

EFICACIA ANTIMICROBIANA DE UN APÓSITO ANTI-BIOFILM Y DE APÓSITOS QUE CONTIENEN PLATA EN UN MODELO DE BIOFILM *IN VITRO* MADURO

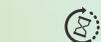
Investigación *in vitro* donde el apósito AQUACEL® Ag+ Extra™ fue comparado con tres apósitos de plata en su capacidad para eliminar biofilms maduros producidos por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a antibiótico y *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (CA-SARM).

Creación del biofilm

- *Pseudomonas aeruginosa*
- SARM



a 35(±)3°C

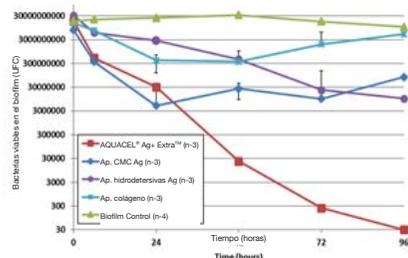


durante 48 horas



→ lavado

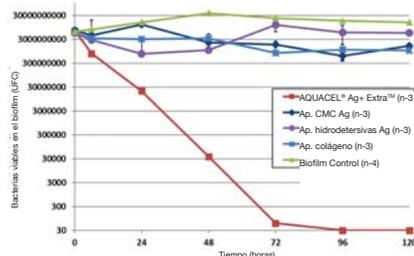
Comportamiento de los diferentes apósitos frente a un biofilm de *P. aeruginosa*



El gráfico muestra el tratamiento del biofilm durante 96 horas para los apósitos AQUACEL® Ag+ Extra™, apósito de CMC con Ag, apósito de fibras hidrodetersivas con Ag y apósito de colágeno, CMO y plata, frente al biofilm BLAE de *P. aeruginosa*. El control del biofilm también está mostrando para la viabilidad del biofilm durante este periodo de prueba.

Comportamiento de los diferentes apósitos frente a un biofilm de SARM

El gráfico muestra el tratamiento durante 120 horas (día 5) para AQUACEL® Ag+ Extra™, apósito de CMC Ag, apósito de fibras hidrodetersivas con plata, y apósito de colágeno frente a un biofilm de CA-SARM. El control de biofilm muestra la viabilidad del biofilm durante el periodo de prueba.



Todos los apósitos utilizados en este estudio *in vitro* afirman tener actividad anti-biofilm. Los datos generados en este modelo de desafío de biofilm maduro *in vitro*, que estimula varias de las características físicas de una herida colonizada de biofilm, ilustra:

- Eficacia *in vitro* diferente respecto a los distintos apósitos frente a biofilm de diferentes especies bacterianas.
- El apósito AQUACEL® Ag+ Extra™ fue el más efectivo reduciendo el biofilm de *Paeruginosa* durante el periodo de prueba en comparación con el resto de apósitos.
- El apósito AQUACEL® Ag+ Extra™ fue el más efectivo reduciendo el biofilm de SARM durante el periodo de prueba en comparación con el resto de apósitos, los cuales mostraron actividad mínima.

Poster presentado en EWMA 2018

© 2018 ConvaTec Inc. AP-019593-ES AG+1803

©/™ Todos los apósitos son propiedad de sus respectivos dueños

APÓSITOS AQUACEL® AG+: LA COMBINACIÓN DEL LEGADO CLÍNICO, CON LAS PROPIEDADES ÚNICAS DE LA TECNOLOGÍA HYDROFIBER® Y LA TECNOLOGÍA AG+.



Los apósitos AQUACEL® Ag+ presentan actividad bactericida. Los apósitos AQUACEL® Ag han demostrado ampliamente su capacidad bactericida, tanto en estudios *in vitro*⁴, así como en estudios clínicos

realizados tanto en heridas crónicas como en heridas agudas⁵⁻¹⁵. Estos estudios incluyen estudios randomizados comparativos frente al estándar de tratamiento en diferentes indicaciones, y donde se puede observar la superioridad del uso de AQUACEL® Ag frente a los distintos tratamientos⁹⁻¹¹.

La tecnología Hydrofiber®, presente en la capa de contacto con la herida del apósito AQUACEL® Ag, ha demostrado una total microadaptación a la superficie de la herida. Esa microadaptación permite que la efectividad antimicrobiana sea mayor que la que se puede obtener con otros apósitos antimicrobianos¹⁶⁻¹⁸.



