

(19):



República Argentina
Ministerio de Economía y Producción
Secretaría de Industria, Comercio y de la
Pequeña y Mediana Empresa
Instituto Nacional de la Propiedad Industrial

(11) No de publicación:

AR 104508 A1

(41) Fecha de publicación:

26.07.2017

(51) Int. Cl.:

C23C 24/00

(12)

Solicitud de Patente Independiente

(22) Fecha de presentación: **03/05/2016**

(71) Solicitante(s):

(21) Número de solicitud: **P160101253**

**CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS (CONICET) , GODOY CRUZ
2290, (1425) CDAD. AUT. DE BUENOS AIRES, AR
COMISIÓN NACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA (CNEA) ,
AV. DEL LIBERTADOR 8250, (1429) CDAD. AUT. DE
BUENOS AIRES, AR**

(72) Inventor(es):

**COSTA, CRISTINA SUSANA; SOLER ILLIA, GALO JUAN
DE ÁVILA ARTURO; PIZARRO, RAMÓN; BELLINO,
MARTÍN GONZALO; CATALANO, PAOLO NICOLÁS;
PEZZONI, MAGDALENA**

(54) Título:

**USO DE UNA PELÍCULA DE ÓXIDO MESOPOROSO, EN LA OBTENCIÓN DE UN RECUBRIMIENTO CERÁMICO
TRANSPARENTE Y ULTRADELGADO QUE INHIBE LA FORMACIÓN DE BIOFILMS BACTERIANOS SOBRE LA
SUPERFICIE RECUBIERTA**

(57) Resumen:

La presente se refiere al uso de una película de óxido mesoporoso, sintetizada mediante la técnica de sol - gel, autoensamblado de surfactantes y eliminación del agente estructurante mediante calcinación, que presenta un tamaño de poro de entre alrededor de 4 nm y alrededor de 9 nm, caracterizada porque se la utiliza en la obtención de un recubrimiento cerámico transparente y ultradelgado que inhibe la formación de biofilms bacterianos en la superficie recubierta, en donde la película se deposita sobre la superficie mediante la técnica de dip coating o spin coating.

331900 - 464
311900 - 912
1676

En caso de ser Modificatoria indicar el N° de Acta.

INPI Exp.: **20160101253**



Trámite: 16078989 PATENTES Importe: \$1676.-

Fecha/Hora: 03/05/2016 14:1:50.510

Solicitante: PARTICULAR



REPÚBLICA ARGENTINA

**INSTITUTO NACIONAL DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL
ADMINISTRACION NACIONAL DE PATENTES**



SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION

x

SOLICITUD DE MODELO DE UTILIDAD

Hoja

de

I. SOLICITANTE (S)

CANTIDAD DE SOLICITANTES

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

C.U.I.T. / C.U.I.L.

/ C.D.I. :

30-54666038-5

Consigñar Nombre y Apellido o Denominación Social (de uno de ellos el resto en ANEXO)

D.N.I.

Personas Físicas:

Estado Civil:

Nupcias

Nombre y apellido del cónyuge:

DNI

Godoy Cruz 2290

Domicilio Real: Calle: N°: Piso y Dpto.

Localidad:

CABA

C. P. N°

1425

País de Residencia:

AR

Godoy Cruz 2290

1033

Domicilio Legal - Calle - N° - Localidad - Provincia

Código Postal

Dirección de e-mail:

patentes@conicet.gov.ar

Teléfono:

4899-5400 int. 2983

II. OBJETO

Título de la invención

USO DE UNA PELICULA DE ÓXIDO MESOPOROSO, EN LA OBTENCIÓN DE UN RECUBRIMIENTO CERÁMICO TRANSPARENTE Y ULTRADELGADO QUE INHIBE LA FORMACIÓN DE BIOFILMS BACTERIANOS SOBRE LA SUPERFICIE RECUBIERTA

Cáncer de la Patente / Modelo de Utilidad

INDEPENDIENTE

Adicional a:

Patente N°

Divisional de la

Solicitud N°

Solicitud N°

PRIORIDAD (LEY 17.011)

PAIS

NUMERO

FECHA

INPI
Administración Nacional de Patentes
CONTROL ADMISIÓN
INTIMACIÓN ☒ NO ☐ SI

DEPOSITO DE MICROORGANISMOS

FECHA DE DEPOSITO

N° DE ACCESO AL DEPOSITO

Nombre de la Institución Depositaria

Domicilio de la Institución

País

Datos del Depositante

Origen del Material Biológico y Genético

Continúa en hoja anexa:

III. SOCIEDADES

SOCIEDAD REPRESENTADA POR

Ramiro Nicolás Pedro Picasso

QUIEN

DECLARA BAJO JURAMENTO QUE INVISTE EL CARÁCTER DE

APODERADO

QUE SU

MANDATO SE ENCUENTRA VIGENTE Y LA SOCIEDAD SE HALLA INSCRIPTA EN

Datos de Inscripción en R.P.C. / I.G.J.

Fecha:

Número

N° Folio

Tomo:

IV. MANDATO

Poder inscripto en el I.N.P.I. bajo el número:

EN ESTE ACTO SE AUTORIZA A: (Apellido y Nombre y N° de DNI)

BRECKON GILDA DNI 22598196

☐ Para todas aquellas gestiones de mero tramite tales como practicar desgloses, retirar testimonios, certificados, títulos, copias y notificaciones en el expediente.

