

Caracterización de un apósito a base de celulosa bacteriana para la administración de antibióticos

Alvarez, Alejandro

2022-12-02

<https://hdl.handle.net/20.500.11777/5586>

<http://repositorio.iberopuebla.mx/licencia.pdf>

Caracterización de un apósito a base de celulosa bacteriana para la administración de antibióticos

Alvarez Flores Alejandro (noveno semestre en Ingeniería Biomédica)^{1*}, Patiño Vélez Daniela (noveno semestre en Ingeniería Biomédica)¹, Veles Bustillos Andrea (noveno semestre en Ingeniería Biomédica)¹, Acevedo Escalante Manuel F. (profesor responsable)¹, Ramírez Rodríguez Rocío (profesora asesora)¹, Romero de la Vega Gregorio (profesor asesor)¹.

¹Universidad Iberoamericana Puebla, San Andrés Cholula, Puebla, México

Resumen

El presente trabajo aborda el desarrollo de apósitos de celulosa bacteriana (CB) para la administración de amoxicilina. Este proyecto comprendió dos etapas: el procesamiento de CB y la caracterización de los apósitos. La primera etapa constó de 4 tratamientos, empleando como base suero de leche para la obtención de CB y la combinación de 2 formulaciones (CB al 100% y CB + Glicerina (Gli) al 4.75% p/p) y 2 procesos de secado (convección forzada y liofilización). En la segunda etapa se desarrollaron 3 pruebas de caracterización: prueba de absorción y liberación, prueba del módulo de Young y prueba de antibiograma. De la primera prueba se obtuvo que los apósitos 100% CB por liofilizado mostraron los mejores resultados, registrando una liberación de 3.12 g de amoxicilina a la hora, 3.00 g a las dos horas y 2.38 g a las 24 h. Con respecto a la prueba mecánica, se encontró que las probetas de 100% CB tuvieron un mayor límite elástico y módulo de Young en comparación con las formulaciones de 4.75% de Gli, independientemente del método de secado. En el antibiograma, se corroboró la liberación del fármaco al obtenerse halos de inhibición ante una cepa de *Escherichia Coli*, con diámetros desde 14.06 mm (100% CB por liofilizado) hasta 17.90 mm (CB + 4.75% Gli por convección). Se concluye que los apósitos de CB obtenidos, a excepción de CB + 4.75% Gli por liofilizado, son viables para administrar antibiótico y se recomienda efectuar más pruebas para encontrar diferencias significativas entre éstas.

Palabras clave: celulosa bacteriana, amoxicilina, absorción-liberación, módulo de Young, antibiograma.

***Autor Corresponsal:** alejandro.alvarez.flores@iberopuebla.mx

Introducción

Se entiende como quemaduras a las lesiones en la piel o en algún otro tejido orgánico en el que las células se ven destruidas y son principalmente causadas por la exposición a el calor, la radiación, la electricidad, la fricción o por un producto químico. De acuerdo con cifras reportadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2018, las quemaduras son la causa de aproximadamente 180 mil muertes anuales a nivel mundial. Además, las quemaduras son una de las principales causas de morbilidad que conllevan a estancias hospitalarias prolongadas, desfiguración, discapacidad y rechazo social [1].

De igual modo, esta patología es considerada grave debido a las múltiples complicaciones que puede tener durante la hospitalización del paciente, así como las discapacidades permanentes que pueden afectar al mismo, resultando en una gran morbilidad y mortalidad [2]. A nivel nacional, las quemaduras fueron la causa más frecuente de atención médica en salas de urgencias y es una de las principales causas de muerte en los niños y adolescentes, registrándose tan sólo en el año 2017 alrededor de 16,133 casos [3].

Mientras que, durante el 2020, a raíz de la pandemia por COVID-19, se reportó que hubo un incremento del doble de pacientes con quemaduras respecto al 2018 y de hasta ocho veces más que en el 2019 dentro del Hospital Universitario José Eleuterio González, esto debido al confinamiento y al aumento de exposición de menores a fuentes de riesgo dentro del hogar [4].

En México, durante el año 2013, el Hospital Tacubaya de la Secretaría de Salud reportó que del total de pacientes pediátricos que fallecieron a causa de quemaduras, el 35% corresponde a sepsis, que es una disfunción orgánica causada por una respuesta desregulada del paciente a la infección [5].

Asimismo, la Secretaría de Salud (SS) decretó como epidemia las quemaduras debido al alto aumento de personas que se presentan a los centros de salud, haciendo énfasis en el incremento de ingreso de pacientes pediátricos por quemaduras y escaldaduras [4].

Mientras que, el subdirector del Centro Nacional de Investigación y Atención de Quemados (CENIAQ) del Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra (INR LGII), Dr. Mario Vélez Palafox afirmó que “El avance tecnológico y la atención multidisciplinaria permite mejorar la supervivencia y calidad de vida de niñas y niños que sufren quemaduras graves y que hasta 90% de ellos se recupere luego de una intervención quirúrgica” [6].

Ahondando en lo anterior, el tratamiento de las quemaduras consiste en controlar la pérdida de fluidos, prevenir o tratar infecciones y promover el proceso de cicatrización de la herida para finalmente reparar el tejido [7]. Para lo cual el uso de biomateriales se presenta como una de las alternativas de solución, dentro de los cuales destaca la celulosa bacteriana (CB).

Esta es un polímero de origen orgánico cuya composición está constituida por un 90% de agua [8]. Es producida por varias especies de bacterias, incluyendo las del género *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Sarcina* y el grupo de bacterias ácido-acéticas (AAB). Dentro de estas, se encuentran las especies del género *Acetobacter*, *Gluconobacter* y *Komagataibacter*. Hecho que le confiere ventajas sobre la celulosa vegetal, tales como pureza, alta porosidad, permeabilidad a líquidos y gases, capacidad de absorción de agua elevada y robustez mecánica [9].

