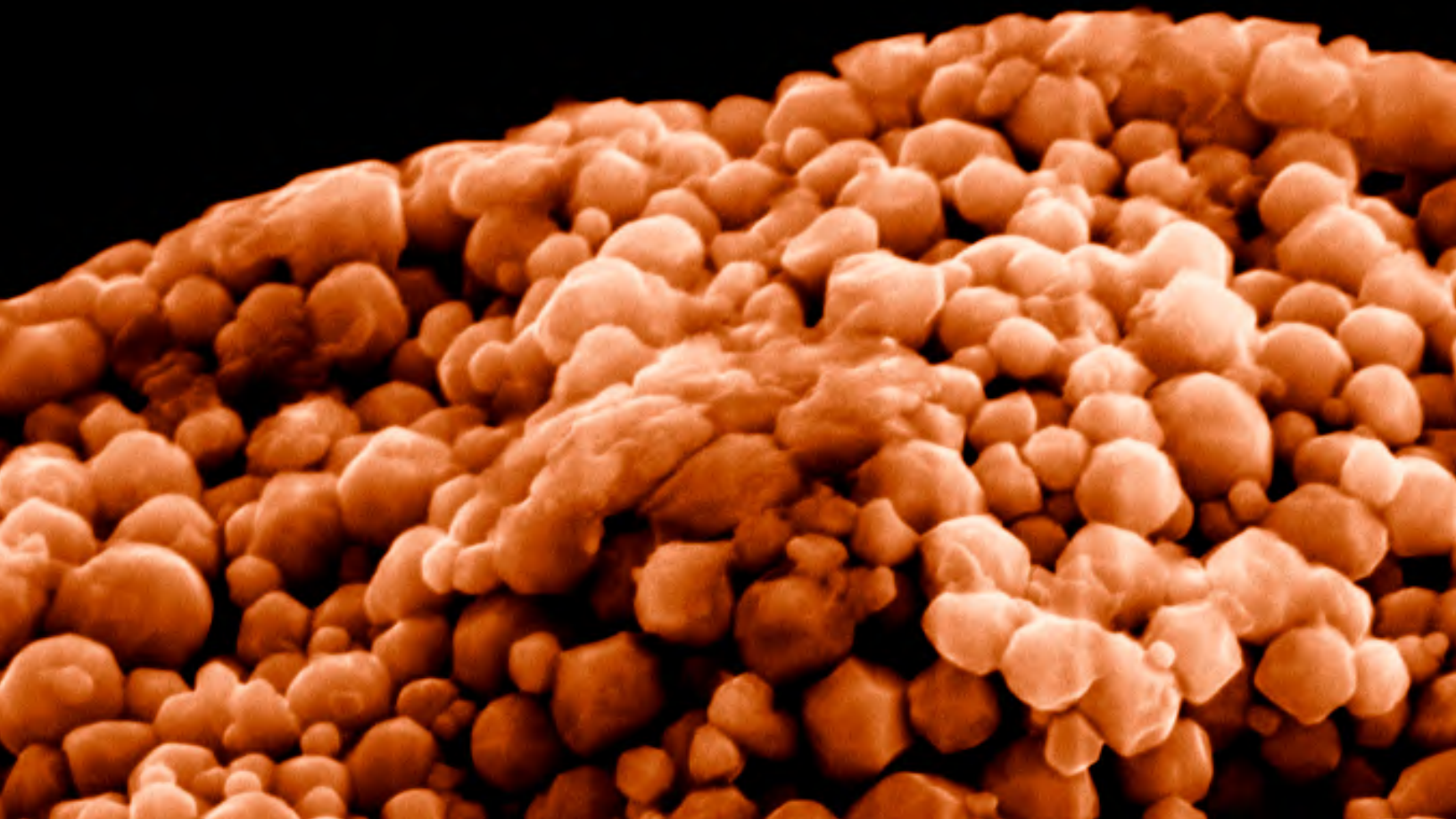


AINTECH

BUILDING THE CORE OF THE FUTURE

**PROPIEDADES
ANTIMICROBIANAS DE
NANOPARTICULAS DE COBRE**



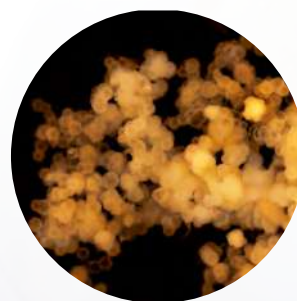
INTRODUCCIÓN:

En Aintech, consideramos la adquisición de conocimiento a través del método científico un valor fundamental de nuestra organización, para poder cerciorarnos de proveer la mayor calidad y precisión en la manufactura de nuestro productos. Es así que cada uno de nuestros productos es acompañado por un exhaustivo proceso de I+D.

Bacterias y hongos se pueden encontrar en todas las superficies, los cuales son capaces de proliferar rápidamente, aumentando los riesgos de salud para la población que se encuentra en presencia de ellos. Mantener una limpieza efectiva de las superficies es un proceso clave para disminuir la carga de microorganismos y sus efectos en la salud.

Aintech ha desarrollado un producto de limpieza caracterizado por contar con cobre nanoparticulado, capaz de ejercer actividad antimicrobiana directa gracias a la liberación de iones de cobre, junto con la acción de detergentes de potente acción. Gracias a la presencia de estas partículas de cobre, se puede generar efecto a largo plazo, debido a su deposición y permanencia en las superficies tratadas.

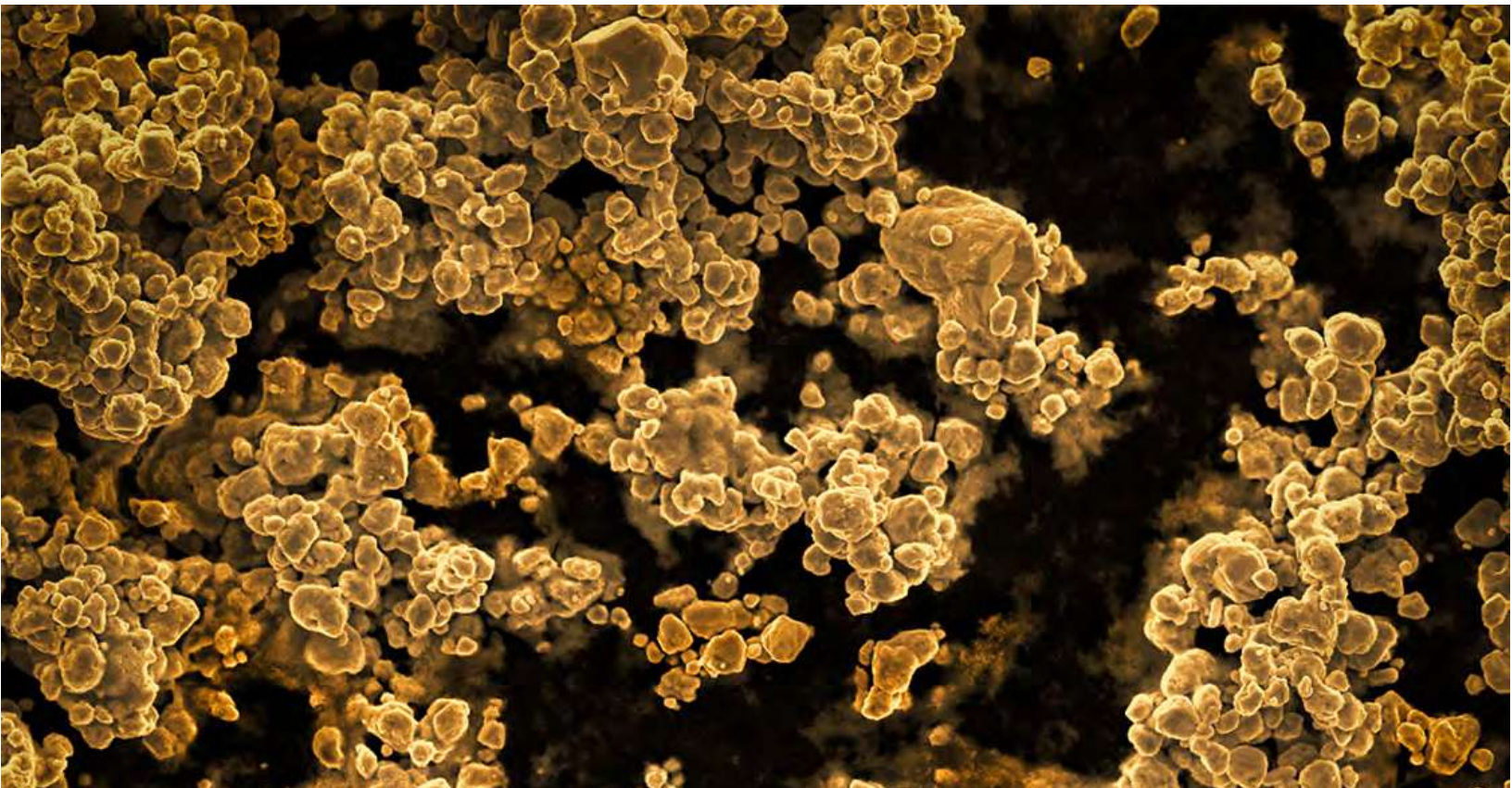
En el presente documento se expone parte de la labor de investigación realizada para determinar las capacidades antimicrobianas de nuestras nanopartículas de cobre en diversos contextos, descripciones de los métodos usados, los resultados obtenidos y conclusiones sacadas de las distintas fases de la investigación. El lector podrá ver la secuencia experimental que nos condujo a concluir y afirmar que nuestra formulación coloide de nanopartículas de cobre es capaz de disminuir la carga de microorganismos directamente, además mantener niveles más bajos a largo plazo.



