

Acción de un desinfectante de superficie enriquecido con nanopartículas de plata y cobre coloidal frente a bacterias de relevancia estomatológica

Action of a surface disinfectant enriched with colloidal silver and copper nanoparticles against bacteria of dental relevance

Irma Irene Zorrilla-Martínez¹, Guillermo Pérez-Cortés², Norma Patricia Figueroa-Fernández^{3*}, Mara Gómez-Flores⁴, Adriana Hernández-Gómez⁵, Mario Alberto Isordia-Espinoza⁶

¹Candidato a Doctor, Doctorado en Ciencias Clínicas Odontológicas, Facultad de Odontología Mexicali, Universidad Autónoma de Baja California, México.

²Miembro del Cuerpo Académico Biomateriales, Facultad de Odontología Mexicali, Universidad Autónoma de Baja California, México.

³Responsable del Doctorado Ciencias Clínicas Odontológicas, Facultad de Odontología Mexicali, Universidad Autónoma de Baja California, México.

⁴Responsable del Posgrado de Periodoncia Facultad de Odontología Mexicali, Universidad Autónoma de Baja California, México.

⁵Departamento de Ciencias de la Salud, División de Ciencias Biomédicas, Centro Universitario de los Altos, Universidad de Guadalajara. Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México.

⁶Departamento de Clínicas, División de Ciencias Biomédicas, Centro Universitario de los Altos, Universidad de Guadalajara, Tepatitlán de Morelos, Jalisco México.

*Autor de correspondencia: nfigueroa@uabc.edu.mx

Resumen

Debido a la evolución selectiva de los microorganismos, la tendencia a desarrollar resistencia aumenta, afectando no solo a los antimicrobianos, sino también a los desinfectantes de superficies. Ante esta circunstancia, los productos sanitizantes que contienen nanopartículas han ganado popularidad en el ámbito de la salud gracias a su capacidad para reducir o eliminar la carga microbiológica de manera eficiente. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana del desinfectante para superficies inanimadas Evox®DT, sobre microorganismos de relevancia odontológica seleccionados por interés del estudio: *Staphylococcus aureus* (ATCC11632), *Enterococcus faecalis* (ATCC51575), y *Streptococcus salivarius* (ATCC13419), diluciones: 100%, 50%, 25%. Los resultados, analizados mediante ANOVA seguido por un post prueba de Dunnett. Se consideró diferencia estadística cuando $p < 0.05$. El mayor efecto antibacteriano del desinfectante fue al 100% se observó contra el *Streptococcus salivarius* de $38,33 \pm 2.70$ mm. Las concentraciones medias inhibitorias (CI_{50}) confirman que el microorganismo más sensible al desinfectante fue el *Streptococcus salivarius* (7mg/ml). El desinfectante presentó actividad antimicrobiana en todas las diluciones evaluadas, sugiriere un efecto dependiente de la concentración, de igual forma las CI_{50} son similares para todas las bacterias lo que demuestra un potencial de amplio espectro de acción del desinfectante.

Palabras clave: Efecto antibacteriano, solución desinfectante, nanopartículas de plata, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus salivarius*, *Enterococcus faecalis*.

Abstract

Due to the selective evolution of microorganisms, the tendency to develop resistance increases, affecting not only antimicrobials but also surface disinfectants. In this circumstance, sanitizing products containing nanoparticles have gained popularity in the health sector thanks to their ability to efficiently reduce or eliminate the microbiological load. The objective of this study was to evaluate the antimicrobial activity of the disinfectant for inanimate surfaces Evox®DT against selected microorganisms of odontological relevance: *Staphylococcus aureus* (ATCC11632), *Enterococcus faecalis* (ATCC51575), and *Streptococcus salivarius* (ATCC13419), at dilutions of 100%, 50%, and 25%. The results, analyzed by ANOVA followed by a Dunnett post-test, were considered statistically significant when $p < 0.05$. The greatest antibacterial effect of the disinfectant was observed at 100% against *Streptococcus salivarius* with a zone of

inhibition of 38.33 ± 2.70 mm. The median inhibitory concentrations (IC_{50}) confirmed that *Streptococcus salivarius* was the most sensitive microorganism to the disinfectant (7mg/ml). The disinfectant exhibited antimicrobial activity at all evaluated dilutions, suggesting a concentration-dependent effect. Similarly, the IC_{50} values were similar for all bacteria, demonstrating a potential broad-spectrum activity of the disinfectant.