Además de su biocompatibilidad, la celulosa bacteriana se puede modificar con el fin de adquirir respuesta antibacteriana y posibles características locales de entrega de medicamentos [10], minimizando las posibilidades de

infección y estimulando el proceso de cicatrización en las lesiones [11].

Lo anterior coincide con lo mencionado por Choi *et al* en [12], quienes afirman que pese a que la CB actúa como barrera física y posee propiedades fisicoquímicas que promueven la cicatrización de heridas, no cuenta con propiedades antimicrobianas inherentes, por lo cual requiere de una biofuncionalización para su uso en aplicaciones biomédicas [13].

Una de sus aplicaciones es en su presentación de apósito, el cual es un producto sanitario empleado para cubrir y proteger una herida. Su función consiste en proporcionar alivio del dolor, actuar de barrera frente a la infección, absorber el exudado que ésta produce, permitir una adecuada circulación sanguínea y optimizar el proceso de cicatrización [14].

Dentro del mercado es posible encontrar distintos productos de CB, como BioFill™ (Curitiba, Brasil), Dermafill™ (Londrina, Brasil), Membracel® (Curitiba, Brasil), xCell® (Nueva York, NY, EE.UU.), Gengiflex® (Curitiba, Brasil), Bioprocess® (Curitiba, Brasil) y EpiProtect® (Royal Wootton Bassett, Reino Unido). El último consiste en un apósito para heridas por quemaduras y promete una recuperación completa en un plazo de 28 días para las quemaduras de primera y segunda fase, a diferencia de la sulfadiazina de plata y la gasa, tratamiento prescrito que proporciona una curación en 32 días [15].

Por otra parte, de acuerdo con [16], en la literatura es posible encontrar que el número de artículos que presentaron informes sobre CB y fueron publicados en revistas científicas de 2009 a 2019 aumentó >200% durante este período, lo que corresponde a un total de 59.158 publicaciones en 10 años.

A partir de estos, se ha identificado que, en el apartado de adición de fármacos, la técnica por inmersión y saturación es la opción más frecuente de incorporación de compuestos, dada su fácil y rápida aplicación. La estrategia más reportada consiste en sumergir la CB seca o semi-seca en soluciones del compuesto [17]. Empleando este método, Pavaloiu *et al* en [18] describieron un modelo de liberación de amoxicilina (AX), a partir de membranas exclusivamente cargadas con el antibiótico, en donde el principal factor de liberación demostró ser la concentración del fármaco.

Asimismo, Lemnaru *et al* en [19] incorporaron amoxicilina y bacitracina en la CB con la finalidad de prevenir la aparición de infecciones en lesiones. La CB, previamente liofilizada, fue liofilizada nuevamente después de añadir las sustancias activas. Las concentraciones que emplearon fue la bacitracina al 1% y la amoxicilina al 3%, en las que se dejaron inmersas las muestras de CB. Posteriormente, al efectuar pruebas de antibiograma contra las cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, determinaron que la tasa de crecimiento de estas disminuyó ante la presencia del apósito con los antibióticos incorporados.

Por último, el presente proyecto cuenta con antecedentes desde el año 2019, en donde el principal propósito fue establecer la metodología para sintetizar la CB y su posterior adición de elementos antimicrobianos: plata coloidal y amoxicilina - ácido clavulánico. Los resultados mostraron efectos antimicrobianos efectivos con aros de repelencia contra las cepas *S. aureus* y *S. spp* [20].

Tomando en cuenta la problemática que existe tanto a nivel mundial como nacional, reportada por múltiples instancias, y considerando los avances que forman parte del *State-of-Art* de la CB como apósito para la prevención de infecciones en lesiones por quemadura, el presente proyecto propone el desarrollo de apósitos para la administración de amoxicilina efectuando cambios desde la etapa de procesamiento de la CB, específicamente empleando como base lactosuero y proponiendo 4 tratamientos compuestos de 2 formulaciones y métodos de secado diferentes. Para lo cual, se caracterizarán las propiedades mecánicas, físicas y antimicrobianas de los apósitos resultantes, esperando obtener diferencias en su capacidad de absorción y liberación del fármaco.

Metodología

El proyecto comprendió dos etapas: la de procesamiento de celulosa bacteriana y las pruebas de caracterización.

Parte I: procesamiento y formulación de las placas de celulosa bacteriana

En esta etapa se consideraron las siguientes variables:

- Fuentes de carbono: lactosuero.
- Formulaciones: celulosa bacteriana (CB) pura (100%) y CB + glicerina (Gli) al 4.75%/p.
- Procesos de secado: por horno de convección forzada y por liofilizadora.

Lo anterior resultó en 4 tratamientos diferentes efectuados por triplicado.

Para la elaboración de las placas se fabricó una prensa cuadrada, como se observa en la Fig. 1, de 20 cm, con un grosor de 2.2 cm, una tapa de acrílico de 17.8 cm, con mango y con 4 capas de telas en su interior, conformadas por 2 externas de mallado y 2 internas de tela para serigrafía de 43 hilos.

