

## Efecto antibacteriano de nanopartículas de ZnO sobre *Staphylococcus aureus* y *Salmonella typhi*

### Antibacterial effect of ZnO nanoparticles on *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi*

***Gina Zavaleta Espejo & José Saldaña Jiménez***

Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo, PERÚ  
gzavaleta@unitru.edu.pe, jasalji@hotmail.com

***Segundo R. Jáuregui Rosas, Diego Pacherez Gallardo, María  
Rivera Burgos & Fanny V. Samanamud Moreno***

Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad Nacional de Trujillo, PERÚ  
sjauregui@unitru.edu.pe, elspiceboy\_16@hotmail.com, mariahs00s@gmail.com  
fsamanamud@yahoo.com

***Oscar J. Perales Pérez***

Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez, Mayagüez, PUERTO RICO  
oscarjuan.perales@upr.edu



## Resumen

El efecto antibacteriano de nanopartículas de ZnO, obtenidas por el método sol-gel modificado, sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Salmonella typhi* fue evaluado empleando el método Kirby-Bauer modificado con hoyos de 7 mm de diámetro realizados con sacabocados estériles en lugar de usar discos. Se desarrolló un diseño experimental en bloques completamente al azar con cuatro tratamientos y un control negativo (PEG 6000) con cinco repeticiones. Las concentraciones de nanopartículas de ZnO (0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 mg/ml) fueron preparadas en soluciones acuosas de PEG 6000 a la concentración de 100 mg/ml. Los resultados obtenidos muestran una relación entre el incremento en la concentración de las nanopartículas y el efecto antibacteriano, notándose el mayor halo de inhibición del crecimiento (14.78 mm) para *S. aureus* a la concentración de 2.0 mg/ml, a diferencia de *S. typhi* que presentó un menor diámetro de inhibición (11.01 mm) a la misma concentración. Lo cual probablemente se debería a que las nanopartículas generan radicales libres (ROS), que al interactuar con la pared celular bacteriana ocasionan una extrusión del contenido intracelular debido al daño oxidativo de proteínas y lípidos, originando un efecto antibacteriano. Debido a esto se presume que en un futuro podrían convertirse en una alternativa para combatir enfermedades bacterianas.

**Palabras claves:** antibacteriano, crecimiento, Kirby-Bauer, nanopartículas, ZnO.

## Abstract

The antibacterial effect of ZnO nanoparticles, obtained by the modified sol-gel method, on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Salmonella typhi* was evaluated, using the modified Kirby-Bauer method with 7 mm diameter holes made with sterile punches instead of discs. A completely randomized block experimental design was developed with four treatments and a negative control (PEG 6000) with five repetitions. The concentrations of ZnO nanoparticles (0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 mg/ml) were prepared in aqueous solutions of PEG 6000 at the concentration of 100 mg/ml. The results obtained show a relationship between the increase in the concentration of the nanoparticles and the antibacterial effect, noticing the highest growth inhibition halo (14.78 mm) of *S. aureus* at the concentration of 2.0 mg/ml, unlike *S. typhi*, which had a smaller diameter of inhibition (11.01 mm) at the same concentration. This is probably because the nanoparticles generate free radicals (ROS), which when interacting with the bacterial cell wall cause an extrusion of the intracellular content due to the oxidative damage of proteins and lipids, generating in this way an antibacterial effect. Due to this, it is presumed that in the future they could become an alternative to fight bacterial diseases.

**Keywords:** antibacterial, growth, Kirby-Bauer, nanoparticles, ZnO.

**Citación:** Zavaleta, G.; J. Saldaña; S. Jáuregui; D. Pacherez; M. Rivera; F. Samanamud & O. Perales. 2019. Efecto antibacteriano de nanopartículas de ZnO sobre *Staphylococcus aureus* y *Salmonella typhi*. *Arnaldoa* 26 (1): 421 - 432. <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.261.26122>

## Introducción

En las Américas, como en el resto del mundo, la resistencia a los antimicrobianos es una amenaza grave y cada vez mayor para la salud pública. Las cepas de agentes infecciosos farmacorresistentes son catastróficos en la lucha contra la tuberculosis, la malaria, la diarrea y la

neumonía; enfermedades que en conjunto causan la muerte de más de 10 millones de personas cada año en el mundo (Organización Panamericana de Salud, 1999).

