

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE NANOCOMPUESTOS DE INTERÉS BIOMÉDICO

Sánchez- López Citlali (1), Rangel-Serrano Ángeles (2), Paramo-Pérez Itzel (2), Anaya-Velázquez Fernando (2), Franco Bernardo (2), Padilla-Vaca Luis Felipe* (2)

¹ [Licenciatura en Químico Farmacéutico Biólogo] | [citla_.72@hotmail.com]

² [Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato]
*[padillaf@ugto.mx]

Resumen

Las infecciones intrahospitalarias (IIH) son un problema de salud pública que afecta a la población y que ocasiona la muerte del 5% de los pacientes. Las IIH son causadas principalmente por bacterias multirresistentes a los antibióticos convencionales. Las manos y los uniformes usados por el personal médico son unos de los vehículos más relevantes de transmisión. Las nanopartículas (NPs) metálicas con propiedades antimicrobianas son una alternativa para ayudar a disminuir las IIH. El uso de las NPs de Cu se ha incrementado por su alta actividad antibacteriana y su bajo costo. Se evaluó la actividad antibacteriana de dos NPs de Cu, las cuales presentaron alta actividad sobre *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*. Hilos de PET y Nylon conteniendo NPs de Cu presentaron buena actividad, siendo ésta mayor en los hilos de Nylon. Las telas conteniendo NPs de Cu presentaron una actividad antibacteriana moderada, la cual se incrementó para *S. aureus* después de varios tratamientos. La concentración de NPs de Cu en las telas falta por ser determinada. Lo anterior sugiere que las NPs de Cu con propiedades antibacterianas son una buena alternativa para diseñar y crear materiales antimicrobianos con utilidad para el sector salud.

Abstract

Hospital-acquired infection (HAI) are a public health problem that affects the population and causes the death of 5% of patients. HAI are mainly caused by multiresistant bacteria to conventional antibiotics. The hands and uniforms worn by medical personnel are the most important vehicles of transmission. Metallic nanoparticles (NP) with antimicrobial properties are an alternative to help reduce the HAI. The use of Cu NPs has increased due to its high antibacterial activity and its low cost. The antibacterial activity of two Cu NPs was evaluated, which were characterized by high activity against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomona aeruginosa*. PET and Nylon fibers containing Cu NPs present good activity, being this greater in the nylon fibers. The fabrics containing Cu NPs present a moderate antibacterial activity, which increases for *S. aureus* after several treatments. The concentration of Cu NPs in the fabrics is still to be determined. This suggests that Cu NPs with antibacterial properties are a good alternative to design and create antimicrobial materials useful for the health sector.

Palabras Clave

Infecciones intrahospitalarias; Resistencia bacteriana; Nanopartículas metálicas; Nanomateriales.

INTRODUCCIÓN

Infecciones intrahospitalarias

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. 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. Actualmente, entre un 5 y 10 % de los pacientes que ingresan al hospital adquieren una IIH, de los cuales el 5% fallecen por la misma [1].

Entre las infecciones nosocomiales más frecuentes, encontramos las de las heridas quirúrgicas, las vías urinarias, las vías respiratorias inferiores y las bacteriemias. Así pues, se debe tener en consideración que el vector más importante son las manos además de las batas de médicos y enfermeras. Las infecciones nosocomiales son un problema de salud mundial ya que son un problema creciente en todo el mundo, y son ocasionadas principalmente por microorganismos multirresistentes [1].

Resistencia bacteriana

Los antibióticos son medicamentos utilizados para prevenir y tratar las infecciones bacterianas. La resistencia a los antibióticos se produce cuando las bacterias mutan en respuesta al uso de estos fármacos. Estas bacterias farmacorresistentes pueden causar infecciones en el ser humano y en los animales que son más difíciles de tratar. En consecuencia, la resistencia a los antibióticos hace que se incrementen los costos médicos, que se prolonguen las estancias hospitalarias y que aumente la mortalidad. 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 [2]. 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 [3].

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. 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. Se ha reportado que las NPs de Ag y Cu, entre otras, 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 [4].

