

# ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS SOBRE BACTERIAS RESISTENTES A ANTIBIÓTICOS CONVENCIONALES

González-Vargas Nancy Celene (1), Mendoza-Macías Claudia Leticia (2), Medina-Navarro Luis Gerardo (3), Rangel-Serrano Ángeles (3), Padilla-Vaca Luis Felipe (3)

<sup>1</sup> [Licenciatura en Químico Farmacéutico Biólogo] | [gv.nance@gmail.com]

<sup>2</sup> [Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato]

<sup>3</sup> [Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato] | [padillaf@ugto.mx]

## Resumen

Las infecciones intrahospitalarias (IIH) representan un problema global y creciente en todo el mundo, ya que son una de las principales causas de defunción. Las IIH son causadas principalmente por microorganismos multirresistentes a diferentes tipos de antibióticos, por lo cual se ha visto la necesidad de buscar y plantear nuevas alternativas para combatirlos. Las nanopartículas (NPs) metálicas con propiedades antimicrobianas como son las de npCu y npAg son una alternativa para ayudar a disminuir las IIH. Se utilizaron varias cepas de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, aisladas de pacientes del Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío, y clasificadas como sensibles y resistentes por el Laboratorio de Microbiología de Análisis Clínicos de León. Se realizaron antibiogramas para todas las cepas usando de 14 a 17 diferentes antibióticos empleando la técnica de Kirby-Bauer y se determinó la sensibilidad y resistencia para cada antibiótico evaluado. Se realizó la evaluación de la actividad antibacteriana de las npCu y npAg sobre las cepas sensibles y resistentes, encontrando que ambos tipos de bacterias son igualmente sensibles a las NPs metálicas. Lo anterior sugiere que las NPs metálicas con propiedades antibacterianas son una buena alternativa para diseñar materiales antimicrobianos para el sector salud.

## Abstract

Intrahospital infections (IHI) represent a growing problem worldwide, since they are one of the main causes of death. IHI are mainly caused by micro-organisms that are multi-resistant to different types of antibiotics, so it has been necessary to seek and propose new alternatives to combat them. Metal nanoparticles (NPs) with antimicrobial properties such as npCu and npAg are an alternative to combat the IHI. Several strains of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* isolated from patients of the Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío, and classified as sensitive or resistant to antibiotics by the Laboratorio de Microbiología y Análisis Clínicos de León. Antibiograms were performed for all strains with 14 to 17 different antibiotics using the Kirby-Bauer technique, and sensitivity and resistance were determined for each antibiotic tested. We evaluated the antibacterial activity of npCu and npAg on sensitive and resistant strains, finding that both types of bacteria are equally sensitive to metallic NPs. This suggests that metallic NPs with antibacterial properties are a good alternative for the design of antimicrobial materials for the health sector.

### Palabras clave

Infecciones intrahospitalarias; Resistencia bacteriana; Nanopartículas metálicas.

## INTRODUCCIÓN

### Infecciones intrahospitalarias (IIH).

Las infecciones Intrahospitalarias (IIH) también conocidas como infecciones nosocomiales son aquellas infecciones contraídas en un hospital por un paciente que ha sido internado por una razón distinta a esa infección [1].

#### Factores que propician las IIH

Dentro de los factores que propician las infecciones nosocomiales, se encuentran, el estado inmunológico del paciente, las enfermedades subyacentes, la desnutrición, la variedad de procedimientos médicos y técnicas invasivas que crean vías de infección. [1]

Las infecciones contraídas en los establecimientos de atención de salud están entre las principales causas de defunción y de aumento de la morbilidad en pacientes hospitalizados.

#### Tipos de IIH más frecuentes

Entre las infecciones nosocomiales más frecuentes, encontramos las de las heridas quirúrgicas, las vías urinarias, las vías respiratorias inferiores y las bacteremias [1].

#### Causas de las IIH

Los microorganismos causantes de infecciones nosocomiales pueden ser transmitidos por los pacientes después del alta hospitalaria, el personal de atención de salud y los visitantes [1] Se debe tener en consideración que el vector más importante son las manos. Las infecciones nosocomiales son un problema de salud global [1] ya que son un problema creciente en todo el mundo [2], y son ocasionadas principalmente por microorganismos multirresistentes.