Además, gracias a que la capa de contacto con la herida es de Hydrofiber®, podemos asegurar la captación de las bacterias del exudado dentro de las propias fibras.¹⁹ Y podemos observar como las bacterias que han quedado atrapadas en las fibras empiezan a morir al cabo de pocos minutos²⁰. La plata iónica es efectiva frente a bacterias aerobias, anaerobias, levaduras y hongos.

Los apósitos AQUACEL® Ag+ presentan además EDTA y cloruro de benzonio (BeCl)²¹⁻²³. La combinación del EDTA y el BeCl previene la formación / reformación del biofilm e incrementa la eficacia de la plata respecto a los microorganismos.

Esto es debido a que:

- El EDTA arrebató los iones magnesio y calcio que son los que permiten que la estructura del biofilm permanezca íntegra, consecuentemente el biofilm pierde su integridad, haciendo a la bacteria más susceptible a la acción de la plata.
- El BeCl es un surfactante, que rompe el limo del biofilm (sin dañar el tejido humano) y reduce la tensión superficial de la pared bacteriana haciendo a la bacteria más receptiva a la plata.

Los apósitos AQUACEL® Ag+ actúan controlando el exudado y reduciendo el riesgo de infección en la herida. El apósito altera y destruye el biofilm, ayudando a que las defensas del huésped vuelvan a tener el control y evitando que se vuelva a formar el biofilm.

ABORDAJE DE:

- EXUDADO
- INFECCIÓN
- BIOFILM

EL BIOFILM ESTÁ PRESENTE EN LA MAYORÍA DE HERIDAS ESTÁTICAS, Y PUEDE SER UNA CAUSA CLAVE DEL RETRASO DE LA CICATRIZACIÓN DE LA HERIDA Y UNA PRECURSORA DE LA INFECCIÓN

Bibliografía

1. Neil M, Vine G, Beezer A et al. Antimicrobial properties of silver-containing wound dressings: a microcolimetric study. *International Journal of Pharmaceutics* 263 (2003) 61-68.
2. Tachi M, Hirabayashi S, Yonehara Y. Comparison of bacteria retaining ability of absorbent wound dressings. *International Wound Journal* 2004; 1 (2): 177-181.
3. Bowler P, Jones S et al. Microbiological properties of a silver containing Hydrofiber dressing against a variety of burn wound pathogens. *Journal of Wound Care and Rehabilitation* 2004; 25 (2): 192-196.
4. Parsons D, Bowler P, Miles V. Silver antimicrobial dressings in Wound Management: A Comparison of antibacterial, physical and chemical characteristics. *Wounds* 2005; 17 (8): 222-232.
5. Vanscheidt W, Lazaretti I et al. Safety evaluation of a new ionic silver dressing in the management of Chronic Ulcers. *Wounds* 2003; 15 (11): 371-378.
6. Coutts P, Sibbald R. The effect of silver-containing Hydrofiber dressing on superficial wound bed and bacterial balance of chronic wounds. *International Wound Journal* 2005; 2 (4): 348-356.
7. Caruso D, Foster K, Hermans M. AQUACEL Ag in the management of Partial-Thickness burns: results of a clinical trial. *Journal of Wound Care and Rehabilitation* 2004; 25 (1): 88-97.
8. Kang T-C, Ju-Yung Y, Meng-shi L. The application of AQUACEL Ag in Partial Thickness burns. *Journal of Plastic Association, Republic of China*. 2005; Vol 14 (4): 334-345.
9. Caruso D, Foster K, Blome-Eberwein S. Randomized clinical study of Hydrofiber dressing with silver or silver sulfadiazine in the management of Partial Thickness burns. *Journal of Wound Care and Research* 2006; 27 (3): 298-309.
10. Jurczak F, Dugre T et al. Randomized clinical trial of Hydrofiber dressing with silver versus povidone iodine gauze in the management of open surgical and traumatic wounds. *International Wound Journal* 2007; 4 (1): 66-76.
11. Jude E, Apoloyes J et al. Prospective randomized controlled study of Hydrofiber dressing containing ionic silver or calcium alginate dressings in non-ecthymous diabetic foot ulcers. *Diabetic Medicine* 2007; 24: 280-288.
12. Lazaro Martinez JL, Garcia Morales E, Garcia Alvarez Y et al. Uso de un nuevo apósito de plata en úlceras de pie diabético. Poster presentado en EWMA 2014.
13. Lopez S, Lazaro M. Rompiendo el biofilm. La eficacia de una nueva hidrofibra de hidrocelulosa que elimina el biofilm, acelerando la resolución de una lesión crónica. Poster presentado en SENHER 2015.
14. Lopez Herrero J, Martinez Gonzalez M, Sanchez Garcia A. Utilización de un nuevo apósito con surfactante y EDTA en úlceras por presión en lazo con biofilm. Poster presentado en SENHER 2015.
15. Rubio Medina A, Gomez Calero JM. Aplicación de un apósito antimicrobiano con EDTA y BeCl en lesiones con biofilm. Poster presentado en OEAUPP 2016.
16. Jones S, Bowler P et al. Antimicrobial activity of silver containing dressings is influenced by dressing conformability to a wound surface. *Wounds* 2005; 17 (8): 263-270.
17. Walker M, Jones S, Parsons D et al. Evaluation of low adherence antimicrobial dressings. *Wounds UK* 2011; 7 (2): 18.
18. Bowler P, Jones S, Towers S et al. Product focus: dressing conformability and silver containing wound dressings. *Wounds UK* 2010; 6 (2): 19.
19. M. Walker, J.A. Hobbs, G.R. Newman, P.G. Bowler. Scanning electron microscopic examination of bacterial immobilisation in a carbonylmethyl cellulose (AQUACEL) and alginate dressings. *Biomaterials* 24 (2003) 883-890.
20. Newman G, Walker M, Hobbs J. Visualisation of bacteria sequestration and bactericidal activity within hydrating Hydrofiber wound dressing. *Biomaterials* 2006; 27: 1129-1139.
21. Bowler P, Parsons D. Combating wound biofilm and recolonization with a novel anti-biofilm Hydrofiber wound dressing. *Wound Medicine* 2016; 14: 6-11.
22. Metcalf D, Parsons D, Bowler P. Development of a next generation antimicrobial wound dressing. *Acta Med Croatica* 2016; 70: 49-56.
23. Una nueva generación de apósitos antimicrobianos: AQUACEL® Ag+ Extra™, crítica. *Wounds Internacionales*. 2014 (Supra).