Key words: Antibacterial effect, disinfectant solution, silver nanoparticles, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus salivarius*, *Enterococcus faecalis*.

Introducción

En el ámbito clínico odontológico es crucial mantener el entorno limpio y desinfectado para evitar la propagación de enfermedades causadas por microorganismos dañinos como bacterias o virus. Se han establecido procedimientos basados en evidencia científica que forman parte de las normativas en el ámbito de la atención médica para garantizar la limpieza adecuada y desinfección de superficies semi-críticas y no críticas. (Hernández et al., 2014; Rutala et al., 2016)

La utilización de instrumentos rotatorios en odontología produce bioaerosoles que al combinarse con saliva y otros fluidos corporales pueden mantenerse suspendidos en el aire durante varias horas contaminando el entorno clínico. (Bustamante Andrade et al., 2014; Komperda et al., 2021) Este escenario resalta la relevancia de la limpieza de superficies para evitar infecciones. (Zambrano & Luna, 2013) Sin embargo, es fundamental considerar la presencia de bioaerosoles liberados y asegurarse de que las técnicas de limpieza sean efectivas para mantener un entorno seguro y mejorar los procedimientos de desinfección según el CDC (2023).

La selección natural de microorganismos contribuye al aumento de la resistencia no solo a los antimicrobianos sino también a los desinfectantes utilizados en las superficies. (Mon-salve & Moscoso, 2021) En las instalaciones de atención médica conviven diversos microorganismos; entre ellos se destaca el *Staphylococcus aureus* por su resistencia a la meticilina según la OMS; por lo tanto, se le considera una amenaza importante que complica el con-

trol de infecciones (Tacconelli et al., 2018)

La boca puede ser temporalmente colonizada por bacterias externas como *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis* que provienen principalmente del consumo alimentario o agua contaminada. Al unirse a las diversas comunidades microbianas presentes en las biopelículas orales estas bacterias desarrollan resistencia a varios diversos antimicrobianos. (Espíndola et al., 2023)

El *Streptococcus salivarius* forma parte del microbiota oral humana y ocasionalmente actúa como patógenos desencadenando septicemia en individuos neutropénicos. (Knudtzen et al., 2015)

Estos agentes patógenos contaminan las superficies en entornos médicos y los equipos asociados a ellas se convierten en vehículos que pueden propagar microorganismos por las instalaciones de salud y aumentar el riesgo de contagios. (Otter et al., 2011) Por tanto, es crucial mantener una adecuada higiene de las superficies clínicas y los elementos de contacto para prevenir la transmisión directa de enfermedades a través de estos puntos críticos; ya que estos podrían facilitar la propagación de enfermedades cruzadas debido a las actividades del personal de la salud. (West et al., 2018; Lineback et al., 2018)

En los últimos tiempos, los productos desinfectantes que contienen nanopartículas han ganado popularidad en el ámbito de la salud por su capacidad para eliminar microorganismos de manera eficiente. Este interés ha aumentado notablemente en situaciones de crisis sanitaria como la propagación del

COVID-19 y el brote de la gripe H1N1. Las nanopartículas de plata y cobre se utilizan ampliamente en desinfectantes debido a su efectividad contra los microorganismos. Son especialmente beneficiosas para prevenir infecciones en áreas de alto tráfico como hospitales y lugares públicos. (León et al., 2021)

Las Ag-NPs han demostrado tener propiedades bactericidas en investigaciones previas. Sin embargo, el aumento de la resistencia bacteriana a los medicamentos antimicrobianos convencionales ha promovido la búsqueda de nuevas alternativas. (Shahverdi et al., 2007)

La nanociencia en el ámbito de la salud es un campo en desarrollo continuo que tiene un gran potencial para abordar el desafío actual de la resistencia a los antimicrobianos como menciona Arora (2024).

