

Actividad bactericida de una formulación de plata sobre cepas bacterianas intrahospitalarias

Bactericidal Activity of a Silver Formulation against Hospital-Acquired Bacterial Strains

María del Carmen Fiorella López Esquén¹ <https://orcid.org/0009-0006-1584-6529>

Martha Arminda Vergara Espinoza¹ <https://orcid.org/0000-0003-0462-0779>

Ana Socorro Vásquez Del Castillo¹ <https://orcid.org/0000-0001-7435-2154>

Juan Luis Rodríguez Vega^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-2639-7339>

¹Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Facultad de Ciencias Biológicas. Lambayeque, Perú.

*Autor para la correspondencia: galloide@hotmail.com

RESUMEN

Introducción: La resistencia bacteriana a antibióticos es un problema mundial. En Latinoamérica es frecuente encontrar enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido. La plata posee propiedades antimicrobianas, pero faltan estudios sobre su uso como alternativa en infecciones por dichas bacterias.

Objetivo: Determinar la actividad bactericida de una formulación acuosa de plata frente a cepas bacterianas intrahospitalarias de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* aisladas de un servicio de cirugía en Lambayeque durante 2023.

Métodos: Estudio descriptivo-experimental, de corte longitudinal. Se obtuvieron 15 cepas (14 *Escherichia coli* y 1 *Klebsiella pneumoniae* productoras de enzimas betalactamasas de espectro extendido+), de secreciones de heridas de pacientes hospitalizados. Se sintetizó solución de plata mediante electrólisis a concentraciones de 10 ppm a 0,625 ppm. Se determinaron: Concentración Mínima Inhibitoria, Concentración Bactericida Mínima y curvas de mortalidad bacteriana (0-24 horas). Se aplicó ANOVA y prueba de Tukey ($p < 0,5$).

Resultados: La CMI y CBM de la solución de plata fueron 2,5 ppm para ambas bacterias. La curva de mortalidad inició a las cuatro horas con 10 ppm (100 % de muertes bacterianas). La solución acuosa de plata evidenció un efecto bactericida concentración-tiempo dependiente sobre *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* betalactamasas de espectro extendido + ($p < 0,05$).

Conclusiones: La solución de nanopartículas de plata obtenida por electrólisis demostró una potente actividad bactericida a bajas dosis sobre *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido.

Palabras clave: solución de plata; cepas bacterianas productoras de betalactamasas de espectro extendido; betalactamasas.

ABSTRACT

Introduction: Bacterial resistance to antibiotics is a global problem. In Latin America, extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae are frequently encountered. Silver possesses antimicrobial properties, yet studies regarding its use as an alternative treatment for infections caused by these bacteria are lacking.

Objective: To determine the bactericidal activity of an aqueous silver formulation against hospital-acquired strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from a surgery department in Lambayeque during 2023.

Methods: A descriptive, experimental, longitudinal study was conducted. Fifteen strains (14 *Escherichia coli* and 1 *Klebsiella pneumoniae*, all extended-spectrum beta-lactamase-producing) were obtained from wound secretions of hospitalized patients. A silver solution was synthesized via electrolysis at concentrations ranging from 10 ppm to 0.625 ppm. The Minimum Inhibitory Concentration, Minimum Bactericidal Concentration, and bacterial kill curves (0–24 hours) were determined. ANOVA and the Tukey test were applied ($p < 0.05$).

Results: The Minimum Inhibitory Concentration and Minimum Bactericidal Concentration of the silver solution were 2.5 ppm for both bacteria. The kill curve showed the onset of activity at four hours with 10 ppm (100% bacterial kill). The aqueous silver solution demonstrated a concentration- and time-dependent bactericidal effect against extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* ($p < 0.05$).

Conclusions: The silver nanoparticle solution obtained via electrolysis demonstrated potent bactericidal activity at low doses against extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*.

Keywords: silver solution; extended-spectrum beta-lactamase-producing bacterial strains; beta-lactamases.

Recibido: 31/01/2024

Aceptado: 02/09/2025

Introducción

La resistencia a los antimicrobianos constituye una amenaza global de extrema gravedad. Las infecciones causadas por bacterias resistentes provocaron casi cinco millones de fallecimientos, equivalentes a 13,00 muertes diarias.⁽¹⁾ Un estudio exhaustivo realizado por el Instituto de Métricas y Evaluación de la Salud de la Universidad de Washington, que abarcó 204 países, reveló que más de la mitad de estas muertes fueron atribuibles a cinco patógenos principales: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha clasificado la resistencia microbiana entre las diez amenazas más críticas para la humanidad.⁽²⁾ Se proyecta que para 2050, podría ocasionar hasta 10 millones de muertes anuales.⁽³⁾ Esta cifra alarmante se incrementó aún más, debido al impacto de la pandemia de COVID-19. Un aspecto particularmente preocupante es la proliferación hospitalaria y comunitaria de bacterias productoras de enzimas betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Estos microorganismos, pertenecientes principalmente a la familia Enterobacteriaceae,⁽⁴⁾ del orden Enterobacterales⁽⁵⁾ son responsables de una amplia variedad de infecciones graves, entre ellas bacteriemias, neumonías, flebitis e infecciones de la piel y tejidos blandos, así como de las vías urinarias y respiratorias altas.

Las infecciones causadas por enterobacteriales productores de BLEE, como *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* y *Proteus*, representan un desafío terapéutico significativo. Estas cepas no solo limitan la eficacia de las cefalosporinas de amplio espectro, sino que también desarrollan resistencia cruzada a otros antibióticos. Las consecuencias son devastadoras: mayor

morbilidad, mortalidad elevada y un aumento sustancial en los costos de atención médica.