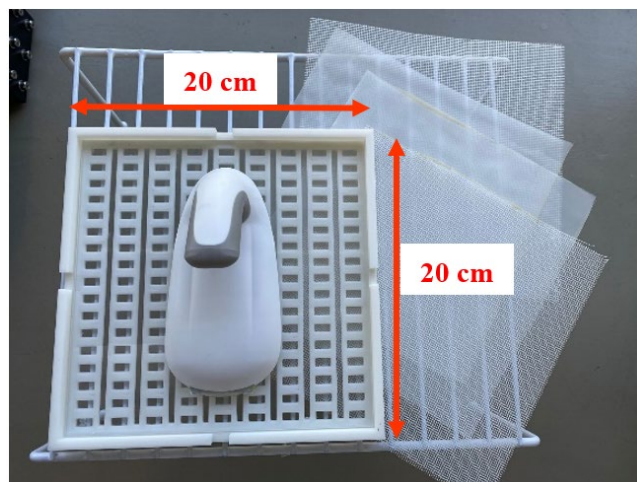


Fig. 1. Prensa elaborada para el procesamiento de apósitos de celulosa bacteriana.

Se pesaron 250 g de celulosa bacteriana por cada placa y en el caso de la formulación con glicerina, los 4.75% correspondieron a 12.59 g, empleándose una licuadora de

inmersión con la celulosa previamente clarificada para obtener una mezcla homogénea como se aprecia en la Fig. 2. Se emplearon 3 kg de CB para disminuir la variación entre las muestras individuales de 250 g, almacenados en bolsas herméticas en refrigeración. Cada muestra fue prensada y transferida a manteles de bambú sellados con cinta masking. Dependiendo del proceso de secado, las muestras se trasladaron al horno de convección forzada o a la liofilizadora, en donde se llevaron previamente a ultracongelar por un periodo de 2-3 horas. En ambos procesos se requirió un tiempo de 24 horas de espera para retirar las muestras y almacenarlas en una carpeta dentro de porta-acetato con su correspondiente identificación.



Fig. 2. Formación de la mezcla para la preparación de los apósitos de CB.

Parte II: pruebas de caracterización

Las pruebas que se llevaron a cabo en cada uno de los apósitos de CB para su caracterización fueron prueba de absorción y liberación, módulo de Young y antibiograma. Para lo cual, se realizaron cortes láser a las 12 placas para obtener 2 cuadrados de 50 mm x 50 mm para las medir la absorción-liberación, dos probetas de 140mm x 30mm para la segunda prueba, 24 discos de 10 mm de radio para antibiograma y un rectángulo muestra de 10 mm x 50 mm para garantizar la homogeneidad en las pruebas de caracterización.

1.-Prueba de absorción y liberación

Las muestras obtenidas se sumergieron en 5ml de la solución de Amoxicilina al 1 mg/ml dentro de cajas Petri por un tiempo de 10 min. Se pesó la muestra previa a la absorción, así como después de ésta para obtener la cantidad de solución absorbida mediante el cálculo de la diferencia de dichos datos.

Para la prueba de liberación, se estableció una muestra de estudio de 24 horas, en donde cada rectángulo de CB que previamente había absorbido la solución con el antibiótico,

se colocó sobre cajas Petri con 4 g de grenetina, como se observa en la Fig. 3, con la finalidad de simular la liberación sobre la dermis. De igual manera, se pesó la muestra a la hora, a las dos horas y al finalizar el plazo de 24 horas para analizar la liberación que tuvo la placa en relación con la absorción.

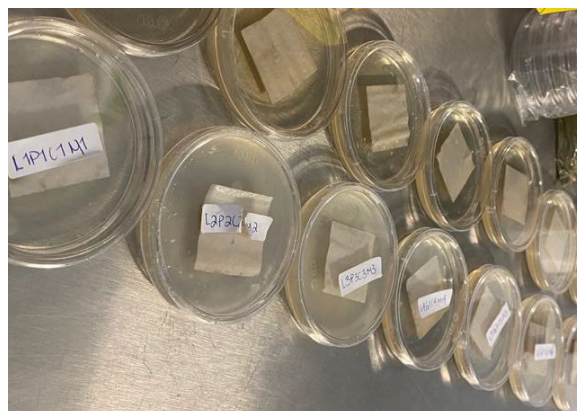


Fig. 3. Muestras de CB y duplicados en prueba de liberación sobre grenetina.

2.-Prueba de Módulo de Young

Se realizaron pruebas de tracción en la máquina universal de esfuerzos Shimadzu Autograph AG-X, que se aprecia en la Fig. 4, para determinar el módulo de Young y límite elástico. Para esta prueba se tomó de referencia la estandarización ASTM-D882 que indica el método de prueba estándar de las propiedades de tracción en chapas de plástico finas, con parámetros como la velocidad de separación de 25mm/min, las medidas de la probeta, procedimientos y recomendaciones [21].



Fig. 4. Prueba de Tracción de probeta 100% CB - Liofilizado

3.-Prueba de antibiograma

Los discos agrupados por tratamiento se colocaron en diferentes tubos Falcon de 15 ml y fueron sellados al vacío en bolsas *foodsaver*. Su esterilización se realizó en una autoclave a 120 °C y 1 atm por 15 min, en donde 6 de 9 placas Petri de CB + 4.75% Gli - liofilizado se quebraron, descartándose dichas muestras.

Empleando el medio Luria Bertani (compuesto de 10 g de NaCl, 5g de extracto de levadura, 10 g triptona, 15 g agar en 1 L), se inocularon 3 placas Petri de cada tratamiento por triplicado usando una cepa de *E. coli* con un crecimiento de 16 horas. Pevio a la colocación de los discos en las placas, se les añadieron 50 µL de amoxicilina [1 mg/ml] hasta que la absorbieran por completo, o en su defecto, que pasaran 10 minutos.

Los 5 discos se colocaron en una disposición en forma de pentágono y al centro un disco sin antibiótico, fungiendo como el control de la prueba, esto se observa en la Fig. 5.