En el extenso rango de nanopartículas de plata (AgNP), las más investigadas suelen ser aquellas que tienen un diámetro de entre 1 y 100 nm. Su dimensión a escala nanométrica les otorga características fisicoquímicas particulares como una alta relación entre superficie y volumen; esto se refleja en una notable acción biocida y en su capacidad para crear estructuras nano complejas. (Almatroudi, 2020)

El propósito de este estudio fue evaluar el efecto de un desinfectante de superficies recientemente desarrollado que incluye cuaternarios de amonio como principios activos junto a alcohol isopropílico y graso etoxilado; agua purificada; nanopartículas de plata y cobre coloidal para ser utilizado en la limpieza y sanitización de superficies.

Materiales y métodos

- Evaluación de la acción del desinfectante de superficies Evox DT, mediante la técnica de Agar por difusión en pozos en bacterias de relevancia odontológica. El protocolo fue aprobado por el Comité de ética registro 02-01-HGMXL/CEI/2024-31.

- Cepas microbiológicas y medios de cultivo.
- Las cepas bacterianas empleadas en los experimentos de este estudio fueron adquiridas a PROQUIFA Guadalajara: *Staphylococcus aureus* (ATCC11632), *Enterococcus faecalis* (ATCC51575), y *Streptococcus salivarius* (ATCC13419), Agar nutritivo marca BIOXON y cajas de Petri de 9 cm de diámetro.

El medio de cultivo agar nutritivo se elaboró siguiendo indicaciones del fabricante para elaborar nueve cajas de Petri. Una vez que las cajas de Petri fueron preparadas, las cepas bacteriológicas fueron descongeladas a temperatura ambiente y se realizó un cultivo masivo con ayuda de un hisopo estéril en tres cajas de Petri e incubadas por 24 horas. Posteriormente, se tomaron algunos asados de la biopelícula formada por cada bacteria para suspensión bacteriana en tubos Falcon con 10 ml de agua estilada estéril y fueron calibrados a 0.05 en la escala McFarland (1.5×10^8 UFC). Evox® Desinfección total fue preparada a diferentes concentraciones (Evox® 100%, 50% y 25%) siguiendo las indicaciones del fabricante y se empleó como control negativo la solución salina estéril.

Se realizó una siembra masiva de los microorganismos sobre Agar nutritivo y se elaboraron y se enumeraron cuatro pozos con la ayuda de un sacabocados estéril en las cajas de Petri. A continuación, mediante una micropipeta estéril se colocaron 20 μ L de cada concentración de Evox y solución salina estéril en cada uno de los pozos y luego se incubaron a 37°C por 24 horas. Estos experimentos se realizaron por triplicado para cada bacteria. El área de inhibición bacteriana de cada caja de Petri se midió con un pie de Rey después de 24 horas. (González et al., 2023)

Análisis estadístico

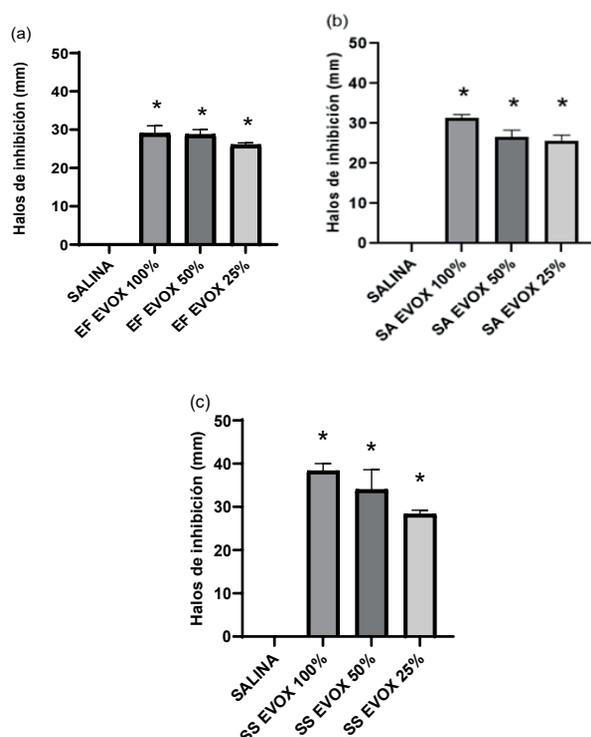
Se utilizó una prueba gratuita del programa estadístico GraphPad Prism10. Los datos se presentan como medias y sus correspondientes errores estándar empleando gráficas de columnas. El análisis de varianza (ANOVA) y la

posprueba de Dunnett se utilizaron para detectar diferencias estadísticas. Un valor de $P < 0.05$ se consideró diferencia estadística. El cálculo de la Concentración Inhibitoria Media (CI_{50}) se realizó mediante el empleo de una regresión lineal.

