VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

Bioseguridad de nanopartículas tricomonicidas de epazote en células de mamífero y microbiota vaginal.

Biosafety of epazote-derived trichomonacidal nanoparticles in mammalian cells and vaginal microbiota.

Raquel Irene Medel-Cabrera[1], Fabián Mares Briones[2], Patricia Nayeli Alva Murillo[1] *
[1]Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato.
[2]Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Universidad Nacional Autónoma de México.
Correo: *pn.alva@ugto.mx

Resumen

La tricomoniasis, causada por el protozoario flagelado *Trichomonas vaginalis*, es la infección de transmisión sexual no viral curable más frecuente en el mundo, y su tratamiento depende casi exclusivamente del metronidazol, fármaco frente al cual ya se han descrito cepas resistentes. Como alternativa terapéutica, en nuestro grupo de trabajo se han desarrollado nanopartículas de óxido de zinc obtenidas por síntesis verde a partir de extractos de epazote (NPs ZnO), las cuales han mostrado actividad tricomonicida frente a una cepa de *T. vaginalis* resistente a metronidazol. Sin embargo, antes de considerar su aplicación terapéutica es indispensable evaluar su bioseguridad sobre los dos componentes centrales de la salud del tracto genital femenino: la microbiota (*Lactobacillus*) y el epitelio vaginal. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de las NPs ZnO (5-100 µg/mL) sobre el crecimiento y la viabilidad de tres cepas de *Lactobacillus* (*L. jensenii*, *L. acidophilus* y *L. vaginalis*), así como sobre la actividad metabólica y la viabilidad de la línea de epitelio vaginal VK2, mediante cinética de crecimiento bacteriano, conteo de unidades formadoras de colonias (UFC/mL), reducción colorimétrica de MTT y exclusión con azul de tripano. Ninguna de las concentraciones evaluadas comprometió de forma significativa el crecimiento ni la viabilidad de los *Lactobacillus*, que se mantuvieron entre 10^8 y 10^9 UFC/mL en todas las condiciones probadas, mientras que la gentamicina inhibió por completo su crecimiento, confirmando la especificidad del efecto. En las células VK2, la actividad metabólica mostró un comportamiento no lineal, con una reducción significativa a 25 µg/mL (58.3%) y una recuperación parcial a concentraciones mayores (73-78%), mientras que la viabilidad celular por azul de tripano disminuyó de forma dosis-dependiente, alcanzando 17.8% a 100 µg/mL. La concentración máxima no citotóxica se ubicó entre 5 y 25 µg/mL según el ensayo, y la concentración inhibitoria media (IC_{50}) fue superior a 69 µg/mL en ambos modelos. En conjunto, estos hallazgos indican que las NPs ZnO poseen un perfil de selectividad favorable: preservan la microbiota vaginal benéfica mientras ejercen un efecto citotóxico dosis-dependiente sobre las células del hospedero solo a concentraciones medias y altas, lo que respalda su potencial como estrategia complementaria frente a la tricomoniasis resistente a metronidazol..

Palabras clave: Nanopartículas, *Lactobacillus*, *Trichomonas vaginalis,* células epiteliales vaginales, bioseguridad, síntesis verde

Introducción

La tricomoniasis, causada por el parásito protozoario no flagelado *Trichomonas vaginalis*, es responsable de la infección de transmisión sexual (ITS) no vírica curable más común en el mundo. Según el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés) de los Estados Unidos de América, alrededor del 70% de las personas infectadas con *T. vaginalis* no presentan ningún signo o síntoma (Centers for Disease Control and Prevention: CDC, s. f.), por lo que la mayoría de quienes padecen tricomoniasis desconocen su condición. A pesar de ello, en 2020 la Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó 156 millones de casos de tricomoniasis en individuos en edad reproductiva (15-49 años), de los cuales 73,7 millones corresponden a mujeres y 82,6 millones a hombres. En los casos sintomáticos predominan la secreción vaginal amarillo-verdosa con olor desagradable, el enrojecimiento y dolor vaginal, el prurito y el dolor durante las relaciones sexuales o la micción (World Health Organization: WHO, 2025). La tricomoniasis

ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

se asocia además a un microambiente disbiótico, vinculado con otros trastornos, como la vaginosis bacteriana, lo que incrementa el riesgo de contraer el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y de desarrollar complicaciones obstétricas y ginecológicas, entre ellas cáncer uterino, partos prematuros, cáncer de próstata agresivo e infertilidad tanto en hombres como en mujeres (Yang et al., 2020). El metronidazol continúa siendo el tratamiento de primera línea contra esta infección; sin embargo, ya se ha documentado la existencia de cepas resistentes a este antibiótico (Meri et al., 2000), lo que plantea la necesidad urgente de desarrollar estrategias terapéuticas alternativas.

En este contexto, las nanopartículas de óxido de zinc (NPs ZnO) han captado una atención significativa en diversos campos científicos y tecnológicos debido a sus propiedades fisicoquímicas distintivas. Su gran superficie, fotoestabilidad, biocompatibilidad y fuerte actividad antimicrobiana permiten un amplio espectro de aplicaciones biomédicas, ambientales, industriales y agrícolas (Mishra et al., 2017). Estas nanopartículas han demostrado potencial para combatir infecciones microbianas a través de diversos mecanismos de acción, incluyendo la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), la alteración de las membranas celulares microbianas y la inhibición de la formación de biopelículas (Lebaka et al., 2025). La variación en la morfología de las NPs -tamaño, forma y área superficial [Figura 1]- influye fuertemente en sus propiedades fisicoquímicas y biológicas relacionadas con la actividad antimicrobiana, debido a la reactividad y a la interacción diferencial con las membranas celulares (Motelica et al., 2023). Frente a los métodos tradicionales de síntesis -como la reducción química con borohidruro de sodio, la síntesis por citrato o la pirólisis de sales metálicas-, que suelen requerir reactivos tóxicos, altas temperaturas o generar subproductos ambientalmente perjudiciales y limitan su aplicación en matrices comestibles, la síntesis verde se ha propuesto como una alternativa sustentable. Esta consiste en el uso de extractos vegetales que permiten obtener NPs mediante mecanismos biológicos de reducción y estabilización, reduciendo el uso de sustancias peligrosas y residuos tóxicos. Además, los compuestos fitoquímicos presentes en estos extractos facilitan la formación de nanopartículas y aportan propiedades adicionales que pueden potenciar la actividad antimicrobiana y mejorar su estabilidad y funcionalidad sin recurrir a aditivos sintéticos (Sánchez et al., 2026).