*Staphylococcus aureus*, anaerobio facultativo, capaz de crecer en un medio con una elevada concentración de sal

(cloruro sódico 10%) y a temperaturas desde 18 a 40 °C, las colonias son doradas debido a los pigmentos carotenoides que se forman durante su crecimiento (Murray *et al.*, 2006), se localizan en el aire, suelo y seres vivos, estando presentes en la mucosa y en la piel de los humanos, aves y de otros mamíferos; agente etiológico de diversas patologías incluyendo infecciones en la piel y tejidos blandos del sistema nervioso central y del tracto urinario. Pero quizás su relevancia radica en que es el causante de las enfermedades nosocomiales o intrahospitalarias las cuales son inevitables e incontrolables en la mayoría de hospitales y clínicas a nivel mundial (Gil, 2000).

*Salmonella typhi* es un bacilo anaerobio facultativo gram negativo, no produce esporas, produce ácido a partir de glucosa, maltosa y sorbitol, sin la producción de gas; pero no fermenta la lactosa, sacarosa, la ramnosa y otros azúcares (Uribe & Suárez, 2006). La salmonelosis es una infección bacteriana que generalmente afecta el tracto intestinal y ocasionalmente el torrente sanguíneo; constituye una de las causas más comunes de gastroenteritis (Pérez *et al.*, 2002). *S. typhi* es un patógeno que causa principalmente inflamación intestinal y diarrea, sobrevive y se sobrevive dentro de los macrófagos; es la causante de la fiebre tifoidea que es una causa importante de la morbilidad y mortalidad en muchas partes del mundo, se estima que las salmonelas tifoideas causan más de 600 000 muertes por año, la fiebre tifoidea es más común en comunidades urbanas densamente pobladas donde el agua potable está contaminada con heces humanas (Winn *et al.*, 2008).

El óxido de zinc (ZnO), se caracteriza por la capacidad fotocatalítica contra especies químicas y biológicas, es un

material semiconductor de la familia II-VI, ya que el Zn y O pertenecen a los grupos II y VI respectivamente, con una amplia banda de energía de 3.3 eV y una elevada energía de exciton (60 meV) a temperatura ambiente (Sirelkhatim *et al.*, 2015).

Los mecanismos exactos de la toxicidad de las nanopartículas contra diversas bacterias no se han definido completamente. Sin embargo, varios estudios han reportado que las nanopartículas son capaces de unirse a las membranas, ya que la carga positiva de éstas facilita su unión a la superficie de las bacterias cargada negativamente e interactúan con los lípidos de membrana rompiendo la integridad de la membrana. También podría ser por la toxicidad de iones metálicos libres que surge de la disolución de los metales en la superficie de las nanopartículas y el estrés oxidativo a través de la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Salem *et al.*, 2015; Dizaj *et al.*, 2014).

La investigación del comportamiento de la materia a escala nanométrica abre una prometedora perspectiva de nuevos conocimientos y aplicaciones; ya que actualmente observamos el aumento de los brotes e infecciones de cepas patógenas y su mayor resistencia a los diferentes tipos de antibióticos habituales, que se ha convertido en un problema de salud pública, por ello, es necesario la búsqueda de nuevas alternativas de tratamiento, lo que ha despertado el interés en el uso de agentes antimicrobianos como las nanopartículas de ZnO contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas siendo una gran alternativa y convirtiéndose en una extensa área de investigación, dado que tiene un amplio espectro de acción y un bajo nivel de resistencia, son más estables y fáciles de preparar; debido a su tamaño

las hace muy atractivas ya que poseen una mayor razón de área-volumen.

El objetivo de la presente investigación fue demostrar el efecto antibacteriano de diferentes concentraciones de nanopartículas de ZnO sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Salmonella typhi*.

## Material y métodos

### Material biológico

Cultivos de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Salmonella typhi* fueron proporcionados por el Laboratorio Referencial Regional de Trujillo.

### Material químico

Las nanopartículas de ZnO fueron sintetizadas por el método sol-gel modificado a partir de soluciones etanólicas (Jáuregui-Rosas et al., 2011) y su caracterización estructural para determinar su tamaño promedio de cristalito (7 nm) fue realizada mediante difracción de rayos X, por el Grupo Multidisciplinario de Investigación en Nanociencia y Nanotecnología de la UNT.