☒ Contestar vistas, desistir solicitud, realizar peticiones (solamente cuando el Autorizado sea Agente de la Propiedad Industrial)

SE ACOMPAÑA PODER

☒

AGENTE N°

V. DECLARACION DE DIVULGACION PREVIA

A los efectos de lo indicado en el Art. 5° de la Ley 24.481, manifiesta que el presente invento ha sido divulgado previamente: ☐ NO ☐ (SI / NO) En caso afirmativo en fecha:

VI. OBSERVACIONES

Se procede al pago de la tasa de examen de fondo que a tal efecto prevee el decreto 260/96, modificado por el decreto 878/06.

La presente solicitud se efectúa en carácter de Gestor de Negocios a favor de la Comisión Nacional de Energía Atómica quienes se presentarán a ratificar en legal término.

La presente solicitud se efectúa en carácter de Gestor de Negocios a favor de la UBA, quienes se presentarán a ratificar en legal término.

Se deja constancia que los datos vertidos en el presente formulario revisten el carácter de declaración jurada; cualquier falsedad inserta en el mismo acarreará las consecuencias legales correspondientes.

NOTA: El pago del arancel correspondiente deberá concretarse al momento de la presentación o durante, las dos primeras horas de atención del subsiguiente día hábil. De no ocurrir el pago en dicho plazo, de pleno derecho de tendrá por no efectuada la presentación, la que no producirá efecto alguno.

Firma del / los autorizado / s

Firma del solicitante o su apoderado o representante legal

Lic. RAMIRO PICASSO
COORDINADOR GENERAL
DIRECCIÓN DE VINCULACIÓN TECNOLÓGICA
CONICET

USO INTERNO

LA PRESENTACION CONSTA DE FOJAS**CAMBIO DE DOMICILIO/CORREO ELECTRONICO/TELEFONO:**

FECHA

Domicilio Real- Calle

N°

Localidad:

C. P. N°

País de Residencia:

Domicilio Legal - Calle - N° - Localidad - Provincia

Codigo Postal

Dirección de e-mail:

Teléfono:

CAMBIO DE APODERADO / AUTORIZADO:

FECHA

Nuevo Apoderado o Autorizado:

TRANSFERENCIA O CAMBIO DE RUBRO:

INPI Exp.: 20160101253

PARA U
NACIONA

Trámite: 16078989 PATENTES Importe: \$1676.-

Fecha/Hora: 03/05/2016 14:1:50.510

Solicitante: PARTICULAR



REPUBLICA ARGENTINA

INSTITUTO NACIONAL DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL
ADMINISTRACION NACIONAL DE PATENTES

ANEXO TITULARES

Hoja de Título de la
invención

UN PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE UN RECUBRIMIENTO CERÁMICO TRANSPARENTE QUE PRESENTA UN EFECTO ANTIBACTERIANO Y EL RECUBRIMIENTO CERÁMICO TRANSPARENTE QUE PRESENTA UN EFECTO ANTIBACTERIANO ASÍ OBTENIDO.

Carácter de la Patente /
Modelo de Utilidad

INDEPENDIENTE

Universidad de Buenos Aires

C.U.I.T. / C.U.I.L. /
C.D.I.:

CUIT: 30-54666656-1

Consigñar Nombre y Apellido o Denominación Social

D.N.I.

Personas Físicas:

Estado Civil:

Nupcias

Nombre y apellido del cónyuge:

D.N.I.

Viamonte 430/444

Domicilio Real- Calle;Nº; Piso y Dpto.

Localidad:

Ciudad De Buenos Aires

C. P. Nº

1053

País de Residencia:

AR

Personas Jurídicas: Datos de
Inscripción en R.P.C. / I.G.J.

Fecha:

Número

Nº Folio

Tomo:

Dirección de e-mail:

Teléfono:

(54-11) 4510-1100

Datos del representante legal

Firma del solicitante o su representante legal

C.U.I.T. / C.U.I.L. /
C.D.I.:

Consigñar Nombre y Apellido o Denominación Social

D.N.I.

Personas Físicas:

Estado Civil:

Nupcias

Nombre y apellido del cónyuge:

D.N.I.

Domicilio Real- Calle;Nº; Piso y Dpto.

Localidad:

C. P. Nº

País de Residencia:

Personas Jurídicas: Datos de
Inscripción en R.P.C. / I.G.J.

Fecha:

Número

Nº Folio

Tomo:

Dirección de e-mail:

Teléfono:

Datos del representante legal

Firma del solicitante o su representante legal

PARA US
NACIONAL

INPI Exp.: 20160101253



Trámite: 16078989 PATENTES Importe: \$1676.-

Fecha/Hora: 03/05/2016 14:1:50.510

Solicitante: PARTICULAR

INSTITUTO N.

ADMINISTRACION NACIONAL DE PATENTES



REPÚBLICA ARGENTINA



ANEXO TITULARES

Hoja

de

Título de la invención	USO DE UNA PELÍCULA DE ÓXIDO MESOPOROSO, EN LA OBTENCIÓN DE UN RECUBRIMIENTO CERÁMICO TRANSPARENTE Y ULTRADELGADO QUE INHIBE LA FORMACIÓN DE BIOFILMS BACTERIANOS SOBRE LA SUPERFICIE RECUBIERTA.				
Cácter de la Patente / Modelo de Utilidad	INDEPENDIENTE				
COMISION NACIONAL DE ENERGIA ATOMICA			C.U.I.T. / C.U.I.L. / C.D.I. :		CUIT: 30-54666021-0
Consigñar Nombre y Apellido o Denominación Social			D.N.I.		
Personas Físicas:	Estado Civil:		Nupcias		
Nombre y apellido del cónyuge:			D.N.I.		
Av del Libertador 8250					
Domicilio Real- Calle;Nº; Piso y Dpto.					
Localidad:	Ciudad De Buenos Aires	C. P. Nº	1429	País de Residencia:	AR
Personas Jurídicas: Datos de Inscripción en R.P.C. / I.G.J.	Fecha:	Número	Nº Folio	Tomo:	
Dirección de e-mail:			Teléfono:	011 4704-1000	
Datos del representante legal			Firma del solicitante o su representante legal		