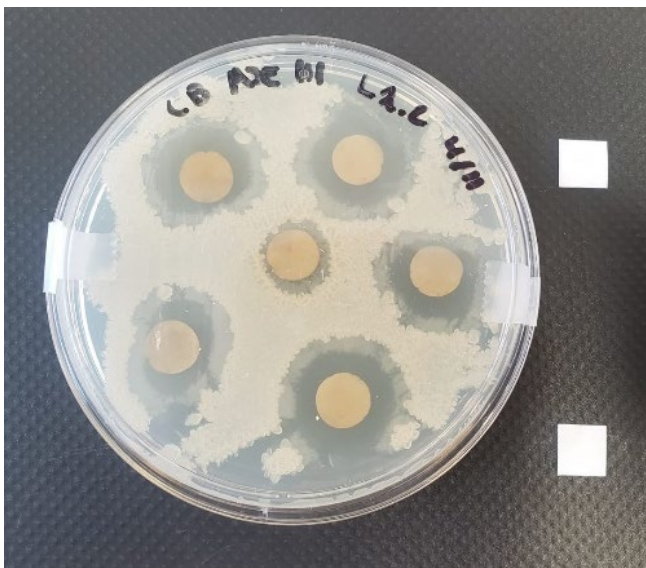


Fig. 5. Ejemplo de las posiciones de los discos en caja Petri.

Pasando 16 horas en un horno de cultivo a 36°C, se tomaron fotos de los halos de inhibición colocando un cuadro de 1x1 cm de referencia para realizar las mediciones de los diámetros de inhibición por medio del software ImageJ.

Por último, para conocer la significancia estadística de los resultados, se efectuó un análisis de varianzas de una sola vía (ANOVA *One way*), efectuándose previamente una prueba de normalidad para comprobar una distribución gaussiana de los datos. Igualmente se realizó una post-prueba de comparaciones múltiples (Tukey-Kramer), empleando un límite de confianza del 95% ($p < 0.05$).

Resultados y Discusión

Identificación de muestras

En la Tabla 1, se muestra el significado de las siglas que componen los ID de las muestras, el cual se compone de una letra seguido de un número que lo identifica dentro de los tratamientos.

Tabla 1. Códigos empleados en la identificación de muestras.

Letra	Código
L	Lactosuero
P	100% Celulosa Bacteriana (CB)
G	Celulosa Bacteriana+4.75% Glicerina (CB+4.75%Gli)
C	Secado por convección
Li	Secado por liofilizado
M	Muestra

Parte I: procesamiento y formulación de las placas de celulosa bacteriana

De los apósitos obtenidos, se destaca que los secados por convección forzada presentaron una textura plana similar a la de una hoja de papel y color marrón. Mientras que, las de liofilizado contaron con un mayor grosor, similar al fomi y un color blanco. Con respecto a la Fig. 6, los espesores obtenidos fueron A) 2.61 mm, B) 0.96 mm, C) 0.15 mm y D) 0.18 mm.

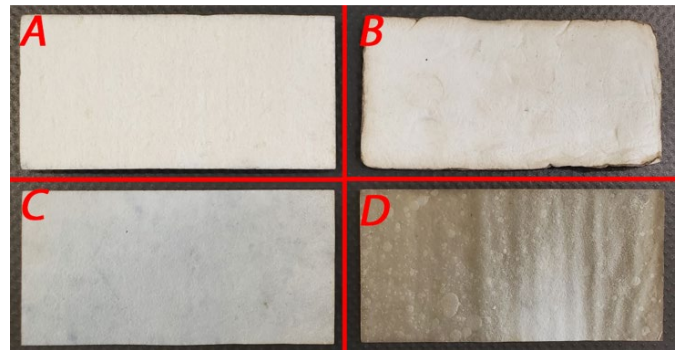


Fig. 6. Segmentos de los apósitos de CB por cada tratamiento. A) 100% CB - Liofilizado B) CB + 4.75% Gli - Liofilizado C) 100% CB - Convección D) CB + 4.75% Gli - Convección.

Parte II: pruebas de caracterización

1.- Prueba de absorción y liberación

Analizando los datos obtenidos, la Fig. 7 muestra los pesos registrados de las placas de 100% CB secadas por convección, así como sus duplicados al momento del peso inicial, a los 10 min de absorción de la solución y a la hora, dos horas y 24 h. durante la liberación.

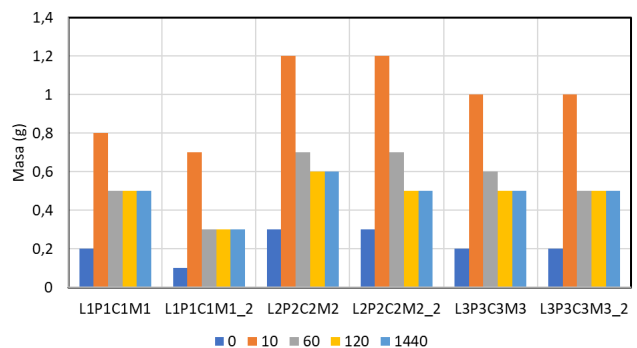


Fig. 7. Absorción-liberación en gramos de las placas de 100% CB por convección y duplicados.

Posteriormente, se analizaron los mismos datos sobre las placas a las cuales se le añadió glicerina con el método de convección y sus duplicados. La Fig. 8 muestra un comportamiento similar al de la Fig. 7, sin embargo, su tasa de absorción fue mayor, alcanzando un máximo de 2.1 g y una tasa de liberación promedio de 0.45 g de solución.