### Preparación del inóculo y del caldo Mueller Hinton con la bacteria

El inóculo se preparó a partir de un cultivo joven en agar nutritivo, después de 24 horas a 37°C. Luego se suspendió las bacterias en solución salina estéril (0,9 %) y se ajustó hasta alcanzar el equivalente al tubo 0,5 de McFarland ( $1 \times 10^8$  UFC/mL), esto se corroboró realizando la medición de absorbancia con el espectrofotómetro Specord S600 (Analytikjena) a una longitud de onda de 540 nm.

### Preparación de las diluciones de nanopartículas de ZnO

Las nanopartículas de Óxido de Zinc (polvo) fueron pesadas en una balanza

analítica Mettler Toledo, las diferentes concentraciones de nanopartículas de ZnO (0,8, 1,2, 1,6, 2,0 mg/ml) fueron preparadas con PEG-6000 como disolvente a la concentración de 100 mg/ml, estas se sometieron a la acción de un ultrasonificador Branson 2510 por 30 minutos; para una mejor dispersión. Se preparó la concentración madre a 5 mg/mL. Luego se prepararon cuatro concentraciones.

### Determinación del efecto bacteriano

Se empleó el método recomendado por el Sub Comité de Ensayos de Susceptibilidad del NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), basado en el procedimiento descrito originalmente por Kirby-Bauer. Para el caso de la investigación el método usado Kirby Bauer modificado en lugar de usar discos se trabajó con hoyos realizados con sacabocados estériles de acero de 7 mm de diámetro. Para este método se preparó agar Mueller Hinton el cual se sirvió a cada placa de Petri 20 mL de agar dejando que se solidifique, posteriormente se colocaron en la estufa por 15 minutos para eliminar la humedad de la superficie, luego con la ayuda de un hisopo estéril se realizó la siembra de cada una de las cepas (*S. aureus* y *S. typhi*) en toda la superficie del agar de la placa en forma homogénea. A cada placa se le hizo cinco hoyos de 7 mm de diámetro, en cada uno de los hoyos se colocó 50 uL de las nanopartículas de ZnO las concentraciones de 0,8 mg/ml; 1,2 mg/ml, 1,6 mg/ml y 2,0 mg/ml; se trabajó con un control negativo (Polietilenglicol 6000), finalmente las placas fueron incubadas a 37°C durante 24 horas, transcurrido este tiempo fueron medidos los diámetros (mm) de los halos de inhibición formados. Para la determinación del efecto bactericida se realizó cinco repeticiones para cada una de las cepas bacterianas.

### Diseño experimental

El ensayo se realizó bajo un diseño experimental en bloques (bacterias) completamente al azar, con 4 tratamientos (concentraciones) y control negativo (PEG 6000) y 5 repeticiones.

### Evaluación de los tratamientos:

El efecto de las diferentes concentraciones de las nanopartículas de ZnO fue determinado por el diámetro de los halos de inhibición del crecimiento del microorganismo utilizando un vernier, en cada halo de inhibición se tomó tres medidas del diámetro en milímetros con lo cual se obtuvo un promedio para las diferentes concentraciones y cada una de las bacterias.

### Análisis estadístico:

Con los datos obtenidos en la presente investigación se calcularon los estimadores estadísticos de media, así mismo se aplicó el análisis de varianza para determinar diferencias significativas entre los tratamientos según los bloques y la prueba de comparación múltiple de Tukey ( $p \leq 0.05$ ), utilizando el programa estadístico Infostat (versión libre).

Las letras (a-c) representan los 3 grupos estadísticamente homogéneos según el test de comparación múltiple de medias (Tukey). Los promedios relacionados con la misma letra no presentan diferencias significativas entre ellos para un valor de  $p \leq 0.05$ .

