

PUBLICACIÓN ANTICIPADA

Publicación anticipada

El Comité Editor de la Revista del Cuerpo Médico Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo aprobó para publicación este manuscrito, teniendo en cuenta la revisión de pares que lo evaluaron y levantamiento de observaciones. Se publica anticipadamente en versión pdf en forma provisional con base en la última versión electrónica del manuscrito, pero sin que aún haya sido diagramado ni se le haya hecho la corrección de estilo. Siéntase libre de descargar, usar, distribuir y citar esta versión preliminar tal y como lo indicamos, pero recuerde que la versión electrónica final y en formato pdf pueden ser diferentes.

Advance publication

The Editorial Committee of the Journal Cuerpo Medico Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo approved this manuscript for publication, taking into account the peer review that evaluated it and the collection of observations. It is published in advance in a provisional pdf version based on the latest electronic version of the manuscript, but without it having been diagrammed or style corrected yet. Feel free to download, use, distribute, and cite this preliminary version as directed, but remember that the final electronic and pdf versions may differ.

Citación provisional / López-Esquen F, Santa Cruz-López CY, Carrasco-Solano F, Vergara-Espinoza M, Ruiz-Barrueto M. Actividad bactericida de la solución acuosa de plata sobre enterobacteriales productores de betalactamasas de espectro extendido. Rev. Cuerpo Med. HNAAA [Internet]. 31 de enero de 2024 [citado 31 de enero de 2024];16(4). DOI: [10.35434/rcmhnaaa.2023.164.1953](https://doi.org/10.35434/rcmhnaaa.2023.164.1953)

Recibido / 12/04/2023

Aceptado / 09/10/2023

Publicación en Línea / 31/01/2024



Actividad bactericida de la solución acuosa de plata sobre enterobacteriales productores de betalactamasas de espectro extendido

Bactericidal activity of the aqueous silver solution on enterobacterial producing extended-spectrum betalactamases

Fiorella López-Esquen^{1,a}, Cinthya Santa Cruz – López^{2,b}, Fransk Carrasco-Solano^{1,c}, Martha Vergara-Espinoza^{1,d}, Miguel Ruiz-Barrueto^{3,e}

1. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque - Perú.
2. Instituto de Ciencias de Datos – Universidad Nacional de Jaén, Cajamarca – Perú.
3. Universidad César Vallejo, Piura – Perú.
 - a. Licenciada en Biología, Microbiología y Parasitología / mlopezesquen@gmail.com / ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-1584-6529>
 - b. Doctora en Ciencias Biomédicas / cisantacruz@gmail.com / ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7352-058X>
 - c. Maestro en Microbiología Clínica / franksamarildocarrascosolano@gmail.com / ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9526-7116>
 - d. Doctora en Microbiología / mvergara@unprg.edu.pe / ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4395-1212> /
 - e. Doctor en Ciencias Biomédicas / mruizb@ucv.edu.pe / ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3373-4671>

Conflicto de Intereses

Los autores declaramos que no existe conflicto de interés y el trabajo es original.

Autor para correspondencia

Nombre y apellidos: Cinthya Yanina Santa Cruz López.

Dirección electrónica: cisantacruz@gmail.com

Teléfono: 945391136

Financiamiento

La investigación fue financiada con recursos propios.

Contribuciones de Autoría

F.L.E: realizó la concepción y diseño del estudio, búsqueda bibliográfica, recolección de los datos, participó en la elaboración y la versión final del manuscrito.

C.S.C.L: realizó la concepción y diseño del estudio, búsqueda bibliográfica, participó en la elaboración y revisión del borrador y de la versión final del manuscrito.

F.C.S: realizó la búsqueda bibliográfica, análisis e interpretación de datos, participó en la elaboración y revisión final del manuscrito.

M.V.E: conceptualizó, diseñó la metodología, redactó el borrador inicial, redactó y revisó la versión final del manuscrito

M.A.R.B: realizó la búsqueda bibliográfica, análisis e interpretación de datos, participó en la elaboración y revisión del borrador y de la versión final del manuscrito.