A background image showing a dense field of spherical copper nanoparticles. The particles are illuminated from the side, creating a strong gradient from dark brown to bright yellow-orange, highlighting their individual shapes and sizes against a black background.

EXPERIMENTO N° 1

VALIDACIÓN DE LAS CAPACIDADES ANTIMICROBIANAS DE
LAS NANOPARTÍCULAS DE COBRE



I. BREVE DESCRIPCIÓN:

Este experimento se realizó con el objeto de probar las capacidades antimicrobianas de las nanopartículas generadas en Aintech. Para esto se cultivaron 2 cepas de bacterias, *E. coli* (Gram -) y *S. aureus* (Gram +). De esta forma se determinó la efectividad de las nanopartículas en las 2 configuraciones de membrana citoplasmática que distinguen a grandes rasgos a las distintas especies bacterianas. Además se probaron distintos formatos de entrega de las nanopartículas al medio de cultivo: sensibilizados y mezclados en el medio nutritivo.



II. METODOLOGÍA

PREPARACIÓN DE BACTERIAS

- Cada cepa y se cultivó en caldo LB durante 20 a 24 hrs.
- Se realizó un segundo pasaje en caldo LB de 20 a 24 hrs.
- Tras esto se realizó 3 diluciones seriadas de 1:100 a 1:100.000 para realizar conteo de CFU.
- Cada dilución se sembró directamente en placas de agar LB sin aditivos.

Cada dilución se utilizó para probar la actividad antimicrobiana

Las muestras de nanopartículas fueron "Acido orgánico" y CETRIMIDA.

SENSIDISCOS:

Utilizando papel whatman N°1 autoclavado, se preparó sensidiscos cargando diluciones, 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, de las distintas muestras.

Los discos fueron colocados sobre un césped bacteriano y dejados reposar durante 30min a temperatura ambiente.

La actividad antimicrobiana se cuantificó en relación al diámetro de la frontera de inhibición generada por el sensidisco.

MEZCLADO EN EL MEDIO:

Se preparó placas de agar LB con una fracción de muestra homogenizada previo a gelificar. Los volúmenes utilizados se adecuaron de forma que cada placa quedó con un factor de dilución de 1:20; 1:50 y 1:100. Tras gelificar se sembró 250 μ L de factor de dilución 10^{-5} de E. coli y S. aureus.