Resultados

El desinfectante en estudio Evox®DT inhibió el crecimiento de todas las bacterias (Figura 1 a-c). El mayor efecto antibacteriano del desinfectante Evox®DT fue con el empleo de la concentración del 100 por ciento contra el *Streptococcus salivarius* ($38,33 \pm 2.70$ mm). Por otro lado, el cálculo de la concentración inhibitoria media (CI_{50}) mostró una sensibilidad muy parecida para todas las bacterias incluidas en este estudio (Tabla 1).

Figura 1 (a-c) Efecto antibacteriano del desinfectante Evox®DT contra *Enterococcus faecalis* (a), *Staphylococcus aureus* (b), y *Streptococcus salivarius* (c).



Fuente: Elaboración propia.

Las gráficas muestran el efecto antibacteriano del desinfectante Evox®DT contra *Enterococcus faecalis* (a), *Staphylococcus aureus* (b), y *Streptococcus salivarius* (c). Las barras muestran medias y errores estándar. ($P < 0.05$, ANOVA y posprueba de Dunnett).

Tabla 1. Concentración Inhibitoria Media (CI_{50}) para cada Microorganismo

Microorganismo	mg/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	8
<i>Staphylococcus aureus</i>	8
<i>Streptococcus Salivarius</i>	7

Fuente: Elaboración propia

Discusión

Los resultados encontrados muestran que el desinfectante fue efectivo para detener el crecimiento de las tres bacterias evaluadas en todas las concentraciones probadas. No obstante, se observaron diferencias en la sensibilidad de cada tipo de bacteria al desinfectante según lo indicado en la Tabla 1.

El efecto antibacteriano indica que su eficiencia es dependiente de la concentración; además de que la concentración mínima inhibitoria resultó ser relativamente baja y similar para todas las bacterias analizadas en el estudio. Estos hallazgos insinúan que el desinfectante es efectivo y podría representar una herramienta más valiosa para la limpieza de superficies en ambientes clínicos; lo cual contribuiría a prevenir la propagación de enfermedades nosocomiales (OMS, 2017)

Investigaciones recientes han señalado que la efectividad de las nanopartículas de plata varía dependiendo de su tamaño y el tipo de bacteria a la que se enfrentan. Por ejemplo, se ha observado que partículas de plata de 5 nm son más eficientes en la eliminación de bacterias como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en comparación a partículas más grandes. (según Agnihotri et al., 2014) Además, estudios previos sugieren que las bacterias Grampositivas muestran una mayor resistencia al mecanismo de acción de estas nanopartículas debido a posibles diferencias en la estructura de sus paredes celulares.

Las bacterias Grampositivas cuentan con una pared celular que actúa como un escudo protector que limita filtrando la interacción entre las nanopartículas y la célula. Por otro lado, las bacterias Gramnegativas presentan

una capa adicional recubierta por lipopolisacáridos, que posee y cuya carga es negativa. Esta diferencia se debe a la capacidad de las nanopartículas más pequeñas para atravesar las estructuras bacterianas causando daño a nivel celular. (Abbaszadegan et al., 2015)

Los efectos directos de las AgNP en las paredes y membranas celulares provocan cambios en la integridad de la membrana celular mediante la formación de poros y pliegues. Esto facilitaría su ingreso a la célula y podría causar desnaturalización de biomoléculas como enzimas o proteínas. Además de esto se menciona que ocasionan disolución del citoplasma y daño al material genético según Hamida et al. (2021)

La forma en que las nanopartículas de cobre (CuNP) funcionan para combatir microorganismos se debe a su habilidad para interactuar directamente con la membrana bacteriana y generar poros en ella. Este proceso provoca la pérdida de integridad de la membrana y permite la entrada de iones tóxicos al interior de la célula bacteriana. Además de esto las CuNP también producen especies reactivas de oxígeno que atacan el ADN y las proteínas bacterianas causando daños y eventualmente llevando a la muerte celular. La efectividad de este método depende en gran medida del tamaño de las nanopartículas; aquellas más pequeñas son las que presentan mayor eficiencia. (Sánchez et al., 2016; Chatterjee et al., 2014, Pacheco, 2022)