PUBLICACIÓN ANTICIPADA

RESUMEN

Introducción: La plata es utilizada desde tiempos remotos por su significativo potencial antibacteriano que puede ser una alternativa eficaz para combatir bacterias fármaco resistentes. **Objetivo:** El objetivo fue evaluar la actividad bactericida de la solución acuosa de plata sobre cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). **Material y Métodos:** Estudio experimental con estímulo creciente, donde se evaluaron 225 unidades de análisis constituidas por 14 cultivos de *E. coli* BLEE, 01 cultivo de *K. pneumoniae* BLEE, 5 concentraciones de solución acuosa, con tres aplicaciones por experimento. Para la obtención de la solución acuosa de plata se utilizó el método electroquímico y su actividad bactericida se determinó con la concentración mínima bactericida. Además, se estableció la curva de crecimiento de las cepas bacterianas, al contabilizar el número de colonias de bacterias posterior a la exposición con la solución acuosa de plata (0, 2, 4, 6, 8 y 24 horas de exposición). **Resultados:** La CMI y CMB fue de 2,5 y 5mg/L para *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE, respectivamente. Las concentraciones de 5mg/L y 10mg/L de la solución acuosa de plata ejercieron actividad bactericida frente a las cepas evaluadas, evidenciándose ausencia de crecimiento bacteriano *in vitro* pasadas las 4 y 8 horas de exposición, respectivamente. **Conclusión:** La solución acuosa de plata presentó actividad bactericida frente a las cepas *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* BLEE, observándose que, dicha actividad incrementó a mayor concentración y tiempo de exposición.

Palabras clave: Plata; Resistencia betalactámica; *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae* (Fuente: DeCS BIREME).

ABSTRACT

Introduction: Silver has been used since ancient times for its significant antibacterial potential that can be an effective alternative to combat antibiotic-resistant bacteria..

Objective: The objective was to evaluate the bactericidal activity of aqueous silver solution on strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum beta-

Material and Methods: Experimental study with increasing stimulus, where 225 units of analysis were evaluated, consisting of 14 cultures of *E. coli* BLEE, 01 culture of *Kl. pneumoniae* BLEE, 5 concentrations of aqueous solution, with three applications per experiment. The electrochemical method was used to obtain the aqueous silver solution and its bactericidal activity was determined with the minimum bactericidal concentration. In addition, the growth curve of the bacterial strains was established by counting the number of bacterial colonies after exposure to the aqueous silver solution (0, 2, 4, 6, 8 and 24 hours of exposure).

Results: The MIC and BMC were 2.5 and 5mg/L for *E. coli* and *K. pneumoniae* BLEE, respectively. The concentrations of 5mg/L and 10mg/L exerted bactericidal activity against the strains evaluated, demonstrating the showing absence of bacterial growth *in vitro* after 4 and 8 hours of exposure, respectively. **Conclusion:** The aqueous silver solution presented bactericidal activity against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* BLEE strains, and it was observed that such activity increased with higher concentration and exposure time.

Keywords: Silver; Beta-lactam resistance; *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae* (Source: DeCS BIREME).

INTRODUCCION

La resistencia bacteriana genera consecuencias significativas para la salud y calidad de vida de las personas. A partir del año 2050, se estima que, desencadenará la pérdida de aproximadamente 10 millones de vida humanas cada año (1). El incremento constante de resistencia bacteriana a los agentes antimicrobianos convencionales se considera una de las crisis sanitarias de mayor gravedad en la medicina moderna (2).

Datos recientes muestran una alta y creciente resistencia antibiótica de los patógenos Gram negativos como *Escherichia coli* (32%) y *Klebsiella pneumoniae*(58%) (3). Uno de los principales mecanismos es la síntesis de enzimas Betalactamasas de espectro extendido (BLEE) (4). Las cepas productoras de BLEE resisten al efecto de todos los antibióticos β -lactámicos, excepto carbapenémicos, cefamicinas y combinaciones de β -lactámicos con sus inhibidores (5,6).

La plata es un metal de transición con gran reflectividad y biológicamente activo cuando se dispersa en su estado iónico (Ag^+) y cuando es soluble en medios acuosos. El ion de plata puede obtenerse electrolizando el metal o disolviendo los compuestos de plata. De ellos el primero presenta mayor actividad antimicrobiana (7).

El ión de plata se emplea como un antimicrobiano eficaz sobre cepas patógenas de *Escherichia coli*, *E. coli* multidrogoresistente (MDR) *Listeria monocytogenes* (7,8), *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* meticilinoresistente (9). Además, en compuestos como el nitrato y sulfadiazina de plata se utiliza para curar heridas. Es así que, los apósitos elaborados a base de plata han mejorado enormemente la eficacia del tratamiento para quemaduras (10,11). Un estudio evidenció que la plata coloidal reduce la gravedad y duración de heridas sépticas (12).

Este metal cuenta con diversas propiedades que son empleadas en la cirugía dental para la prevención de infecciones microbianas. Los materiales para prótesis dentales poseen nanopartículas de plata que reducen la proliferación bacteriana. Además, muchos dispositivos médicos como catéteres vasculares, implantes óseos y soportes para conductos biliares contienen este metal (11).

Por lo expuesto anteriormente y considerando que, muchos productos y dispositivos contienen compuestos de plata útiles como biocidas microbianos. Es necesario dilucidar su actividad frente a patógenos resistentes provenientes de ambientes hospitalarios considerando el incremento de estos gérmenes que ponen en riesgo la salud de la población mundial. El estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad bactericida de la solución acuosa de plata sobre cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE).

