso S, Rodrigo JP, Sanchez R, López F, Díaz JP, Suárez C. Profilaxis antibiótica en cirugía otorrinolaringológica. *Acta Otorrinolaringol Esp*. 2010;61(1):54-68.
- Kumar A, Omar B, Ajay N. Double-blind randomised controlled trial comparing Merocel with Rapid Rhino nasal packs after routine nasal surgery. *Rhinology*. 2003; 41(4): 241-243.

9. Michels HT, Noyce JO, Keevil CW. Effects of temperature and humidity on the efficacy of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* challenged antimicrobial materials containing silver and copper. *Lett Appl Microbiol* 2009; 49(2):191-195.
10. Prado V, Esparza M, Vidal R, Durán C. Actividad bactericida de superficies de cobre y acero inoxidable sobre bacterias asociadas a infecciones nosocomiales, en un modelo in vitro de adherencia y supervivencia. XXVI Congreso Chileno de Infectología, Viña del Mar, 2009.
11. Saeed MO, Jamaluddin AT, Tisan IA, Lawrence DA, Al-Amri MM, Chida K. Biofouling in a seawater reverse osmosis plant on the Red Sea coast, Saudi Arabia. *Desalination*. 2000 Apr 15;128(2):177-90.
12. Morones JR, Elechiguerra JL, Camacho A, Holt K, Kouri JB, Ramírez JT, et al. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*. 2005;16(10):2346–2353.