La prevalencia de estas infecciones presenta importantes variaciones geográficas. Latinoamérica registra la mayor frecuencia (35 %), seguida por Europa (20 %) y Norteamérica (10 %). Dentro de Latinoamérica, varios países presentan prevalencias superiores al promedio regional.^(6,7,8) En Perú, la situación es particularmente alarmante: el 41,2 % de las bacteriemias por enterobacterias resultaron mortales, con un 54,3 % de cepas productoras de BLEE.⁽⁹⁾ En la región de Lambayeque, la prevalencia oscila entre 20,83 % y 42,30 %.⁽¹⁰⁾

Estudios locales han revelado datos preocupantes. En un hospital se identificaron *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE positivas en el 39 % y 6,5 % de las infecciones urinarias intrahospitalarias, respectivamente. Además, el 31,03 % de las *E. coli* comunitarias causantes de estas infecciones fueron BLEE positivas.^(10,11) En otro hospital local, se observó un incremento alarmante de infecciones por enterobacterias BLEE en heridas: de cinco cepas BLEE+ en 2007 a 167 en 2017.⁽¹¹⁾ La situación actual refleja una resistencia generalizada a múltiples antibióticos, entre ellos las cefalosporinas, las quinolonas, los aminoglucósidos y el trimetoprim-sulfametoxazol. En 2018, se detectaron 219 casos de *E. coli* BLEE+ y 13 de *K. pneumoniae* BLEE+ en urocultivos,⁽¹²⁾ lo que evidencia la necesidad de fortalecer las estrategias para enfrentar este problema de salud pública.

Históricamente, la plata ha demostrado poseer un amplio espectro bactericida, antifúngico y viricida.^(13,14) Su aplicación tópica en heridas mediante cremas, ungüentos y apósitos es frecuente, debido a sus potentes efectos inhibitorios y bactericidas.⁽¹⁵⁾ Las infecciones quirúrgicas presentan una compleja interacción de factores de riesgo (extrínsecos, como la hospitalización y el uso de antibióticos; e intrínsecos, entre ellos, las comorbilidades, la obesidad y la edad avanzada.^(16,17)) Estas infecciones no solo ponen en riesgo vidas, sino que también se asocian con una mayor mortalidad y resistencia bacteriana en comparación con las infecciones no quirúrgicas.⁽¹⁸⁾

Las betalactamasas, enzimas cromosómicas o plasmídicas presentes principalmente en bacterias gramnegativas, en especial en Enterobacterales, se conocen en más de 300 tipos. Entre ellas, las BLEE, la AmpC y las carbapenemasas tienen el mayor impacto clínico-epidemiológico.⁽¹⁹⁾ Las BLEE hidrolizan el anillo β -lactámico de las penicilinas, lo que las inactiva y genera resistencia a penicilinas, a cefalosporinas de amplio espectro y a monobactámicos. Sin embargo, estas enzimas son susceptibles a la inhibición por ácido clavulánico, tazobactam y sulbactam.⁽²⁰⁾

La naturaleza plasmídica de las BLEE facilita la rápida propagación de resistencia entre diferentes especies bacterianas. Estas enzimas se asocian frecuentemente a integrones y transposones, que portan genes adicionales de resistencia a tetraciclinas, aminoglucósidos y trimetoprim-sulfametoxazol, lo que resulta en la formación de superbacterias altamente resistentes.⁽¹⁸⁾

Diversos factores incrementan el riesgo de colonización por bacterias productoras de BLEE, entre los que se incluyen la edad avanzada, la gravedad del cuadro clínico del paciente, el uso de catéteres, la ventilación mecánica, la presencia de úlceras, el uso de inmunosupresores, las hospitalizaciones prolongadas, las comorbilidades como la diabetes o la insuficiencia renal, y las deficiencias en las medidas de bioseguridad hospitalaria.⁽²⁰⁾ En este contexto de creciente resistencia antimicrobiana y de la necesidad de alternativas terapéuticas efectivas, se propuso como objetivo determinar la actividad bactericida de una formulación acuosa de plata frente a cepas bacterianas intrahospitalarias de *E. coli* y *K. pneumoniae* aisladas de un servicio de cirugía en Lambayeque durante el año 2023.

Métodos

Obtención y tratamiento de la muestra

El presente trabajo es un estudio descriptivo-experimental de corte longitudinal, enfocado en evaluar la eficacia bactericida de soluciones de plata contra cepas resistentes.⁽²⁾ La muestra estuvo constituida por 75 unidades, correspondientes a la evaluación de 15 cepas bacterianas (14 de *E. coli* BLEE y 1 de *K. pneumoniae* BLEE) y cinco concentraciones de solución de plata (10; 5; 2,5; 1,25 y 0,625 ppm). Con tres repeticiones, se alcanzó un total de 225 unidades experimentales, lo que dio lugar a una base sólida para el análisis. Para la determinación de la curva de muerte bacteriana, la muestra se expandió a 450 cepas, que abarcó las mismas 15 cepas bacterianas y cinco concentraciones de solución de plata, pero se incorporaron seis tiempos de exposición (0, 2, 4, 6, 8 y 24 horas). Esta expansión, con tres repeticiones, resultó en 1350 unidades experimentales, con un análisis exhaustivo de la cinética bactericida.

Los criterios de selección fueron adecuadamente definidos. Se incluyeron pacientes hospitalizados en los servicios de cirugía con una estancia mínima de 48 horas, lo que garantizó la relevancia clínica de las muestras. Se excluyeron pacientes de los servicios de emergencia y consultorios externos para mantener la

homogeneidad de la población estudiada. Esto durante el periodo de atención del año 2023.

El procedimiento de obtención y tratamiento de las muestras siguió un protocolo pertinente. Las cepas de *E. coli* BLEE y *K. pneumoniae* BLEE se aislaron de secreciones de heridas superficiales de pacientes hospitalizados en el servicio de cirugía, adhiriéndose estrictamente al protocolo microbiológico del hospital. El proceso de cultivo se realizó en etapas secuenciales, con una primera fase de siembra en agar tripticasa de soya y una incubación de 24 horas. Posteriormente, se seleccionaron colonias aisladas que se suspendieron en caldo tripticasa de soya, seguidas por una incubación precisa a 35 °C durante seis horas.