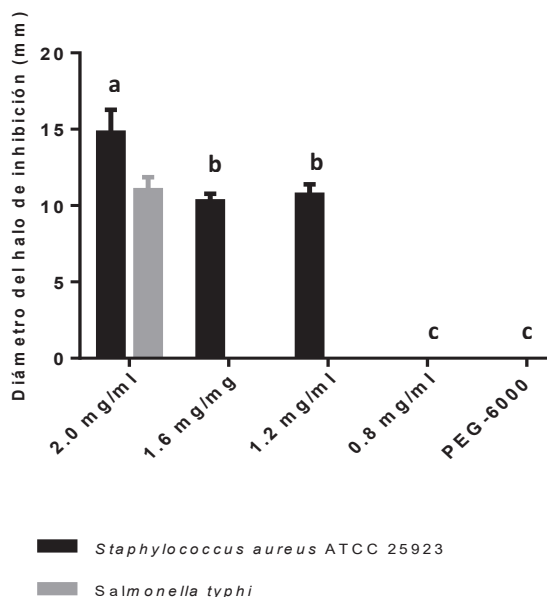
## Resultados

**Tabla 1.** Promedio de los diámetros de los halos de inhibición de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a diferentes concentraciones de las nanopartículas de ZnO.

Promedio de los diámetros en (mm) de los halos de inhibición de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923					
Concentraciones de las nanopartículas de ZnO (mg/ml)					
Repetición	0.8	1.2	1.6	2.0	PEG-6000
1	0	11.66	11.13	14.26	0
2	0	10.50	9.83	13.06	0
3	0	11.16	10.16	15.56	0
4	0	10.16	10.03	16.93	0
5	0	10.06	10.23	14.10	0
Promedio	0	10.71	10.28	14.78	0

**Tabla 2.** Promedio de los diámetros de los halos de inhibición de *Salmonella typhi* a diferentes concentraciones de las nanopartículas de ZnO.

Promedio de los diámetros en (mm) de los halos de inhibición de <i>Salmonella typhi</i>					
Concentraciones de las nanopartículas de ZnO (mg/ml)					
Repetición	0.8	1.2	1.6	2.0	PEG-6000
1	0	0	0	10.8	0
2	0	0	0	12.36	0
3	0	0	0	10.83	0
4	0	0	0	10.06	0
5	0	0	0	11.03	0
Promedio	0	0	0	11.01	0

**Fig. 1.** Comparación de los promedios de los diámetros (mm) de los halos de inhibición de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Salmonella typhi* a diferentes concentraciones de las nanopartículas de ZnO.

### Discusión

Las nanopartículas de ZnO han demostrado capacidad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a diferentes concentraciones (Tabla 1), excepto para la mínima concentración (0,8mg/ml). Sin embargo, para *Salmonella typhi* solo fue efectivo a la mayor

concentración (2 mg/ml) (Tabla 2), lo que convierte al ZnO nanoestructurado en una gran alternativa para combatir bacterias Gram positivas y Gram negativas, mostrando un efecto bactericida. Se atribuye su actividad antibacteriana a su pequeño tamaño y amplia superficie de contacto; muchos estudios han indicado

**Tabla 3.** Prueba de comparación de medias para evaluar el efecto de las nanopartículas sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Salmonella typhi* a las 24 horas de incubación a la concentración de 2 mg/ml.

Bacterias	Medias	Grupos
<i>S. typhi</i>	11.02	a
<i>S. aureus</i>	14.78	b

$p \leq 0.05$ .

su alta toxicidad (Wahab *et al.*, 2010), con mínimos efectos sobre células humanas a bajas concentraciones (Kairyte *et al.*, 2013).

Los resultados muestran que para la bacteria *S. aureus* ATCC 25923 se obtuvo el mayor halo de inhibición de crecimiento (14,78 mm) a la concentración de 2,00 mg/ml con respecto a las otras concentraciones (Tabla 1). Las diferencias del efecto de las diferentes concentraciones de las nanopartículas de ZnO sobre el crecimiento de *S. aureus* fueron confirmadas por el análisis de varianza evidenciando la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos, estableciéndose la conformación de tres grupos estadísticamente homogéneos en función a su efecto (Tabla 1). Ramírez (2013), al evaluar las propiedades antimicrobianas de nanopartículas de ZnO demostró que tienen inhibición al crecimiento bacteriano con un halo de 16 mm, resultados muy similares a los obtenidos en el presente trabajo; sin embargo, los resultados reportados por Francisco *et al.* (2017), no encontraron efecto de las nanopartículas de ZnO para *S. aureus*, estos resultados difieren por el tamaño, la técnica de obtención de las nanopartículas de ZnO lo cual modifica sus características físicas y químicas (Abinaya *et al.*, 2016).