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio de tipo experimental con estímulo creciente realizado en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, departamento de Lambayeque (Perú) entre enero y diciembre del año 2021.

La población estuvo conformada por cultivos de *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE aisladas de pacientes internados en el servicio de Cirugía del Hospital Docente Belén, Lambayeque – Perú. Mientras que, la muestra fue de 225 unidades de análisis o de tratamiento constituidas por 14 cultivos de *E. coli* BLEE, 01 cultivo de *K. pneumoniae* BLEE, que fueron expuestas a 5 concentraciones de la solución acuosa de plata, con tres repeticiones por cada experimento.

Los cultivos microbianos se aislaron a partir de secreciones de heridas superficiales de pacientes hospitalizados por un periodo no menor a 48 horas, en el mes de marzo del 2021. Cabe señalar que, se contó con la autorización de los pacientes y del Hospital Provincial Docente Belén para su uso. Además, los datos obtenidos solo se recopilaron con fines de investigación protegiendo la identidad y datos personales de los pacientes, en cumplimiento de aspectos éticos del estudio.

Obtención de la solución de plata

Se empleó el método de electroquímico, a través de la reacción de oxido-reducción. En un beaker se agregó 200 ml de agua destilada estéril, en seguida se colocó dos varillas de plata pura con un calibre de 0,2 x 17 cm aproximadamente. Se conectaron los electrodos (ánodo y cátodo) a las varillas de plata y a una fuente eléctrica de 15 voltios. La fuente eléctrica se conectó a corriente por 7, 15, 45, 90 y 180 minutos hasta obtener solución acuosa de plata a las concentraciones de 0,625; 1,25; 2,5; 5 y 10 mg/L, respectivamente (13,14).

Actividad antibacteriana de la solución acuosa de plata

Para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración Mínima Bactericida (CMB) se utilizó la técnica de propuesta por Balda et al. (15). La CMI correspondió a la menor concentración de plata contenida en un tubo de la serie (0,625; 1,25; 2,5; 5 y 10ppm), a la cual se inhibió el crecimiento visible del microorganismo, respecto al control negativo. Mientras que, CBM evidenció la menor concentración de la plata que eliminó el 99,9% del inóculo inicial de bacterias. Para lo cual se utilizaron tres repeticiones del ensayo con cada cultivo microbiana.

Curva de crecimiento de *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE de acuerdo al tiempo de exposición a la solución de plata

Se agregó 0,9ml de solución salina estéril en una serie de cuatro tubos de ensayo (10^{-1} , 10^{-2} ; 10^{-3} ; 10^{-4}). Al primer tubo se le agregó 0,1ml de la solución acuosa y la cepa bacteriana. Enseguida se pipeteó 0,1ml del líquido y se depositó en el segundo tubo. Ese paso se repitió hasta llegar al cuarto tubo, donde se tomó 0,1 ml de la solución que finalmente fue desechada. Una alícuota (0,1 ml) de cada tubo fue sembrada en la superficie de las placas con agar tripticasa de soja e incubadas 24 horas a 35°C (16). Se trabajó con la solución acuosa de plata a 0,625; 1,25; 2,5; 5 y 10ppm

Se midió el número de colonias bacterianas a las 0, 2, 4, 6, 8 y 24 horas de exposición a las diferentes concentraciones de la solución de plata. Los ensayos se realizaron por triplicado para cada dilución (10^{-1} , 10^{-2} ; 10^{-3} ; 10^{-4}) y cultivo bacteriano empleado. El recuento de las colonias se realizó multiplicando el número de colonias obtenidas por la dilución de la solución de plata (10^{-1} , 10^{-2} ; 10^{-3} ; 10^{-4}). El valor obtenido se dividió entre el volumen de la muestra (16).

Análisis estadístico de datos

Los datos fueron procesados y simplificados en tablas y figuras a través Microsoft office excel® 2016 y Minitab® 18 para Windows® versión 8. Los valores de CMI y CMB se expresaron en valor de la media aritmética. Además, se empleó el Análisis de Varianza (ANOVA) para comparar la actividad bactericida de la solución acuosa de plata

considerando la cepa empleada y las concentraciones de la solución de plata. Posteriormente se aplicó el test de Tukey para determinar si la actividad bactericida era o no directamente proporcional a las concentraciones y cepas analizadas.

RESULTADOS

La CMI y CMB fue de 2,5 y 5mg/L para las cepas microbianas de *E. coli* y *K. Pneumoniae* BLEE, respectivamente (figura 1).