Para la preparación del inóculo se requirió ajustar cuidadosamente la turbidez con solución salina fisiológica para coincidir con la escala 0,5 de McFarland, lo que equivale a una densidad poblacional de $1,5 \times 10^8$ UFC/ml, conforme a la Norma Técnica N° 30 INS 2002. Este paso fue fundamental para asegurar la consistencia en la concentración bacteriana inicial. Finalmente, se realizaron diluciones seriadas hasta alcanzar una concentración de $1,5 \times 10^4$ UFC/ml, y se proporcionó así un rango adecuado para el estudio de la actividad bactericida.

Obtención de la solución acuosa de plata

Se empleó un método de electrólisis refinado para obtener la solución de plata. En un vaso de precipitación estéril, se vertieron 200 ml de agua destilada de grado inyectable. Dos varillas de plata pura, de calibre 0,2 x 17 cm, se sumergieron y conectaron a las pinzas de un transformador de 20 voltios, con el establecimiento de un polo positivo y otro negativo. La electrólisis se llevó a cabo con tiempos precisos para obtener concentraciones específicas: 180 minutos para 10 ppm, 90 minutos para 5 ppm, 45 minutos para 2,5 ppm, 15 minutos para 1,25 ppm y 7 minutos para 0,625 ppm. La cuantificación exacta de nanopartículas se verificó mediante un sofisticado lector de partículas.

Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)

A partir de una adaptación de la Norma Técnica N° 30 INS 2002, se estableció un protocolo meticuloso. Se prepararon siete tubos esterilizados (13 x 100 mm) etiquetados como Control (+), Control (-), y las concentraciones de 10; 5; 2,5; 1,25 y 0,625 ppm. Se distribuyeron 0,5 ml de solución acuosa de plata en los tubos correspondientes, entre ellos el Control (-) utilizado como control de esterilidad. El

tubo Control (+) se dejó sin solución de plata. Posteriormente, se inocularon todos los tubos con 0,5 ml de la cepa bacteriana preparada. La incubación se realizó a 35 °C durante 24 horas. La CIM se determinó visualmente, lo que permitió identificar la menor concentración que inhibió completamente el crecimiento microbiano en comparación con el control positivo. Cada prueba se realizó por triplicado para garantizar la reproducibilidad.

Determinación de la Concentración Bactericida Mínima (CBM)

Sobre la base de los protocolos de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC, 2000), se realizó un subcultivo de los tubos sin crecimiento visible durante la determinación de la CIM. Con un asa calibrada, se sembraron muestras en placas de agar tripticasa de soya, que se incubaron a 35 °C por 24 horas. La CBM se definió como la menor concentración de solución acuosa de plata capaz de eliminar el 99,9 % del inóculo original.

Determinación de la curva de muerte bacteriana

Se evaluó la viabilidad celular a intervalos precisos (0, 2, 4, 6, 8 y 24 horas) tras la exposición e incubación de las bacterias con diversas concentraciones de solución acuosa de plata (10; 5; 2,5; 1,25 y 0,625 ppm). De cada tubo, en cada punto temporal y de concentración, se extrajo una alícuota de 0,1 ml que se sembró uniformemente en placas de TSA. Estas se incubaron a 35 °C durante 24 horas, lo que permitió una evaluación detallada de la cinética bactericida. Después se procedió a realizar el recuento de bacterias viables mediante la siguiente fórmula:

$$\text{UFC/mL} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ colonias} \times \text{dilución}}{\text{volumen de la muestra}}$$

Las pruebas se realizaron por triplicado para cada tubo de dilución y cepa bacteriana.

Procesamiento y análisis estadístico de datos

El análisis de datos se llevó a cabo mediante una metodología estadística robusta y multifacética. Los datos recopilados se procesaron y sintetizaron en tablas y

gráficos informativos, mediante modelos avanzados de distribución de frecuencias. Los resultados de la CIM y la CBM se expresaron con alta precisión, y se presentó el valor de la media $\pm$ el error estándar de la media. Estos cálculos se realizaron a través del sofisticado programa estadístico SPSS v23.0, con un análisis de datos de vanguardia.

Para evaluar la significancia estadística de las diferencias en la acción bactericida de la solución acuosa de plata frente a *E. coli* BLEE positiva y *K. pneumoniae* BLEE positiva, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) seguido de pruebas *post hoc* de Tukey. La combinación de técnicas estadísticas permitió identificar diferencias significativas entre los grupos y determinar específicamente dónde residían estas diferencias. Mostró una comprensión profunda y matizada de la eficacia bactericida de la solución de plata contra estas cepas resistentes.

Aspecto ético

La ejecución de los análisis se fundamentó en un riguroso diagnóstico clínico y se realizó bajo estricta orden médica. Esta investigación, con fines exclusivamente científicos, se adhirió meticulosamente a las directrices establecidas por el Consejo de Organizaciones Internacionales de Ciencias Médicas (CIOMS). Además, se cumplió escrupulosamente con las normas de Buenas Prácticas y la Ley General de Salud N° 26842 (MINSA) en lo referente a investigaciones que involucran muestras humanas. Este enfoque ético garantizó la protección de los derechos y el bienestar de los participantes, así como la integridad y validez de la investigación.