Con respecto a *S. typhi*, como se observa en la Tabla 2, solo se obtuvo un

halo de inhibición de crecimiento (11.01 mm) a la concentración de 2,00 mg/ml, no existiendo efecto frente a las otras concentraciones. Este efecto depende en gran medida de la cepa bacteriana, además a las diferencias estructurales y de composición, las bacterias Gram-negativas tienen una membrana externa de plasma con una capa de lipopolisacáridos sobre la misma. Esta capa es más gruesa que la capa de peptidoglucano presente en las bacterias Gram-positivas; estas dos estructuras de una célula bacteriana Gram-negativa, se oponen a la peroxidación lipídica en presencia de producidas por las nanopartículas de ZnO (Jain *et al.*, 2013; Premanathan *et al.*, 2011).

Los mecanismos de la acción antibacteriana de las nanopartículas de ZnO no están aún bien dilucidados, pero se proponen tres principales mecanismos de acción: generación de ROS; liberación de iones  $Zn^{2+}$  y acumulación en la membrana celular. La producción de ROS ha sido revelada por varios estudios (Dizaj *et al.*, 2014; Leung *et al.*, 2013), se reportó que la producción de ROS se debe principalmente a la autoxidación de NADH deshidrogenasa II en el sistema respiratorio (Messner & Imlay, 1999). Estos ROS ocasionan una fuga del contenido intracelular debido al daño oxidativo a las proteínas y lípidos, también se ha determinado que dicho estrés oxidativo posee un débil potencial

mutagénico, que ocasiona inhibición de las enzimas respiratorias (Wahab *et al.*, 2013; Matsumura *et al.*, 2003). Asimismo, los superóxidos y los radicales hidroxilos no pueden penetrar en la membrana debido a sus cargas negativas. Por lo tanto, se encuentran en la superficie externa de las bacterias, a diferencia de las moléculas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que son capaces de pasar a través de la pared celular bacteriana, ocasionando lesiones, destrucción y finalmente la muerte celular. También la liberación de iones de zinc, tiene un efecto significativo en la inhibición del transporte activo, así como en el metabolismo de los aminoácidos y la disrupción del sistema enzimático (Song *et al.*, 2010).

Al comparar las dos bacterias (Tabla 3 y Fig. 1) usadas en la investigación podemos observar que la bacteria *S. aureus* con respecto a *S. typhi* es la más sensible a las nanopartículas de ZnO puesto que presenta los mayores diámetros de halos de inhibición, evidenciando que las dos bacterias son susceptibles a la concentración de 2.00 mg/ml de nanopartículas de ZnO. Estos resultados evidencian que *S. typhi* es la que presenta mayor capacidad de bloquear la acción de estas nanopartículas y esto puede estar influenciado por la propia estructura de su pared celular, membrana celular (Premanathan *et al.*, 2011).

Estos resultados de las nanopartículas de ZnO sobre las bacterias Gram positivas y Gram negativas abren un campo promisorio para sustituir a los antibióticos que causan resistencia a las bacterias, en ese sentido se debe continuar con las investigaciones para dilucidar los mecanismos de acción y la estandarización de las nanopartículas, así como evaluar su potencial actividad sobre otras bacterias patógenas incluyendo las hospitalarias.

## Conclusiones

Las nanopartículas de ZnO demostraron tener un efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Salmonella typhi*, presentando inhibición del crecimiento para *S. typhi* solo a la concentración de 2.00 mg/ml, recalando que *S. aureus* ATCC 25923 fue la que presentó el mayor efecto antibacteriano, considerando a futuro a las nanopartículas de ZnO como potenciales antibacterianos contra bacterias resistentes.

