

INFORME	Determinación de la viabilidad de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sobre muestras de vidrio y bronce tratadas con Liquid Guard®
Solicitante	DORNOCH
Fecha del informe:	10 de diciembre de 2020
Responsables del informe:	Dr. Alejandro G. Miñán, Dra. Patricia L. Schilardi

Evaluación de la actividad antibacteriana del producto Liquid Guard® aplicado sobre vidrio y bronce

Se realizaron ensayos según la norma JIS Z 2801:2010.

1- Materiales

Se emplearon piezas de vidrio (portaobjetos) y de bronce (lámina de aproximadamente 0,2 mm de espesor) de 2,5 cm x 2,5 cm (6,25 cm²), a las que se le aplicó Liquid Guard® según las indicaciones del fabricante adjuntas al producto. Como control se emplearon muestras de los materiales sin tratar. Para cubrir el inóculo bacteriano se usó un cubreobjeto de vidrio de 2,2 x 2,2 cm (4,84 cm²) estéril. Tanto las muestras como los cubreobjetos se esterilizaron con alcohol al 70% seguido de radiación UV durante 1 h.

2- Microorganismos

Se utilizaron cultivos bacterianos de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, ATCC 25923) y *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*, aislado clínico). Se empleó una suspensión bacteriana con aproximadamente 5×10^5 UFC/mL.

3- Ensayos de actividad antibacteriana.

Se evaluó la acción antimicrobiana a tiempo 0, 1, 5, 24, 48 y 72 h en ambos patógenos. Para cada microorganismo se emplearon 18 muestras sin tratar y 18 muestras tratadas con Liquid Guard®. Todas las muestras fueron inoculadas con 40 µl de suspensión bacteriana y cubiertas con cubreobjetos. Luego fueron incubadas a 36 ± 1 °C con 90% de humedad durante 1, 5, 24, 48 y 72 h. Al cumplirse el tiempo establecido, las correspondientes muestras control y tratadas se lavaron inmediatamente con 10 ml de caldo y se sometieron a baño ultrasónico (no afecta la viabilidad bacteriana) para liberar las bacterias que pudieron quedar adheridas a la superficie del material. Finalmente, se cuantificaron las unidades formadoras de colonias (UFC) presentes en las muestras por el método de dilución y recuento en placa. El número de UFC se denotan NC y Nt para las muestras control y tratadas, respectivamente. El número de UFC correspondientes a tiempo 0 h representa el número de bacterias iniciales en el material.

Cálculo de la acción antibacteriana:

$$R \text{ (actividad antibacteriana)} = C - T$$

Donde C es el log₁₀ de las UFC obtenidas en la muestra sin tratar (control) luego de la incubación al tiempo t (t=1, 5, 24, 48, 72 h) y T es el log₁₀ de las UFC obtenidas en la muestra tratada luego de la incubación al tiempo t (t=1, 5, 24, 48, 72 h).

Cálculo del % de Eficacia:

$$\% \text{ de Eficacia} = (N_c - N_t) \times 100 / N_c$$

Donde N_c es el recuento de microorganismos viables en la muestra sin tratar (control) y N_t el recuento de microorganismos viables en la muestra tratada.

3.- Resultados

3.1- Evaluación de la actividad antibacteriana de vidrio y bronce tratados con Liquid Guard® frente a *S. aureus*

Tabla 1. Material: vidrio, microorganismo: *S. aureus*

Muestra⁽¹⁾	N_c	N_t	C	T	R	%Eficacia
Control 0 h	1,13x10 ⁵		5,05			
LG 0 h		1,09 x10 ⁵		5,04		
Control 1 h	4,77 x10 ⁵		5,68			
LG 1h		1,01 x10 ³		3,00	2,67	99,788
Control 5 h	3,16 x10 ⁶		6,50			
LG 5h		3,67 x10 ²		2,56	3,94	99,988
Control 24h	2,00 x10 ⁵		5,30			
LG 24 h		1,67 x10 ²		2,22	3,08	99,917
Control 48h	1,10 x10 ³		3,04			
LG 48h		0,00		0,00	3,04	100

LG: muestras tratadas con Liquid Guard®. ⁽¹⁾ La viabilidad correspondiente a 72 h fue nula tanto en las muestras control como las muestras tratadas, probablemente debido la falta de nutrientes y a la deshidratación en las condiciones establecidas por la norma JIS Z 2801:2010 luego de 72 h.

Las muestras de vidrio tratadas con Liquid Guard® exhibieron actividad antibacteriana. Ésta es superior a 3 log con una eficacia del 99,9 % a partir de las 5 h de exposición, alcanzando el 100% de eficacia a las 48 h.