Resultados

La tabla 1 presenta los hallazgos cruciales sobre la CIM de una solución acuosa de plata, evaluada frente a cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE, aisladas del Servicio de Cirugía de un hospital. Se examinó un espectro de cinco concentraciones de la solución de plata: 0,625 ppm, 1,25 ppm, 2,5 ppm, 5 ppm y 10 ppm. Los resultados revelan un patrón consistente para ambas especies bacterianas BLEE positivas. Se observó persistencia del crecimiento bacteriano a las concentraciones más bajas de 0,625 ppm y 1,25 ppm. Sin embargo, a partir de 2,5 ppm, se evidenció una inhibición completa del crecimiento, efecto que se mantuvo en las concentraciones superiores a 5 ppm y 10 ppm. Consecuentemente, se determinó que la CIM de la solución de plata necesaria para suprimir el crecimiento de ambas cepas productoras de BLEE fue de 2,5 ppm. Es notable que concentraciones superiores a este umbral mantuvieron su eficacia inhibitoria. Estos hallazgos subrayan el potencial bactericida significativo de la solución acuosa de

plata contra estas bacterias multirresistentes, incluso a concentraciones relativamente bajas. Este descubrimiento sugiere importantes implicaciones para el desarrollo de estrategias antimicrobianas efectivas contra patógenos resistentes a los antibióticos convencionales.

Tabla 1 - Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de una solución acuosa de plata sobre *E. coli* BLEE y *K. pneumoniae* BLEE aisladas en el Servicio de Cirugía

Especie bacteriana	Concentraciones de solución acuosa de plata				
	0,625 ppm	1,25 ppm	2,5 ppm	5 ppm	10 ppm
<i>E. coli</i> BLEE	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo
<i>K. pneumoniae</i> BLEE	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo

Nota: Instrumento de recolección de datos, Positivo: Crecimiento visible, Negativo: Sin crecimiento visible.

La tabla 2 presenta los resultados cruciales de la CBM de la solución acuosa de plata sobre cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE. Esta tabla detalla meticulosamente la supervivencia y mortalidad bacteriana tras la exposición a un espectro de concentraciones de plata (10 ppm, 5 ppm, 2,5 ppm, 1,25 ppm y 0,625 ppm), a partir de un inóculo bacteriano inicial estandarizado. Los hallazgos revelan un patrón de eficacia bactericida notable. A las concentraciones más altas de 10 ppm y 5 ppm, se observó una erradicación completa de ambas especies bacterianas, sin supervivientes detectables. Este resultado demuestra un efecto bactericida absoluto a estas concentraciones. En las concentraciones inferiores a 2,5 ppm, 1,25 ppm y 0,625 ppm, aunque se detectó un mínimo porcentaje de bacterias supervivientes, la eficacia bactericida se mantuvo extraordinariamente alta, con tasas de mortalidad bacteriana que oscilan entre 99,82 y 99,90 %.

Consecuentemente, se determinó que la CBM de la solución acuosa de plata, capaz de eliminar el 99,9 % de ambas cepas productoras de BLEE, era de 2,5 ppm. Es destacable que concentraciones superiores a este umbral lograron una eliminación bacteriana completa.

Tabla 2 - Concentración Bactericida Mínima (CBM) de una solución acuosa de plata sobre *E. coli* BLEE y *K. pneumoniae* BLEE aisladas en el Servicio de Cirugía

Especie bacteriana	10 ppm	5 ppm	2,5 ppm		1,25 ppm		0,625 ppm	
	Sobrevivientes	Sobrevivientes	Sobrevivientes (0,0974 %)	Muertas (99,9026 %)	Sobrevivientes (0,1503 %)	Muertas (99,8497 %)	Sobrevivientes (0,1781 %)	Muertas (99,8212 %)
<i>E. coli</i> BLEE	0	0	1,461X10 ⁵	1,4985X10 ⁶	2,254x10 ⁵	1,497746X10 ⁶	2,671x10 ⁵	1,497329X10 ⁶

Especie bacteriana	10 ppm	5 ppm	2,5 ppm		1,25 ppm		0,625 ppm	
	Sobrevivientes	Sobrevivientes	Sobrevivientes (0,0978 %)	Muertas (99,9026 %)	Sobrevivientes (0,1353 %)	Muertas (99,864%)	Sobrevivientes (0,1698 %)	Muertas (99,8302 %)
<i>K. pneumoniae</i> BLEE	0	0	1,467x10 ⁵	1,498533X10 ⁸	2,203x10 ⁵	1,49797X10 ⁸	2,547x10 ⁵	1,497453X10 ⁸

Nota: Instrumento de recolección de datos.

La tabla 3 ofrece un análisis exhaustivo de la supervivencia de *E. coli* productora de BLEE frente a una solución acuosa de plata. Este estudio cinético, que abarca concentraciones de plata desde 0,625 ppm hasta 10 ppm y tiempos de exposición de 0 a 24 horas, revela patrones fascinantes de interacción antimicrobiana. En el grupo control, desprovisto de plata, las bacterias exhiben el crecimiento exponencial característico durante las primeras ocho horas, seguido por una fase de estabilización. Este patrón contrasta marcadamente con los grupos expuestos a la solución de plata, donde se observa una disminución progresiva en la viabilidad bacteriana, correlacionada directamente con el aumento en la concentración de plata y el tiempo de exposición. La potencia bactericida de la solución se manifiesta de manera más pronunciada en las concentraciones más altas. A 10 ppm, se logra una inhibición completa del crecimiento bacteriano en tan solo cuatro horas, mientras que, a 5 ppm, este efecto se alcanza a las ocho horas. La concentración de 2,5 ppm presentó su mayor eficacia a las 24 horas, evidenciada por una reducción significativa de las UFC/ml. Incluso las concentraciones más bajas de 1,25 ppm y 0,625 ppm demuestran una considerable actividad bactericida, aunque con una cinética más lenta.

Estos resultados subrayan de manera contundente la eficacia bactericida de la solución acuosa de plata contra *E. coli* BLEE, y se evidencia una relación directa entre la concentración de plata, el tiempo de exposición y la mortalidad bacteriana. La capacidad de eliminar completamente esta bacteria multirresistente, especialmente a concentraciones de 10 ppm y 5 ppm, destaca el potencial significativo de esta solución como una herramienta antimicrobiana innovadora.