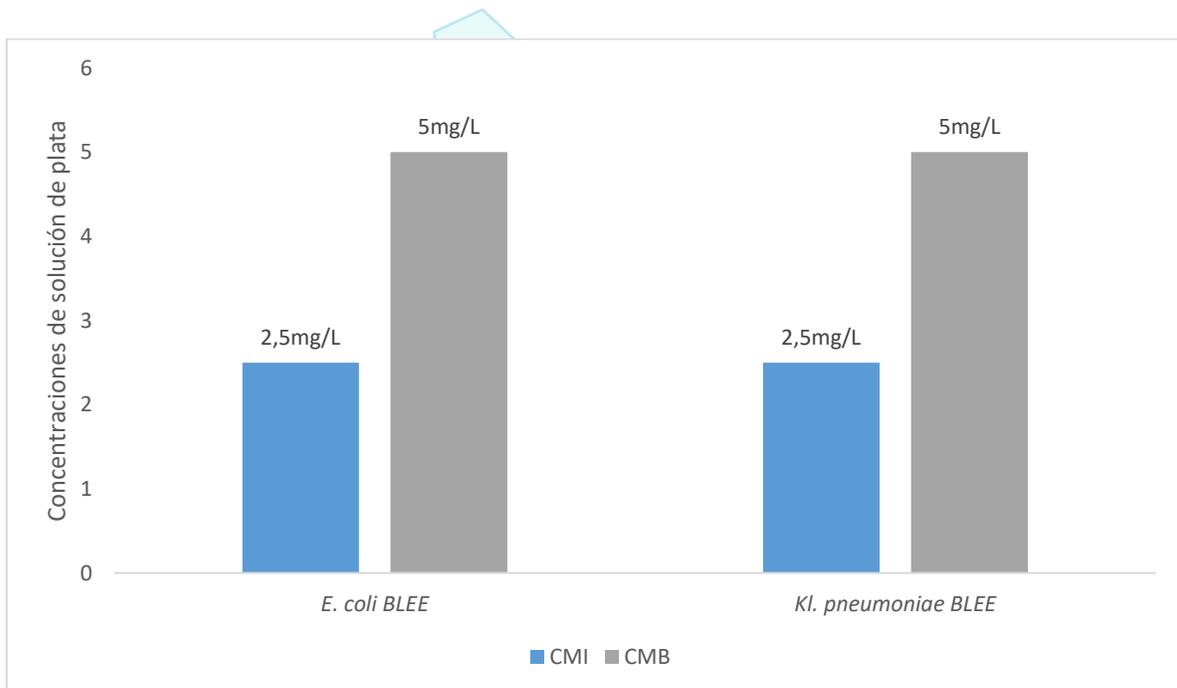


Figura 1. Concentración mínima inhibitoria y bactericida de *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE

Al evaluar la curva de crecimiento de *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE, se evidenció que las concentraciones de 5 y 10mg/L ejercieron actividad bactericida frente a estos patógenos resistentes. Después de 4 y 8 horas de exposición a la solución evaluada no se observó crecimiento bacteriano (0 UFC/ml) *in vitro* (Figura 2).