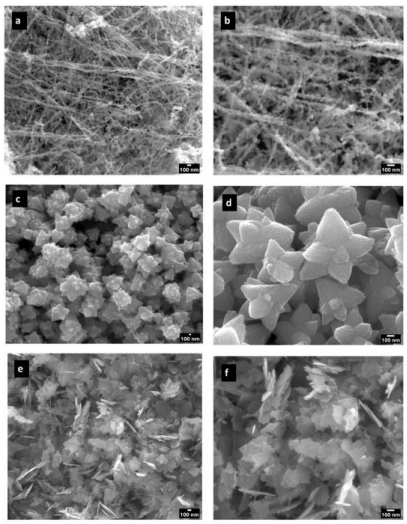


Figura 1. Micrografías de microscopía electrónica de barrido (SEM) de nanopartículas de ZnO con distinta morfología: esféricas (ZnO-SP, a-b), tipo flor (ZnO-FL, c-d) y tipo lámina (ZnO-SH, e-f). Aumento: 50 000× (izquierda) y 100 000× (derecha). La morfología superficial de las NPs modula su reactividad y, con ello, su actividad antimicrobiana. Imagen recuperada de Mendes et al. (2024).

El epazote (*Dysphania ambrosioides*) es una planta es de gran relevancia en la cultura mexicana, reconocida tradicionalmente por sus propiedades antiparasitarias. Sus extractos contienen compuestos fenólicos, flavonoides y terpenos capaces de actuar como agentes reductores y estabilizantes durante la formación de nanopartículas (Reyes-Becerril et al., 2019). Con este enfoque, en nuestro grupo de trabajo se han sintetizado nanopartículas de ZnO por vía verde a partir de extractos de epazote para evaluar su actividad tricomonicida. Los resultados preliminares indican que, al utilizarse en concentraciones de 5, 25, 50, 75 y 100 µg/mL, la viabilidad de una cepa de *T. vaginalis* resistente al metronidazol se reduce en 66, 71, 86, 96 y 98%, respectivamente (González-Corona, datos no publicados). Este hallazgo es relevante porque coincide con evidencia reciente que posiciona a las nanopartículas metálicas funcionalizadas con fitoquímicos como una

alternativa prometedora frente a cepas de *T. vaginalis* resistentes a los fármacos de primera línea (Jafari et al., 2025), lo que refuerza el papel de la síntesis verde con epazote como punto de partida para el desarrollo de nanoterapias contra la resistencia a metronidazol. No obstante, para que una nanopartícula con actividad tricomonicida pueda considerarse una alternativa terapéutica viable, es necesario demostrar que su acción es selectiva, es decir, que afecta al parásito sin comprometer a los componentes benéficos del hospedero.

La microbiota vaginal humana está compuesta por diversos microorganismos -bacterias, hongos, virus, protozoos y bacteriófago- y constituye la primera línea de defensa dentro del ecosistema vaginal, con funciones que impactan significativamente la salud reproductiva y sexual de las mujeres (Holm et al. 2023). Aunque numerosos microorganismos pueden colonizar el tracto vaginal inferior, únicamente se considera sana a la microbiota de baja diversidad dominada por especies de *Lactobacillus* - principalmente *L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. gasseri* y *L. iners*-, acompañadas de menor proporción por especies anaerobias como *Prevotella* spp., *Peptostreptococcus* spp. y *Atopobium vaginae*, cuya composición asegura un pH equilibrado y sostiene las funciones reproductivas (Sadeghpour et al. 2024). Los *Lactobacillus* defienden al hospedero mediante múltiples mecanismos: el metabolismo del glucógeno epitelial en ácido láctico reduce el pH vaginal (< 4.5) y limita la colonización por patógenos —el ácido D-láctico posee además propiedades antiinflamatorias—; la producción de bacteriocinas y peróxido de hidrógeno ejerce un efecto antimicrobiano directo; y la competencia por sitios de adhesión y nutrientes desplaza a otros microorganismos (Sadeghpour Heravi, 2024). Esta microbiota es dinámica y se modifica a lo largo de la vida por factores intrínsecos y extrínsecos —fluctuaciones hormonales, actividad sexual, métodos anticonceptivos, embarazo, menopausia, dieta, uso de medicamentos, tabaquismo o estrés—, los cuales repercuten en la fisiología del epitelio vaginal y en su capacidad de almacenar y liberar el glucógeno que nutre a los lactobacilos (Sadeghpour Heravi, 2024).

El epitelio vaginal, por su parte, no es un simple sustrato pasivo para la microbiota, sino un componente activo de la defensa del tracto genital femenino. Constituido por un epitelio escamoso estratificado no queratinizado, actúa como barrera física y como centinela inmunológico: sus células se renuevan y descaman continuamente para eliminar patógenos adheridos, mantienen la integridad de la barrera mediante uniones intercelulares estrechas, y responden a estímulos microbianos liberando citocinas proinflamatorias que reclutan células inmunes al sitio de la lesión (Monin et al., 2020). La homeostasis del tracto genital depende, por tanto, de una interacción estrecha y bidireccional entre la microbiota comensal y el epitelio vaginal, de modo que cualquier intervención terapéutica dirigida a este entorno —incluida la aplicación de nanopartículas— debe evaluarse considerando el efecto conjunto sobre ambos componentes y no solo sobre el agente patógeno.

