

INFORME DE LABORATORIO

1. INTRODUCCIÓN.

En los últimos años, el interés en los textiles antimicrobianos ha aumentado rápidamente. Los textiles convencionales son susceptibles al crecimiento de microorganismos, lo que genera problemas higiénicos y estéticos, como olores desagradables, manchas y pérdida de resistencia en las telas. Estos problemas no solo afectan la durabilidad de los textiles, sino que también representan riesgos para la salud.

Para abordar estos desafíos, algunos productos textiles están siendo tratados con agentes antimicrobianos que previenen y protegen contra el crecimiento de bacterias. Este enfoque tiene como objetivo mejorar la calidad de vida al mantener los textiles más limpios y duraderos.

Este procedimiento se realizó con dos especies de bacterias: *Staphylococcus aureus* ATCC 2592 gram positiva y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 gram negativa, empleando el método de absorción en el cual consiste en una inoculación directa de la suspensión bacteriana.

2. Objetivo

- * Detectar actividad antibacteriana en gasas con nanopartículas de plata.

3. Procedimiento Analítico

(Método de Absorción)

- A partir de un cultivo en placa de las cepas utilizadas, se tomó una muestra de cada una y se inoculó en caldo nutritivo para obtener cultivos frescos. Transcurrido el período de incubación de las cepas (24 horas), el cultivo de ensayo tenía una concentración de 10^5 células/ml para *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*.
- Inmediatamente después de obtener el cultivo se procedió como sigue:**
 - * Se dispusieron un total de 6 muestras sin bactericida (control) y 6 muestras con nanopartículas, cortadas hasta obtener una masa de $0,40 \text{ g} \pm 0,05 \text{ g}$. De estas, 3 muestras de control y 3 muestras con bactericida (muestra de prueba) se utilizaron para el tiempo 0, y las otras restantes se utilizaron para el tiempo de contacto de 24 horas de incubación.
 - * Posteriormente, se colocaron las piezas por separado (12 en total) dentro de una placa de Petri estéril, que luego se inoculó con 0,2 ml del cultivo de *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* preparados anteriormente.
 - * Inmediatamente después de la inoculación, se añadieron 20 ml del medio SCDLP (solución neutralizante) en cada una de las 6 muestras del tiempo 0 (3 de control y 3 con bactericida). Estas se procesaron de manera inmediata, tomando el inóculo obtenido del lavado de la gasa con el neutralizante.
 - * Las 6 muestras restantes (tiempo 24) se incubaron a $37^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ durante 18 a 24 horas.

- * Transcurridas las 24 horas de incubación de las gasas expuestas con el inóculo (tiempo 24 horas), se añadió 20 ml del medio SCDLP (solución neutralizante) en cada una de las 6 muestras del tiempo 24 (3 de control y 3 con bactericida). Estas se procesaron de manera inmediata, tomando el inóculo obtenido del lavado de la gasa con el neutralizante.
- * Finalmente, se colocaron las placas de Petri con el cultivo a incubar durante 24 horas a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

4. Resultados

Determinación de la eficacia de la prueba con la muestra control

Cuando se cumpla las condiciones de a) y b) o a), b), el ensayo se considera eficaz

- El inóculo de prueba se 1×10^5 ufc/ml hasta 3×10^5 .
- La diferencia de logaritmo para las tres muestras control inmediatamente de la inoculación (tiempo 0) y después de la incubación (tiempo 24) deberá ser inferior a uno.

Concentración del inóculo de prueba entre 1×10^5 ufc/ml hasta 3×10^5 .	Resultado analítico inóculo <i>Staphylococcus aureus</i>	Resultado analítico inóculo <i>Klebsiella pneumoniae</i>
1×10^5 ufc/ml hasta 3×10^5 .	$2,4 \times 10^5$	$3,0 \times 10^5$

La diferencia de logaritmo para las tres muestras control inmediatamente de la inoculación (tiempo 0) y después de la incubación (tiempo 24)	Resultado analítico <i>Staphylococcus aureus</i>	Resultado analítico <i>Klebsiella pneumoniae</i>
< 1	0,19	0,06

Resultados Analíticos

a) Evaluación actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus						
Tipo de muestra	Tiempo de Evaluación	ufc/ muestra	Log ufc	Recuento Microorganismo viables	Actividad microbiana	Interpretación
Tela control	0 horas (inmediatamente después de la inoculación)	5,1 x 10 ⁵	5,71	0,19	2,06	Actividad Significativa
	24hrs (después de la incubación)	3,3 x 10 ⁵	5,51			
Tela experimental	0 horas (inmediatamente después de la inoculación)	5,9 x 10 ⁵	5,77	-1,87		
	24hrs (después de la incubación)	8 x 10 ³	3,90			

b) Evaluación actividad antibacteriana frente a *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae						
Tipo de muestra	Tiempo de Evaluación	ufc/ muestra	Log ufc	Recuento Microorganismo viables	Actividad microbiana	Interpretación
Tela control	0 horas (inmediatamente después de la inoculación)	3,9 x 10 ⁵	5,59	0,06	2,39	Actividad Significativa
	24hrs (después de la incubación)	4,6 x 10 ⁵	5,66			
Tela experimental	0 horas (inmediatamente después de la inoculación)	3,1 x 10 ⁵	5,49	-2,33		
	24hrs (después de la incubación)	1,4 x 10 ³	3,16			

Rangos de interpretación de actividad antimicrobiana

Actividad antimicrobiana	Eficacia específica
No tiene actividad	< 0,5
Tiene una leve actividad	$\geq 0,5$ a < 1
Actividad significativa	≥ 1 a < 3
Fuerte actividad	≥ 3

5. Discusión

Para evaluar la actividad antibacteriana, se realizó una comparación entre los resultados del recuento de bacterias provenientes de los inóculos incubados en el material impregnado con nanoplate y aquellos obtenidos de los inóculos incubados en el material sin nanopartículas (control).

Para esto el ensayo debe cumplir ciertos controles para indicar que el ensayo es eficaz:

Los inóculos adicionados al material de ambos microorganismos deben situarse en un rango de 1×10^5 a 3×10^5 , criterio que se cumple, ya que los valores obtenidos son de $2,4 \times 10^5$ para *Staphylococcus aureus* y $3,0 \times 10^5$ para *Klebsiella pneumoniae*.

Además, la diferencia entre los logaritmos de reducción de los recuentos obtenidos en la muestra control al tiempo 0 y los logaritmos correspondientes al control tras 24 horas no debe superar el valor de 1, lo cual también se verifica, dado que todos los logaritmos obtenidos son menores a 1.

Según los resultados obtenidos podemos indicar:

La actividad bactericida, expresada en unidades logarítmicas, muestra una reducción de 2,36 para *Klebsiella pneumoniae* y de 2,06 para *Staphylococcus aureus*. Esto evidencia una disminución significativa de los microorganismos cuando están expuestos al material con agente antibacteriano en comparación con el material sin dicho agente.

6. Conclusión

En base a lo analizado, se puede concluir que la gasa impregnada con nanoplate posee una actividad bactericida significativa para ambos microorganismos en estudio.

Nota: La actividad bactericida significativa es un término técnico que describe la capacidad comprobada de un agente antimicrobiano para eliminar eficazmente bacterias patógenas bajo condiciones específicas, respaldada por criterios científicos y normativas internacionales. Su significado se fundamenta en la reducción bacteriana $\geq 99.9\%$ (equivalente a 3 ciclos logarítmicos) en ≤ 24 horas.