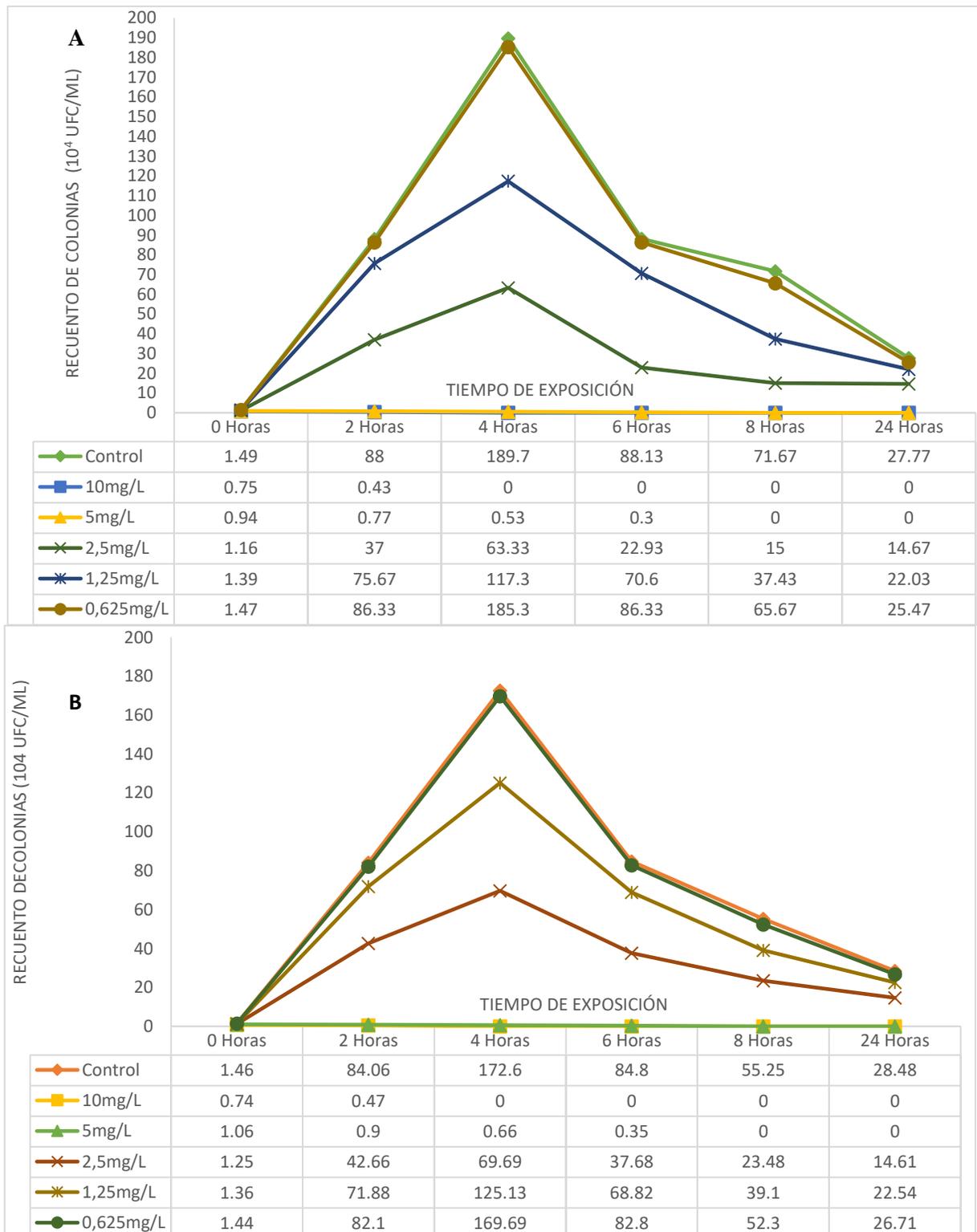


Figura 2. Curva de crecimiento de de (A) *E. coli* y (B) *K. pneumoniae* BLEE en función al tiempo de exposición a la solución acuosa de plata.

El Análisis de varianza (ANOVA) para evaluar la actividad antibacteriana de la solución acuosa de plata a diferentes concentraciones y las cepas productoras de BLEE demostró que existieron diferencias significativas entre estas variables (tabla 1).

Tabla 1. Análisis de varianza de la actividad bactericida de la solución acuosa de plata sobre las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE

Fuente de variación	Suma de cuadrados (SS)	Grados de libertad (GL)	Media cuadrática (CM)	Prueba F	Probabilidad
Tiempo	1288551	5	257710	6800,87	<0,05
Cepa bacteriana	3741	14	267	7,05	<0,05
Concentración	1423849	5	284770	7514,96	<0,05
Tiempo*Cepa	12683	70	181	4,78	<0,05
Tiempo *Concentración	843524	25	33741	890,41	<0,05
Cepa*Concentración	9656	70	138	3,64	<0,05
Tiempo*Cepa*Concentración	21872	350	62	1,65	<0,05
Error	40925	1080	38		

La prueba de Tukey reveló que el tiempo de exposición y concentraciones de la solución acuosa de plata influyeron directamente sobre la inhibición del crecimiento *in vitro* de *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE. De modo que, a mayor tiempo de exposición y concentración de la solución, mayor fue su actividad bactericida (Tabla 2).

Tabla 2. Prueba de Tukey de la actividad bactericida *in vitro* de la solución acuosa de plata sobre *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE

Tiempo de Exposición (horas)	Recuento de colonias (UFC)	Nivel de significancia
0	1,21734	b
24	15,36900	c
8	28,57481	d
6	45,76104	a
2	46,80794	a
4	89,77526	e

Concentraciones de solución (ppm)	Recuento de colonias (UFC)	Nivel de significancia
10	0,20251	a
5	0,49274	a
2,5	31,1672	b
1,25	55,6463	c
0,625	69,4870	d

DISCUSIÓN

La plata es un metal muy utilizado junto a otros compuestos por su acción frente a diversos patógenos, principalmente bacterias. El presente estudio demostró la actividad bactericida frente a enterobacteriales productores de BLEE, determinándose una CMI y CMB de 2,5mg/L y 5mg/L para los aislados clínicos de *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE. Resultados similares obtuvieron Vila et al. (12) al evaluar plata coloidal, registrándose una CIM que osciló entre 0,5 y >16 mg/L en bacterias Gram negativas.