EFICACIA ANTIMICROBIANA DE UN APÓSITO ANTI-BIOFILM Y DE APÓSITOS QUE CONTIENEN PLATA EN UN MODELO DE BIOFILM *IN VITRO* MADURO

Kate Meredith PhD, científica senior; Nicola Burke BSc, investigadora científica; Helen Brownley BSc, Investigadora científica, Victoria Rowlands BSc, científica senior; Victoria Towers HND, asesora científica; Sarah Welsby BSc, Manager de microbiología; todo el departamento de microbiología; Phil Bowler MPhil, Vice-presidente Ciencia y Tecnología ConvaTec UK.

Introducción

- La mayor sensibilización de las implicaciones del biofilm en heridas está apoyada en una creciente base de evidencia, y el biofilm es, actualmente, considerado una de las barreras locales clave para la cicatrización de la herida¹.
- En ausencia de instrumentos específicos para combatir el biofilm en heridas, la práctica clínica habitual se centra ante todo en buenas técnicas de preparación del lecho de la herida y en el uso de apósitos antimicrobianos¹.
- Recientemente, un apósito antimicrobiano de nueva generación (el apósito AQUACEL® Ag+ Extra™) ha introducido la incorporación de una combinación de componentes antibiofilm y de agentes antimicrobianos, que han demostrado *in vitro* que trabajan en sinergia para aumentar la susceptibilidad de las bacterias del biofilm a la acción eliminadora de la plata iónica².

Objetivo

- En esta investigación *in vitro*, el apósito AQUACEL® Ag+ Extra™ fue comparado con tres apósitos de plata en su capacidad para eliminar biofilms maduros de BLAE (beta-lactamasa de amplio espectro) producidos por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a antibiótico y *Staphylococcus aureus* resistente a la metilicina (CA-SARM).

Métodos

PREPARACIÓN DEL BIOFILM:

- Se inocularon suspensiones separadas de cada microorganismo en caldo de triptona de soja (TS)/suero fetal bovino (50/50 v/v) para conseguir una última concentración de aproximadamente 1×10^8 UFC/ml.
- Se añadieron muestras de gasa N-A de 44 mm de diámetro (sustratos de biofilm) a dichas suspensiones.
- Estos fueron incubados a $35(\pm)3^\circ\text{C}$ durante 48 horas en una incubadora agitadora.
- Siguiendo la incubación, los sustratos del tejido de biofilm fueron lavados en un 0,85% de suero para retirar las bacterias planctónicas.
- Se realizó el recuento viable total (RVT) en el tejido de biofilm para confirmar el nivel de este.

