

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS DE LOS METALES DE TRANSICIÓN ZINC(II), COBRE(II), MANGANESO(II), COBALTO(II), NÍQUEL(II) Y CADMIO(II) FRENTE A CINCO CEPAS BACTERIANAS

Juan José Martínez Medina y Libertad Leonor López Tévez

Universidad Nacional del Chaco Austral, Comandante Fernández N° 755, CP 3700, Presidencia Roque Sáenz Peña, Chaco, Argentina. e-mail: juanjoc_mm09@yahoo.com.ar.

Introducción

Algunos metales son de gran importancia para los sistemas biológicos ya que pueden ser componentes enzimáticos o estructurales. Entre ellos podemos mencionar a los oligoelementos o micronutrientes, que son requeridos por los organismos vivos en pequeñas cantidades y en concentraciones elevadas se vuelven tóxicos (Cu, Co, Mn, Zn, Ca). Por otra parte, existen metales pesados sin función biológica conocida que en ciertas concentraciones ocasionan disfunciones orgánicas y resultan altamente tóxicos (Pb, Cd, As, Cr) [1]. Incluso, la interacción entre algunos metales de transición (Cu Fe y Zn) y el péptido β -amiloide podría explicar en parte la lesión neuronal y la presencia de daño oxidativo detectado en el cerebro de pacientes que presentan la enfermedad de Alzheimer [2].

Objetivos

Determinar el perfil antimicrobiano de algunos metales de transición bivalentes frente a bacterias Gram-negativas y Gram-positivas derivadas de cepas de colección.

Materiales y Métodos

Se estudió la actividad antibacteriana de los cloruros de algunos metales de los períodos 4 y 5 (Zn, Cu, Mn, Co, Ni y Cd, todos con valencia II) empleando el método de microdilución en agar. Mediante esta técnica, se determinó la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de cada metal frente a las cinco cepas bacterianas empleadas como indicadores de referencia. Se emplearon cultivos bacterianos derivados de cepas ATCC (American Type Culture Collections) y son: *Escherichia coli* (ATCC 35218), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) y *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). Para el cultivo de las bacterias y para el ensayo de dilución en agar se utilizaron como medios de cultivo el caldo Mueller Hinton y el agar Mueller Hinton (cMH y aMH) respectivamente [3].

El inóculo de cada cepa se preparó a partir de cultivos bacterianos de 18 horas de incubación y luego la suspensión bacteriana fue ajustada a una turbidez comparable al estándar 0,5 de la escala de Mc Farland. La suspensión anterior fue diluida al 10 % en solución fisiológica para dar una suspensión final de aproximadamente 10^7 unidades formadoras de colonia por mililitro. [4,5].

Para incorporar el compuesto ensayado en el medio de cultivo se prepararon soluciones acuosas de cloruros de los metales bivalentes zinc, cobre, manganeso, cobalto, níquel y cadmio. Todas las concentraciones se calcularon en base a la sustancia anhidra y fueron esterilizadas en autoclave. Posteriormente se preparó un stock de diluciones a partir de la solución madre. Para preparar las diluciones dobles seriadas, se tomaron 0,5 mL de cada dilución anterior y se incorporaron a los 4,5 mL del medio aMH fundido y termostatzado a 45°C, se homogeneizó por agitación mecánica (vortex) y se virtió en sendas placas de

Petri estériles debidamente rotuladas. Se dejó enfriar en ambiente estéril (cabina de seguridad biológica) para que solidifique. De este modo se obtuvieron diluciones dobles seriadas en un rango de concentraciones desde 2,93ug/ml hasta 1.500 µg/mL (concentración límite considerada). En cada placa se inocularon 2µL de la suspensión bacteriana sobre la superficie del aMH y se incubaron a 37 °C durante 24 horas en condiciones de aerobiosis [3,4,6].

Para la lectura de los resultados, la inhibición del crecimiento bacteriano se determina por comparación con el crecimiento del microorganismo en la placa control (sin antimicrobiano). La CIM se define como la concentración más baja del compuesto estudiado que es capaz de inhibir el crecimiento visible del microorganismo ensayado. Las colonias aisladas o el crecimiento irregular no fueron considerados resultados positivos [3,4,7]. Los ensayos fueron realizados por triplicado.

Resultados y Discusión

Todos los metales ensayados demostraron tener actividad antibacteriana sobre los microorganismos estudiados (Tabla 1). La actividad del manganeso sobre las bacterias Gram-negativas resulta clínicamente irrelevante. Además, tanto el zinc sobre *P. aeruginosa* y *E. faecalis*, como el níquel frente a *P. aeruginosa* tienen baja actividad (CIM=1500). No obstante, los metales cadmio y zinc mostraron valores bajos de CIM. El cadmio resultó más activo que los demás metales frente a todas las cepas excepto *S. aureus* y su mayor actividad la ejerció sobre *E. coli*. Esta observación concuerda con el hecho de que el cadmio es un metal tóxico que no desempeña funciones biológicas relevantes como los demás metales [1].

Tabla 1. MIC de los cloruros de metales bivalentes para las cepas de referencia (µg/mL).

Metales de Transición	<i>Bacterias Gram negativas</i>		<i>Bacterias Gram positivas</i>		
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>
ZnCl ₂	187,5	1500	1500	187,5	187,5
CuCl ₂	375	375	375	375	375
MnCl ₂	>1500	>1500	750	750	750
CoCl ₂	375	375	375	187,5	375
NiCl ₂	750	1500	750	750	750
CdCl ₂	93,75	375	187,5	375	187,5

Conclusiones

Algunos metales (como el cobre, cobalto o níquel) tienen actividad similar frente a todas las cepas ensayadas, mientras el manganeso presenta un perfil antimicrobiano que depende de la estructura de la pared bacteriana y es más activo sobre las Gram positivas. Por otra parte, el zinc presenta baja actividad frente a *P. aeruginosa* (Gram negativa) y *E. faecalis* (Gram positiva). Entonces, podríamos concluir que la estructura de la pared bacteriana no es siempre un factor determinante del perfil antimicrobiano del metal.

Referencias

- [1] T.J. Palacios Hernández. Actividad peroxidasa, antimicrobiana y hemolítica de complejos metal-ácido meclufenámico. *Universidad de las Américas Puebla, Tesis profesional.*
- [2] C. Opazo. *Revista Española de Geriatria y Gerontología.* 2005; 40(6):365-70.

- [3] A. Klančnik, S. Piskernik, B. Jeršek, S. Smole Možina. *Journal of Microbiological Methods* 81 (2010) 121-126.
- [4] A. Berahou, A. Auhmani, N. Fdil, A. Benharref, M. Jana, C.A. Gadhi. *Journal of Ethnopharmacology* 112 (2007) 426-429.
- [5] F. Rowe, S. Vargas Superti, R. Machado Scheibe, C. Gomes Dias. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 43 (2002) 45-48.
- [6] M. Fettouhi, M.I.M. Wazeer, A.A. Isab. *Journal of Coordination Chemistry* 60 (2007) 369-377.
- [7] C.E. Smith, B.E. Foleno, J.F. Barrett, M.B. Fresco. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 27 (1997) 85-92.