La capacidad de la plata para inhibir el crecimiento bacteriano ha sido comprobada, principalmente unida a otros compuestos (nitrato de plata o sulfadiazina de plata) (17). Asimismo, estudios recientes informaron que la plata potencia el efecto de antibióticos como ofloxacina, gentamicina, tetraciclina, vancomicina y cloranfenicol frente a bacterias como *E. coli* (18,19). Cabe señalar que, la plata puede presentarse en forma elemental/metálica, iónica, nanoplata y coloidal. Las últimas tres formas presentan menor tamaño y mayor área de superficie. Esto facilita e incrementa su eficacia antimicrobiana respecto a la forma metálica (20).

Al analizar la curva de crecimiento de las bacterias se observó que la solución de plata a 5 y 10mg/L ejerció actividad bactericida sobre *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE, ya que no se observó crecimiento microbiano pasadas las 4 y 8 horas de exposición, respectivamente (Figura 2). Además, se verificó la existencia de diferencias significativas entre las concentraciones y cepas provenientes de aislados clínicos ($p < 0,05$) (Tabla 1). Así también, se evidenció que el tiempo de exposición y concentración de la plata intervinieron en su actividad bactericida (tabla 2).

En España, un estudio demostró que las CMI de 0,5; 1 y 2mg/L de plata coloidal presentaron efectos bactericidas frente *A. baumannii* ATCC 17978 y *A. baumannii* multidrogoresistente (MDR) después de 8 horas de exposición. Sumado a ello, *E. coli* ATCC 25922 y *E. coli* MDR fueron susceptibles a la plata coloidal a partir de las 8 horas de exposición (12). Otro estudio evidenció la capacidad de un apósito de gel de plata coloidal para combatir bacterias Gram positivas y negativas *in vitro* e *in vivo*. Se verificó que el apósito inhibió el crecimiento de bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter sp.* y *Pseudomonas aeruginosa*,

incluso superando los valores obtenidos con el control. Sin embargo, con las cepas de *S. aureus* meticilino resistente se logró menor inhibición (18).

Sumado a ello, Hwang et al. (21), Ahmad et al. (22) y Canal (23) revelaron que las nanopartículas de plata limitan el crecimiento de especies Gram negativas con mayor eficacia que las Gram positivas. Esto podría explicarse por las diferencias presentes en la estructura, grosor y composición de la pared celular bacteriana. Además, la carga negativa de los lipopolisáridos (bacterias Gram negativas) favorece la adhesión de la plata (24,25). Por lo que, patógenos como *S. aureus* resultan menos susceptibles a los iones de plata al compararse con Gram negativos como *E. coli* (26).

Se han establecido cuatro mecanismos que explican la acción de los iones de plata sobre los microorganismos. Los iones de plata se unen a los grupos sulfidrilo de proteínas y enzimas desestabilizando la membrana celular (27,28). También son capaces de interactuar con el ADN bacteriano afectando el ciclo celular, lo que ocasiona un aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno e inhibe la síntesis energética celular (12, 29).

Las características morfológicas de la célula bacteriana también influyen en la actividad antibacteriana de la plata. Asimismo, están involucradas las propiedades físicas del metal, ya que el tamaño de la partícula potencia su capacidad de ocasionar la muerte de bacterias (29,30). Cabe señalar que, la plata es menos propensa a inducir resistencia bacteriana a diferencia de otros iones de metales pesados (31), y presenta mínima toxicidad al ser aplicado sobre células mamíferas a bajas concentraciones (20,32). Pese a ello, su aglomeración y compatibilidad con matrices orgánicas puede afectar sus propiedades mecánicas disminuyendo su potencial antibacteriano (33,34).