### Multirresistencia.

Los microorganismos pueden adquirir la multirresistencia, a través de plásmidos, transposones o mediante mutaciones.

Existe un gran número de especies bacterianas patógenas que han desarrollado resistencia, las cuales se encuentra en mayor proporción en los hospitales. A estas bacterias se les ha denominado grupo ESKAPE por la primera letra de cada especie [3]:

La E proviene del *Enterococcus faecium*, cuya relevancia viene de la resistencia a la vancomicina.

La S viene de *Staphylococcus aureus*, que es un microorganismo resistente a la meticilina.

La K proviene de *Klebsiella*, que produce  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido y de carbapenemasas.

La A proviene de *Acinetobacter baumannii*, multirresistente a antibióticos.

La P viene de *Pseudomonas aeruginosa*, resistente a quinolonas

La E se refiere a las enterobacterias. En este grupo está la *Escherichia coli* y la *Morganella morganii* entre otros.

Con el fin de evitar el contagio de pacientes por infecciones nosocomiales, se ha visto la necesidad de combatir este problema con la búsqueda e implementación de nuevas alternativas, entre las que se encuentran, el uso de nanopartículas metálicas.

### Nanopartículas metálicas

El término nanopartículas (NPs) se aplica a las partículas en donde por lo menos una de sus dimensiones se encuentra entre 1 y 100 nanómetros [2].

Actualmente, existe una gran variedad de NPs metálicas tales como plata, oro, cobre, titanio y zinc, en donde sus características particulares dependen principalmente de su tamaño, forma, geometría y superficie [2].

Se ha reportado que las NPs de Ag y Cu tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos, produciendo un efecto biocida, es decir, neutralizan o impiden la acción de cualquier organismo considerado nocivo para el hombre [2].

*NPs de plata (npAg)*. Diversos autores mencionan que las npAg tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos tales como bacterias y hongos, ya que debido a su tamaño se incrementa de forma exponencial su interacción con la superficie de microorganismos, produciendo alteraciones importantes en su morfología y funcionamiento celular, dando como resultado su muerte en un tiempo corto de interacción [2].

*NPs de cobre (npCu)*. Recientemente las npCu han atraído el interés científico e industrial puesto que presentan importantes propiedades fisicoquímicas similares a las npAg, con la ventaja de que el costo de fabricación es mucho menor [2].

Actualmente ya se usan las NPs en recubrimientos con actividad antimicrobiana que podría contribuir a disminuir las infecciones, por lo que se les considera la nueva generación de agentes antimicrobianos [2].

En el presente trabajo, se obtuvieron cepas bacterianas de pacientes clasificadas como resistentes y sensibles a antibióticos, las cuales caracterizamos mediante antibiogramas utilizando diferentes miembros de varias familias de antibióticos para posteriormente evaluar su sensibilidad a npCu y npAg.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*.** Se emplearon dos cepas de cada bacteria mencionada, aisladas de pacientes procedentes del Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío y clasificadas en el Laboratorio de Microbiología de Análisis Clínicos de León. *E. coli* sensible 005 (Ec S) y resistente 61048 (Ec R); *S. aureus* sensible MultiS (Sa S) y resistente 115-Nas

(Sa R), y *P. aeruginosa* sensible ATCC 13388 (Pa S) y resistente 277-URO (Pa R).

**Antibiograma.** Se realizó el antibiograma para cada una de las cepas a estudiar siguiendo la técnica de Kirby-Bauer, utilizando de 12 a 17 Sensi-Discos con diferentes antibióticos de la marca BD BBL.