NPs de Cu

Recientemente las NPs de Cu han atraído el interés científico e industrial puesto que presentan importantes propiedades fisicoquímicas similares a las NPs de Ag, con la ventaja de que el costo de fabricación es mucho menor. 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 [3].

Nanomateriales

Los nanocompuestos tienen una amplia gama de aplicaciones, como son la incorporación de componentes biológicos (como las enzimas) o bien incorporando NPs metálicas con aplicaciones en la industria alimenticia y de empaquetamiento de perecederos, en la industria de textiles, en materiales quirúrgicos y recientemente con un potencial para combatir enfermedades [4].

MATERIALES Y MÉTODOS

Cultivo de bacterias. Se utilizaron las bacterias *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) y *Pseudomona aeruginosa* (ATCC 13388), las cuales se cultivaron en medio de cultivo LB.

Nanopartículas y nanocompuestos. Se utilizaron dos tipos de nanopartículas (NPs) comerciales de Cu (UK y USA) tipo (A) y (B), respectivamente. Se utilizaron hilos de PET y Nylon con NPs de Cu (CIQA) y telas impresas con NPs de Cu con tres diferentes tratamientos, A, B y C (UK).

Actividad antibacteriana de NPs de Cu. Preparación de NPs: Se pesaron las NPs de Cu, se resuspendieron en PBS estéril con un agente dispersante y se sonicaron. Se prepararon diferentes concentraciones de NPs de Cu (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 0.5×10^5 bacterias. Interacción bacterias-NPs: Se incubó 1 ml de NPs a diferentes concentraciones con 1 ml de bacterias 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 las Unidades Formadoras de Colonias (UFC).

Actividad antibacteriana de hilos y telas con NPs de Cu. Preparación de hilos y telas con NPs: Se cortaron trozos homogéneos de hilo y círculos de telas y se esterilizaron con luz UV dentro de una caja Petri. Preparación de bacterias: Se utilizaron bacterias frescas provenientes de un cultivo crecidas durante 16 h a 37°C y se ajustaron con LB-PBS. Se realizaron diluciones seriadas hasta tener 0.5×10^5 bacterias para los hilos y 0.5×10^6 para las telas. Interacción bacterias-hilos con NPs: Se incubaron las bacterias con distintos hilos y telas a 37°C durante 6, 12 y 24 horas. Se recuperaron las bacterias, se sembraron diferentes diluciones y se incubaron durante 16 horas a 37°C. Finalmente se realizó el conteo de UFC en el Scan 500.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se evaluó la actividad antibacteriana de NPs de Cu comerciales (A) y (B) sobre las bacterias patógenas *S. aureus* y *P. aeruginosa*. Para lo cual se incubaron a 37°C durante 15 min bajo agitación con diferentes concentraciones de NPs (50-400 µg/ml). Se encontró que las dos bacterias son susceptibles a ambas NPs de Cu alcanzando un 100% de actividad antibacteriana con ambas NPs (Figura 1). Al determinar la dosis letal media se encontró que para las NPs (A) era de 55 µg/ml mientras que para las NPs (B) fue de 110 µg/ml para *S. aureus* (Figura 1A). En contraparte, para *P. aeruginosa* se obtuvo una dosis letal media de 57 µg/ml y 113 µg/ml, respectivamente (Figura 1B). Por lo tanto, las NPs (A) son más efectivas contra bacterias patógenas.