Entre las limitaciones, se puede mencionar la cantidad evaluada de cepas productoras BLEE provenientes de aislados clínicos y el tipo de solución. Por lo que, es necesario el análisis del potencial bactericida de la plata sobre otros gérmenes resistentes y comparar la efectividad y toxicidad al emplear diferentes nano formulaciones. En conclusión, la solución acuosa de plata presentó actividad bactericida sobre las cepas *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* BLEE. Las concentraciones de 5 y 10mg/L evidenciaron mayor actividad bactericida, ya que no se observó crecimiento microbiano después de las 4 y 8 horas de exposición (0 UFC/ml), respectivamente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sanches M, Oliveira A. Panorama de acciones para combatir la resistencia bacteriana en hospitales de gran porte. Rev. Latino-Am. Enfermagem [Internet] 2021 [citado el 6 de marzo de 2023]; 29: e3407. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/rlae/a/Bpcp3FZT9yDLMLMrcxpkwbC/?lang=en>
2. Zou L, Wang J, Gao Y, Ren X, Rottenberg ME, Lu J, et al. Synergistic antibacterial activity of silver with antibiotics correlating with the upregulation of the ROS production. Sci Rep. 2018;8(1):11131. doi: 10.1038/s41598-018-29313-w.
3. García Y, Filott M, Campo M, Gómez L, Bettín A. Perfiles de los fenotipos de resistencia en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en Barranquilla, Colombia. Revista Ciencias Biomédicas. 2020; 9(1): 15–24. doi: 10.32997/rcb-2020-3039
4. Díaz Sh, Castañeda K, Santa Cruz - López C, Carrasco F, Moreno M. Etiología de infecciones urinarias y prevalencia de *Escherichia coli* productora de betalactamasas de espectro extendido y carbapenemasas. REBIOL. [Internet]. 2021 [citado el 6 de marzo de 2023]; 41 (2): 179-86. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8181183>
5. Urquiza G, Arce J, Alanoca G. Resistencia bacteriana por betalactamasas de espectro extendido: un problema creciente. Rev. Méd. La Paz [Internet]. 2018 [citado el 6 de marzo de 2023]; 24(2): 77-83. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S17268958201800020012&lng=es.
6. Cabrera LE, Díaz L, Díaz S, Carrasco A, Ortiz G. Multirresistencia de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* provenientes de pacientes con infección del tracto urinario adquirida en la comunidad. Rev Cubana Med Gen Integr [Internet]. 2019 [citado 06 de marzo de 2023]; 35(1): e814. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S086421252019000100006&lng=es.
7. Jung WK, Koo HC, Kim KW, Shin S, Kim SH, Park YH. Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Appl Environ Microbiol. 2008;74(7):2171-8. doi: 10.1128/AEM.02001-07.

8. Kędziora A, Wieczorek R, Speruda M, Matolínov I, Goszczyński TM, Litwin I, et al. Comparison of Antibacterial Mode of Action of Silver Ions and Silver Nanoformulations With Different Physico-Chemical Properties: Experimental and Computational Studies *Front. Microbiol.*, [Internet]. 2021 [citado 14 de septiembre de 2023]; 12:1-12. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.659614>
9. Mohamed DS, Abd El-Baky RM, Sandle T, Mandour SA, Ahmed EF. Antimicrobial Activity of Silver-Treated Bacteria against other Multi-Drug Resistant Pathogens in Their Environment. *Antibiotics*. 2020; 9(4):181. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9040181>
10. Cabrales A, Cobo B, Benítez YD, Osorio MF, Martínez JW, Castrillón ML. Efectividad de los apósitos de plata en la prevención de la infección del sitio operatorio en heridas contaminadas. *Iatreia* [Internet]. 2014 [citado 8 de marzo de 2023]; 27(3): 247-254. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012107932014000300001&lng=en.
11. Sim W, Barnard RT, Blaskovich MAT, Ziora ZM. Antimicrobial Silver in Medicinal and Consumer Applications: A Patent Review of the Past Decade (2007-2017). *Antibiotics (Basel)*. 2018; 7(4):93. doi: 10.3390/antibiotics7040093.
12. Vila A, Ayerbe R, Miró A, Rodríguez Á, Smani Y. Antibacterial Activity of Colloidal Silver against Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. *Antibiotics*. 2020;9(1):36. doi: 10.3390/antibiotics9010036
13. Blandón L, Vázquez MV, Boannini E, Ballarin B. Síntesis electroquímica de nanopartículas de plata en presencia de un surfactante neutro. *Afinidad J Chem Eng Theor Appl Chem* [Internet]. 2015 [citado el 9 de marzo de 2023];72(569). Disponible en: <https://raco.cat/index.php/afinidad/article/view/291709>
14. Damir B Pero D, Anita R, Hrvoje J. Synthesis and antibacterial activity of colloidal silver prepared by electrochemical method, *Arab Journal of Basic and Applied Sciences*, 2020; 29(1): 214-220. doi:10.1080/25765299.2022.2093034
15. Balda M a BP, Gómez MEG, Moreno EIG. Actividad bactericida del agua de plata coloidal sobre indicadores de calidad microbiológica: un estudio a partir de muestras