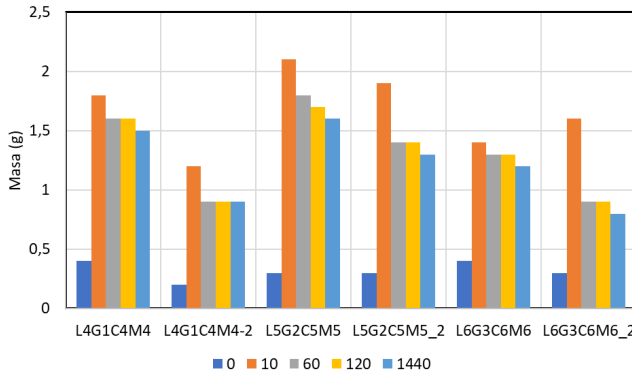


Fig. 8. Absorción-liberación en gramos de las placas de CB+4.75% Gli por convección y duplicados.

La Fig. 9 modela el comportamiento de los parches de 100% CB secados por liofilización y duplicados, mostrando una absorción por encima de las pruebas anteriores con un peso máximo de 5.1 g y un peso inicial de 0.3 g. Su liberación fue gradual en los periodos de la prueba, logrando una mayor liberación tras las 24 h. La tasa promedio fue de 1.1 g de solución.

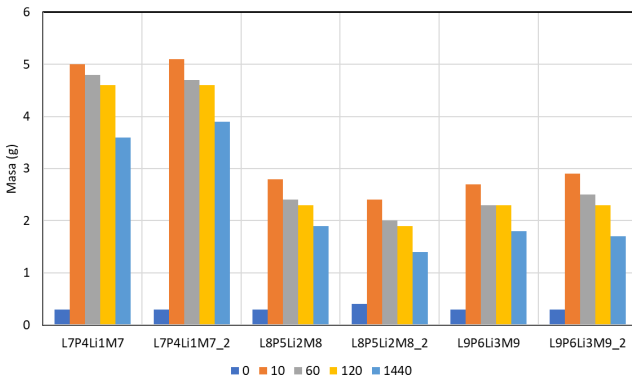


Fig. 9. Absorción-liberación en gramos de las placas de 100% CB por liofilización y duplicados.

La Fig. 10 abarca las placas de CB con glicerina por liofilizado y sus duplicados. Se muestra un comportamiento similar a la Fig. 9, con un peso máximo en la absorción de 5.5 g ante un peso inicial de 0.6 g. La liberación fue constante entre la primer y segunda hora, pero mayor a las 24 h con una tasa promedio de 0.8 g.

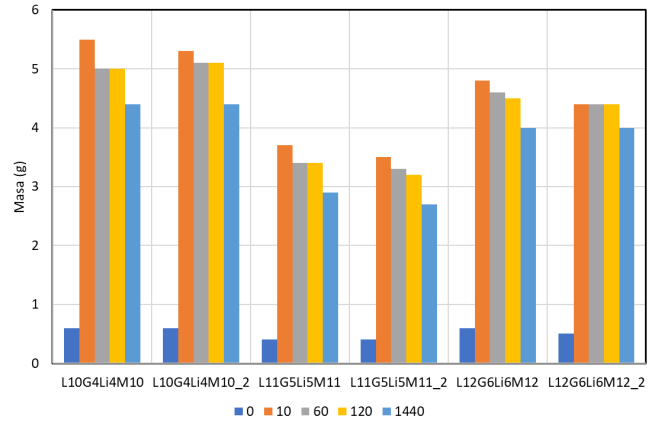


Fig. 10. Absorción-liberación en gramos de las placas de CB+4.75% Gli por liofilización y duplicados.

Finalmente, en la Fig. 11, se calculó el promedio de cada una de las producciones de la CB, es decir, 100% CB por convección, CB+4.75% Gli por convección, 100% CB por liofilizado y CB+4.75% Gli por liofilizado a los tiempos 0 (peso inicial), a los 10 min. de absorción y a la hora, dos horas y 24 h de la liberación.

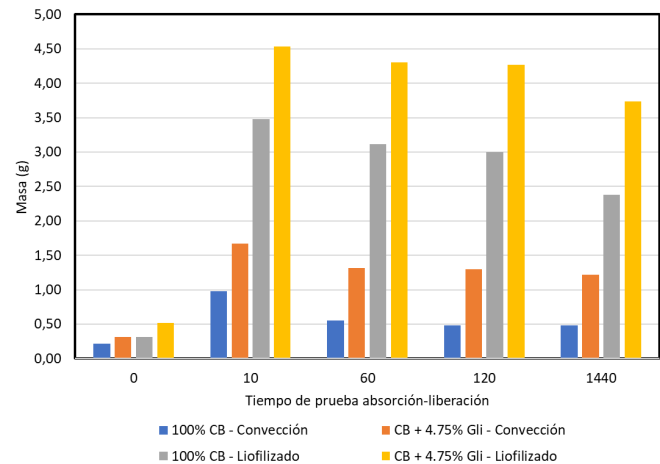


Fig. 11. Promedios de absorción-liberación según la clasificación de producción de CB.

Dicha gráfica muestra que los parches de CB+4.75% Gli por liofilizado fueron los que más absorbieron con un promedio de 4.53 g. Reportan una liberación promedio a la hora de 4.30 g; a las dos horas de 4.27 g y de 3.73 g tras 24 h de liberación.

2.- Prueba de Módulo de Young

A partir de las pruebas de tensión realizadas en la máquina universal de esfuerzos Shimadzu Autograph AG-X se obtuvieron los límites elásticos y módulos de Young de cuatro probetas por cada formulación como se observa en la Tabla 2.