III. RESULTADOS

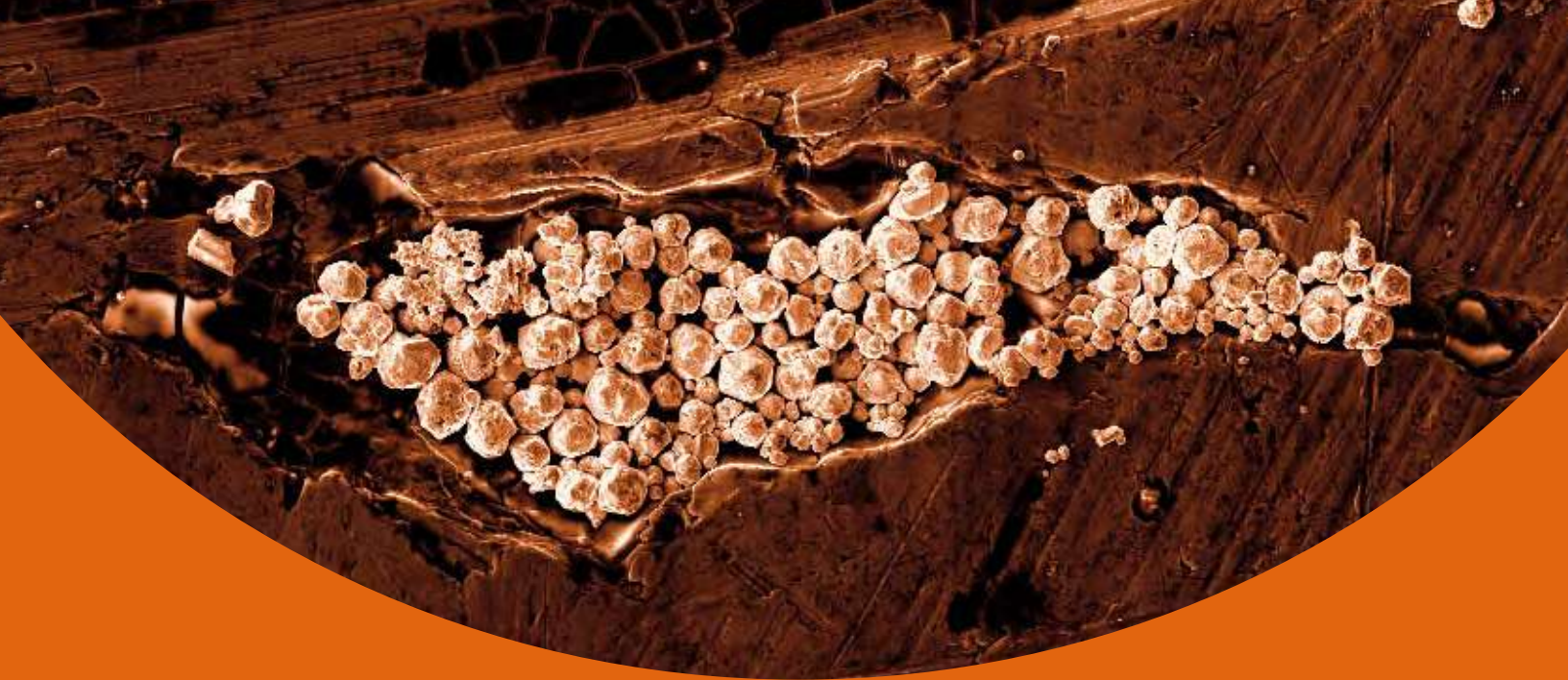
CONCENTRACIÓN DE BACTERIAS:

Las UFCs fueron contadas en el FD:10⁻⁵, dando valores de 237 UFC (S. aureus) y 2019 UFC (E. coli). Esto se traduce en concentraciones iniciales de 94,8M UFC/mL y 807,6M UFC/mL respectivamente. (Figura 1)

Figura 1



Figura 1. Diluciones Seriadas de cultivos microbianos. Fila superior: E. coli (1:1000 a 1:100.000)
Fila inferior:
S. aureus (1:1000 a 1:100.000)