Diversos estudios han mostrado que las nanopartículas pueden interactuar de forma diferencial con la microbiota y con el epitelio de las mucosas: mientras algunas formulaciones modulan positivamente la inmunidad mucosa y favorecen la colonización por microorganismos benéficos (Jung y Son, 2025), otras —como las nanopartículas poliméricas funcionalizadas con polietilenglicol o el óxido de grafeno— pueden inducir respuestas proinflamatorias y apoptóticas en células epiteliales vaginales (Wagner et al., 2017). Esta dualidad evidencia que la actividad antimicrobiana de una nanopartícula no garantiza, por sí sola, su seguridad biológica, y subraya la necesidad de generar evidencia experimental específica sobre su bioseguridad en los dos componentes clave del ecosistema vaginal antes de proponerlas como alternativa terapéutica frente a la tricomoniasis resistente a metronidazol. Por lo que el principal objetivo de este proyecto fue evaluar la bioseguridad de nanopartículas de óxido de zinc sintetizadas por vía verde a partir de extractos de epazote (NPs ZnO) sobre la microbiota vaginal comensal del género *Lactobacillus* y sobre la línea celular de epitelio vaginal humano VK2, mediante la determinación de su efecto sobre el crecimiento bacteriano, la viabilidad celular y la actividad metabólica, con el fin de sustentar su potencial aplicación como estrategia complementaria frente a cepas de *T. vaginalis* resistentes a metronidazol.

Materiales y métodos

Preparación de NPs ZnOe.

Las NPs ZnO sintetizadas con extractos de epazote fueron proporcionadas por el Dr. Fabián Mares Briones, del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Universidad Nacional Autónoma de México. Para su uso en los bioensayos, en condiciones de esterilidad se preparó un stock a una concentración de 1 mg/mL en PBS estéril (pH 7.4), el cual se sonicó durante 15 min previo a cada aplicación.

Efecto de nanopartículas sobre el crecimiento de *Lactobacillus*.

Para evaluar el efecto sobre *Lactobacillus* se utilizaron tres cepas certificadas: *L. jensenii* (ATCC 25258), *L. acidophilus* (ATCC 4356) y *L. vaginalis* (ATCC 49540); estas dos últimas fueron donadas por el Dr. Luis Felipe Padilla Vaca, de la Universidad de Guanajuato. Una vez reactivadas en agar MRS, se sembró un inóculo en tubo Falcón estéril de 50 mL, colocando 5 mL de caldo MRS e inoculando con una asada, a las 24 h se prepararon 30 mL de una suspensión bacteriana ajustada a una densidad óptima (DO_{600}) de 0.1. Después, se prepararon los tratamientos para cada cepa de *Lactobacillus* en tubos Falcon estériles de 15 mL, en estos se adicionó la suspensión bacteriana ajustada, nanopartículas de ZnO (5, 25, 50, 75 y 100 µg/mL) y caldo MRS a un volumen final de 2 mL. En el caso del control negativo no se agregaron nanopartículas, pero sí gentamicina (80 mg/mL). Las bacterias sin tratamiento se consideraron el control de crecimiento. Todos los tratamientos se prepararon por duplicado. Los volúmenes utilizados para cada tratamiento se describen en la [Tabla 1]. La densidad óptica (DO) de cada tratamiento se monitoreó por triplicado a las 2, 4, 8 y 24 h, utilizando caldo MRS como blanco.

Tabla 1. *Volúmenes utilizados para la preparación de los tratamientos.*

Tratamiento NPs ZnOe (µg/mL)	Suspensión bacteriana ajustada (µL)	Caldo MRS (µL)	Stock de NPs ZnOe 1 mg/mL (µL)	Gentamicina (µL)
0	1900	100	0	-
5	1900	95	5	-
25	1900	75	25	-
50	1900	50	50	-
75	1900	25	75	-
100	1900	-	100	-
Control negativo	1900	95	-	5

Al finalizar las 24 h se realizaron diluciones de cada tratamiento incluyendo al control negativo, para *L. jensenii* se realizaron diluciones 1:1,000 y 1:1,000,000; mientras que, para *L. acidophilus* y *L. vaginalis* se realizó una única dilución 1:100,000. Se inocularon 10 µL de cada dilución por triplicado en agar MRS y se incubaron a 37 °C por 24 h, tras lo cual se realizó el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) por caja para cada tratamiento.

Determinación de viabilidad celular y actividad metabólica en células de mamífero reguladas por nanopartículas.

Para evaluar el efecto de las NPs ZnO se realizaron ensayos de viabilidad celular y actividad metabólica en células de epitelio vaginal VK2. La actividad metabólica de las células VK2 se determinó mediante el ensayo de reducción colorimétrica del MTT: se sembraron 10,000 células en medio de cultivo K-SFM (1X) por pozo en placas de 96 pozos, por triplicado cada tratamiento, y se incubaron a 37°C en atmosfera húmeda con 5% CO_2 por 24 h. Posteriormente se sustituyó el medio y se añadió nuevo medio sin suero ni antibiótico y se incubó nuevamente por 24 h bajo las mismas condiciones. Luego se añadieron los tratamientos de NPs ZnO (5, 25, 50, 75 y 100 µg/mL, Tabla 2) y se incubó 24 h adicionales. Como control de muerte celular se adicionó tritón X-100 (10%).