Configuración del ensamblaje de la herida

- Se prepararon modelos de herida que consistieron en: una placa de plexiglás cubierta de cuero porcino (simulando la piel perilesional), que rodeaba una placa central de contacto insertada de TS y de 55 mm de diámetro (simulando un lecho de herida húmedo con un depósito de nutrientes isotónicos), sosteniendo el tejido de biofilm (Figura 1).
- El área de la herida fue cubierta por el apósito primario de prueba y con un apósito secundario estándar ($n=3$ para cada punto de tiempo) (Tabla1).

Los modelos de la prueba fueron incubados a $35(\pm)3^\circ\text{C}$.

Se incluyó un tejido con colonización de biofilm sin apósito como control para supervisar la viabilidad del biofilm en el mismo periodo ($n=1$ para cada punto de tiempo).

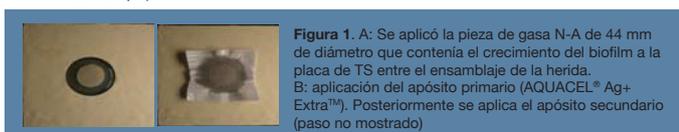


Figura 1. A: Se aplicó la pieza de gasa N-A de 44 mm de diámetro que contenía el crecimiento del biofilm a la placa de TS entre el ensamblaje de la herida. B: aplicación del apósito primario (AQUACEL® Ag+ Extra™). Posteriormente se aplica el apósito secundario (paso no mostrado)

RVT:

- Siguiendo la incubación, los RVTs fueron realizados en todas las configuraciones de prueba y controles.
- Los apósitos de prueba se retiraron y los sustratos de tejido de biofilm se homogeneizaron separadamente (para liberar las bacterias del biofilm) en un fluido neutralizante (para neutralizar la actividad antimicrobiana residual).

Microscopio confocal de barrido láser (MCBL)

- Los biofilms en t_0 hr fueron examinados mediante MCBL para establecer la presencia de biofilm.
- Se usó BacLigh® (Live/Dead stain™) para teñir las bacterias del biofilm mediante el procedimiento descrito por el fabricante (figuras 2 y 4).

Nombre genérico / Apósito primario	Aprósito secundario	Cambio de apósito	Medidas de tiempo y organismos testados
AQUACEL® Ag+ Extra™	Film Tegaderm™	No	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente a antibiótico (NCTC 13437)-6, 24, 48, 72 y 96 horas
Aprósito de fibras hidrodeterativas con Ag	Film Tegaderm™	No	
Aprósito de CMC con Ag	Film Tegaderm™	No	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la metilicina (CA-SARM): USA300- 6, 24, 48, 72, 96 horas y 5 días.
Aprósito de colágeno, celulosa oxidada regenerada y plata	Aprósito Hidropolímero Tielle®	No	

Tabla 1. Pruebas de apósitos. #-Según las instrucciones del fabricante. ***Según el fabricante, el apósito fue replicado si fue necesario (p.e: cuando el apósito fue biodegradado dentro de la herida *in vitro*). Esto fue realizado en unos intervalos de 48 horas durante la prueba.

Poster presentado en EWMA 2018.

Resultados

Actividad anti-biofilm frente BLAE a *P. aeruginosa*.

Siguiendo la aplicación del apósito, el apósito AQUACEL® Ag+ Extra™ fue el único que consiguió una disminución de las bacterias del biofilm a un bajo nivel detectable a lo largo del periodo de prueba (Figura 3) - una reducción aproximada de $9 \log_{10}$ en 96 horas. Aunque algunos de los otros apósitos mostraron alguna reducción en números, ninguna alcanzó una mayor reducción que $4 \log_{10}$ durante todo el periodo de prueba. El número de bacterias en el biofilm viables en el apósito de fibras hidrodeterativas con Ag mostró alguna disminución a lo largo del tiempo, pero el apósito de CMC con Ag y el apósito de colágeno, CMO y plata mostraron una disminución inicial seguida por un lento aumento del número de bacterias en el biofilm. Esto indica que el apósito AQUACEL® Ag+ Extra™ fue el más eficaz reduciendo el biofilm de *P. aeruginosa* en comparación con los demás apósitos analizados.

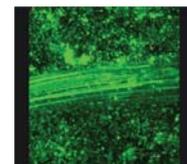
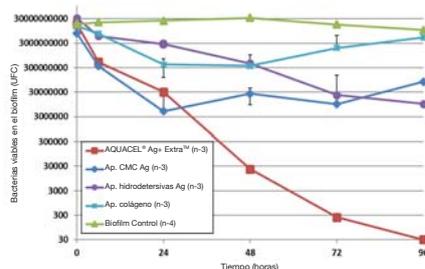


Figura 2. Imagen de biofilm BLAE *P. aeruginosa* en una gasa N-A en la hora T_0 , antes del tratamiento con apósitos. Las bacterias se han teñido con LIVE/DEAD® BacLigh™ que tiñe de verde las bacterias vivas y de rojo las bacterias muertas.

Figura 3. El gráfico muestra el tratamiento del biofilm durante 96 horas para los apósitos AQUACEL® Ag+ Extra™, apósito de CMC con Ag, apósito de fibras hidrodeterativas con Ag y apósito de colágeno, CMO y plata, frente al biofilm BLAE de *P. aeruginosa*. El control del biofilm también está mostrado para la viabilidad del biofilm durante este periodo de prueba.

Actividad anti-biofilm frente a CA-SARM

Siguiendo la aplicación de apósitos, el apósito AQUACEL® Ag+ Extra™ fue el único que consiguió una disminución de las bacterias del biofilm a un bajo nivel detectable durante el periodo de prueba entero (Figura 5) - aproximadamente una reducción de $10 \log_{10}$ en 96 horas. La reducción del biofilm en presencia de los otros apósitos de plata fue mínima, todos mostraron una reducción $< 3 \log_{10}$ durante todo el periodo de prueba, y el número de bacterias del biofilm viables, permaneció constante, sin disminuir, y en algunos casos aumentó. Esto indica que el apósito AQUACEL® Ag+ Extra™ fue el más efectivo reduciendo el biofilm de CA-SARM en comparación con los demás apósitos analizados.

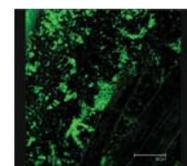
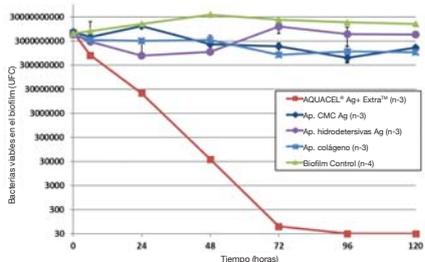


Figura 4. Imagen T_0 de biofilm de SARM en gasa N-A previo al tratamiento con los apósitos. Las bacterias se teñen con LIVE/DEAD® BacLigh™ tiñéndose de verde cuando están vivas y de rojo cuando están muertas.

Figura 5. El gráfico muestra el tratamiento durante 120 horas (día 5) para AQUACEL® Ag+ Extra™, apósito de CMC con Ag, apósito de fibras hidrodeterativas con plata, y apósito de colágeno frente a un biofilm de CA-SARM. El control de biofilm muestra la viabilidad del biofilm durante el periodo de prueba.

Conclusión

Todos los apósitos utilizados en este estudio *in vitro* afirman tener actividad anti-biofilm. Los datos generados en este modelo de desafío de biofilm maduro *in vitro*, que estimula varias de las características físicas de una herida colonizada de biofilm, ilustra:

- Eficacia *in vitro* diferente respecto a los distintos apósitos frente a biofilm de diferentes especies bacterianas.
 - Aunque algunos apósitos (apósito de CMC con Ag, y apósito de colágeno-CMO-plata) mostraron actividad inicial contra el biofilm BLAE de *P. aeruginosa*, fueron incapaces de mantener ese nivel o reducir la cantidad a niveles indetectables.
 - El apósito AQUACEL® Ag+ Extra™ fue el más efectivo reduciendo el biofilm de *P. aeruginosa* durante el periodo de prueba en comparación con el resto de apósitos.
 - El apósito AQUACEL® Ag+ Extra™ fue el más efectivo reduciendo el biofilm de CA-SARM durante el periodo de prueba en comparación con el resto de apósitos, los cuales mostraron actividad mínima.
- Este estudio *in vitro* indica que los apósitos que contienen una combinación de agentes antimicrobianos y anti-biofilm pueden ofrecer beneficios en la gestión de heridas estancadas por el biofilm.