

## Estudio de la autoesterilidad de adhesivos cianoacrílicos «*in vitro*»

### In vitro study of the autosterility of cyanoacrylic adhesives

María Elena Cañizares Graupera<sup>I</sup>; Maday Tur Sánchez<sup>II</sup>; Viviana Escobar Zúñiga<sup>III</sup>; Nidia Rojas Hernández<sup>IV</sup>; Rodolfo Rubio Rubio<sup>V</sup>

<sup>I</sup> Licenciada, Maestra en Ciencias en Bioquímica, Investigadora Auxiliar, Centro de Biomateriales, Universidad de La Habana, Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>II</sup> Estudiante, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>III</sup> Licenciada en Microbiología, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>IV</sup> DraC. en Microbiología, Profesora Titular, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>V</sup> Licenciado en Bioquímica, Instituto de Hematología e Inmunología, Ciudad de La Habana, Cuba.

---

#### RESUMEN

**OBJETIVO:** establecer una metodología para evaluar la propiedad de autoesterilidad de 2 adhesivos, el tisuacryl de producción nacional y el histoacryl producido por la B. Brown que se tomó como referencia.

**MÉTODOS:** cada adhesivo se puso en contacto con el inóculo de la cepa seleccionada que provoca su polimerización. Se almacenó un tiempo prudencial y se puso en contacto con sangre fresca no menos de 24 horas.

**RESULTADOS:** en la mayoría de los preparados de polímeros con inóculo sometidos a sangre total, apareció crecimiento bacteriano.

**CONCLUSIONES:** el resultado demostró que ninguno de estos preparados es autoestéril.

**Palabras clave:** Autoesterilidad, adhesivos, cianoacrilatos.

---

#### SUMMARY

**OBJECTIVE:** to establish a methodology to evaluate the autosterility property of 2 adhesives, tisuacryl of national production, and histoacryl produced by B. Brown that was taken as a reference.

**METHODS:** every adhesive got in contact with the inoculum of the strain selected that produced its polymerization. It was stored for a prudential time and it got in contact with fresh blood for no less than 24 hours.

**RESULTS:** a bacterial growth appeared in most of the polymer preparations with inoculum subjected to whole blood.

**CONCLUSIONS:** the result showed that none of these preparations was autosterile.

**Key words:** Autosterility, adhesives, cyanoacrylates.

---

## INTRODUCCIÓN

Existen diversos criterios respecto al poder antibacteriano de los cianoacrilatos. Algunos autores plantean que dichos monómeros son autoestériles, por lo que se recomienda el uso de frascos multidosis,<sup>1-2</sup> mientras que otros consideran que ocasionan pérdidas de la esterilidad.<sup>3-5</sup> Sin embargo, en las evaluaciones descritas no se tuvo en cuenta la degradación que sufren los polímeros de cianoacrilato en contacto con la sangre debido a la presencia de esterasas activas.<sup>6</sup> Este aspecto resulta fundamental esclarecerlo, si se tiene en cuenta que muchos adhesivos diseñados para la sutura están en muchos casos en contacto con el torrente sanguíneo, por lo que fue necesario diseñar un modelo experimental para conocer si luego de liberadas las cepas patógenas, ya sea debido a la acción enzimática o por intercambio con otras proteínas plasmáticas de mayor afinidad, estas cepas se mantienen viables o no. El objetivo fundamental de este trabajo fue establecer una metodología que representara de modo más fidedigno las condiciones de uso de los adhesivos.

## MÉTODOS

Los microorganismos empleados fueron *Staphylococcus aureus* ATCC 1045, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* de origen clínico procedentes del Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología (INHEM). Todos los cultivos fueron inoculados en tubos con agar nutriente y se incubaron a  $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. Se realizó una tinción de Gram para verificar la pureza de los cultivos y el conteo de viables en cada caso. Simultáneamente, se sembró 0,1 mL de sangre en placas con los medios Cled, tioglicolato de sodio y agar sangre, haciendo 2 réplicas de cada uno, para determinar crecimiento bacteriano.

Se prepararon 9 tubos con 4,5 mL de agua estéril. Se adicionó al primer tubo 0,5 mL de la suspensión bacteriana y se hicieron diluciones en el resto de los tubos tomando 0,5 mL de la dilución anterior con micropipeta, homogeneizándola en el tubo siguiente.

Se mezclaron en tubos de ensayos con tapa, previamente pesados tisuacryl o histoacryl más el inóculo de la última dilución en una proporción 1:1 (V/V), se dejaron polimerizar a temperatura ambiente y se conservaron a 4 °C por periodos de 1 mes, 15, 7 y 3 días. Al cabo de estos tiempos, se adicionaron a cada tubo 2 mL de sangre total estabilizada con citrato, fosfato, dextrosa, adenina (CPDA) para garantizar la actividad enzimática, ensayada previamente y encontrada negativa para sífilis, anticuerpos VIH 1+2, anticuerpos VHC y HBsAg. Los estudios se planificaron cronológicamente para emplear la misma bolsa de sangre de modo simultáneo. Se pesaron los tubos antes y después de cada procedimiento para determinar el porcentaje de degradación de la muestra polimérica en las condiciones experimentales.