Los resultados que hemos obtenido no coinciden con aquellos informados por Bolívar et al., (2022). Aunque su investigación señaló halos de inhibición menores a 1 mm mediante un enfoque similar nuestras nanopartículas de plata demostraron una actividad antimicrobiana más elevada frente a *Staphylococcus aureus*.

Ventajas del método de dilución en placas de pozo: La precisión es una de las ventajas de esta técnica ya que permite determinar de manera precisa la concentración mínima inhibitoria (CMI). Además, cuenta un amplio espectro que facilita la evaluación de distintas concentraciones del antibiótico que detiene claramente el crecimiento de un microorganism-

mo. Su versatilidad le permite ajustarse a diversas clases de antibióticos y microorganismos; por último, resulta útil para detectar mecanismos de resistencia bacteriana como la generación de enzimas que desactivan el antibiótico. (Kohner et al., 1997)

Limitaciones: Este método lleva más tiempo para llevarse a cabo y requiere una mayor cantidad de reactivos y materiales disponibles. La metodología debe ser estandarizada y adaptada para lograr resultados precisos y confiables. Finalmente, podría ser necesario contar con una cantidad mayor de muestras bacterianas en comparación con otros estudios. (Wexler et al., 1991).

Conclusión

Según los hallazgos de este estudio se puede afirmar que el producto desinfectante Evox®DT muestra una destacada acción antimicrobiana frente a microorganismos relevantes en odontología como *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* y *Streptococcus salivarius*. La acción antimicrobiana aumentó en proporción a la concentración del desinfectante siendo la solución al 100 por ciento la más eficiente. El desinfectante demostró ser efectivo contra los tres microorganismos evaluados lo que indica un amplio espectro de actividad. Los valores de CI₅₀ son similares para todas las bacterias lo cual respalda esta conclusión. La presencia de nanopartículas de plata y cobre en la mezcla posiblemente es la causa de su fuerte capacidad antimicrobiana debido a la efectividad reconocida de estos componentes.

El Evox®DT demuestra ser un desinfectante efectivo para superficies inanimadas en entornos clínicos odontológicos al prevenir el desarrollo de diversos microorganismos gracias a su acción antimicrobiana amplia; esto sugiere que posee un gran potencial para controlar la contaminación de las superficies en instalaciones de atención médica y prevenir el establecimiento de la cadena epidemiológica de infecciones.

Conflicto de intereses: Los autores no tenían ningún conflicto de intereses que declarar.

Financiamiento: Programa de apoyo a la mejora de las condiciones de producción de los miembros del SNII y SNCA-PROSNI 2023 de la Universidad de Guadalajara otorgado al Dr. Mario Alberto Isiordia Espinoza.