Tabla 2*. Volúmenes utilizados para ensayos con VK2.*

Tratamiento NPs ZnO (µg/mL)	Medio de cultivo celular (µL)	Stock de NPs ZnO 1 mg/mL (µL)	Tritón X-100 (µL)
0	100	-	-
5	99.5	0.5	-
25	97.5	2.5	-
50	95	5	-
75	92.5	7.5	-

100	90	10	-
Control negativo	90	-	10

Al finalizar el tiempo de exposición se añadieron 100 µL de RPMI 1640 sin rojo de fenol y 10 µL de MTT (5 mg/mL en PBS) a cada pozo, incubando 4 h adicionales; después se agregaron 150 µL de 2-propanol/HCl 1 M (19:1 v/v) por pozo, incubando 10 min antes de leer la DO_{540} utilizando RPMI 1640 sin rojo de fenol como blanco. El efecto sobre la viabilidad celular se determinó mediante el ensayo de exclusión con azul de tripano, siguiendo la misma metodología hasta la incubación con los tratamientos: se retiró el medio, se realizaron dos lavados con PBS estéril (pH 7.4), se despegaron las células con 30 µL de tripsina (5 min de incubación) y se neutralizó con 70 µL de PBS estéril con 2% de suero. Se mezclaron 10 µL de esta suspensión con 10 µL de azul de tripano (0.4% p/v) y se realizó el conteo en cámara de Neubauer.

Análisis estadístico.

Todos los gráficos y análisis estadísticos se realizaron con el software GraphPad Prism 8. El efecto de las NPs sobre el crecimiento de las cepas de *Lactobacillus* se evaluó mediante ANOVA de dos vías sobre los datos de DO, considerando el impacto simultáneo de la concentración de NPs y el tiempo. La viabilidad de los *Lactobacillus* tratados se determinó a partir del conteo de UFC en agar MRS a las 24 h. Se aplicó una regresión no lineal dosis-respuesta a los datos de las 24 h para estimar la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante el modelo de IC_{50}. Para la línea celular VK2, los datos de DO se normalizaron tomando el promedio del tratamiento de 0 µg/mL como 100% de viabilidad, y se expresaron como porcentaje de actividad metabólica; sobre estos datos se aplicó un ANOVA de una vía con la prueba post-hoc de Dunnett (control: 0 µg/mL) para obtener la concentración máxima no citotóxica (CMNC), así como una regresión no lineal dosis-respuesta para estimar la IC_{50}. El mismo protocolo estadístico se aplicó a los resultados del ensayo de viabilidad celular, utilizando como datos crudos el conteo en cámara de Neubauer.

Resultados y discusión

Efecto de las nanopartículas sobre la cinética de crecimiento de *Lactobacillus*.

Se evaluó el efecto de concentraciones crecientes de NPs ZnOe (5, 25, 50, 75 y 100 µg/mL) sobre el crecimiento de tres cepas de *Lactobacillus* durante un periodo de 24 h. En las tres cepas, la gentamicina (80 mg/mL) inhibió eficazmente el crecimiento bacteriano, con valores de DO_{620} cercanos a cero a las 24 h, confirmando la sensibilidad del género a este antibiótico. De manera general, *L. jensenii, L. acidophilus* y *L. vaginalis* mostraron un comportamiento similar entre sí: durante las primeras 4 h la DO se mantuvo en niveles basales, consistente con la fase de adaptación; a partir de la hora 8 se observó crecimiento exponencial, y los mayores niveles de DO se alcanzaron a las 24 h [Figura 2]. *L. acidophilus* mostró un comportamiento ligeramente distinto: a las 8 h, todas las concentraciones de tratamiento superaron la DO del control sin tratamiento, aunque al final de las 24 h los tratamientos y el control convergieron a niveles similares [Figura 2A]. El ANOVA de dos vías para *L. jensenii* reveló diferencias significativas en el grupo con gentamicina a partir de las 4 h y hasta las 24 h ($p < 0.05$), mientras que entre las concentraciones de NPs únicamente la dosis de 75 µg/mL mostró una variación significativa al término de las 24 h. En *L. vaginalis* se observaron efectos significativos con 75 µg/mL a las 0 y 24 h, y con 100 µg/mL a las 8 h; la gentamicina redujo el crecimiento de forma significativa a las 8 y 24 h. En *L. acidophilus*, el tratamiento de 5 µg/mL mostró cambios significativos en el tiempo inicial, las dosis de 25, 50 y 100 µg/mL a las 2 h, y la gentamicina alcanzó significa a las 24 h.