Tabla 3 - Impacto de la concentración de solución acuosa de plata y tiempo de exposición en la sobrevivencia de *E. coli* BLEE aislada en el Servicio de Cirugía

Tiempo de exposición	Concentraciones de solución acuosa de plata											
	Control +		10 ppm		5 ppm		2,5 ppm		1,25 ppm		0,625 ppm	
	n UFC/ml	log 10	n UFC/ml	log 10	n UFC/ml	log 10	n UFC/ml	log 10	n UFC/ml	log 10	n UFC/ml	log 10
0 horas	1,46 $\times 10^4$	4,1643	7,4 $\times 10^3$	3,869 2	1,06 $\times 10^4$	4,0253	1,25 $\times 10^4$	4,0969	1,36 $\times 10^4$	4,1335	1,44 $\times 10^4$	4,1584
2 horas	8,46 $\times 10^5$	5,9245	4,7 $\times 10^3$	3,672 1	0,9 $\times 10^4$	3,9542	4,266 $\times 10^5$	5,63	7,18 $\times 10^5$	5,8566	8,21 $\times 10^5$	5,9143
4 horas	1,72 6 $\times 10^6$	6,237	0	0	0,66 $\times 10^4$	3,8195	6,969 $\times 10^5$	5,8432	1,251 $\times 10^6$	6,0974	1,696 $\times 10^6$	6,2297
6 horas	8,48 $\times 10^5$	5,9284	0	0	0,35 $\times 10^4$	3,544	3,768 $\times 10^5$	5,5761	6,88 $\times 10^5$	5,5891	8,228 $\times 10^5$	5,9153
8 horas	5,52 $\times 10^5$	5,7423	0	0	0	0	2,34 $\times 10^5$	5,3707	3,91 $\times 10^5$	5,5922	5,23 $\times 10^5$	5,7185
24 horas	2,84 $\times 10^5$	5,4545	0	0	0	0	1,461 $\times 10^5$	5,1647	2,25 $\times 10^5$	5,3529	2,671 $\times 10^5$	5,4267

Nota: Instrumento de recolección de datos.

La tabla 4 presenta un análisis detallado de la supervivencia de *K. pneumoniae* productora de BLEE frente a una solución acuosa de plata. Este estudio cinético, que abarca un espectro de concentraciones de plata desde 0,625 ppm hasta 10 ppm y tiempos de exposición de 0 a 24 horas, revela patrones significativos de actividad antimicrobiana.

En el grupo control, desprovisto de plata, *K. pneumoniae* BLEE exhibe el característico crecimiento exponencial durante las primeras ocho horas, seguido por una fase de estabilización. Este patrón contrasta notablemente con los grupos expuestos a la solución de plata, donde se observa una disminución progresiva en la viabilidad bacteriana, correlacionada directamente con el aumento en la concentración de plata y el tiempo de exposición.

La eficacia bactericida de la solución se manifiesta de manera más pronunciada en las concentraciones más altas. A 10 ppm, se logra una inhibición completa del crecimiento bacteriano en tan solo cuatro horas, mientras que a 5 ppm, este efecto se alcanza a las ocho horas. La concentración de 2,5 ppm también demuestra una actividad bactericida significativa, lo que evidencia una reducción notable en las UFC/ml desde las primeras dos horas de exposición. Estos resultados subrayan de manera contundente la potente actividad bactericida de la solución acuosa de plata contra *K. pneumoniae* BLEE y muestran una clara relación dependiente entre la concentración de plata, el tiempo de exposición y la mortalidad bacteriana. La capacidad de eliminar completamente esta bacteria multirresistente, especialmente a concentraciones de 10 ppm y 5 ppm, destaca el potencial significativo de esta solución como una herramienta antimicrobiana innovadora.

Tabla 4 - Impacto de la concentración de solución acuosa de plata y tiempo de exposición en la sobrevivencia de *K. pneumoniae* BLEE aislada en el Servicio de Cirugía

Tiempo de exposición	Concentraciones de solución acuosa de plata											
	Control+		10 ppm		5 ppm		2,5 ppm		1,25 ppm		0,625 ppm	
	n UFC/ml	log 10	n UFC/ml	log 10	n UFC/ml	log 10	n UFC/ml	log 10	n UFC/ml	log 10	n UFC/ml	log 10
0 horas	1,49 $\times 10^4$	5,1732	7,4 $\times 10^3$	3,8751	0,94 $\times 10^4$	3,9731	1,16 $\times 10^4$	4,0645	1,39 $\times 10^4$	4,143	1,47 $\times 10^4$	4,1673
2 horas	8,8 $\times 10^5$	5,9444	4,3 $\times 10^3$	3,6335	0,77 $\times 10^4$	3,8865	3,7 $\times 10^5$	5,5682	7,567 $\times 10^5$	5,8789	8,633 $\times 10^5$	5,9362
4 horas	1,897 $\times 10^6$	6,2781	0	0	0,53 $\times 10^4$	3,7243	6,333 $\times 10^5$	5,8016	1,173 $\times 10^6$	6,0693	1,853 $\times 10^6$	6,2679

6 horas	8,81 $\times 10^5$	5,9451	0	0	0,3 $\times 10^4$	3,4771	2,29 $\times 10^5$	5,3604	7,06 $\times 10^5$	5,8489	8,63 $\times 10^5$	5,9362
8 horas	7,16 $\times 10^5$	5,8553	0	0	0	0	1,5 $\times 10^5$	5,1761	3,74 $\times 10^5$	5,5732	6,56 $\times 10^5$	5,8174
24 horas	2,77 $\times 10^5$	5,4436	0	0	0	0	1,467 $\times 10^5$	5,1664	2,20 $\times 10^5$	5,343	2,54 $\times 10^5$	5,406

Nota: Instrumento de recolección de datos.