**Evaluación antibacteriana de NPs metálicas de Cu y Ag.** *Preparación de NPs.* Se pesaron las NPs de Cu y Ag, se resuspendieron en PBS estéril con un agente dispersante y se sonicaron. Se prepararon diferentes concentraciones de npAg (50, 100, 200 y 400 µg/ml) y de npCu (50, 100, 200 y 400 µg/ml). *Preparación de bacterias.* Se utilizaron bacterias frescas provenientes de un cultivo de LB crecidas durante 16 h a 37°C y se ajustaron con PBS. Se realizaron diluciones seriadas hasta tener  $2 \times 10^5$  bacterias. *Interacción bacterias-NPs.* Se hizo reaccionar 1 ml de NPs a diferentes concentraciones con 1 ml de bacterias y se incubaron a 37°C durante 15 min. Se colocaron 100 µL en placas de agar LB y se incubaron durante 16 horas a 37°C. Finalmente se realizó conteo de UFC.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una vez realizado los antibiogramas siguiendo la técnica de Kirby-Bauer, se midieron los halos de inhibición causados por los antibióticos (Figura 1) y se clasificaron las cepas como sensibles o resistente a cada antibiótico evaluado (Tabla 1).

Las cepas de *S. aureus* corresponden a lo reportado en donde la cepa Sa R fue ligeramente más resistente que la cepa Sa S, ya que de los 17 antibióticos que se probaron, solamente presentó resistencia para dos, mientras que la cepa Sa S, presentó resistencia a un antibiótico. Las cepas de *E. coli* se probaron con 12 antibióticos, de los cuales la cepa Ec R fue resistente a ocho, mientras que la cepa Ec S solamente presentó resistencia a tres. La cepa Pa R de *P. aeruginosa* fue resistente para los 12 antibióticos usados, mientras que Pa S fue resistente únicamente a cinco. Por lo que la cepa Ps R fue claramente más resistente que la cepa Ps S, y también fue la más resistente de todas las cepas evaluadas.

CC	S	S
E	S	R
OX	S	S
STX	S	S

\*La nomenclatura de los antibióticos fue tomada de BD BBL™ Sensi-Disc™ antimicrobial susceptibility test discs.

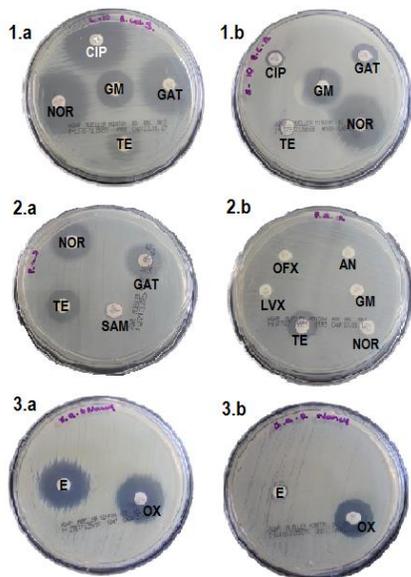


Figura 1. Imágenes representativas de los antibiogramas realizados. Ec S (1.a), Ec R (1.b), Pa S (2.a), Pa R (2.b), Sa S (3.a) Sa R (3.b).

Clave del antibiótico*	Sa S	Sa R	Ec S	Ec R	Pa S	Pa R
OFX	S	S	S	R	R	R
LVX	S	S	S	R	I	R
NA	R	R	S	R	R	R
AN	S	S	S	S	S	R
C	I	S	R	S	I	R
CIP	S	S	S	R	S	R
GM	S	S	S	S	R	R
TE	S	S	R	S	I	R
NOR	S	S	S	R	S	R
GAT	S	S	S	R	S	R
D	S	S	R	S	R	R
SAM	S	S	I	R	R	R
FOX	S	S				

Se realizó la evaluación de la actividad antibacteriana de las npCu y npAg sobre las cepas sensibles y resistentes previamente evaluadas en este trabajo. En la figura 2 se muestra la actividad de npCu y npAg sobre *P. aeruginosa*, observándose una gran actividad antibacteriana de ambas NPs independientemente de la resistencia o sensibilidad a los antibióticos convencionales. Las npCu mostraron mayor actividad que las npAg.