Consigñar Nombre y Apellido o Denominación Social			C.U.I.T. / C.U.I.L. / C.D.I. :		
D.N.I.					
Personas Físicas:	Estado Civil:		Nupcias		
Nombre y apellido del cónyuge:			D.N.I.		
Domicilio Real- Calle;Nº; Piso y Dpto.					
Localidad:		C. P. Nº		País de Residencia:	
Personas Jurídicas: Datos de Inscripción en R.P.C. / I.G.J.	Fecha:	Número	Nº Folio	Tomo:	
Dirección de e-mail:			Teléfono:		
Datos del representante legal			Firma del solicitante o su representante legal		

**USO DE UNA PELÍCULA DE ÓXIDO MESOPOROSO, EN LA
OBTENCIÓN DE UN RECUBRIMIENTO CERÁMICO
TRANSPARENTE Y ULTRADELGADO QUE INHIBE LA
FORMACIÓN DE BIOFILMS BACTERIANOS SOBRE LA
SUPERFICIE RECUBIERTA**

La presente invención se refiere al uso de una película de óxido mesoporoso, sintetizada mediante la técnica de sol-gel, autoensamblado de surfactantes y eliminación del agente estructurante mediante calcinación, que presenta un diámetro de poro de entre alrededor de 4 nm y alrededor de 9 nm, caracterizada porque se la utiliza en la obtención de un recubrimiento cerámico transparente y ultradelgado que inhibe la formación de biofilms bacterianos en la superficie recubierta, en donde la película se deposita sobre la superficie mediante la técnica de *dip coating* o *spin coating*.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El campo de los materiales mesoporosos ha evolucionado en las últimas décadas, desde el descubrimiento de los primeros materiales basados en sílice y moldeados a través de la incorporación de micelas como plantillas (Kresge et al., Nature, 1992, 359:710; Beck et al., J Am Chem Soc, 1992, 114:10834; Yanagisawa et al., Bull Chem Soc Jpn, 1990, 63:988). La posibilidad de combinar métodos de síntesis química suave con el autoensamblado molecular, ha abierto un amplio campo de investigación con aplicaciones sumamente interesantes (Soler-Illia et al. Chem. Rev. 2002, 102:4093-4138; Brinker et al., Adv. Mater. 1999, 11:579-585). De este modo, puede obtenerse una amplia gama de

materiales inorgánicos y matrices híbridas orgánicas-inorgánicas con una variedad de composición, diámetro de poros, funciones orgánicas o biológicas situadas en el esqueleto inorgánico, en los poros o en la superficie interior de dichos poros. El procesamiento de materiales mesoporosos como películas delgadas ofrece la oportunidad de crear novedosos recubrimientos que combinan las ventajas del control de la forma, simetría y diámetro de poro junto a sus posibles modificaciones superficiales, con destacadas propiedades ópticas y la posibilidad de ser aplicados sobre diferentes sustratos metálicos o cerámicos. En los últimos años, la producción de películas delgadas mesoporosas accesibles y funcionalizables, ya sea en donde la superficie de poros o el volumen de poros pueden ser modificados por diferentes grupos funcionales, moléculas biológicas o nanopartículas, ha sido extensamente explorada (Sanchez, et al. Chem. Mater. 2011, 20:682-737.; Innocenzi et al., Chem. Soc. Rev. 2013, 42:4198-4216).

Un biofilm es una comunidad de microorganismos adheridos a una superficie. En el mismo, las bacterias u otros microorganismos se encuentran embebidos en una matriz (compuesta por agua y sustancias poliméricas) que les provee estabilidad estructural y protección frente a diferentes factores de estrés, tales como la falta de nutrientes, la desecación, la presencia de antibióticos o biocidas, etc. (Mah, et al Nature. 2003 426:306-310; Flemming, et al Nat. Rev. Microbiol. 2010 8:623-6332010). El fenómeno de adhesión bacteriana sobre superficies constituye sólo la primera etapa en la formación de un biofilm. La proliferación celular y la formación de una matriz compleja conforman la segunda etapa y distinguen a los biofilms de la simple adhesión de bacterias sobre superficies.

Los biofilms bacterianos pueden estar formados por una o múltiples especies bacterianas, presentando entre 10 a 1000 veces mayor resistencia a agentes antimicrobianos como antibióticos y otros agentes con respecto a bacterias libres o planctónicas (Mah y O'Toole, Trends in Microbiology 2001, vol 9). Los mismos pueden desarrollarse en una amplia variedad de superficies, siendo responsables de alrededor del 65% de las infecciones hospitalarias. Los biofilms pueden formarse en implantes médicos tales como catéteres, caderas artificiales, válvulas cardíacas y lentes de contacto, y su impacto en la medicina es relevante en el mundo entero por sus efectos perjudiciales en términos sanitarios y económicos (Nickel, et al Eur. J. Clin. Microbiol 1985 4:213-218; Willcox, et al Biomaterials 2001. 22:3235-3247). Por otra parte, el desarrollo de microorganismos en superficies de tipo industrial, como por ejemplo sistemas de cañerías de agua o de hidrocarburos, puede tener un efecto perjudicial sobre las mismas (Walker, J.T., Mackerness, C.W., Rogers, J. and Keevil, C.W. *Microbial Biofilms*. 1995. H.M. Lappin-Scott and J.W. Costerton (eds.). Cambridge University Press, Great Britain, 196-204; Lenhart T.R., et al, Biofouling 2014. 30:823-835). Además de generar "bioensuciamiento", los biofilms pueden promover reacciones físico-químicas produciendo corrosión del material que compone dichas cañerías. La provisión de biocidas representa una parte no despreciable dentro de los costos de ciertas industrias; sin embargo, la acción de estos compuestos suele resultar ineficiente debido a la alta resistencia de los biofilms a los tratamientos de erradicación. De todo lo expuesto se desprende que para combatir los biofilms resulta más conveniente evitar su formación que utilizar tratamientos físicos o químicos una vez que se han instalado.