La tabla 5 muestra el análisis de varianza (ANOVA) para evaluar el efecto bactericida de la solución acuosa de plata sobre *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE. Se analizaron tres factores: tiempo de exposición, tipo de cepa bacteriana y concentración de la solución de plata. Como el valor p es $< 0,05$ para los tres factores evaluados, se rechaza la hipótesis nula de igualdad de medias, lo cual indica que existen diferencias significativas para el factor tiempo, para la cepa bacteriana y para la concentración de plata por separado. Además, las interacciones dobles y triples entre los factores también muestran diferencias significativas ($p < 0,05$). Por lo tanto, el efecto bactericida de la solución acuosa de plata depende del tiempo de exposición y de la concentración usada y varía según el tipo de bacteria (*E. coli* o *K. pneumoniae* BLEE).

Tabla 5 - Análisis de Varianza (ANOVA) del efecto de una solución acuosa de plata sobre las cepas de *E. coli* BLEE y *K. pneumoniae* BLEE

Fuente de variación	SC	GL	CM	F	Decisión
Tiempo	1288551	5	257710	6800,87	Rechaza Ho
Cepa	3741	14	267	7,05	Rechaza Ho
Concentración (CC)	1423849	5	284770	7514,96	Rechaza Ho
Tiempo*Cepa	12683	70	181	4,78	Rechaza Ho
Tiempo*CC	843524	25	33741	890,41	Rechaza Ho
Cepa*CC	9656	70	138	3,64	Rechaza Ho

Tiempo*Cepa*CC	21872	350	62	1,65	Rechaza Ho
Error	40925	1080	38	-	-

Leyenda: SC: Suma de Cuadrados, GL: Grados de libertad, CM: Cuadros medios, F: Frecuencia, $p < 0,05$: Diferencia estadística significativa.

Nota: Instrumento de recolección de datos.

Los resultados de la prueba *post-hoc* de Tukey revelaron diferencias significativas en la supervivencia bacteriana tras la exposición a una solución de plata durante diversos períodos (0, 2, 4, 6, 8 y 24 horas). Se observó la mayor tasa de supervivencia al inicio del experimento (0 horas), mientras que la mortalidad máxima se alcanzó a las cuatro horas de exposición. Es notable que no se detectaran diferencias significativas entre las medias de UFC (Unidades Formadoras de Colonias) a las dos y seis horas, ni entre las ocho y 24 horas. Estos hallazgos demuestran que el efecto bactericida de la solución acuosa de plata está directamente relacionado con el tiempo de exposición, al incrementarse la mortalidad bacteriana a medida que se prolonga el contacto con la solución. Adicionalmente, se evaluó el impacto de diferentes concentraciones de la solución de plata (0 ppm, 0,625 ppm, 1,25 ppm, 2,5 ppm, 5 ppm y 10 ppm). Los resultados, indicados por letras distintas, evidencian diferencias estadísticamente significativas entre todas las concentraciones ($p < 0,05$). Las concentraciones más elevadas (10 ppm y 5 ppm) resultaron en una eliminación casi total de las bacterias, mientras que el control sin plata (0 ppm) presentó la mayor cantidad de UFC. Interesantemente, no se observaron diferencias significativas entre las concentraciones de 0,625 ppm y 1,25 ppm.

Discusión

Actualmente existen varios métodos para obtener nanopartículas de plata, como los físicos, electroquímicos y biológicos. En esta investigación se usó electrólisis, mediante oxidación-reducción en electrodos de plata. Este método es sencillo y no requiere equipos costosos; produce eficientemente iones de plata con actividad antimicrobiana mediante la aplicación de un voltaje eléctrico.^(4,7) Se ha reportado que los iones de plata desestabilizan estructuras bacterianas y mejoran la velocidad de muerte microbiana.

Otros estudios usaron métodos organometálicos más complejos para controlar el tamaño y la forma de las nanopartículas, con el objetivo de potenciar su efecto. En este sentido, se acepta como regla general que a menor tamaño (1-10 nm) hay

mayor actividad antimicrobiana por mejor aprovechamiento de sus propiedades.^(4,8)

Si bien aquí no se caracterizaron la forma y el tamaño de las nanopartículas, en el proceso de electrólisis influyen factores como el voltaje y el tiempo de síntesis. Con 20 voltios aplicados se pueden obtener partículas de 24 nm,⁽⁷⁾ lo que permite el paso de iones de plata a través de los poros de las membranas celulares. También se demostró efecto inhibitorio y bactericida de la solución acuosa de plata sobre *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE+, similar a lo reportado en otras bacterias grampositivas y gramnegativas.^(5,6,11) Los iones de plata dañan membranas celulares y alteran funciones vitales como el transporte de nutrientes, la respiración, la síntesis de proteínas y el ATP. Reaccionan con proteínas y enzimas, inactivándolas.

El efecto inhibitorio se evidenció por la ausencia de crecimiento microbiano a $\geq 2,5$ ppm de plata, la cual coincidió con la CBM al eliminar el 99,90 % del inóculo inicial, con $< 0,1$ % de sobrevivientes. Los antibióticos usualmente tienen CBM mayor que su CIM; en contraste, el daño de iones de plata mata eficientemente a las bacterias, no solo las inhibe.^(11,14,16) El efecto bactericida de la plata iónica se fundamenta en su interacción con diversas dianas bacterianas, la que provoca daños estructurales y funcionales. Al perder un electrón, los iones se cargan positivamente, y se adhieren a la pared celular bacteriana que posee carga negativa. En bacterias grampositivas los ácidos teicoicos con fosfatos confieren esta carga, mientras que en gramnegativas proviene de fosfolípidos de su membrana externa. Este proceso de biosorción forma poros en la membrana y permite la salida de contenidos celulares y el ingreso de los iones al citoplasma.^(1,2,3)