- ambientales. Rev Ecuat Med Cienc Biológicas. 2020; 41(1): 75-84. doi: 10.26807/remcb.v41i1.840
16. Canut A, Collazos A, Díez M, Morosini MI, Rodríguez-Gascón A, Seral C. Métodos microbiológicos para la determinación *in vitro* de la actividad de combinaciones de antimicrobianos. Madrid: Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC); 2020[citado el 12 de marzo de 2023]. Disponible en:
<https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimiento70.pdf>
17. Bruna T, Maldonado-Bravo F, Jara P, Caro N. Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Applications. Int J Mol Sci. 2021; 22(13):7202. doi: 10.3390/ijms22137202.
18. Tran PL, Huynh E, Hamood AN, de Souza A, Mehta D, Moeller KW, et al. The ability of a colloidal silver gel wound dressing to kill bacteria *in vitro* and *in vivo*. J Wound Care. 2017; 26(sup4):16-24. doi: 10.3390/ijms22137202
19. Barras F, Aussel L, Ezraty B. Silver and Antibiotic, New Facts to an Old Story. Antibiotics (Basel). 2018;7(3):79. doi: 10.3390/antibiotics7030079.
20. Naik K, Kowshik M. The silver lining: towards the responsible and limited usage of silver. J Appl Microbiol. 2017;123(5):1068-1087. doi: 10.1111/jam.13525.
21. Hwang IS, Cho JY, Hwang JH, Hwang BM, Choi HM, Lee JY, et al. Antimicrobial Effects and Mechanism(s) of Silver Nanoparticle. Microbiol Biotechnol Lett. [Internet]. 2011 [citado el 15 de marzo de 2023];39(1):1-8. Disponible en: <http://www.koreascience.or.kr/article/JAKO201106737198658.page>
22. Ahmad SA, Das SS, Khatoon A, Ansari MT, Afzal M, Hasnain S, et al. Bactericidal activity of silver nanoparticles: A mechanistic review. Materials Science for Energy Technologies. 2020; 3: 756-769. doi: 10.1016/J.MSET.2020.09.002
23. Canal BA. Actividad antibacteriana de nanopartículas de plata sintetizadas vía extracelular frente a *Pseudomonas aeruginosa*. [Tesis]. Lima: Facultad de Biología, Universidad Ricardo Palma; 2020 [citado el 14 de septiembre 2023]. Disponible en: https://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14138/2678/T030_47395356

_T%20%20%20CANAL%20NU%c3%91EZ%20BRYAN%20ANDR%c3%89.pdf?
sequence=1&isAllowed=y

24. Wang L, Hu C, Shao L. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *Int J Nanomedicine*. 2017; 12:1227-1249. doi: 10.2147/IJN.S121956.
25. Dakal TC, Kumar A, Majumdar RS, Yadav V. Mechanistic Basis of Antimicrobial Actions of Silver Nanoparticles. *Front Microbiol*. 2016; 7:1831. doi: 10.3389/fmicb.2016.01831
26. Feng QL, Wu J, Chen GQ, Cui FZ, Kim TN, Kim JO. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Biomed Mater Res*. 2000; 52(4):662-8. doi: 10.1002/1097-4636(20001215)52:4<662::aid-jbm10>3.0.co;2-3.
27. More PR, Pandit S, Filippis A, Franci G, Mijakovic I, Galdiero M. Silver Nanoparticles: Bactericidal and Mechanistic Approach against Drug Resistant Pathogens. *Microorganisms*. 2023;11(2):369. doi: 10.3390/microorganisms11020369.
28. Kędziora A, Speruda M, Krzyżewska E, Rybka J, Łukowiak A, Bugla-Płoskońska G. Similarities and Differences between Silver Ions and Silver in Nanoforms as Antibacterial Agents. *Int J Mol Sci*. 2018;19(2):444. doi: 10.3390/ijms19020444.
29. Gonzalez M. Efecto bactericida de nanopartículas de plata y desinfectantes sobre bacterias multirresistentes. [tesis]. México: Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de México; 2017 [citado el 20 de marzo de 2023]. Disponible en: <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/6795489/fmicb.2016.01831>.
30. Díaz EM. Nanopartículas de plata: síntesis y funcionalización. Una breve revisión. *Mundo nano*. 2019;12(22). doi:10.22201/ceiich.24485691e.2019.22.60758.
31. Dove AS, Dzurny DI, Dees WR, Qin N, Núñez CC, Alt LA, et al. Silver nanoparticles enhance the efficacy of aminoglycosides against antibiotic-resistant bacteria. *Front Microbiol*. 2023; 13:1064095. doi: 10.3389/fmicb.2022.1064095.
32. Lansdown AB. Silver in health care: antimicrobial effects and safety in use. *Curr Probl Dermatol*. 2006; 33:17-34. doi: 10.1159/000093928.

33. McNeilly O, Mann R, Hamidian M, Gunawan C. Emerging Concern for Silver Nanoparticle Resistance in *Acinetobacter baumannii* and Other Bacteria. *Front Microbiol.* 2021; 12:652863. doi: 10.3389/fmicb.2021.652863.
34. Hosny AEM, Rasmy SA, Aboul-Magd DS, Kashef MT, El-Bazza ZE. The increasing threat of silver-resistance in clinical isolates from wounds and burns. *Infect Drug Resist.* 2019; 12:1985-2001. doi: 10.2147/IDR.S209881.