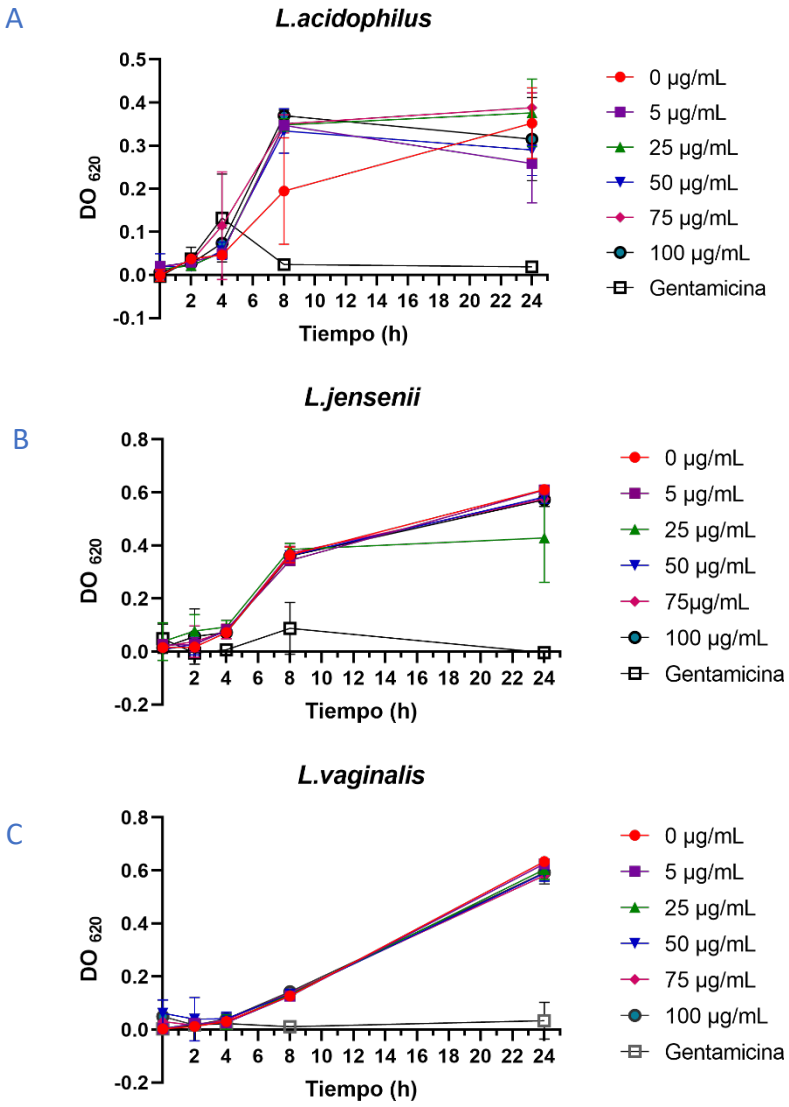


Figura 2. Curvas de crecimiento (DO_{620}, 0-24 h) de tres cepas de *Lactobacillus* expuestas a concentraciones crecientes de NPs ZnOe (0-100 µg/mL) y a gentamicina como control de inhibición. A) *L. acidophilus*; B) *L. jensenii*; C) *L. vaginalis*. En las tres cepas, el crecimiento en presencia de NPs fue comparable al control sin tratamiento, mientras que la gentamicina inhibió el crecimiento de forma sostenida.

Con el objetivo de confirmar si estas fluctuaciones afectaron la viabilidad celular de los *Lactobacillus,* se cuantificaron las UFC/mL al término del periodo de incubación. En las tres cepas evaluadas, la concentración de bacterias viables se mantuvo constante en el rango de 10^8 a 10^9 UFC/mL en todas las concentraciones de NPs probadas [Figura 3], mientras que el grupo tratado con gentamicina presentó inhibición total en las tres cepas, confirmando su sensibilidad a este antibiótico. El ANOVA de una vía aplicado a *L. vaginalis* mostró una diferencia significativa en la concentración de 75 µg/mL ($p = 0.0259$), en la que la viabilidad no solo se mantuvo, sino que alcanzó un promedio mayor que el control sin tratamiento. Debido a la ausencia de colonias ($\log10 = 0$), el grupo de gentamicina fue excluido del modelo de ANOVA de *L. jensenii* para evaluar exclusivamente las variaciones entre las concentraciones de NPs y el control no tratado, sin encontrarse diferencias entre ellos. En *L. acidophilus* tampoco se observó significancia estadística entre los tratamientos

y el control. El ajuste del modelo matemático para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) resultó ambiguo, con un coeficiente de determinación bajo (R^2 = 0.1363), ya que la viabilidad celular no mostró un patrón de inhibición sigmoideo y se mantuvo en un nivel mínimo de 88.41% incluso en la concentración más alta; por ello, se determinó que la CMI es superior a la dosis máxima probada (CMI > 100 µg/mL).

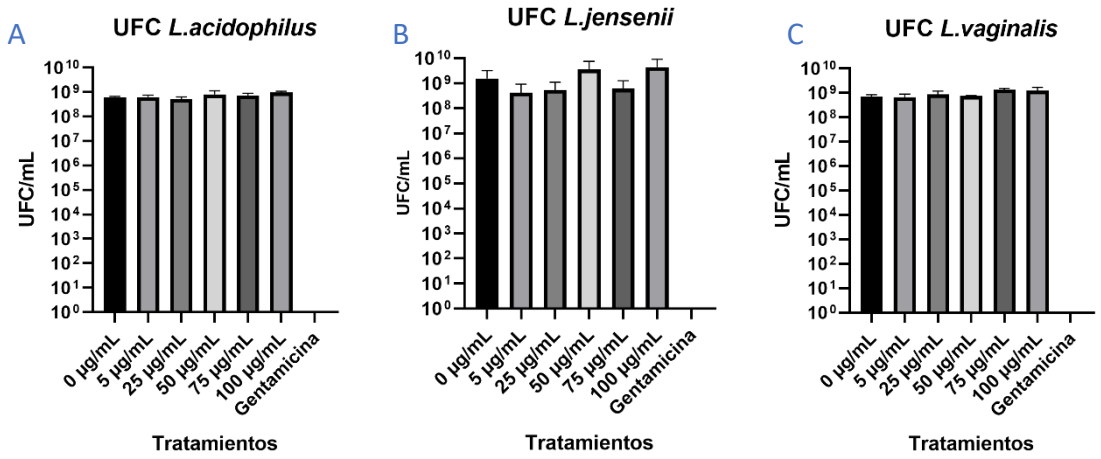


Figura 3. Viabilidad de *Lactobacillus* expresada como unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL) tras 24 h de exposición a NPs ZnOe. A) *L. acidophilus*; B) *L. jensenii*; C) *L. vaginalis*. La viabilidad se mantuvo entre 10^8 y 10^9 UFC/mL en todas las concentraciones de NPs, en contraste con la inhibición total observada con gentamicina.