Se requieren por lo tanto nuevas alternativas que provean factibilidad industrial, bajo costo y alta efectividad al momento de erradicar o evitar su formación. En este marco, a partir de la nanotecnología, la regulación de la topografía de una superficie resulta una propuesta promisoría en el desarrollo de estrategias para evitar la formación de biofilms. Con este objetivo se ha investigado la posibilidad de utilizar materiales mesoporosos, a partir de sustratos de titanio (Variola et al., International Journal of Nanomedicine, 2014, 9:2319-2325) y polvos microparticulados tratados químicamente (Izquierdo-Barba et al., Acta Biomaterialia, 2011, 7:2977-2985; Kinnari et al., Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2009, 89A:215-223). Sin embargo, estos estudios demostraron sólo efectos sobre la adhesión bacteriana sin demostrar efectos sobre la formación de biofilms bacterianos. Además, no se han descrito hasta el momento recubrimientos mesoporosos delgados que puedan inhibir la formación de biofilms bacterianos y que puedan aplicarse sobre diversas superficies sin alterar su calidad óptica. Es por lo tanto que sigue existiendo la necesidad de desarrollar recubrimientos delgados que inhiban la formación de biofilms bacterianos y que conserven su transparencia óptica para ser aplicados sobre superficies que así lo requieran.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere al uso de una película de óxido mesoporoso, sintetizada mediante la técnica de sol-gel, autoensamblado de surfactantes y eliminación del agente estructurante mediante calcinación, que presenta un diámetro de poro de entre alrededor de 4 nm y alrededor de

9 nm, en la obtención de un recubrimiento cerámico transparente y ultradelgado que inhibe la formación de biofilms bacterianos en la superficie recubierta, en donde la película se deposita sobre la superficie mediante la técnica de *dip coating* o *spin coating*.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1. Distribución de diámetros de poro de las películas mesoporosas de sílice empleadas en el estudio, obtenidas por isotermas de adsorción de agua. MS-4 y MS-9 corresponden a las películas sintetizadas con $\text{Si}(\text{OEt})_4$ (TEOS)/CTAB y $\text{Si}(\text{OEt})_4$ (TEOS)/F127, respectivamente. Los insertos representan imágenes de microscopía de transmisión de dichas películas.

Figura 2. Patrones representativos de Dispersión de Rayos X a bajo ángulo (2D SAXS) de las películas mesoporosas de sílice empleadas en el estudio. Se muestra la estructura hexagonal 3D en el caso de MS-4 (diámetro de poro de 4 nm) y la estructura cúbica en el caso de MS-9 (diámetro de poro de 9 nm).

Figura 3. Efecto anti-biofilm de las películas mesoporosas de sílice, en biofilms sumergidos y en biofilms formados en la interfase aire líquido (*air-liquid interfase* o ALI).

a) Número promedio de células viables (unidades formadores de colonia o CFU) adheridas a las películas NMS (no mesoporosas), MS-4 y MS-9 luego de 4, 8 y 24 hs de incubación en medio de cultivo. b) Tinción con cristal violeta de biofilms crecidos sobre superficies NMS, MS-4 y MS-9 durante 24 hs. Se observan las imágenes de los

biofilms teñidos con cristal violeta, el cual fue eluido y cuantificado midiendo absorbancia a 575 nm. c) Cuantificación de sustancias poliméricas extracelulares (polisacáridos, proteínas y ADN) presentes en la matriz de biofilms de 24 hs crecidos sobre superficies NMS, MS-4 y MS-9. Los asteriscos demuestran diferencias significativas entre MS-9 y NMS (test t de Student): * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,003$.

Figura 4. Imágenes de microscopía electrónica de barrido de biofilms de 24 hs crecidos sobre películas NMS, MS-4 y MS-9. La barra representa 5 μm .

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Aunque existen reportes previos donde se describen los efectos de materiales mesoporosos sobre la adhesión bacteriana, éstos se refieren a la utilización de sustratos de titanio y polvos microparticulados, sin mostrar resultados concluyentes al respecto. Por el contrario, de acuerdo con la presente invención, el recubrimiento cerámico que aquí se revela puede ser aplicado sobre diversas superficies produciendo no sólo la inhibición de la adhesión bacteriana sino también la inhibición de la formación de biofilms bacterianos. Asimismo, el recubrimiento cerámico de la invención puede encontrarse en forma de una lámina ultradelgada, transparente, inerte, de bajo costo, escalable y robusta sin modificar la apariencia original de la superficie sobre la cual es depositado, no alterando las propiedades ópticas del material.