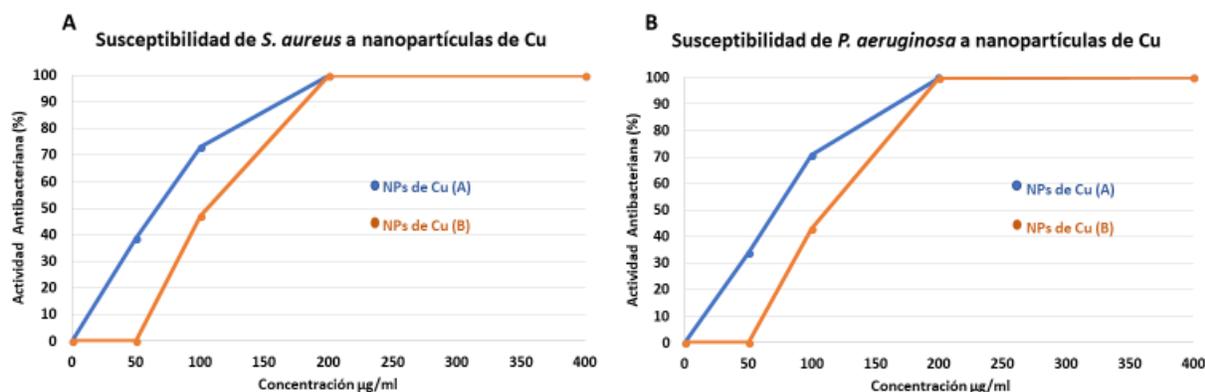


FIGURA 1. Actividad antibacteriana de NPs Cu sobre bacterias patógenas. Se evaluaron diferentes concentraciones de NPs de Cu tipo (A) y (B) sobre *S. aureus* (Figura 1A) y *P. aeruginosa* (Figura 1B). Se calculó el porcentaje de actividad antibacteriana de acuerdo con las UFC de bacterias expuestas a NPs con respecto al control.

Se elaboraron hilos de PET Y Nylon (CIQA) con distintos porcentajes en peso de NPs de Cu (A) y se determinó la actividad antibacteriana sobre las bacterias patógenas *S. aureus* y *P. aeruginosa* a diferentes tiempos. Se encontró que los hilos inhiben parcialmente el crecimiento de ambas bacterias (Figura 2). La bacteria *S. aureus* fue más susceptible a los hilos de Nylon-NPs Cu 2%, alcanzando un 80% de inhibición del crecimiento bacteriano (Figura 3A), mientras que contra *P. aeruginosa*, sólo inhibió un 60% (Figura 2B). Los

hilos de PET con NPs de Cu presentaron baja actividad antibacteriana. Es importante evaluar la exposición de las NPs de Cu sobre la superficie de los polímeros.

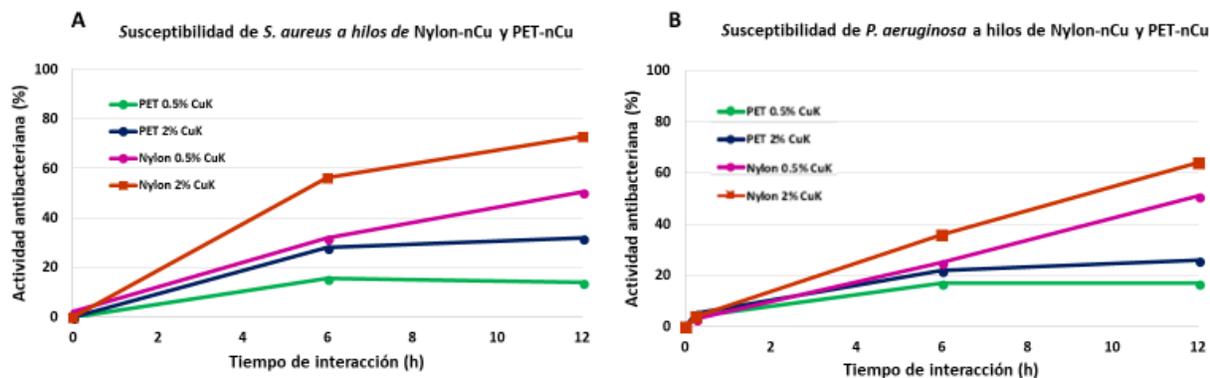


FIGURA 2. Actividad antibacteriana de hilos con NPs Cu sobre bacterias patógenas. Se evaluaron hilos de PET y Nylon con diferentes porcentajes NPs de Cu sobre *S. aureus* (A) y *P. aeruginosa* (B), y se calculó el porcentaje de actividad antibacteriana de acuerdo a las UFC de bacterias expuestas a los hilos con NPs con respecto al control.