Internamente, los iones de plata inhiben enzimas deshidrogenasas de la cadena respiratoria e interfieren en el transporte de electrones. También se genera estrés oxidativo por inhibición de enzimas antioxidantes como catalasa y superóxido dismutasa, lo que incrementa las especies reactivas de oxígeno (ROS).^(11,17,19) Además, los iones inhiben la síntesis proteica al interactuar con ribosomas. Finalmente, la muerte bacteriana ocurre por peroxidación de lípidos y daño al ADN. Los iones se intercalan entre bases nitrogenadas, rompen puentes de hidrógeno e inhiben la replicación. Esto afecta la información genética de forma irreversible.^(9,10,18) Las CIM halladas difieren de otros trabajos que obtuvieron valores de 12,5 ppm o 29 ppm frente a *E. coli* y otras bacterias.^(12,13) Esto puede deberse al método de obtención de nanopartículas; al controlar su tamaño entre 1 y 10 nm, se logra mayor efecto inhibitorio.^(4,8) Otro factor es la concentración bacteriana inicial: a mayor inóculo se requiere mayor cantidad de plata para neutralizar cargas negativas.⁽²⁰⁾

Un estudio reportó una CBM de 25,8 ppm de nanopartículas de plata sintetizadas con té verde sobre *E. coli*, probablemente por el mayor tiempo (24 horas) requerido para su obtención *versus* los siete minutos a tres horas de esta investigación. Señalan que a las dos horas de síntesis se obtienen partículas de 25 nm, más efectivas por mejor neutralización de cargas, mientras a las ocho horas los tamaños aumentan.⁽⁵⁾ Otro trabajo mostró una CBM de 0,6 ppm que usa un método coloidal verde con pretratamiento, cuya dinámica dependería más de la proporción nanopartícula/bacteria *versus* la concentración absoluta.⁽⁴⁾ Existe amplia variabilidad en la literatura sobre la actividad bactericida de nanopartículas de plata por las diferencias en métodos de síntesis y evaluación (difusión en disco, dilución en tubos o placa, recuento en placa). Ante la ausencia de una metodología estándar, no se puede concluir sobre la concentración bactericida idónea.^(4,12) Las diferencias en CIM y CBM entre estudios también se atribuyen al estado fisiológico bacteriano (adaptación, exponencial, estacionaria) y a la densidad celular expuesta a las nanopartículas.

La curva de mortalidad de *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE ante la solución de plata fue muy similar. Hubo inhibición proporcional a la concentración de plata desde el inicio. A 10 ppm y 5 ppm se observó ausencia de viabilidad celular a las cuatro y ocho horas, respectivamente. Mientras a 2,5 ppm persistió baja sobrevivencia hasta las 24 horas. En contraste, a 0,625 ppm los recuentos fueron similares al control positivo.⁽¹¹⁾ Estos resultados permitieron evaluar la efectividad bactericida, tiempo y concentración-dependiente, de la solución acuosa de plata sobre *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE+, en comparación con el control de crecimiento.⁽¹⁾

A 10 ppm y 5 ppm se observó ausencia de viabilidad celular luego de cuatro y ocho horas, respectivamente, en concordancia con un estudio sobre ocho cepas y la solución de plata que determinó una efectividad aproximada de 8,45 horas. También se ha reportado una efectividad de seis horas al usar plata como desinfectante.⁽²⁾ En cambio, a 2,5 ppm, la solución acuosa de plata requirió una exposición de 24 horas para alcanzar un efecto bactericida, con la eliminación de más del 99,9 % del inóculo inicial en comparación con el control. Las concentraciones menores tuvieron mayor persistencia de viabilidad bacteriana.^(5,11,12) Por lo tanto, la solución de plata tiene un efecto letal dosis y tiempo-dependiente sobre estas bacterias productoras de BLEE, independiente de su mecanismo de resistencia a los antibióticos betalactámicos. A concentraciones de 10 ppm y 5 ppm, bastaron cuatro y ocho horas, respectivamente, para eliminar completamente la viabilidad de *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE positivas, mientras que a 2,5 ppm el efecto bactericida (> 99,9 % de mortalidad) se alcanzó a las 24 horas de exposición. Las concentraciones menores permitieron mayor sobrevivencia microbiana.

Se concluye que la solución acuosa de plata demostró un potente efecto bactericida sobre cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE, al eliminarlas de forma eficiente. Las CMI y la CBM de la solución de plata fueron las mismas para ambos microorganismos multirresistentes (2,5 ppm). Esta baja concentración evidencia su elevada actividad antimicrobiana. La curva de mortalidad bacteriana se inició rápidamente tras una exposición a la solución de plata, y se obtuvo una ausencia total de unidades formadoras de colonias viables de *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE positivas.

Referencias bibliográficas

1. Carrizales ML. Efecto antimicrobiano, citotóxico y potencial andamio de coberturas poliméricas nanoestructuradas como alternativa de tratamiento en heridas de la piel. Repositorio. 2023 [acceso 12/05/2025]. Disponible en: <http://repositorioinstitucional.uaslp.mx/xmlui/handle/i/8456>
2. Darwish RM. Study the Effect of Conjugate Novel Ultra-Short Antimicrobial Peptide with Silver Nanoparticles against Methicillin-Resistant *S. aureus* and ESBL *E. coli*. Antibiotics. 2022;11(8):1024 DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11081024>
3. Salama AH. Conjugation of a WOW Peptide with silver nanoparticles to face the increase of antimicrobial resistance during the COVID-19 pandemic. Pharmacia. 2022;69(4):981-5 DOI: <https://doi.org/10.3897/pharmacia.69.e86254>
4. Echeverry-Chica J, Naranjo-Díaz A, Araque-Marín P. Nanopartículas de plata funcionalizadas in situ con D-limoneno: efecto en la actividad antibacteriana. Revista Ion. 2020 [acceso 10/12/2024];33(1):79-92. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-100X2020000100079&script=sci_arttext
5. González JR. Desarrollo y evaluación de actividad antimicrobiana y citotóxica de un colutorio basado en nanopartículas de plata biosintetizadas con extracto de Cúrcuma. eprints.uanl.mx. 2022 [acceso 12/12/2022]. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/24717/1/1080328708.pdf>
6. Borda MS. Efecto de nanopartículas de plata en la actividad microbiológica de aguas contaminadas usadas para regadío, sector El Olivar-Santa Rosa de Quives