Referencias

- Abbaszadegan, A., Ghahramani, Y., Gholami, A., Hemmateenejad, B., Dorostkar, S., Nabavizadeh, M., & Sharghi, H. (2015). The Effect of Charge at the Surface of Silver Nanoparticles on Antimicrobial Activity against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria: A Preliminary Study. *Journal of Nanomaterials*, 2015, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2015/720654>
- Agnihotri, S., Mukherji, S., & Mukherji, S. (2014). Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5–100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. *RSC Advances*, 4(8), 3974-3983. <https://doi.org/10.1039/C3RA44507K>
- Alajlan AA, Mukhtar LE, Almussallam AS, Alnuqaydan AM, Albakiri NS, Almutari TF, et al. (2022) Evaluación de la eficacia de los desinfectantes para reducir el crecimiento microbiano. *PLoS ONE* 17(6): e0269850. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0269850>
- Almatroudi A. (2020). Silver nanoparticles: synthesis, characterisation and biomedical applications. *Open life sciences*, 15(1), 819–839. <https://doi.org/10.1515/biol-2020-0094>
- Arora, A., Lashani, E., & Turner, R. J. (2024). Bacterial synthesis of metal nanoparticles as antimicrobials. *Microbial Biotechnology*; 17:e14549 [wileyonlinelibrary.com/journal/mbt2](https://www.wileyonlinelibrary.com/journal/mbt2) <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14549>
- Bustamante Andrade, María Fabiola, Herrera Machuca, Jessica, Ferreira Adam, Roxana y Riquelme Sánchez, Denisse. (2014). Contaminación Bacteriana Generada por Aerosoles en Ambiente Odontológico. *Revista internacional de odontostomatología*, 8 (1), 99-105. <https://doi.org/10.4067/S0718-381X2014000100013>
- Chatterjee, A. K., Chakraborty, R., & Basu, T. (2014). Mechanism of antibacterial activity of copper nanoparticles. *Nanotechnology*, 25 (1 3) , 1 3 5 1 0 1 . <https://doi.org/10.1088/0957-4484/25/13/135101>
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2023). Guidelines for environmental infection control in health care facilities. https://www.cdc.gov/infection-control/hcp/environmental-infection-control-guidelines/updates.html#cdc_generic_section_1-guidelines-for-environmental-infection-control-in-health-care-facilities-april-2023
- Echeverry-Chica, J., Naranjo-Díaz, A., & Araque-Marín, P. (2020). Nanopartículas de plata funcionalizadas in situ con D-limoneno: efecto en la actividad antibacteriana. *Revista Ion*, 33(1), 79-92. <https://doi.org/10.18273/ion.v33n1-2020008>
- Espíndola, L. C. P., Oliveira, A. M. De., Masterson, D., Maia, L. C., & Souto, R. M. do. (2023). Prevalence of Enterococcus species in adults with periodontal health or with periodontitis: a systematic review. *Brazilian Oral Research*, 37, e019. <https://doi.org/10.1590/1807-3107-bor-2023.vol37.0019>
- González-Padilla, J., Aceves-Franco, J.G., Córdova-Guerrero, I., Díaz-Rubio, L., Hernández-Gómez & Isiordia-Espinoza, M.A. (2023). Efecto antimicrobiano de un extracto de la raíz de *Salvia munzii* contra microorganismos de importancia odontológica. *Contexto Odontológico*, 13(25), 16-22. <https://doi.org/10.48775/rco.v13i25.2567>
- Wexler., E, Hannah, M., Molitoris., F, Jashnian., Sydney, M., Finegold. (1991). 4. Com