La presente invención se refiere al uso de una película de óxido mesoporoso, sintetizada mediante la técnica de sol-gel, autoensamblado de surfactantes y eliminación del agente estructurante mediante calcinación, que presenta un

diámetro de poro de entre alrededor de 4 nm y alrededor de 9 nm, en la obtención de un recubrimiento cerámico transparente y ultradelgado que inhibe la formación de biofilms bacterianos en la superficie recubierta, en donde la lámina se deposita sobre la superficie mediante la técnica de *dip coating* o *spin coating*. De acuerdo con la presente invención, se entiende como técnica de *dip coating* al proceso de recubrimiento por inmersión donde el sustrato es introducido en una solución precursora y retirado a velocidad controlada. Asimismo, se entiende como técnica de *spin coating* al proceso donde se deposita una cantidad de solución precursora sobre el sustrato y luego éste se rota a gran velocidad para lograr una distribución uniforme de la solución por fuerza centrífuga.

En una realización particular de la invención, se utiliza una película mesoporosa de sílice sintetizada mediante la técnica de sol-gel, autoensamblado de surfactantes y eliminación del agente estructurante mediante calcinación, con el objeto de proporcionar actividad anti-biofilm a la superficie recubierta con dicha película mesoporosa. Por un lado, dicha película mesoporosa de sílice se utiliza para inhibir la formación de biofilms bacterianos en la superficie recubierta, cuando dicha superficie se encuentra sumergida en el medio de cultivo bacteriano. Por otro lado, dicha película mesoporosa de sílice se utiliza para inhibir la formación de biofilms bacterianos en la interfase aire-líquido de la superficie recubierta.

De acuerdo con la invención, el recubrimiento con la película mesoporosa de sílice, no modifica la apariencia original de la superficie sobre la que es depositada.

Por otra parte, es un objeto particular de la invención el uso de una película mesoporosa de sílice para inhibir la

formación de biofilms bacterianos. En realizaciones más particulares, se la utiliza para inhibir la formación de biofilms bacterianos producidos por bacterias que pertenecen a la especie *Pseudomonas aeruginosa*. Este microorganismo es un relevante patógeno oportunista en humanos caracterizado por la formación de robustos biofilms relacionados con procesos de patogénesis y biocorrosión industrial. Se lo considera como organismo modelo para estudios con biofilms.

El recubrimiento cerámico de la invención puede ser aplicado comercialmente en centros de salud y otros lugares donde se requieran superficies libres de bacterias, por ejemplo, instalaciones de procesamiento de alimentos o biomédicas, áreas de juego y comedores. Las películas descritas en la presente invención podrían aplicarse sobre superficies cerámicas de lavabos, azulejos y baños o superficies de vidrio en puertas, ventanas y utensilios de cocina. Las películas también podrían aplicarse a superficies metálicas de grifos y picaportes, y equipamiento e instrumentos médicos.

Las películas mesoporosas (4 y 9 nm de diámetro de poro) se obtuvieron combinando la síntesis de óxidos por química sol-gel, controlando la hidrólisis y condensación de los precursores inorgánicos, con el autoensamblado de tensioactivos o copolímeros, que actúan como moldes de poro. Los compuestos de partida para la síntesis fueron Si (OEt)₄ (TEOS) y surfactantes iónicos (CTAB) y tensioactivos poliméricos de tipo POE-POP-POE (serie Pluronic-F127). Luego de tratamientos de post-estabilización a humedad y temperatura controladas, se eliminó el agente estructurante por calcinación obteniendo las películas porosas.

El funcionamiento de la invención ha sido demostrado mediante ensayos de formación de biofilms de *Pseudomonas aeruginosa*, empleando superficies no porosas como control. Se ensayaron dos sistemas diferentes de formación de biofilm: sumergidos e interfase aire-líquido, y se evaluó la formación del mismo a distintos tiempos. Los resultados obtenidos demostraron una significativa inhibición de adhesión celular y formación de biofilm en las superficies recubiertas con la película mesoporosa en comparación a superficies no porosas, ya sea de sílica no porosa o de vidrio.

Así, mediante la presente invención, resulta posible combatir biofilms de bacterias no deseables, los cuales pueden transformarse en un peligroso foco de infección perjudicial para la salud o generar corrosión o bioensuciamiento cuando se encuentran depositados en una superficie. El recubrimiento cerámico transparente de la invención, presenta una gran resistencia mecánica y puede ser aplicado sobre superficies cerámicas o metálicas, sin alterar sus propiedades ópticas.

Entre dichas superficies podemos mencionar aquellas destinadas a establecimientos sanitarios o alimentarios, como hospitales, restaurantes o frigoríficos; incluso hogares, enseres de utilización doméstica, incluyendo elementos sanitarios y electrodomésticos.

EJEMPLOS DE REALIZACIÓN

Obtención de las películas mesoporosas

Se obtuvieron películas mesoporosas de sílice sobre portaobjetos de vidrio (soporte), siguiendo procesos reportados en la bibliografía, en los cuales se combina la

síntesis de óxidos por química sol-gel (control de la hidrólisis y condensación de los precursores inorgánicos), con el autoensamblado de tensioactivos o copolímeros (que actúan como moldes de poro). Los compuestos de partida para la síntesis fueron $\text{Si}(\text{OEt})_4$ (TEOS) y surfactantes iónicos (CTAB) y tensioactivos poliméricos de tipo POE-POP-POE (serie Pluronic-F127). Luego de tratamientos de post-estabilización a humedad y temperatura controladas, se eliminó el agente estructurante por calcinación obteniendo las películas mesoporosas. (El procedimiento se describe, por ejemplo, en G. J. A. A. Soler-Illia y col., "Mesoporous hybrid and nanocomposite thin films. A sol-gel toolbox to create nanoconfined systems with localized chemical properties", J Sol-Gel Technol, 2011, 57, 299-312, el cual se adjunta a la presente, como referencia, en su totalidad).