En conjunto, la cinética de crecimiento y el recuento de UFC/mL indican que las NPs ZnO no ejercen un efecto inhibitorio ni bactericida sobre las cepas de *Lactobacillus* evaluadas: el desarrollo bacteriano fue similar al del control en las tres cepas, en marcado contraste con la inhibición total causada por la gentamicina. Las fluctuaciones puntuales observadas en la curva de crecimiento no se tradujeron en cambios en la viabilidad final, lo que sugiere que corresponden a respuestas adaptativas transitorias de la membrana celular o a interacciones temporales del material con el medio de cultivo, más que a un daño real sobre la población bacteriana. La imposibilidad de calcular matemáticamente una concentración mínima inhibitoria dentro del intervalo de 5 a 100 µg/mL refuerza esta interpretación y sugiere que las NPs ZnO poseen una selectividad que favorece la preservación de la microbiota vaginal benéfica, un requisito indispensable si se pretende avanzar hacia su uso terapéutico frente a la tricomoniasis sin comprometer al *Lactobacillus* del hospedero.

Evaluación de la actividad metabólica y la viabilidad en la línea celular de epitelio vaginal VK-2

La actividad metabólica de las células VK2, determinada mediante el ensayo de MTT, no mostró la curva dosis-respuesta clásica, sino un comportamiento no lineal: concentraciones altas de NPs (50, 75 y 100 µg/mL) mostraron una actividad relativamente alta (73-78%), superior a la observada en la concentración de 25 µg/mL, donde la actividad se redujo a 58.28% [Figura 4]. A partir de los porcentajes de actividad metabólica se determinaron la concentración máxima no citotóxica (CMNC) y la concentración inhibitoria media (IC_{50}). El análisis de comparaciones múltiples de Dunnett mostró que el tratamiento de 5 µg/mL mantuvo una actividad metabólica de 81.24 ± 7.8%, sin diferencia significativa respecto al control sin tratamiento (100%, p = 0.1231); a partir de 25 µg/mL la reducción fue significativa (58.06%, p = 0.0005), valor comparable al obtenido con Tritón X-100. Con base en ello, la CMNC se estableció en 5 µg/mL. La regresión no lineal dosis-respuesta arrojó una IC_{50} superior al límite de prueba (IC_{50} > 100 µg/mL) [Figura 5], por lo que se considera que el tratamiento presenta una citotoxicidad moderada en los niveles evaluados.

VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

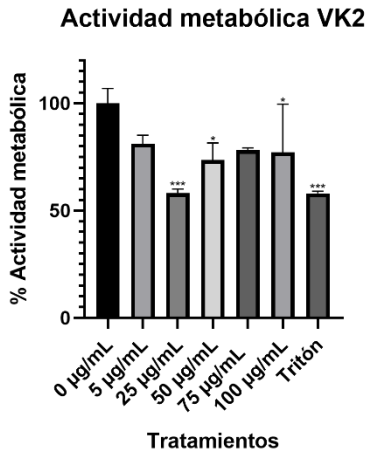


Figura 4. Actividad metabólica (% respecto al control sin tratamiento) de la línea celular VK2 expuesta a NPs ZnO (0-100 µg/mL), determinada mediante el ensayo de MTT. Los asteriscos (***) sobre la barra de 25 µg/mL señalan la mayor reducción significativa de la actividad metabólica respecto al control ($p < 0.001$).

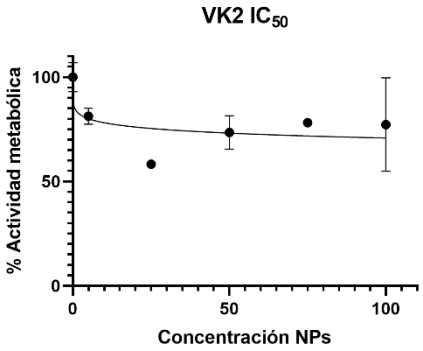


Figura 5. Curva de regresión no lineal dosis-respuesta empleada para estimar la IC_{50} de las NPs ZnO en células VK2, con base en la actividad metabólica determinada por el ensayo de MTT.

Este patrón no monotónico, ya reportado previamente en la evaluación de otros nanomateriales, podría explicarse por fenómenos de adaptación celular compensatoria u hormesis (Calabrese, 2014), en los que un mayor estrés oxidativo induce la sobreexpresión de enzimas mitocondriales para mantener la homeostasis celular. Alternativamente, la aparente recuperación de actividad a concentraciones altas podría deberse a la aglomeración de nanopartículas en el medio de cultivo, la cual limitaría su internalización celular e interferiría con la adsorción del formazán o con la dispersión de la luz durante la lectura espectrofotométrica (Awashra y Młynarz, 2023). Ambos fenómenos son relevantes para la interpretación del ensayo de MTT en sistemas con nanomateriales y sugieren que la CMNC y la IC_{50} obtenidas mediante este método deben interpretarse con cautela y contrastarse con un segundo indicador de viabilidad celular.