## Agradecimientos

A la Universidad Nacional de Trujillo por el financiamiento con recursos del Canon Minero (RR 222-2012/UNT y R.C.U. 0885-2014/UNT)

## Contribución de los autores

G. Z., S. J. y O. P.: Concepción, diseño, recolección de datos, revisión crítica del artículo y aprobación de la versión final. J. S.: Análisis e interpretación de los resultados obtenidos. D.P., M. R. y F. S.: Producción y caracterización de nanopartículas. Todos los autores han leído el manuscrito final y aprobado la revisión.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses

## Literatura citada

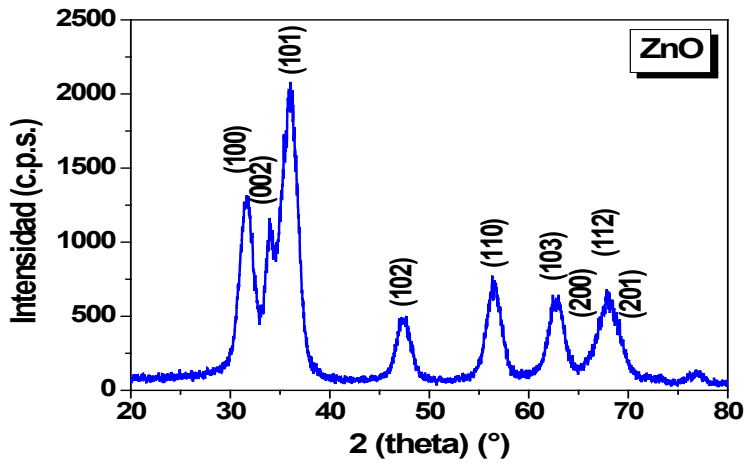
- Abinaya, C.; M. Marikkannan; M. Manikandan; P. Mayandi; V. Suresh; C. Sahanmugaiah; C. Ekstrum & J. Pearce. 2016. Structural and optical characterization and efficacy of hydrothermal synthesized Cu and Ag doped zinc oxide nanoplate bactericides. *Materials Chemistry and Physics* 184, 172-182. DOI: 10.1016/j.matchemphys.2016.09.039
- Dizaj, S. M.; F. Lotfipour; M. Barzegar-Jalali; M. Zarrintan & K. Adibkia. 2014. Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles. *Materials Science and Engineering* 44: 278-284.



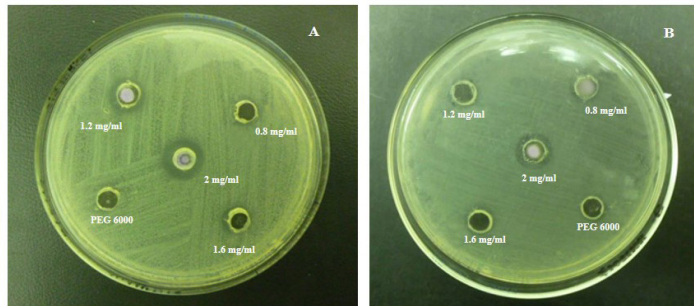
DOI:10.1016/j.msec.2014.08.031.