Tabla 2. Módulos de Young y Límite Elástico de probetas según formulación

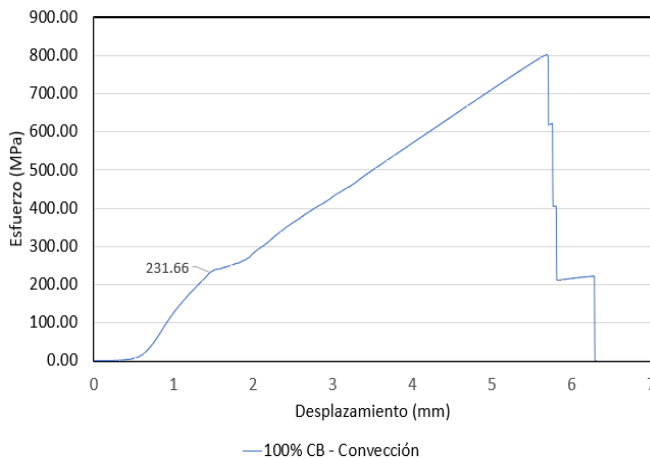
ID Probeta	Módulo de Young (MPa)	Límite Elástico (MPa)
L2P2C2M2	353.29	194.30
L2P2C2M2-2	230.12	234.53
L3P3C3M3	288.33	245.10
L3P3C3M3-2	335.51	262.33
L5G2C5M5	9.27	47.72
L5G2C5M5-2	7.71	44.35
L6G3C6M6	30.61	60.47
L6G3C6M6-2	17.80	65.85
L8P5Li2M8	35.58	40.63
L8P5Li2M8-2	46.53	39.67
L9P6Li3M9	39.42	39.32
L9P6Li3M9-2	32.09	40.03
L10G4Li4M10-2	0.88	11.42
L11G5Li5M11	0.91	9.27
L11G5Li5M11-2	1.02	12.01
L12G6Li6M12	1.09	13.46

A partir del esfuerzo y el desplazamiento correspondientes a cada probeta se realizó un promedio del comportamiento de las diferentes formulaciones y se graficaron como se observa en la Fig. 12.

Para las formulaciones de 100% CB se observa un mayor módulo de Young y límite elástico comparadas con su contraparte con Gli. Sin embargo, se observa en la gráfica de esfuerzo – desplazamiento que las formulaciones con Gli permiten tener una mayor deformación previa al punto de ruptura, llegando hasta 11mm comparado con los 5 mm de la formulación de 100% CB - Convección.

Respecto a los módulos de Young y Límites elásticos promedio se obtuvo la

Tabla 3 donde se observa que la formulación 100% CB – Convección tiene el módulo de Young más alto y la



formulación CB + 4.75% Gli – Liofilizado tiene el rendimiento más bajo para la prueba.

Tabla 3: Módulo de Young y Límite elástico promedio por formulación

Formulación	Módulo de Young (MPa)	Límite Elástico (MPa)
100% CB - Convección	240.31	231 MPa
CB + 4.75% Gli - Convección	17.64	38.62 MPa
100% CB - Liofilizado	38.41	38.23 MPa
CB + 4.75% Gli - Liofilizado	0.97	11.24 MPa

3.- Prueba de antibiograma

En la Tabla 4 se aprecia que los diámetros de los halos de inhibición por formulación presentan desviaciones estándar mayores al 10% del diámetro promedio. Igualmente, se observan diferencias entre los triplicados, variando hasta en 2.67 mm en el caso de la formulación 100% CB y 1.72 mm en la de CB + 4.75% Gli, lo cual revela una deficiente homogenización en la estructura de las placas de CB, principalmente en las de 100% CB.

Tabla 4. Halos de inhibición obtenidos con los apósitos secados por convección.

Formulación	ID	Diámetros (mm)		
		Mínimo	Máximo	Media
100% CB	L1P1C1M1	9.88	20	15.78 ± 2.58
	L2P2C2M2	14.59	23.46	18.48 ± 3.17
	L3P3C3M3	13.88	20.35	16.40 ± 1.68
CB + 4.75% Gli	L4G1C4M4	13.454	21.818	18.32 ± 3.16
	L5G2C5M5	11.294	21.538	16.76 ± 2.96
	L6G3C6M6	13.048	22.086	18.48 ± 2.04

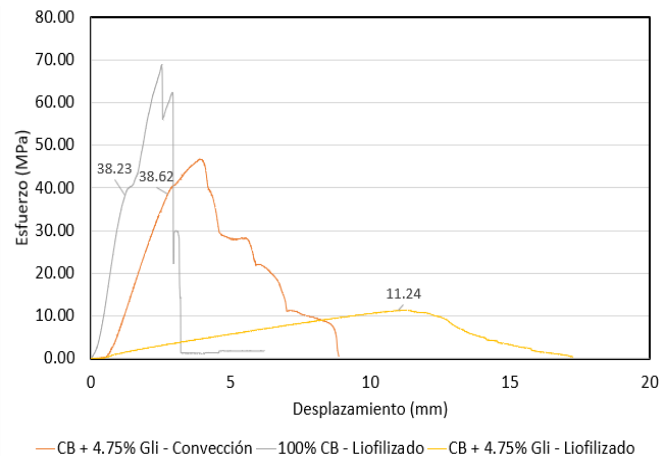


Fig. 12. Gráficas de Promedio de Esfuerzo – Desplazamiento y límite elástico de a) formulación 100% CB – Convección b) formulaciones CB + 4.75% Gli – Convección, 100% CB – Liofilizado y CB + 4.75% Gli - Liofilizado

De igual forma, la Tabla 5 muestra variación entre las réplicas de una misma formulación, siendo de hasta 2.9 mm en las de 100% CB y de 1.85 mm en las que incluyen Gli, presentando una tendencia similar a sus homólogos secados por convección. Por lo que, se puede deducir que la formulación CB + 4.75% Gli desarrolló poros más uniformes a lo largo de la placa de CB en comparación con los desarrollados por las de CB pura, independientemente del método de secado.