De igual forma fue evaluada la actividad antibacteriana de telas con NPs de Tipo A, B, C y tela sin NPs de Cu sobre las bacterias patógenas *S. aureus* y *P. aeruginosa*. Para lo cual se incubaron a 37°C durante 6, 12 y 24 horas. Se encontró que los tipos de telas A, B y C inhiben la actividad de ambas bacterias (Figura 3). La bacteria *S. aureus* fue más susceptible a la tela tipo C alcanzando un 80% de actividad antibacteriana (Figura 3A). Al determinar la actividad antibacteriana con *P. aeruginosa* todas las telas se comportaron de manera similar, presentando un porcentaje de inhibición no mayor al 50% (Figura 3B). Estas diferencias pueden estar relacionadas a la interacción diferencial de las bacterias con las telas.

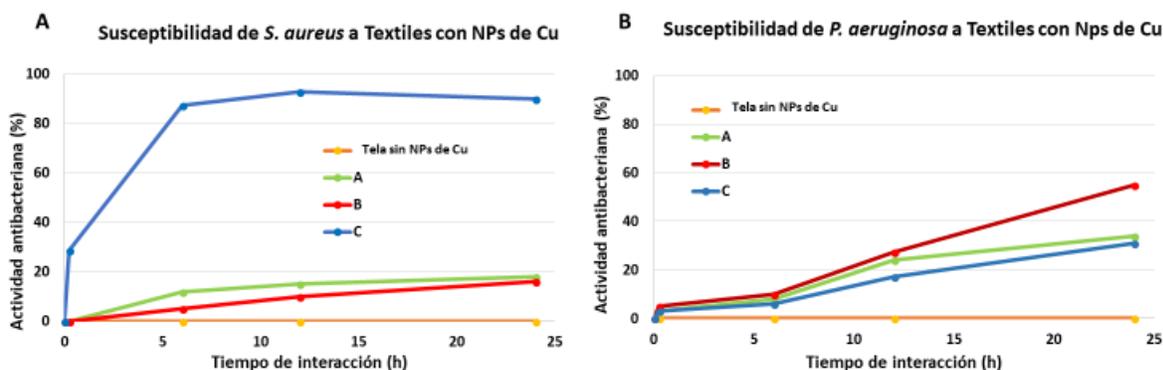


FIGURA 3. Actividad antibacteriana de telas con NPs Cu sobre bacterias patógenas. Se evaluaron telas con NPs Cu (A) con diferentes tratamientos sobre *S. aureus* (A) y *P. aeruginosa* (B), y se calculó el porcentaje de actividad antibacteriana de acuerdo a las UFC de bacterias expuestas a las telas con NPs con respecto a la tela control.

CONCLUSIONES

Las nanopartículas de Cu (A) presentaron mayor actividad antibacteriana que las NPs Cu (B) sobre bacterias patógenas, lo cual podría estar relacionado con su tamaño, forma y recubrimiento.

Los hilos de Nylon con NPs de Cu presentaron mayor actividad antibacteriana que los hilos de PET, lo cual podría estar relacionado con la naturaleza del polímero o por la exposición de las NPs de Cu.

La actividad antibacteriana de las telas con NPs dependen del post-tratamiento a las que fueron sometidas ya se incrementó su actividad contra *S. aureus*.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Luis Felipe Padilla Vaca por la oportunidad de hacerme participé en este proyecto, a la Dra. Ángeles Rangel Serrano pieza fundamental tanto en el proyecto como en el laboratorio en general gracias por su apoyo y comprensión, así como a la Q.F.B Itzel Paramo Pérez por su disposición. De la misma manera agradezco a todos los integrantes del equipo de trabajo del Laboratorio de Patobiología Molecular de Protozoarios Parásitos por hacer amena mi estancia y de manera especial a mi familia por el apoyo incondicional.

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] Arias-Flores R, Rosado-Quiab U, Vargas-Valerio A, GrajalesMuñiz C. (2016). Los microorganismos causantes de infecciones nosocomiales en el Instituto Mexicano del Seguro Social. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. Vol. 54 (Núm. 1), pp. 4-20.
- [3] 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. Universidad de Guanajuato.
- [4] Padilla Vaca F., Mendoza Macías C., Franco B ., Anaya Velázquez F., Ponce Noyola P., Flores Martínez A. (2018). El mundo micro en el mundo nano: importancia y desarrollo de nanomateriales para el combate de las enfermedades causadas por bacterias, protozoarios y hongos. Mundo Nano, 11 (21), 15-24.