2022 [tesis de grado]. Universidad Nacional Federico Villarreal; 2023 [acceso 02/07/2023]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.13084/7864>

7. Muñoz JM. Síntesis y caracterización de compósitos a base de resina de poliéster insaturada con micropartículas de cobre y cobre@plata (Cu@ Ag) para ser aplicados potencialmente en la industria plástica como aditivo antibacterial. Repositorio Institucional. 2021 [acceso 14/05/2024]. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/17408>

8. Alkhulaifi MM, Alshehri JH, Alwehaibi MA, Awad MA, Al-Enazi NM, Aldosari NS, et al. Green synthesis of silver nanoparticles using Citrus limon peels and evaluation of their antibacterial and cytotoxic properties. Saudi J Biol Sci. 2020 [acceso 19/07/2026];27(12):3434-41. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7715020/>

9. Fonseca LFZ, Caycedo MIT, Filippo G Di. Perfil de tolerancia al triclosán y detección de los genes MexA, MexC, AcrB y oqxA relacionados con la expresión de bombas de expulsión en aislados clínicos el género Enterobacter aerogenes y Enterobacter cloacae. Revista Investigación en Salud Universidad de Boyacá. 2020;7:102-117 DOI: <https://doi.org/10.24267/23897325.400>

10. Pantozzi FL. CAPÍTULO 5 Diagnóstico de la Resistencia Antimicrobiana. Detección de la resistencia antimicrobiana. Libros de catedra. Fac Ciencias Veterinarias; 2023 [acceso 13/04/2024]. Disponible en: https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/161995/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1#page=38

11. Ramírez-Forero G, Valdivieso-Quintero W, Roperio-Vega JL, Flórez-Castillo JM, Zafra G. Cambios en el perfil proteico de *E. coli* O157:H7 frente al tratamiento con Ib-M1 e IONP@Ib-M1. Revista Colombiana de Química. 2021;50(1):3-12. DOI: <https://doi.org/10.15446/rcq.v50n1.89105>

12. Jiménez MG. Evaluación de la actividad antimicrobiana de péptidos cortos derivados del péptido 23688 sobre algunos microorganismos de importancia clínica. Bogotá D.C.: Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca; 2020 [acceso 17/02/2023]. Disponible en: <https://repositorio.unicolmayor.edu.co/handle/unicolmayor/2867>

13. Cuenca MC. Beneficios en salud de un programa de optimización de antimicrobianos liderado por un farmacéutico en distintos niveles asistenciales. Granada: Universidad de Granada; 2023 [acceso 24/03/2024]. Disponible en: <https://digibug.ugr.es/handle/10481/84495>

14. Aguilar RP, Pérez SG. Evaluación del efecto de antraquinonas sintéticas combinadas con ciprofloxacina sobre cepas de *Escherichia coli* Resistentes a antibióticos [Trabajo de tesis final]. Cuenca Universidad Católica de Cuenca; 2020 [25/06/2023]. Disponible en: <https://dspace.ucacue.edu.ec/handle/ucacue/10176>
15. Téllez S, Maciá J. Evaluación microbiológica de tres métodos de desinfección en cepillos dentales contaminados con *Enterobacter cloacae* ATCC 13047. Revista. 2020 [acceso 24/05/2024]. Disponible en: <https://repositorio.unbosque.edu.co/handle/20.500.12495/8398>
16. Torres F, Campano LV. Estrategias basadas en hidrogeles para liberación sostenida de antibióticos como posibles terapias antimicrobianas. Repositorio Académico Institucional de la Universidad de Talca, Chile. 2022 [acceso 14/10/2022]. Disponible en: <https://repositorio.otalca.cl/repositorio/handle/1950/13235>
17. Angarita MA, Ayala MJ. Actividad antibacteriana y citotóxica in vitro de complejos metálicos con ligandos de triazoles. Repositorio Latinoamericano. Universidad de Santander, Colombia. 2020 [acceso 15/03/2023]. Disponible en: <https://repositorio.udes.edu.co/server/api/core/bitstreams/945899c9-5cf8-4b09-8cac-e33711d8a610/content>
18. Pérez-Etayo L. Vigilancia, prevención, diagnóstico y tratamiento de las resistencias a antibióticos β -lactámicos desde la perspectiva One Health [Tesis doctoral] Pamplona: Universidad de Navarra; 2023 [acceso 25/06/2023]. Disponible en: <https://dadun.unav.edu/handle/10171/65393>
19. Ramírez-Forero GS, Valdivieso-Quintero W, et al. Identificação de alterações no perfil protetor de *E. coli* O157: H7 contra o tratamento com Ib-M1 e IONP@Ib-M1. Revista Colombiana. 2021;50(1):3-12. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v50n1.89105>
20. Hall G, Ramírez A. Aislamiento y caracterización de bacteriófagos específicos para cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* a partir de aguas residuales [Tesis (otra)]. Panamá: Universidad de Panamá; 2021 [acceso 14/11/2023]. Disponible en: <http://up-rid.up.ac.pa/id/eprint/6366>

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Contribución de los autores

Conceptualización: Juan Luis Rodríguez Vega.

Curación de datos: María del Carmen Fiorella López Esquén, Martha Arminda Vergara Espinoza y Ana Socorro Vásquez Del Castillo.

Análisis formal: María del Carmen Fiorella López Esquén, Martha Arminda Vergara Espinoza y Ana Socorro Vásquez Del Castillo.

Metodología: María del Carmen Fiorella López Esquén, Martha Arminda Vergara Espinoza y Ana Socorro Vásquez Del Castillo.

Redacción-revisión y edición: Juan Luis Rodríguez Vega.