Tabla 5. Halos de inhibición obtenidos con los apósitos secados por liofilización.

Formulación	ID	Diámetros (mm)		
		Mínimo	Máximo	Media
100% CB	L7P4Li1M7	10	17.58	13.17 ± 1.96
	L8P5Li2M8	8.89	23.03	13.08 ± 1.67
	L9P6Li3M9	12.67	20.59	16.11 ± 2.88
CB + 4.75% Gli	L12G6Li6M12	13.714	21.31	18.22 ± 2.89
	L12G6Li6M12	12.364	23.27	18.23 ± 4.15
	L12G6Li6M12	14.762	17.86	16.38 ± 2.74

Por otro lado, en la Fig. 13, se muestra que en el caso de la CB + 4.75% Gli no hay una diferencia relevante entre los métodos de secado, obteniéndose 17.90 ± 3.14 mm por convección y 17.61 ± 2.92 mm por liofilizado. Caso contrario sucede en las de 100% CB, en donde las secadas por convección presentaron 16.89 ± 2.77 mm, mientras que, las de liofilizado registraron 14.06 ± 3.38 mm, disminuyendo la media en 2.83 mm.

Razón por la cual, se infiere que el método de secado óptimo para los apósitos de 100% CB es por convección forzada y en caso de querer emplearse la técnica de liofilizado, se deberá cambiar a la formulación que incluye glicerina, la cual reportó los promedios de diámetro más altos con respecto a los de celulosa bacteriana pura.

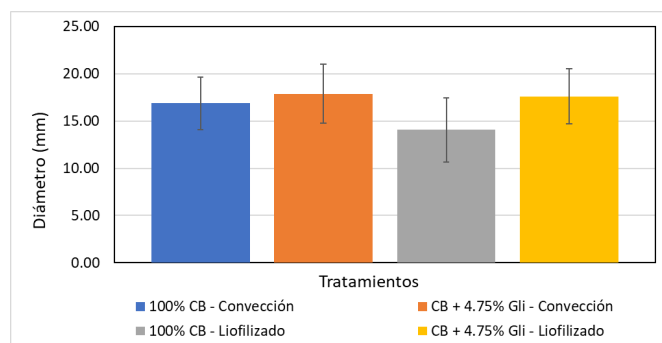


Fig. 13. La media de los diámetros de los halos de inhibición de los apósitos agrupados por tratamientos.

Finalmente, tras validar la distribución normal de los datos y rechazar la hipótesis nula de la prueba ANOVA, se efectuó la prueba Tukey-Kramer, de la cual, la Tabla 6 muestra la nomenclatura de las combinaciones.

Tabla 6. Nomenclatura de la prueba Tukey-Kramer.

Referencia	Tratamiento
A	100% CB - Convección
B	CB + 4.75% Gli - Convección
C	100% CB - Liofilizado
D	CB + 4.75% Gli - Liofilizado

En la Tabla 7 es posible observar que 3 de 6 combinaciones fueron estadísticamente significativas, específicamente aquellas que involucraron el tratamiento C, por lo que se deduce que los halos de inhibición presentarán diámetros similares si se consideran los tratamientos A, B y D.

Tabla 7. Resultados de la comparación múltiple de Tukey-Kramer.

Comparación	Diferencia de medias	Valor de P	Significancia estadística
A-B	-1.011	0.4132	No
A-C	2.824	0.0002	Sí
A-D	-0.7227	0.8610	No
B-C	3.835	<0.0001	Sí
B-D	0.2885	0.9894	No
C-D	-3.546	0.0010	Sí

No obstante, se infiere que el secado por liofilizado para la formulación 100% CB afecta su capacidad de liberación de fármaco, lo cual puede deberse a una disminución en el tamaño de los poros. Además, se reconoce que la glicerina a una proporción del 4.75% contribuye a la absorción y difusión del antibiótico, independientemente de la elección del método de secado.

Conclusiones, perspectivas y recomendaciones

De acuerdo con los resultados, la adición y liberación del fármaco es viable en casi todas las fórmulas evaluadas, descartando la formulación CB+4.75Gli - Liofilizado.

De la prueba de absorción-liberación, los apósitos de CB+4.75% Gli - Liofilizado reportaron la mayor tasa de absorción (4.53 g), sin embargo, muestran mayor deformación, posiblemente por el rompimiento estructural de los enlaces durante la molienda y prensado de la placa. Pese a esto, los que tuvieron un mejor desempeño fueron los apósitos de 100% CB - Liofilizado con una tasa de liberación promedio de 1.1 g.

En las pruebas de módulo de Young, las probetas de 100% CB tuvieron un límite elástico de 231 MPa, y un módulo de Young de 240.3 MPa; en contraparte las formulaciones con 4.75% Gli - liofilizado tuvieron los valores de límite elástico y módulo de Young más bajos con 11.24 MPa y 0.97 MPa respectivamente. Sin embargo, los apósitos con 4.75% de glicerina tiene una mayor deformación previo al punto de ruptura de máximo 15 mm. Por lo que, no se descarta su uso mientras que su aplicación no supere tensiones de 11 MPa.

Con respecto a la prueba de antibiograma, al generarse halos de inhibición alrededor de los discos, se confirmó la liberación de los componentes del fármaco, así como se identificó que las diferencias en el diámetro presentadas por los tratamientos no son estadísticamente significativas, a excepción de la formulación 100% CB - Liofilizado, que presentó el promedio de diámetros más bajo con 14.06 ± 3.38

mm y el más alto lo tuvo la CB + 4.75% Gli con 17.90 ± 3.14 mm por convección.