Actividad antibacteriana de NPs de Cu y Ag sobre diferentes cepas de *P. aeruginosa*

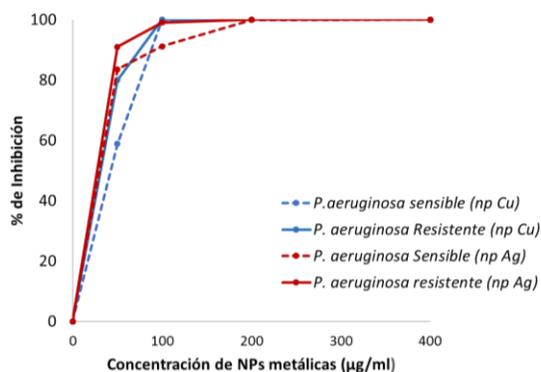


Figura 2. Actividad antibacteriana de NPs de Cu y Ag sobre cepas de *P. aeruginosa* sensibles y resistentes a antibióticos. Porcentaje de UFC de bacterias expuestas a npCu y npAg con respecto al control sin interacción con NPs metálicas.

En la evaluación de la actividad antibacteriana de las npCu y npAg sobre cepas sensibles y resistentes de *S. aureus* (Figura 3), se observó gran actividad antibacteriana por parte de ambas NPs metálicas, independientemente de la resistencia o sensibilidad de las cepas estudiadas

a los antibióticos convencionales. En todos los casos se observó mayor sensibilidad de las cepas bacterianas resistentes, sin embargo, habrá que evaluarlo nuevamente para ver si es una diferencia significativa.

### Actividad antibacteriana de NPs de Cu y Ag sobre diferentes cepas de *S. aureus*

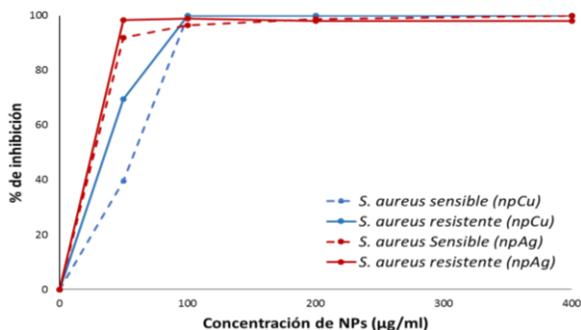


Figura 3. Actividad antibacteriana de NPs de Cu y Ag sobre cepas de *S. aureus* sensibles y resistentes a antibióticos. Porcentaje de UFC de bacterias expuesta a npCu y npAg con respecto al control sin interacción con NPs metálicas.

## CONCLUSIONES

Las cepas bacterianas reportadas como sensibles y resistentes a antibióticos fueron evaluadas con una batería de 12 a 17 antibióticos que nos mostraron una correlación con lo reportado. Sin embargo, hay diferencias significativas entre las cepas resistentes y entre las sensibles de las diferentes especies.

Las nanopartículas de Cu y Ag mostraron gran actividad antibacteriana sobre las cepas de *S. aureus* y *P. aeruginosa*, independientemente de su sensibilidad o resistencia a antibióticos convencionales. Por lo que pueden ser una alternativa viable para ayudar disminuir las Infecciones intrahospitalarias.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Luis Felipe Padilla Vaca, a la Dr. Claudia Leticia Mendoza Macías, al QFB. Luis Gerardo Medina Navarro, y de manera especial a

la Dr. Ángeles Rangel Serrano. Agradezco a todos y cada uno por brindarme las herramientas para que este proyecto pudiera llevarse a cabo. De igual forma agradezco a la QFB. Sayri Andrade por su apoyo a lo largo del verano.

## REFERENCIAS

- [1] Organización Mundial de la Salud (2005). Prevención de las infecciones nosocomiales, guía práctica (2da ed.) Malta. Organización Mundial de la Salud, (2005). Epidemiología de las infecciones nosocomiales. Prevención de las infecciones nosocomiales (pp. 4-7). Derechos de edición reservados por la OMS
- [2] Medina Navarro L. (2015). Trabajo de tesis de licenciatura: Actividad antibacteriana de nanopartículas metálicas de Cu y Ag y su efecto sobre proteínas y ácidos nucleicos.
- [3] Arias-Flores R, Rosado-Quiab U, Vargas-Valerio A, Grajales-Muñiz C. (2016). Los microorganismos causantes de infecciones nosocomiales en el Instituto Mexicano del Seguro Social. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. Vol. 54 (Número. 1), pp. 4-20.