Tabla 2. Material: bronce, microorganismo *S. aureus*

Muestra ⁽¹⁾	Nc	Nt	C	T	R	%Eficacia
Control 0 h	1,41 x10 ⁶		6,15			
LG 0 h		1,45 x10 ⁶		6,16		
Control 1 h	8,47 x10 ⁴		4,93			
LG 1h		1,17 x10 ³		3,07	1,86	98,62
Control 5 h	6,00 x10 ³		3,78			
LG 5h		4,00 x10 ²		2,60	1,18	93,33
Control 24h	-					
LG 24 h		-			-	-

LG: muestras tratadas con Liquid Guard®. ⁽¹⁾ Se evaluaron, además, las muestras a 48 y 72 h. Para estos tiempos, al igual que para 24 h, la viabilidad bacteriana en la muestra control fue nula. Esto podría ser debido a la presencia de iones Cu(II) en el medio, proveniente de la oxidación del bronce en un medio acuoso con presencia de oxígeno y iones cloruro (presentes en el medio de cultivo).

Las muestras de bronce tratadas con Liquid Guard® mostraron una eficacia antimicrobiana del 98,62 % (actividad antimicrobiana 1,86 log) durante la primer hora y del 93,33 % (actividad antimicrobiana 1,18 log) al concretarse 5 h de exposición. Este decaimiento en la eficacia antibacteriana puede explicarse por la disminución de la viabilidad bacteriana en la superficie de bronce sin tratar (control) producto de las propiedades antimicrobianas *per se* del cobre presente en el material de bronce. Es importante destacar que la cantidad de bacterias presentes en la superficie tratada disminuyó 2,33 log respecto al control de 1 h y 3,55 log comparado con el inóculo inicial. Cumplidas las 24 h no se observan bacterias viables sobre la superficie sin tratar.

3.2- Evaluación de la actividad antibacteriana de vidrio y bronce tratados con Liquid Guard® frente a *P. aeruginosa*

Tabla 3. Material: bronce, microorganismo: *P. aeruginosa*

Muestra	Nc	Nt	C	T	R	%Eficacia
Control 0 h	2,13 x10 ⁵		5,33			
LG 0h		1,45 x10 ⁵		5,16		
Control 1 h	1,06 x10 ⁵		5,02			
LG 1h		1,02 x10 ⁴		4,01	1,02	90,35
Control 5 h	1,03 x10 ⁶		6,01			
LG 5h		1,40 x10 ⁴		4,15	1,87	98,64
Control 24h	1,14 x10 ⁵		5,06			
LG 24 h		3,50E x10 ³		3,54	1,51	96,93
Control 48h	4,25 x10 ⁴		4,63			
LG 48h		2,27 x10 ³		3,36	1,27	94,66

LG: muestras tratadas con Liquid Guard®.

Las muestras de vidrio tratadas con Liquid Guard® exhibieron una actividad antimicrobiana que osciló entre 1,02 y 1,87 log y una eficacia antimicrobiana máxima del 98,64 % a partir de las 5 h de exposición, alcanzando el 94,66 % de eficacia a las 48 h. La eficacia antimicrobiana decae ligeramente a partir de las 24 h, probablemente como consecuencia de la pérdida de viabilidad en el control, que puede ser explicado por la disminución de nutrientes. Sin embargo se puede apreciar una disminución de 1,97 log a las 48 hs respecto del inóculo inicial lo que indica una acción bacteriostática.

Tabla 4. Material: bronce, microorganismo: *P. aeruginosa*

Muestra	Nc	Nt	C	T	R	%Eficacia
Control 0 h	1,45 x10 ⁵		5,16			
LG 0h		2,27 x10 ⁵		5,36		
Control 1 h	2,11 x10 ⁴		4,32			
LG 1h		4,33 x10 ²		2,64	1,69	97,95
Control 5 h	4,10 x10 ³		3,61			
LG 5h		0,00		0,00	3,61	100
Control 24h	3,25 x10 ²		2,51			
LG 24 h		0,00		0,00	2,51	100

LG: muestras tratadas con Liquid Guard®.

Las muestras de bronce tratadas con Liquid Guard® mostraron una eficacia antimicrobiana del 97,95 % (actividad antimicrobiana 1,69 log) durante la primera hora, y 100 % a partir de las 5 h (3,61 log) y 24 h (2,51 log) de exposición.

4.- Conclusiones

La aplicación de Liquid Guard® sobre superficies de vidrio muestra una acción bactericida en *S. aureus* y bacteriostática en *P. aeruginosa*. En el caso del del producto aplicado sobre bronce, se observa un efecto bactericida en la cepa de *P. aeruginosa* a partir de las primeras 5 h y logra la erradicación en el plazo de 24 hs. Para *S. aureus* se observa un efecto bacteriostático en las primeras 5 horas, mientras que a partir de 24 h no se observan *S. aureus* viables sobre las superficies control, probablemente debido a la susceptibilidad de esta cepa al cobre presente en la muestra de bronce.



Dr. Alejandro G. Miñán



Dra. Patricia L. Schilardi