Caracterización de las películas mesoporosas

La caracterización exhaustiva de los recubrimientos mesoporosos resulta fundamental, ya que las propiedades de las películas mesoporosas dependen fuertemente de su estructura de poros. Los resultados que permiten caracterizar perfectamente las películas mesoporosas descriptas se resumen en la Figura 1, Figura 2 y Tabla 1. MS-4 y MS-9 corresponden a las películas sintetizadas con $\text{Si}(\text{OEt})_4$ (TEOS)/CTAB y $\text{Si}(\text{OEt})_4$ (TEOS)/F127, respectivamente. Los números 4 y 9 son indicativos del diámetro promedio de poro presente (Figura 1) que depende del tipo de surfactante utilizado. En la Figura 2 se muestra la estructura hexagonal 3D para las películas MS-4 y la estructura cúbica para las películas MS-9.

Por otra parte, en la Tabla 1 también se pueden observar otros datos estructurales de MS-4 y MS-9 como la porosidad

y el espesor, así como el ángulo de contacto que es un indicador de hidrofobicidad de las películas utilizadas.

Tabla 1. Datos estructurales y medidas del ángulo de contacto (indicador de hidrofobicidad) de las películas empleadas en este estudio. MS-4 y MS-9 corresponden a las películas con un diámetro promedio de poro de 4 o 9 nm, respectivamente. Se utilizaron además películas no mesoporosas como control (NMS), sintetizadas mediante el mismo procedimiento que las mesoporosas pero sin la incorporación del surfactante que permite la formación de los mesoporos.

Tipo de película	Tamaño de poro (nm)	Porosidad (%)	Espesor (nm)	Ángulo de contacto (°)
NMS	-	5 ± 0.5	93 ± 1	23.0 ± 1
MS-4	4.1 ± 0.5	42 ± 2	150 ± 1	16.0 ± 1
MS-9	9.2 ± 0.8	37 ± 2	100 ± 1	28.0 ± 2

Inhibición de la formación de biofilms bacterianos por parte de las películas mesoporosas de acuerdo con la invención

Los estudios de actividad anti-biofilm de las películas de acuerdo con la invención, se llevaron a cabo empleando la cepa prototípica de *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. Este microorganismo es un relevante patógeno oportunista en humanos caracterizado por la formación de robustos biofilms relacionados con procesos de patogénesis y corrosión industrial. Se lo considera como organismo modelo para estudios con biofilms. Se presentan datos cuantitativos obtenidos mediante recuento de unidades formadoras de

colonias (UFC). Se emplearon dos sistemas de formación de biofilms: sumergido y ALI. En el primer sistema los recubrimientos fueron sumergidos totalmente en el caldo de cultivo bacteriano favoreciendo la formación de biofilms sobre toda la superficie, mientras que en el segundo sistema, denominado ALI, los recubrimientos fueron colocados en forma vertical dejando una porción de la misma fuera del medio de cultivo bacteriano favoreciendo la formación de biofilm en la interfase aire-líquido. Para los recubrimientos basados en las películas mesoporosas se observó una disminución significativa de células viables luego de 8 y 24 hs de incubación con inóculos de aproximadamente 10^8 bacterias/mL) (Figura 3a). Además, la cuantificación realizada por tinción con cristal violeta (Figura 3b) demostró claramente la inhibición en la formación de biofilm sobre las películas mesoporosas. También se observó una disminución en los niveles de sustancias poliméricas extracelulares de la matriz (polisacáridos, proteínas y ADN) sobre las películas mesoporosas (Figura 3c). Asimismo, las imágenes de microscopía electrónica de barrido muestran un menor número de células adheridas sobre la superficie de las películas mesoporosas (Figura 4). En todos los casos, el efecto inhibitorio sobre la formación de biofilms bacterianos fue mayor en el caso de MS-9, en ambos sistemas estudiados (sumergido y ALI).

De los resultados expuestos puede observarse que los recubrimientos cerámicos mesoporosos de acuerdo con la presente invención inhiben significativamente el desarrollo de biofilms de *Pseudomonas aeruginosa*, tanto en sistema sumergido como ALI.

En la literatura especializada, se describe que las películas mesoporosas pueden ser sintetizadas sobre

diversas superficies cerámicas y metálicas (Sanchez, et al. Chem. Mater. 2011, 20:682-737.; Innocenzi et al., Chem. Soc. Rev. 2013, 42:4198-4216). Por lo que cualquiera de estos materiales cerámicos y metálicos, ofrecerían el mismo efecto inhibitorio sobre la formación de biofilms bacterianos que aquí se menciona, al ser recubiertos con las películas mesoporosas reveladas en esta invención.

REIVINDICACIONES

1. Uso de una película de óxido mesoporoso, sintetizada mediante la técnica de sol-gel, autoensamblado de surfactantes y eliminación del agente estructurante mediante calcinación, que presenta un tamaño de poro de entre alrededor de 4 nm y alrededor de 9 nm, caracterizada porque se la utiliza en la obtención de un recubrimiento cerámico transparente y ultradelgado que inhibe la formación de biofilms bacterianos en la superficie recubierta, en donde la película se deposita sobre la superficie mediante la técnica de *dip coating* o *spin coating*.

2. Uso de una película de óxido mesoporoso, de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque se la utiliza para recubrir una superficie, con el objeto de proporcionar actividad antibiofilm a dicha superficie.

3. Uso de una película de óxido mesoporoso, de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque se la utiliza para inhibir la formación de biofilms bacterianos en la superficie recubierta, cuando dicha superficie se encuentra sumergida.