- parison of spiral gradient and conventional agar dilution for susceptibility testing of anaerobic bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, <https://doi.org/10.1128/AAC.35.6.1196>
- Hamida, R.S.; Ali, M.A.; Goda, D.A.; Redhwan, A. (2021). Anticandidal Potential of Two Cyanobacteria-Synthesized Silver Nanoparticles: Effects on Growth, Cell Morphology, and Key Virulence Attributes of *Candida albicans*. *Pharmaceutics*:13(10),1688 <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13101688>
- Hernández-Navarrete, M.-J., Celorrio-Pascual, J.-M., Lapresta Moros, C., & Solano Bernad, V.-M. (2014). Fundamentos de anti-sepsia, desinfección y esterilización. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.ciresp.2014.05.015>
- Komperda, J., Peyvan, A., Li, D., Kashir, B., Yarin, A. L., Megaridis, C. M., Mirbod, P., Paprotny, I., Cooper, L. F., Rowan, S., Stanford, C., & Mashayek, F. (2021). Simulación por ordenador del riesgo de contaminación por SARS-CoV-2 en una gran clínica dental. *Física de fluidos* (Woodbury, N.Y.: 1994), 33(3), 033328. <https://doi.org/10.1063/5.0043934>
- Knudtzen, F. C., Lynge, M., & Gaini, S. (2015). Pontine abscess with initial treatment failure following infectious endocarditis with *Streptococcus salivarius*. *BMJ case reports*, 2015, bcr2014205949. <https://doi.org/10.1136/bcr-2014-205949>
- León Molina, J., & Abad-Corpa, E. (2021). Desinfectantes y antisépticos frente al coronavirus: Síntesis de evidencias y recomendaciones. *Enfermería Clínica*, 31(1), S84-S88. <https://doi.org/10.1016/j.enfcli.2020.05.013>
- Lineback, C. B., Nkemngong, C. A., Wu, S. T., Li, X., Teska, P. J., & Oliver, H. F. (2018). Los desinfectantes de peróxido de hidrógeno e hipoclorito de sodio son más efectivos contra las biopelículas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* que los compuestos de amonio cuaternario. *Resistencia a los antimicrobianos y control de infecciones*, 7, 154. <https://doi.org/10.1186/s13756-018-0447-5>
- Monsalve, G., & Moscoso Gama, J. M., (2021). Resistencia Bacteriana a Desinfectantes en áreas comunes de oficinas. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas*, 1(33), 60–74. <https://doi.org/10.47499/revistaaccb.v1i33.225>
- Otter, J. A., Yezli, S., & French, G. L. (2011). The role played by contaminated surfaces in the transmission of nosocomial pathogens. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 32(7),687-699.<https://doi.org/10.1086/660363>
- Pacheco-Coello, F. (2022). Síntesis verde de nanopartículas de cobre y su efecto antimicrobiano (NPsCu). *Saber, Universidad de Oriente, Venezuela*, 34, 54-61. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7957839>
- Peggy, C., Kohner., Robin, Patel., James, R., Uhl, Kay, M., Garin., Marlene, K., Hopkins., Lee, T., Wegener., Franklin, R., Cockerill. (1997). 2. Comparison of agar dilution, broth microdilution, E-test, disk diffusion, and automated Vitek methods for testing susceptibilities of *Enterococcus* spp. to vancomycin. *Journal of Clinical Microbiology*, <https://doi.org/10.1128/JCM.35.12.3258-3263.1997>
- Rutala, W.A., Weber, D.J., & el HICPAC (2008). Guía para la desinfección y esterilización en establecimientos de salud. Centros para el control y la Prevención de Enfermedades.
- Sánchez-Sanhueza, G., Fuentes-Rodríguez, D., & Bello-Toledo, H. (2016). Copper nanoparticles as potential antimicrobial agent in disinfecting root canals: A systematic review. *International Journal of Odontostomat*, 10(3), 547-554. [doi: 10.4067/S0718-381X2016000300024](https://doi.org/10.4067/S0718-381X2016000300024)
- Shahverdi, A. R., Fakhimi, A., Shahverdi, H. R., & Minaian, S. (2007). Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Nanomedicine: nanotechnology, biology, and medicine*, 3(2), 168–171. <https://doi.org/10.1186/1547-3959-3-2-168>

doi.org/10.1016/j.nano.2007.02.001

Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D. L., Pulcini, C., Kahlmeter, G., Kluytmans, J., Carmeli, Y., Ouellette, M., Outterson, K., Patel, J., Cavaleri, M., Cox, E. M., Houchens, C. R., Grayson, M. L., Hansen, P., Singh, N., Theuretzbacher, U., & Magrini, N. (2018). Discovery, research, and development of new antibiotics: The WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(3), 318-327. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3)

Vázquez-Cabrera, N., Espinoza-Márquez, A., & Cedillo-Ramírez, M.L. (2023) Evolución Histórica de la Organización Mundial de la salud y la resistencia a los antimicrobianos. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 47,e51. <https://doi.org/10.26633/RP-SP.2023.51>

West, A.M., Teska, P.J., Lineback, C.B., & Oliver, H.F. (2018). La tensión del desinfectante, la concentración y el tiempo de contacto afectan cuantitativamente la eficacia del desinfectante. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 7(1), 49. <https://doi.org/10.1186/s13756-018-0340-2>

Organización Mundial de la salud. (2017). Directrices sobre componentes básicos para los programas de prevención y control de infecciones a nivel nacional y de establecimientos de atención de salud para pacientes agudos. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK584017/>

Voorhis, A., Miranda-Sanchez, F., Dewhirst, FE, Welch, JM, Kauffman, K., Viala, S., Yost, S., Chen, T., y Wade, WG (nd). Base de datos del microbioma oral humano V3.1. <https://www.homd.org>

Zambrano-Gari, C.C., & Luna-Fontalvo, J.A. (2013). Diversidad microbiana presente en el ambiente de la clínica odontológica de la Universidad del Magdalena. *Intropica*, 61-68.