Estos tubos se colocaron en una zaranda termostata a  $37 \pm 2$  °C durante 72 horas. Se preparó igualmente un control positivo, que consistió en una muestra de sangre inoculada directamente con la cepa, y un control negativo que contenía el material polimérico sin el inóculo. Se tomó 0,1 mL del sobrenadante de sangre de cada tubo y se sembró en placas de agar nutriente. Se efectuó la lectura de las placas al cabo de una semana de crecimiento. Los ensayos se efectuaron por triplicado.

### **Identificación bioquímica de las diferentes cepas<sup>7</sup>**

Para *Escherichia coli* se usó la fermentación de glucosa y lactosa, el ensayo de la producción del indol y el crecimiento en agar-citrato de Simmon.

Para *Pseudomonas aeruginosa* se efectuó una tinción de Gram, se sembró en medio agar-cetrimide, se hicieron las pruebas de la gota colgante, oxidasa y catalasa.

Para *Staphylococcus aureus* se usó la producción de coagulasa, producción de hemólisis, tinción de Gram, medio Hugh y Leifson y prueba de la DNAsa.

### **Estadística**

Se determinó el significado estadístico del porcentaje de degradación utilizando la prueba t de *Student* por comparación de las medias de los grupos y se empleó el método no paramétrico de los signos para determinar las diferencias entre el crecimiento bacteriano a 7 y 3 días entre el histoacryl y el tisuacryl.<sup>8</sup>

## **RESULTADOS**

### **Evaluación de la degradación del polímero**

En la [tabla 1](#) se observan los resultados de los porcentajes de degradación del polímero promedio para ambos adhesivos.

### **Evaluación del poder bactericida «in vitro»**

En la [tabla 2](#) se observan los resultados de los experimentos a diferentes intervalos. Para 30 y 15 días sólo se evaluó el tisuacryl. Para este material y a este intervalo

se detectó crecimiento en una placa de *Pseudomonas*, para 33 % de crecimiento respecto al total a 30 días y crecimiento en una placa de *Staphylococcus aureus*, para 33 % de crecimiento a los 15 días. A los 7 y 3 días se estudiaron los 2 adhesivos. En estas condiciones se detectó crecimiento para todas las cepas, excepto para *Escherichia coli* en el tisuacryl. Los mayores porcentajes de inhibición recaen en ambos casos sobre el histoacryl.

Los resultados estadísticos se muestran en la [tabla 3](#).

## DISCUSIÓN

La degradación resultó igual para ambos polímeros, independientemente de que el tiempo de polimerización del material y el porcentaje es elevado si se tiene en cuenta el corto periodo y la escasa superficie de contacto, pues la evaluación se efectuó en el bloque de polímero sin previa pulverización.

Los resultados estadísticos demostraron que para las condiciones experimentales y las concentraciones evaluadas, el tisuacryl presenta mayores propiedades bacteriostáticas que su homólogo comercial en el experimento no convencional «*in vitro*», pues se detectó diferencias significativas en el crecimiento bacteriano entre ambos adhesivos. En todos los experimentos «*in vitro*» se detectó inhibición para *Escherichia coli* con el tisuacryl, lo que demuestra que efectivamente, este material es capaz de inhibir el crecimiento de la cepa.

El conjunto de experimentos desarrollados corroboran que si bien los adhesivos a base de cianoacrilato muestran poder bacteriostático frente a determinadas cepas, no presentan poder bactericida, resultado que solo se pone de manifiesto cuando el polímero se somete a la degradación por las proteínas de la sangre pero no por los métodos convencionales, por lo que no se coincide con los criterios de *Kotsev y Matews*<sup>5,6</sup> de materiales autoestériles.

No se recomienda el uso de estos adhesivos en frascos multidosis que pueden transmitir infecciones evitables de paciente a paciente.

Los resultados demostraron que el modelo de ensayo fue adecuado para determinar que el tisuacryl resulta mejor biocida que su homólogo comercial, pues presenta actividad antibacteriana para *Escherichia coli* «*in vitro*». También se comprobó que la degradación para ambos productos es la misma, independientemente del tiempo de polimerización y que ninguno de los materiales presenta propiedades autoestériles.