4. Uso de una película de óxido mesoporoso, de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque se la utiliza para inhibir la formación de biofilms bacterianos en la interfase aire-líquido de la superficie recubierta.

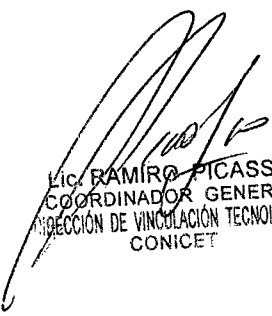
5. Uso de una película de óxido mesoporoso, de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque no modifica la apariencia original de la superficie sobre la que es depositada.

6. Uso de una película de óxido mesoporoso, de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque se la utiliza para inhibir la formación de biofilms bacterianos producidos por bacterias que pertenecen a la especie *Pseudomonas aeruginosa*.

7. Uso de una película de óxido mesoporoso, de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque los óxidos utilizados son por ejemplo SiO_2 , TiO_2 , ZrO_2 o sus combinaciones.

8. Uso de una película de óxido mesoporoso, de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque los surfactantes utilizados para su síntesis pertenecen al grupo de tensioactivos poliméricos no iónicos o tensioactivos iónicos.

9. Uso de una película de óxido mesoporoso, de acuerdo con la reivindicación anterior, caracterizada porque los tensioactivos poliméricos no iónicos corresponden al tipo POE-POP-POE y los tensioactivos iónicos al tipo sal de amonio cuaternario.


LIC. RAMIRO PICASSO
COORDINADOR GENERAL
DIRECCIÓN DE VINCULACIÓN TECNOLÓGICA
CONICET

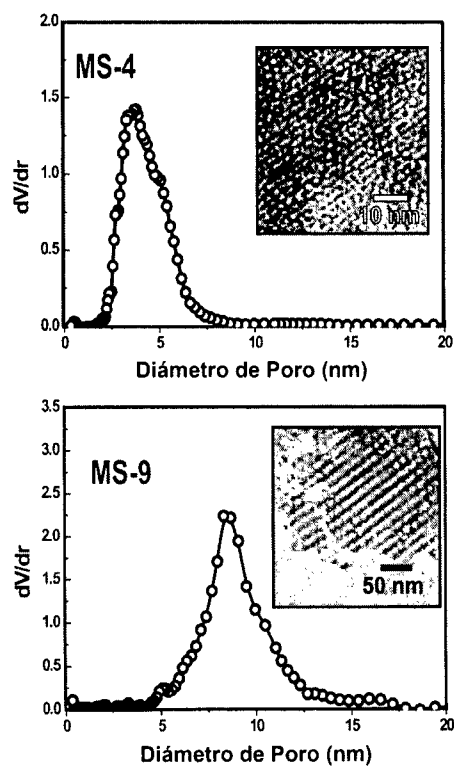


FIGURA 1

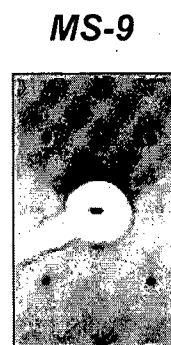
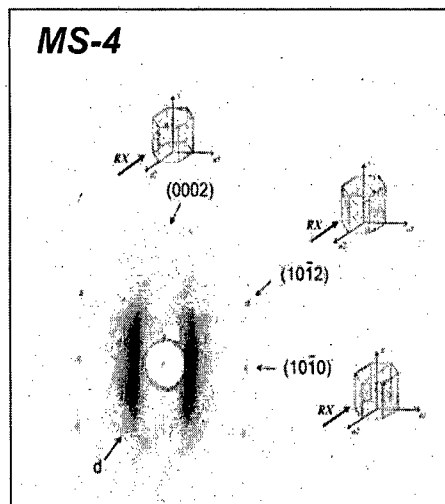