La viabilidad de las células VK2 expuestas a las NPs ZnO se determinaron mediante exclusión con azul de tripano [Tabla 3]. El análisis de comparaciones múltiples de Dunnett indicó que las concentraciones de 5, 25, 50, 75 y 100 µg/mL no presentaron diferencias estadísticamente significativas frente al control sin tratamiento (91.67% de viabilidad), mientras que el control positivo con Tritón X-100 provocó lisis celular completa (0.00% de viabilidad, $p = 0.0167$). Se observó, no obstante, una tendencia clara de reducción de la viabilidad conforme aumentó la concentración, hasta alcanzar 17.83 ± 26.26% a 100 µg/mL ($p = 0.0572$) [Figura 6]. Considerando exclusivamente la ausencia de diferencias significativas entre el control y los tratamientos, la CMNC se ubicó en 100 µg/mL; sin embargo, al exigir de manera conjunta la ausencia de significancia estadística y la conservación de la viabilidad por encima del umbral de biocompatibilidad del 70% establecido por la norma ISO 10993-5 (Gruber y Nickel, 2023), la CMNC biológica se estableció de forma más conservadora en 25 µg/mL, concentración en la que la viabilidad (88.69%) se mantuvo cercana al control sin

diferencia significativa ($p > 0.05$). El análisis de regresión no lineal dosis-respuesta evidenció un efecto citotóxico dependiente de la dosis [Figura 7] y determinó una IC_{50} de 69.86 µg/mL (IC 95%: 39.88-236.4 µg/mL; R2 = 0.4001).

***Tabla 3**. Porcentajes de viabilidad celular de la línea VK-2 correspondientes a los tratamientos aplicados.*

Tratamiento µg/mL	% de viabilidad	P value
5	81.84	0.9959
25	88.69	0.9998
50	66.20	0.7993
75	59.10	0.6230
100	17.83	0.0572
Tritón	0.000	0.0167

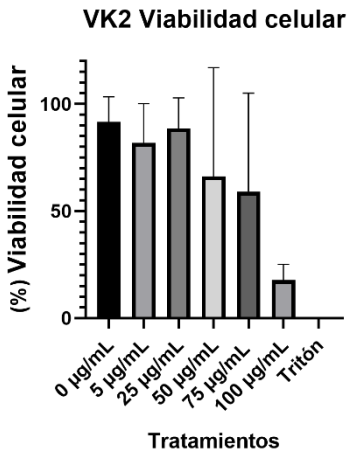


Figura 6. Viabilidad celular de la línea celular VK2 expuesta a distintas concentraciones de NPs ZnO (0-100 µg/mL), determinada por exclusión con azul de tripano. El control con Tritón X-100 (control positivo de muerte celular) mostró 0% de viabilidad

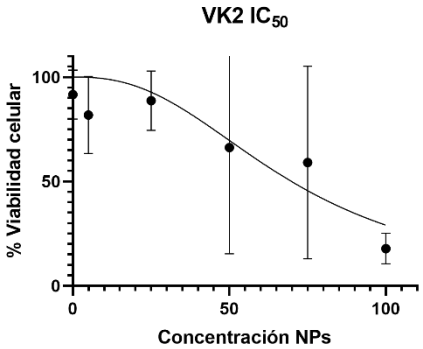


Figura 7. Curva de regresión no lineal dosis-respuesta empleada para estimar la IC_{50} de las NPs ZnO en células VK2 mediante el ensayo de exclusión con azul de tripano (IC_{50} = 69.86 µg/mL; IC 95%: 39.88-236.4 µg/mL).Discusión

Al integrar los tres modelos experimentales, los resultados muestran un patrón consistente de selectividad biológica: las NPs ZnOe no comprometen el crecimiento ni la viabilidad de los *Lactobacillus* comensales en

ninguna de las concentraciones evaluadas, mientras que ejercen un efecto citotóxico dependiente de la dosis sobre las células epiteliales VK2, restringido principalmente a concentraciones iguales o mayores a 25 µg/mL. Esta selectividad es consistente con lo reportado para otras plataformas de nanopartículas aplicadas al ambiente mucoso, donde el reto central no es únicamente lograr actividad antimicrobiana, sino preservar la microbiota benéfica y la integridad del epitelio hospedero, cuya interacción sostiene la homeostasis del tracto genital (Jung y Son, 2025). Considerando que las NPs ZnO han mostrado actividad tricomonicida frente a cepas de *T. vaginalis* resistentes a metronidazol (González-Corona, datos no publicados)y que en este trabajo se demuestra un margen de seguridad biológica favorable —al menos hasta 25 µg/mL— sobre los dos componentes centrales de la salud vaginal, estos hallazgos respaldan a las NPs ZnO obtenidas por síntesis verde con epazote como una estrategia complementaria prometedora frente a la tricomoniasis resistente, y sientan las bases para estudios posteriores que definan con mayor precisión su ventana terapéutica en modelos más complejos, incluyendo cocultivos de microbiota y epitelio vaginal.

Bibliografía/Referencias

Abass, A. A., Abdulridha, W. A. M., Alaarage, W. K., Abdulrudha, N. H., & Haider, J. (2021). Evaluating the antibacterial effect of cobalt nanoparticles against multi-drug resistant pathogens. Journal of medicine and life, 14(6), 823–833. https://doi.org/10.25122/jml-2021-0270

Adapen, C., Réot, L., & Menu, E. (2022). Role of the human vaginal microbiota in the regulation of inflammation and sexually transmitted infection acquisition: Contribution of the non-human primate model to a better understanding?. Frontiers in Reproductive Health, 4, 992176.

Awashra, M., & Młynarz, P. (2023). The toxicity of nanoparticles and their interaction with cells: an in vitro metabolomic perspective. Nanoscale advances, 5(10), 2674–2723. https://doi.org/10.1039/d2na00534d

Calabrese E. J. (2014). Hormesis: a fundamental concept in biology. Microbial cell (Graz, Austria), 1(5), 145–149. https://doi.org/10.15698/mic2014.05.145

Centers for Disease Control and Prevention [CDC]. (Recuperado 20-07-26). Trichomoniasis. CDC. Recuperado 19 de julio de 2026, de https://www.cdc.gov/trichomoniasis/es/about/acerca-de-la-tricomoniasis.html

Gruber, S., & Nickel, A. (2023). Toxic or not toxic? The specifications of the standard ISO 10993-5 are not explicit enough to yield comparable results in the cytotoxicity assessment of an identical medical device. Frontiers in medical technology, 5, 1195529. https://doi.org/10.3389/fmedt.2023.1195529

Holm, J. B., France, M. T., Gajer, P., Ma, B., Brotman, R. M., Shardell, M., ... & Ravel, J. (2023). Integrating compositional and functional content to describe vaginal microbiomes in health and disease. Microbiome, 11(1), 259.