- Francisco-Escudero, J.; M. Villanueva-Ibañez; C. Lucho-Constantino; C. Coronel-Olivares; M. Hernández-Pérez & M. Flores-González.** 2017. Biosíntesis de con Nanopartículas de ZnO Extracto Acuoso de Mucilago de *Opuntia Amychlaea*. Simposio Iberoamericano Multidisciplinario de Ciencias e Ingeniería Año 5 N°5:19-21.
- Gil, M.** 2000. *Staphylococcus aureus*: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. Rev. Chil. Infect 17(2):145-152.
- Jain, A.; R. Bhargava & P. Poddar.** 2013. Probing interaction of Gram-positive and Gramnegative bacterial cells with ZnO nanorods, Material Science and Engineering: C 33 (3): 1247-1253.
- Jáuregui-Rosas, S.; O.J. Perales-Pérez; L. A. Noriega & L. A. Castillo.** 2011. Structural, Optical and Magnetic properties of Co-doped ZnO Nanopowders. MRS Proceedings, 1292, Mrs10-1292-k08-09. Doi:10.1557/opl.2011.19
- Kairyte, K.; A. Kadys & Z. Luksiene.** 2013. Antibacterial and antifungal activity of photoactivated ZnO nanoparticles in suspension. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 128: 78–84. DOI:10.1016/j.jphotobiol.2013.07.017.
- Leung, Y.; F. Liu; A. Ng; M. Gao; C. Chan; A. Djurisic; F. Leung & W. Chan.** 2013. Antibacterial activity of ZnO nanoparticles under ambient illumination-The effect on nanoparticle properties. Thin Solid Films 542: 430-435.
- Matsumura Y.; K. Yoshikata; S. Kunisaki & T. Tsuchido.** 2003. Mode of bactericidal action of silver zeolite and its comparison with that of silver nitrate. Applied Environmental Microbiology 69(7): 4278– 4281.
- Messner K. & J. Imlay.** 1999. The identification of primary sites of superoxide and hydrogen peroxide formation in the aerobic respiratory chain and sulfite reductase complex of *Escherichia coli*. J. Biol. Chem 274(15), 10119–10128.
- Murray, P.; K. Rosenthal & M. Pfaller.** 2006. Microbiología Médica. España. Editorial Elsevier S. A.
- Organización Panamericana de Salud.** 1999. Prevención y control de la resistencia a los antimicrobianos en las Américas. Plan estratégico de vigilancia de la resistencia de los antibióticos. Asunción: OPS/HCP/HCT/139/99.
- Perez-Ciordia, I.; M. Ferrero; E. Sánchez; M. Abadías; F. Martínez-Navarro & D- Herrera.** 2002. Salmonella enteritis in Huesca. 1996-1999. Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica 20(1): 16-21.
- Premanathan, M.; K. Karthikeyan; K. Jeyasubramanian & G. Manivannan.** 2011. Selective toxicity of ZnO nanoparticles toward Gram-positive bacteria and cancer cells by apoptosis through lipid peroxidation. Nanomedicine 7 (2):184 -192.
- Ramírez, B.** 2013. Estudio del efecto antimicrobiano y citotóxico de nanopartículas de ZnO con y sin tratamiento superficial en nanocompuestos para uso médico. Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Química Aplicada. México.
- Salem, W.; D. Leitner; F. Zingl; G. Schratte; R. Prassl; W. Goessler; J. Reidl & S. Schild.** 2015. Antibacterial activity of silver and zinc nanoparticles against *Vibrio cholera* and enterotoxigenic *Escherichia coli*. International Journal of Medical Microbiology 305 (1): 85–95.
- Sirelkhatim, A.; S. Mahmud; A. Seeni; N. Mohamad; L. Chuo; S. Mohd; H. Hasan & D. Mohamad.** 2015. Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism- Nano-Micro Lett, 2015; 7(3):219–242.
- Song, W.; J. Zhang; J. Guo; J. Zhang; F. Ding; L. Li & Z. Sun.** 2010. Role of the dissolved zinc ion and reactive oxygen species in cytotoxicity of ZnO nanoparticles. Toxicology Letters 199(3), 389–397.
- Uribe, C. & M. Suárez.** 2006. Salmonellosis no tifoidea y su transmisión a través de alimentos de origen aviar. Colombia Médica 37(2): 151-158.
- Wahab, R.; A. Mishra; S. Yun; Y. Kim & H. Shin.** 2010. Antibacterial activity of ZnO nanoparticles prepared via non-hydrolytic solution route. Appl. Microbiol. Biotechnol, 87(5): 1917–1925.
- Wahab, R.; N. Kaushik; N. Kaushik; E. Choi; A. Umar; S. Dwivedi; J. Musarrat & A. Al-Khedhairi.** 2013. ZnO nanoparticles induces cell death in malignant human T98G gliomas, KBand non-malignant HEK cells. J. Biomed. Nanotechnol, 9(7), 1181–1189.
- Winn, W.; S. Allen; J. Janda; E. Koneman; G. Procop; P. Schrecenberger & G. Wood.** 2008. Koneman Diagnóstico microbiológico. Texto y Atlas en color. Buenos Aires-Argentina. Editorial Médica Panamericana.

## ANEXOS



**Anexo 1.** Patrón de difracción de rayos X de nanopartículas de ZnO, obtenido con el difractómetro Rigaku, modelo Miniflex 600 trabajando a 40kV y 15mA. Todos los picos corresponden a la fase wurtzita del ZnO con estructura cristalina hexagonal.



**Anexo 2.** Halos de inhibición del crecimiento a diferentes concentraciones de las nanopartículas de ZnO: (A) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (B) *Salmonella typhi*