NANOPARTÍCULAS DISPERSAS EN MEDIO NUTRITIVO

E. coli presentó crecimiento en la dilución 1:100 de ambas formulaciones de nanopartículas, en concentraciones de colonias demasiado numerosas para ser contadas. Por su parte, *S. aureus* no presentó crecimiento en ninguna dilución de ambas formulaciones.(Figura 2)

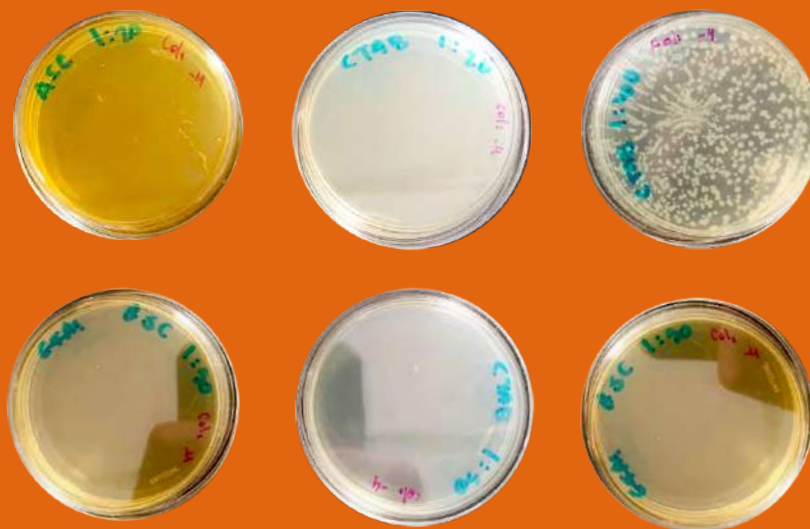


Figura 2. Diluciones de Nanopartículas en medio de cultivo. Fila superior a inferior diluciones 1:20 ; 1:50 y 1:100. Columna izquierda formulación ácido orgánico, columna derecha formulación CETRIMI-DA. A:*E.coli* , B: *S. aureus*.

SENSIDISCOS

Ambas cepas bacterianas mostraron fronteras de inhibición en ambas formulaciones, variando en su sensibilidad. *S. aureus* mostró una sensibilidad significativa por ambas formulaciones, mientras que *E. coli* mostró mayor sensibilidad por las formulación de CETRIMIDA. Los "halos de inhibición" de CETRIMIDA mostraron una forma irregular (Figura 3), mientras que los de ácido orgánico fueron circulares. Se tomó medida del mayor diámetro en cada condición para registrar las sensibilidad. (Tabla 1)



Figura 3. Sensidiscos con diluciones de izq a der: 1:1 ; 1:2 , 1:4 ; 1:8 ; 1:16.
 Fila superior E. coli.
 Fila inferior S. aureus. A: Ácido orgánico, C: CETRIMIDA.



	1:1		1:2		1:4		1:8		1:16	
	Centrimida	Ac. Org	Centrimida	Ac. Org	Centrimida	Ac. Org	Centrimida	Ac. Org	Centrimida	Ac. Org
E.coli	20	5	13	6	11	6	8	6	6	6
S.aureus	45	14	45	12	43	11	35	8	30	7

Tabla 1. Diámetros en milímetro de los halos de inhibición de sensidiscos.

IV. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

- Mediante los experimentos realizados se confirmó la presencia de actividad antimicrobiana en las formulaciones analizadas. Se observó una mayor capacidad por parte de la formulación CETRIMIDA para inhibir el crecimiento de ambas cepas en el experimento de sensibilidad.

-Las nanopartículas de CETRIMIDA mostraron una difusión poco uniforme, por la presencia del surfactante.

- Por otra parte el experimento de dispersión en medio de cultivo, mostró buenos resultados pese al alto factor de dilución (hasta 100 veces), esto posiblemente es a causa de la necesidad de agua (abundante en el hidrogel de agar) para activar los mecanismos de antibacterianos de las nanopartículas (Disolución de iones de cobre).

- E. coli se encontraba un orden de magnitud más concentrado, esto puede afectar en que los resultados de FD 1:100 mostraron un crecimiento abundante de esta.