Jafari, M., Badirzadeh, A., Fazeli, N., & Amini, S. M. (2025). In vitro evaluation of apigenin-coated silver nanoparticles against Trichomonas vaginalis: A potential alternative to metronidazole. Nanomedicine Research Journal, 10(1), 51-58. https://doi.org/10.22034/nmrj.2025.01.006

Jung, W., & Son, Y. M. (2025). Nanoparticle-driven modulation of mucosal immunity and interplay with the microbiome. Journal of Microbiology and Biotechnology, 35, e2404033. https://doi.org/10.4014/jmb.2504.04033

Lebaka, V. R., Ravi, P., Reddy, M. C., Thummala, C., & Mandal, T. K. (2025). Zinc Oxide Nanoparticles in Modern Science and Technology: Multifunctional Roles in Healthcare, Environmental Remediation, and Industry. Nanomaterials (Basel, Switzerland), 15(10), 754. https://doi.org/10.3390/nano15100754

Mendes, AR, Granadeiro, CM, Leite, A., Pereira, E., Teixeira, P. y Poças, F. (2024). Optimización de la eficacia antimicrobiana: investigación del impacto de la forma y el tamaño de las nanopartículas de óxido de zinc. Nanomateriales , 14 (7), 638. https://doi.org/10.3390/nano14070638

Meri T, Jokiranta TS, Suhonen L, Meri S. Resistance of Trichomonas vaginalis to metronidazole: report of the first three cases from Finland and optimization of in vitro susceptibility testing under various oxygen concentrations. J Clin Microbiol. 2000 Feb;38(2):763-7. doi: 10.1128/JCM.38.2.763-767.2000. PMID: 10655382; PMCID: PMC86198.

Monin, L., Whettlock, E. M., & Male, V. (2020). Immune responses in the human female reproductive tract. Immunology, 160(2), 106-115. https://doi.org/10.1111/imm.13136

Motelica, L., Oprea, O.-C., Vasile, B.-S., Ficai, A., Ficai, D., Andronescu, E., & Holban, AM (2023). Actividad antibacteriana de nanopartículas de ZnO obtenidas por solvotermia con diferente morfología y actividad fotocatalítica contra una mezcla de colorantes: azul de metileno, rodamina B y naranja de metilo. *International Journal of Molecular Sciences* , *24* (6), 5677. https://doi.org/10.3390/ijms24065677

Pawan K. Mishra, Harshita Mishra, Adam Ekielski, Sushama Talegaonkar, Bhuvaneshwar Vaidya, Zinc oxide nanoparticles: a promising nanomaterial for biomedical applications, Drug Discovery Today, Volume 22, Issue 12, 2017, Pages 1825-1834, ISSN 1359-6446, https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.08.006.

Petrin, D., Delgaty, K., Bhatt, R., & Garber, G. (1998). Clinical and microbiological aspects of Trichomonas vaginalis. *Clinical microbiology reviews*, *11*(2), 300–317. https://doi.org/10.1128/CMR.11.2.300

Reyes-Becerril, M., Angulo, C., Sanchez, V., Vázquez-Martínez, J., & López, M. G. (2019). Antioxidant, intestinal immune status and anti-inflammatory potential of Chenopodium ambrosioides L. in fish: In vitro and in vivo studies. Fish & Shellfish Immunology, 86, 420-428. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.11.049

Sadeghpour Heravi, F. Interacción huésped-microbiota vaginal: configuración del microambiente vaginal y vaginosis bacteriana. Curr Clin Micro Rpt 11 , 177–191 (2024). https://doi.org/10.1007/s40588-024-00227-8

Sánchez Vásquez, V. L., Sarango Ortega, Y. B., & Vera Rodríguez, J. H. (2026). Síntesis verde de nanopartículas de plata (AgNPs) utilizando extracto de Rosmarinus officinalis y evaluación de su efecto conservante en Malus domestica. Cultivos Tropicales, 47(1), https://cu-id.com/2050/v47n1e10. Recuperado a partir de https://ediciones.inca.edu.cu/index.php/ediciones/article/view/1910

van de Guchte, M., Serror, P., Chervaux, C., Smokvina, T., Ehrlich, S. D., & Maguin, E. (2002). Stress responses in lactic acid bacteria. Antonie van Leeuwenhoek, 82(1-4), 187–216.

Wagner, R. D., Johnson, S. J., Danielsen, Z. Y., Lim, J. H., Mudalige, T., & Linder, S. (2017). Polyethylene glycol-functionalized poly (Lactic Acid-co-Glycolic Acid) and graphene oxide nanoparticles induce pro-inflammatory and apoptotic responses in Candida albicans-infected vaginal epithelial cells. PLoS ONE, 12(4), e0175250. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175250

World Health Organization: WHO. (2025, 21 noviembre). Tricomoniasis. https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/trichomoniasis

Yang M, Li L, Jiang C, Qin X, Zhou M, Mao X, et al. La coinfección con Trichomonas vaginalis aumenta el riesgo de neoplasia intraepitelial cervical de grado 2-3 entre mujeres positivas para VPH16: un amplio estudio poblacional. BMC Infect Dis. 2020;20:642. https://doi.org/10.1186/s12879-020-05349-0

Yang, S., Zhao, W., Wang, H., Wang, Y., Li, J., & Wu, X. (2018). Trichomonas vaginalis infection-associated risk of cervical cancer: A meta-analysis. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, 228, 166-173.