## AGRADECIMIENTOS

A las compañeras Zulia Weng Alemán y Olvido Díaz Rosa del INHEM. A los compañeros del departamento de Microbiología del Instituto de Investigaciones de Medicina Tropical "Pedro Kourí" que hicieron posible la realización de una gran parte de los ensayos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Matthews SCW. Tissue bonding: the bacteriological properties of a commercially-available cyanoacrylate adhesive. *British Journal of Biomedical Science*. 1993; 50: 17-20.
2. Kotsev DL, Kabaivanov VS. Improvement and diversification of cyanoacrylate adhesives. *Adhesion*. 1987; 12: 82-105.
3. Müller R, Lherm C, Herbort J, Couvreur P. In vitro model for the degradation of alkylycyanoacrylate nanoparticles. *Biomaterials*. 1990; 11: 590-5.
4. Tseng YC, Tabata Y, Hyon SH, Ikada Y. In vitro toxicity test of 2-cyanoacrylate polymers by cell culture method. *Journal of Biomedical Materials Research*. 1990; 24: 1355-67.
5. Ciapetti G, Stea S, Cenni E, Sudanese A, Marraro D, Toni A, Pizzaferrato A. Cytotoxicity testing of cyanoacrylates using direct contact assay on cell cultures. *Biomaterials*. 1994; 15(1): 63-7.
6. Couvreur P. Polyalkylcyanoacrylates as colloidal drug carriers. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carriers Systems*. 1988; 5: 1-20.
7. Harrigan WF, McCance ME. *Métodos de laboratorio de Microbiología*. Madrid, España: Academia; 1968.
8. Siegel S. *Diseño experimental no paramétrico aplicado a las ciencias de la conducta*. La Habana, Cuba: Revolucionaria; 1970.

Recibido: 17 de octubre de 2005.  
Aprobado: 3 de octubre de 2006.

*María Elena Cañizares Graupera*. Centro de Biomateriales, Ave. Universidad entre Ronda y G, Vedado, Universidad de La Habana, Ciudad de La Habana, Cuba. E-mail: [mari@fq.uh.cu](mailto:mari@fq.uh.cu)  
Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Ciudad de La Habana, Cuba  
Instituto de Hematología e Inmunología, Ciudad de La Habana, Cuba

**Tabla 1.** Porcentaje de degradación del tisuacryl (T) y del histoacryl (H) frente a sangre humana total liberada a 37 °C durante 72 horas.

Muestra	% de degradación promedio	R	s
T	50,9 ± 2,8	49	9,6
H	47,4 ± 4,02	22	9,1

R (número de réplicas)  
s (desviación estándar)

**Tabla 2.** Análisis del crecimiento bacteriano posterior a la inmovilización de las cepas del inóculo con tisuacryl (T) e histoacryl (H) para intervalos de 30, 15, 7 y 3 días.

Cepa	Días	Producto	Control + UFC/ mL	n	Crecimientos	%
St.	30	T	$7,1 \times 10^3$	3	-	0
Ps.	30	T	$3,8 \times 10^3$	3	1	33,3
Ec.	30	T	$2,8 \times 10^3$	3	-	0
St.	15	T	$2,2 \times 10^4$	3	-	0
Ps.	15	T	$3,2 \times 10^4$	3	1	33,3
Ec.	15	T	$3,1 \times 10^4$	3	-	0
St.	7	T	$2,2 \times 10^4$	3	1	33,3
St.	7	H	I	3	2	66
Ps.	7	T	$3,0 \times 10^4$	3	1	33,3
Ps.	7	H	$3,1 \times 10^3$	3	2	66
Ec.	7	T	$2,0 \times 10^4$	3	-	0
Ec.	7	H	I	2	2(1*)	50
St.	3	T	$2,9 \times 10^4$	3	1	33,3
St.	3	H	I	3	3	100
Ps.	3	T	$9,2 \times 10^3$	3	-	0
Ps.	3	H	$3,0 \times 10^4$	3	3	100
Ec.	3	T	$3,4 \times 10^4$	3	-	0
Ec.	3	H	I	2	2	100

St (*Staphylococcus aureus*)  
Ps (*Pseudomonas aeruginosa*)  
Ec (*Escherichia coli*)  
UFC (unidades formadoras de colonias)  
I (incontables)  
\*(contaminante detectado)

**Tabla 3.** Evaluación estadística por el método no paramétrico de los signos para un intervalo de 7 y 3 días.

CEP A	Días	# de placas (H)	# de placas (T)	Dirección de la desviación	Signo
St	7	2	1	xH>xT	+
Ps	7	2	1	xH>xT	+
Ec	7	1	0	xH>xT	+
St	3	3	1	xH>xT	+
Ps	3	3	0	xH>xT	+
Ec	3	3	0	xH>xT	+

St (*Staphylococcus aureus*)  
 Ps (*Pseudomonas aeruginosa*)  
 Ec (*Escherichia coli*)