Por último, se recomienda cambiar el método de esterilización por luz UV; definir la concentración mínima

inhibitoria del fármaco, y efectuar pruebas morfológicas y de cuantificación de fármaco para encontrar diferencias significativas entre los tratamientos.

Referencias

- [1] Organización Mundial de la Salud, «Quemaduras». 2018.
- [2] H. Basilisco, J. Guarracino, A. Murruni, N. Tramonti y R. Villasboas, «Epidemiología de las quemaduras pediátricas: seis años de experiencia en una unidad especializada de alta complejidad». *Lodovica Pedriátrica*, vol. 24, n° 2, pp. 14-22, Diciembre 2021.
- [3] N. F. Castañón Ramírez, 23 abril 2019. [En línea]. Available: https://www.senado.gob.mx/64/gaceta_del_senado/documento/94316#.
- [4] A. G. Garza-Alatorre, V. Martínez-Rodríguez, Y. A. Cabrera-Antonio y R. Alfaro-Flores, «Aumento de la incidencia de quemaduras graves secundarias en la cuarentena por Covid-19». *Salud Pública De México*, vol. 63, n° 5, pp. 591-591, 2021.
- [5] L. E. Moctezuma-Paz, I. Páez-Franco, S. Jiménez-González y K. D. Miguel-Jaimes, «Epidemiología de las quemaduras en Mexico». *Revista de Especialidades Medico-Quirúrgicas*, pp. 78-82, 2015.
- [6] L. R. García, *Complicaciones en el paciente quemado en estado crítico*, 2013.
- [7] G. Prado Prone, «Desarrollo y caracterización de materiales compuestos basados en polímeros biocompatibles y nanopartículas de óxido de Zinc (ZnO) fabricados mediante la técnica de electrohilado, para potenciales aplicaciones en el tratamiento de quemaduras». Julio 2018. [En línea]. Available: https://repositorio.unam.mx/contenidos/desarrollo-y-caracterizacion-de-materiales-compuestos-basados-en-polimeros-biocompatibles-y-nanopartículas-de-oxi-87685?c=pawxge&d=false&q=*&i=1&v=1&t=search_0&as=0. [Último acceso: Septiembre 2021].
- [8] I. U. N. Shah, «Overview of bacterial cellulose composites: A multipurpose advanced material». August 2013.
- [9] M. Gullo, A. Sola, G. Zanichelli, M. Montorsi, M. Messori y P. Giudici, «Increased production of bacterial cellulose as starting point for scaled-up applications». *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 101, p. 8115–8127, September 2017.
- [10] C. L. M. S. M. W. C. N. G. Fadel, «Bacterial cellulose in biomedical applications: A review». Patente 10.1016/j.ijbiomac.2017.05.171, June 2017.
- [11] I. F. Almeida, T. Pereira, N. H. C. S. Silva, F. P. Gomes, A. J. D. Silvestre, C. S. R. Freire, J. M. S. Lobo y P. C. Costa, «Bacterial cellulose membranes as drug delivery systems: An in vivo skin compatibility study». *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 86, p. 332–336, April 2014.
- [12] S. M. Choi, K. M. Rao, S. M. Zo, E. J. Shin y S. S. Han, «Bacterial Cellulose and Its Applications». *Polymers*, vol. 14, p. 1080, March 2022.
- [13] D. Lahiri, S. Dash, R. Dutta y M. Nag, «Elucidating the effect of anti-biofilm activity of bioactive compounds extracted from plants». *Journal of Biosciences*, vol. 44, April 2019.
- [14] J. Benedí y C. Romero, «Apósitos». 2006. [En línea]. Available: <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-apositos-13089951>. [Último acceso: 15 Septiembre 2021].
- [15] I. Cielecka, M. Szustak, H. Kalinowska, E. Gendaszewska-Darmach, M. Ryngajłło, W. Maniukiewicz y S. Bielecki, «Glycerol-plasticized bacterial nanocellulose-based composites with enhanced flexibility and liquid sorption capacity». *Cellulose*, vol. 26, p. 5409–5426, May 2019.

- [16] I. de Andrade Arruda Fernandes, A. C. Pedro, V. R. Ribeiro, D. G. Bortolini, M. S. C. Ozaki, G. M. Maciel y C. W. I. Haminiuk, «Bacterial cellulose: From production optimization to new applications». *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 164, p. 2598–2611, December 2020.
- [17] R. Portela, C. R. Leal, P. L. Almeida y R. G. Sobral, «Bacterial cellulose: a versatile biopolymer for wound dressing applications». *Microbial Biotechnology*, vol. 12, p. 586–610, March 2019.
- [18] R.-D. Pavaloiu, A. Stoica, M. Stroescu y T. Dobre, «Controlled release of amoxicillin from bacterial cellulose membranes». *Open Chemistry*, vol. 12, p. 962–967, September 2014.
- [19] G.-M. L. (Popa), R. D. Trușcă, C.-I. Ilie, R. E. Țiplea, D. Ficăi, O. Oprea, A. Stoica-Guzun, A. Ficăi y L.-M. Dițu, «Antibacterial Activity of Bacterial Cellulose Loaded with Bacitracin and Amoxicillin: In Vitro Studies». *Molecules*, vol. 25, p. 4069, September 2020.
- [20] A. Alvarez Flores, D. Patiño Vélez, A. Veles Bustillos y O. A. Rosas de la Rosa, «Administración de Amoxicilina-Ácido clavulánico mediante celulosa bacteriana». *Memorias del Congreso Nacional de Ingeniería Biomédica*, vol. 8, p. 197–200, November 2021.
- [21] *Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting*, ASTM International D882, 2010.