

Ensayo de actividad antimicrobiana de nanopartículas de óxido de zinc
XXIX Verano de la Ciencia 2024
Universidad de Guanajuato

Participantes: Ximena Vidaurri Jiménez, Daniela Paola Garnica Robledo y Fernanda Mariel Trujillo Palomino

Asesoras: Argelia Rosillo de la Torres y Laura Edith Castellano Torres

Introducción

Los nanomateriales son partículas que poseen un tamaño entre 1 a 100 nanómetros (nm). Las nanopartículas tienen una gran variedad de aplicaciones en áreas como la medicina, la farmacia, los cosméticos, la industria alimenticia, entre otras. En particular, las nanopartículas de óxido de zinc se han empleado como sensores de gas, para el embalaje de alimentos, en la fotocatálisis y por su actividad antibacterial.

La actividad antimicrobiana de una nanopartícula se puede clasificar en dos categorías: 1) Actividad microbicida son aquellos agentes que matan microorganismos; y 2) Bacteriostáticos son aquellos agentes que detienen el crecimiento bacteriano.

En siguiente protocolo es para evaluar la actividad antimicrobiana sin distinguir si la nanopartícula es microbicida o bacteriostática.

Objetivo

Evaluar el efecto antimicrobiano de nanopartículas de óxido de zinc sobre aislados de bacterias gram-positivas y gram-negativas.

Metodología

A) PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO

1) Para preparar 1 L de medio LB líquido:

- a) 5 g de extracto de levadura
- b) 10 g de peptona biotriptasa
- c) 10 g NaCl

Mezclar lo anterior en un litro de agua destilada y esterilizar a 121 °C durante 30 min.

2) Para preparar 1 L de medio LB agar

- a) 5 g de extracto de levadura
- b) 10 g de peptona biotriptasa
- c) 10 g NaCl
- d) 12 g agar

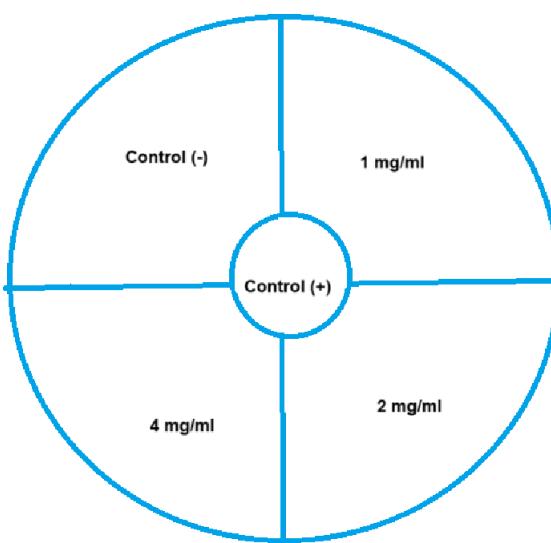
Mezclar lo anterior en un litro de agua destilada y esterilizar a 121 °C durante 30 min. Dejar enfriar hasta que la solución alcance 40 °C y vaciar en cajas Petri.

B) PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC

Las nanopartículas de óxido de zinc se prepararon en agua desionizada estéril a las siguientes concentraciones: 1, 2, 4 mg/mL.

C) EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA EMPLEANDO LA TÉCNICA DE DIFUSIÓN POR DISCO

1. Limpiar la campana con etanol al 70% antes y después de usarla.
2. Marcar las cajas *Petri* como se muestra en la figura



3. Previamente, para cada aislado de bacterias (tomar una colonia) se inocula un tubo con 3 mL de medio LB, y se incuban a 37 °C hasta alcanzar una absorbancia de 0.5 a 600 nm.
4. Para cada aislado bacteriano (gram-positivas: *B. subtilis* y *S. aureus* y gram-negativas: *E. coli* y *K. pneumoniae*), se inoculan 200 μ L de la suspensión bacteriana anterior, se dispersa con la ayuda de un asa triangular de vidrio, la cual se debe esterilizar primero en alcohol y posteriormente en un mechero, se deja enfriar para evitar matar a las bacterias.
5. En cada cuadrante (ver figura) se coloca un disco de papel filtro estéril de 6 mm de diámetro y se le agrega 15 μ L de la suspensión de nanopartículas.
6. Para el caso del control negativo se usa agua destilada estéril y para el control positivo un antibiótico comercial.
7. Después de 15 minutos, las cajas Petri se colocan en una incubadora a 37° C durante 18 h.
8. Para medir los halos de inhibición, se toman fotografías de las cajas Petri (*siempre tomándolas a la misma distancia, con la misma cámara e iluminación*). Como herramienta de medición se usa del programa ImageJ, para obtener el diámetro de cada halo.
9. Todo lo anterior se hace en condiciones de esterilidad, ya sea empleando un mechero o en una campana de flujo laminar.