FIGURA 2

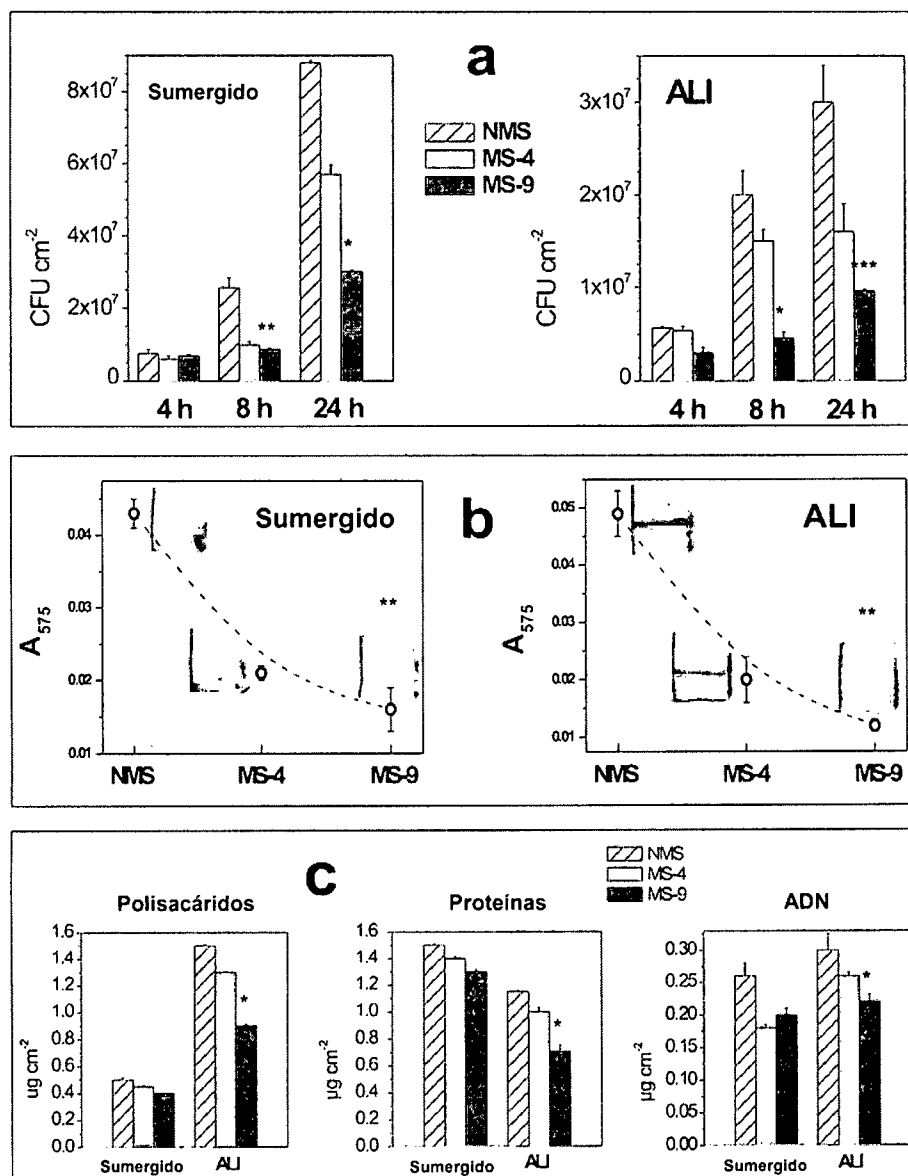


FIGURA 3

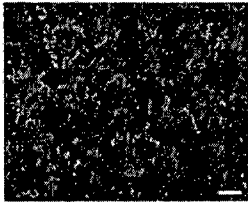
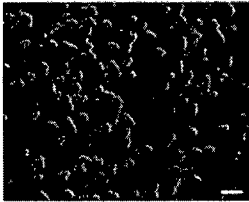
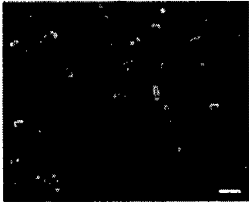
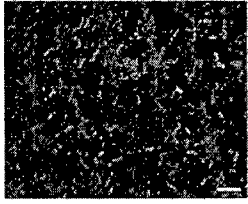
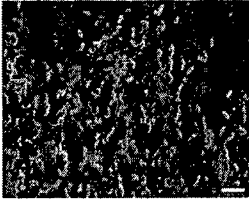
Tipo de Biofilm	Tipo de superficie		
	NMS	MS-4	MS-9
Sumergido			
ALI			

FIGURA 4

RESUMEN

Se revela el uso de una película de óxido mesoporoso, sintetizada mediante la técnica de sol-gel, autoensamblado de surfactantes y eliminación del agente estructurante mediante calcinación, que presenta un tamaño de poro de entre alrededor de 4 nm y alrededor de 9 nm, caracterizada porque se la utiliza en la obtención de un recubrimiento cerámico transparente y ultradelgado que inhibe la formación de biofilms bacterianos en la superficie recubierta, en donde la película se deposita sobre la superficie mediante la técnica de *dip coating* o *spin coating*.

PARA US

INPI Exp.: 20160101253

Trámite: 16078989 PATENTES Importe: \$1676.-

Fecha/Hora: 03/05/2016 14:1:50.510

Solicitante: PARTICULAR



REPÚBLICA ARGENTINA

INSTITUTO

NACIONAL DE PATENTES



HOJA TECNICA

(10) PUBLICACION N°: AR

(12) ☒ PATENTE DE INVENCION

☐ MODELO DE UTILIDAD

(21) SOLICITUD N°

(51) INT. CL:

(22) FECHA DE SOLICITUD

(71) SOLICITANTE (S):

(30) DATOS DE PRIORIDAD

CONICET/CNEA/UBA

(41) FECHA DE PUBLICACION

BOLETIN N°

(72) INVENTOR (ES):

(61) ADICIONAL A:

Pezzoni, Magdalena
Catalano, Paolo Nicolás
Bellino, Martín Gonzalo
Pizarro, Ramón
Soler Illia, Galo Juan de Ávila Arturo
Costa, Cristina Susana

(62) DIVISIONAL DE:

(74) AGENTE N°:

(83) DEPOSITO DE MICROORGANISMOS

(54) TITULO DE LA INVENCION

USO DE UNA PELÍCULA DE ÓXIDO MESOPOROSO, EN LA OBTENCIÓN DE UN RECUBRIMIENTO CERÁMICO TRANSPARENTE Y ULTRADELGADO QUE INHIBE LA FORMACIÓN DE BIOFILMS BACTERIANOS SOBRE LA SUPERFICIE RECUBIERTA

(57) RESUMEN:

La presente invención se refiere al uso de una película de óxido mesoporoso, sintetizada mediante la técnica de sol-gel, autoensamblado de surfactantes y eliminación del agente estructurante mediante calcinación, que presenta un diámetro de poro de entre alrededor de 4 nm y alrededor de 9 nm, caracterizada porque se la utiliza en la obtención de un recubrimiento cerámico transparente y ultradelgado que inhibe la formación de biofilms bacterianos en la superficie recubierta, en donde la película se deposita sobre la superficie mediante la técnica de dip coating o spin coating.

FIGURA MAS REPRESENTATIVA N°: