

## ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL COBRE EN UN SISTEMA DINÁMICO DE AGUA CONTRA BACTERIAS CAUSANTES DE INFECCIONES ASOCIADAS A LA ATENCIÓN EN SALUD

Ericka Magdalena León Guerrero<sup>1</sup>, Juan Luis Mosqueda Gómez<sup>2</sup>

### RESUMEN

Las infecciones hospitalarias son un problema para las instituciones de salud. La falta de agua de calidad en los hospitales es una de las fuentes de dichas infecciones. El cobre posee actividad bactericida, sin embargo está no ha sido probada en condiciones similares a las tuberías. Realizamos un estudio para determinar la actividad bactericida del cobre en sistemas acuosos dinámicos. No se observó sobrevida bacteriana después de 2hrs de contacto. El cobre puede ayudar a disminuir la carga bacteriana en el agua, pero se debe considerar que se requiere un tiempo prolongado de contacto.

### PALABRAS CLAVE

Infección nosocomial, superficies con actividad bactericida, control de infecciones.

## INTRODUCCIÓN

En la naturaleza existen distintos metales que presentan actividad antimicrobiana, como lo es el cobre, la plata y el zinc (Ameer 2012). El cobre en altas concentraciones, induce inhibición del crecimiento bacteriano, esto debido a que los radicales hidroxilos y sus intermediarios causan su destrucción mediante la peroxidación de lípidos y de proteínas, destruyendo la membrana celular de la bacteria, por lo que se pierde su contenido citoplasmático, además de que se altera la estructura del Ácido Desoxirribonucleico (ADN), lo cual culmina en muerte celular. Por otra parte, los iones de cobre inactivan proteínas al alterar los enlaces entre el hierro y el azufre (Fe-S), lo que implica la sustitución de iones esenciales ocasionando el bloqueo de grupos funcionales en enzimas (Faúndez 2004, Noyce 2006, Espíritu 2010, Grass 2011).

La prevención de las Infecciones Asociadas a la Asistencia en Salud (IAAS) depende de múltiples intervenciones, una fundamental es la provisión de agua de calidad en los hospitales. Contrario a lo esperado del agua en las instituciones de atención a la salud, se ha demostrado que el agua del grifo puede ser una fuente de IAAS. Por lo tanto, aunque se realizan prácticas de higiene de manos, una ruta para la transmisión de estos organismos del agua al paciente es a través de las manos higienizadas con agua que no cumple con los parámetros de calidad (Macías 1999).

Una propuesta para disminuir la incidencia y prevalencia de IAAS es el uso de cobre en las tuberías de distribución de agua; está demostrado que el cobre posee actividad antimicrobiana en superficies secas y en soluciones acuosas, pero no existe evidencia clara acerca de su actividad antimicrobiana en contacto con bacterias suspendidas en líquidos en movimiento por lo que se desconoce su efectividad y tampoco existe evidencia acerca de esta actividad antimicrobiana contra patógenos causantes de IAAS suspendidos en líquidos en movimiento.

La introducción del cobre a los sistemas de tuberías de agua en los hospitales es una medida complementaria que puede ayudar a la eliminación de bacterias en el agua que son potencialmente agentes causales de IAAS.

## MÉTODOS Y MATERIALES

Estudio experimental, in vitro, cegado a la medición, para determinar la sobrevivencia de bacterias de importancia para el desarrollo de infecciones asociadas a la atención en salud, en sistemas dinámicos de agua desionizada, con interacción con cantidades variables de cobre.

Por tratarse de un estudio experimental in vitro con cepas microbiológicas no se determinó tamaño de la muestra, pues se trabajará por conveniencia con cepas aisladas intencionadamente en el Laboratorio de microbiología del Departamento de Medicina y Nutrición de la Universidad de Guanajuato.

## CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Para el estudio se incluirán cepas de determinados microorganismos aislados de muestras biológicas de pacientes del Hospital General Regional de León (HGRL) que son enviadas al Laboratorio de Microbiología, del Departamento de Medicina y Nutrición, perteneciente a la Universidad de Guanajuato. Además se incluirán algunas cepas control del American Type Culture Collection (ATCC) que han sido protegidas con glicerol y mantenidas a temperatura ambiente; las cepas control son la segunda resiembra de la cepa original.

Los microorganismos a incluir serán: 1) *Escherichia coli*, (ATCC 700603); 2) *E. coli* productora de betalactamasas de espectro extendido; 3) *Pseudomona aeruginosa* (ATCC 27853); 4) *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina; 5) *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212)

Se excluirán las cepas microbianas en cuyas placas de agar se encuentren más de un tipo de morfología en las colonias, ya que esto sugiere contaminación.

### 1.- Preparación de suspensiones bacterianas.

Se prepara una solución con agua desionizada, con la que se realiza una suspensión directa de colonias hasta lograr una turbidez de 0.5 unidades de Mc Farland (aproximadamente equivalente a  $1.5 \times 10^8$  Unidades Formadoras de Colonias por mililitro –UFC/mL-). Para asegurar una correcta dispersión de las bacterias en el volumen, las muestras se agitan con un mezclador de vórtice (Vortex-Genie 2, Scientific Industries, Inc.), durante 5 minutos.

De esta suspensión se toman 100  $\mu$ L con una pipeta para colocarlos en un tubo de ensaye y se agregarán 9 900  $\mu$ L de agua desionizada para obtener un volumen total de 10 mL con una dilución de 1:100; la muestra se volverá a colocar en mezclador de vórtice durante 5 minutos. Esta suspensión se vierte en una probeta a la cual se le agregan 90 mL de agua desionizada para tener una dilución de 1:1000; con esta nueva dilución se pasará la suspensión a un vaso de precipitado de 250 mL para colocarla sobre un agitador magnético a 1000 revoluciones/ minuto durante 10 minutos. El volumen obtenido se divide en 4 alícuotas de 25 mililitros.

### 2.- Sistemas dinámicos de agua

La suspensión se introduce en 4 cajas de Petri de cristal con un diámetro de 16 cm, cada una de las cuales contendrá distinta cantidad de cobre medida en centímetros cuadrados ( $\text{cm}^2$ ). El cobre que se utilizará se manejará a través de placas de 1 cm de alto por x longitud, dándonos como resultado x  $\text{cm}^2$  de cobre en cada sistema.

Control: sistema control que consiste en una caja de Petri con 25 mL de solución.

Sistema 1: caja de Petri con 25 mL de solución más 1 tira de cobre de 5 centímetros (cm) de largo con un área de  $10\text{cm}^2$ .

Sistema 2: caja de Petri con 25 mL de solución más 1 tira de cobre de 10 centímetros (cm) de largo con un área de  $20\text{cm}^2$ .

Sistema 3: caja de Petri, 25 mL de solución y 1 tira de cobre de 15 cm de largo con un área de 30cm<sup>2</sup>.

Sistema 4: caja de Petri con 25 mL de solución más 1 tira de cobre de 25 cm de largo con un área de 50cm<sup>2</sup>.

Estas cajas de Petri se colocan en un agitador rotatorio marca Felisa®, donde se mantienen las soluciones en movimiento y se recolectaran muestras de 1 microlitro ( $\mu\text{L}$ ) a los 0, 5, 15, 30, 60 y 120 minutos.

Para la limpieza de los sistemas, se hace un lavado con agua y jabón de cada una de las cajas y tiras de cobre, posteriormente son empaquetados para ser introducidos en un sistema de autoclave por 20 minutos para su esterilización.

### 3.- Métodos microbiológicos.

Las alícuotas de 1  $\mu\text{L}$  tomadas de los sistemas se siembran en placas de agar sangre (BBL®, Beckton-Dickinson®, México) de manera semicuantitativa y son incubadas en una estufa microbiológica (Yamato IC600) durante  $24\pm 4$  horas a una temperatura de  $35\pm 1^\circ\text{C}$ . Una vez terminada la incubación de las muestras se realiza el conteo de las UFC sobrevivientes y se vierten los datos en la bitácora correspondiente.

### 4.- Niveles de Cobre y cuentas microbianas

Se generan 4 sistemas en los que la cantidad de cobre en relación al agua sea similar a la de nuestros sistemas de tal manera que se puedan manejar muestras de 250 mL de agua desionizada, que se colocaran sobre el agitador rotatorio; se tomarán muestras de 250 mL de agua a los 0, 5, 15, 30, 60 y 120 minutos y se almacenarán en recipientes de plástico para posteriormente ser enviados al Laboratorio Estatal de Salud Pública del estado de Guanajuato en donde se medirán niveles de cobre de la muestra a los 120 minutos.

### 5.- Análisis de datos

Con los datos obtenidos se construirán las curvas de crecimiento para cada microorganismo, utilizando la transformación logarítmica de los datos y para cada una de las curvas, tomar 1 como la unidad.

Las curvas de sobrevida se harán con el programa EXCEL de la suite informática Office® de Microsoft® versión 2010. La determinación de las diferencias entre las medias muestrales de nuestros 4 sistemas se hará a través de la prueba Kruskal-Wallis dependiendo de la distribución.

## RESULTADOS

A las 2 hrs de contacto con cobre existió un descenso en las UFC del 54% (rango intercuartílico de 15-79%) en el control, del 75% (RIC: 59-100%) con 10 cm<sup>2</sup> de superficie de cobre, del 99% (RIC de 95-100%) con 20 cm<sup>2</sup> de cobre y del 100% (RIC de 99-100%) con 30 cm<sup>2</sup> de cobre. A las dos horas de contacto se encontraron diferencias entre los grupos ( $X=11.0$ ;  $p=0.01$ ), mediante pruebas post hoc se encontró que no había diferencias entre los sistemas con 20 y 30 cm<sup>2</sup>, mientras que el control era diferente de los sistemas con cobre.

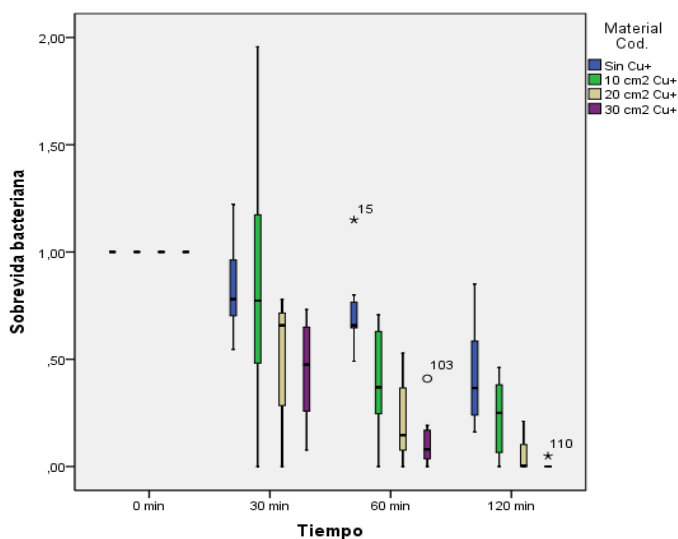


Figura 1. Dispersión porcentual del crecimiento bacteriano a lo largo del tiempo.

## CONCLUSIONES

Las bacterias en contacto con el cobre no presentaron sobrevivencia a las 2 hrs de contacto. Consideramos que el cobre en las tuberías de distribución de agua no sustituye a la cloración del agua, toda vez que se requiere de superficies amplias y tiempo suficiente de contacto con el metal; sin embargo, consideramos que el diseño de sistemas purificadores de agua que contengan cobre podrían ser coadyuvantes en el objetivo de conseguir agua de calidad dentro de los hospitales.

## REFERENCIAS

- ACCN. American Association of Critical Care Nurses. Practice Alert: Bathing the Adult Patient. Actualizada: 2013 [Fecha de consulta: 15 de mayo del 2013]. Disponible en: <http://www.aacn.org/>
- Ameer A, Arham A, Mohammad O, Mohammad SK, Sammi H, Adnan M. Antimicrobial activity of metal oxide nanoparticles against Gram-positive and Gram-Negative bacteria: a comparative study. *International Journal of Nanomedicine*. 2012;7:6003-6009.
- Cervantes-Martínez H., Álvarez-Canales JA, Macías AE. Actividad Antimicrobiana del cobre in vitro contra patógenos hospitalarios causantes de infecciones nosocomiales en solución acuosa. En prensa.
- Donlan RM. Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis*. 2002;8(9):881-90.
- EPA. Environmental Protection Agency. EPA registers copper-containing alloy products Actualizada: mayo del 2008 [Fecha de consulta: 3 de noviembre del 2012]. Disponible en: <http://www.epa.gov/pesticides/factsheets/copper-alloy-products.htm>
- Espirito C, Wen E, Elowsky C, Quaranta D, Domaille D, Chang C, Grass G. Bacterial Killing by Dry Metallic Copper Surfaces. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77(3):794-802.
- Faúndez G, Troncoso M, Navarrete P, Figueroa G. Antimicrobial activity of copper surfaces against suspensions of *Salmonella enterica* and *Campylobacter jejuni*. *Bio Med Central*. 2004;4
- Grass G, Rensing C, Solioz M. Metallic Copper as an Antimicrobial Surface. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77(5):1541–1547.
- Hyun-Jung J, Young-June C, Jong-Ok K. Effects of diverse water pipe materials on bacterial communities and water quality in the annular reactor. *J Microbiol Biotechnol*. 2011;21(2):115–123.
- INCMNSZ. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Medición de la prevalencia de Infecciones Nosocomiales en Hospitales Generales de las Principales Instituciones Públicas de Salud. Actualizado: 11 de noviembre de 2011 [Fecha de consulta: 29 de octubre del 2012]. Disponible en: [http://www.dged.salud.gob.mx/contenidos/dess/descargas/NOSOCOM\\_EXT.pdf](http://www.dged.salud.gob.mx/contenidos/dess/descargas/NOSOCOM_EXT.pdf)
- Macías AE, Monroy R, Muñoz JM, Medina H, Ponce de León S. Cloración y contaminación bacteriana. Aguas turbulentas en los Hospitales. *Rev Invest Clin* 2006;58(5):470-474.
- Macías AE, Muñoz JM, Bruckner DA, Galván A, Rodríguez AB, Guerrero FJ, Medina H, Gallaga JC, Cortés G. Parenteral infusions bacterial contamination in a multi-institutional survey in México: Considerations for nosocomial mortality. *Am J Infect Control*. 1999;27:285-290.
- Macías AE, Ponce S. Infecciones Hospitalarias. Manual para su prevención y control 1ª ed. Instituto de Salud Pública del Estado de Guanajuato. 2000.
- Navarrete-Navarro S, Armengol-Sánchez G. Costos secundarios por infecciones nosocomiales en dos unidades pediátricas de cuidados intensivos. *Salud pública de México*. 1999;4(1):51-58.
- Nazar J. Biofilms bacterianos. *Rev Otorrinolaringol Cir Cabeza y cuello*. 2007;67:61-72.
- Noyce JO, Michels H, Keevil CW. Potential use of copper surfaces to reduce survival of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the healthcare environment. *J Hosp Infect*. 2006;63:289-297.
- OMS. Organización Mundial de la Salud. Prevención de las Infecciones Nosocomiales, Guía Práctica. Actualizada: año 2003. [Fecha de consulta: 16 de septiembre del 2011]. Disponible en: [http://www.who.int/csr/resources/publications/ES\\_WHO\\_CDS\\_CSR\\_EPH\\_2002\\_12.pdf](http://www.who.int/csr/resources/publications/ES_WHO_CDS_CSR_EPH_2002_12.pdf)
- OMS. Organización Mundial de la Salud. Prevención de las Infecciones Nosocomiales, Guía Práctica. Actualizada: año 2003. [Fecha de consulta: 16 de septiembre del 2011]. Disponible en: [http://www.who.int/csr/resources/publications/ES\\_WHO\\_CDS\\_CSR\\_EPH\\_2002\\_12.pdf](http://www.who.int/csr/resources/publications/ES_WHO_CDS_CSR_EPH_2002_12.pdf)
- Pegues D, Arathoon E, Samayoa B, Del Valle G, Anderson R, Riddle F. Epidemic gram-negative bacteremia in a neonatal intensive care unit in Guatemala. *Am J Infect Control*. 1994;22(3):163-171.
- Thomas JG, Nakaishi LA. Managing the complexity of a dynamic biofilm. *J Am Dent Assoc*. 2006;137:10-15.
- WHO. World Health Organization. World Alliance for Patient Safety. Forward Program 2005.
- WHO. World Health Organization. Guidelines on Hand Hygiene in Health Care. Actualizada: año 2009 [Fecha de consulta: 15 de octubre del 2012]. [wd/practice/content/bathing-practice-alertredirect.content?menu=practice](http://www.who.int/practice/content/bathing-practice-alertredirect.content?menu=practice)