

## ARTICULO ORIGINAL/ORIGINAL ARTICLE

# Efecto de la Biosíntesis de Nanopartículas de Plata (AgNPs) y Litio (LiNPs), obtenidas por reducción con Quercetina sobre la proliferación de una cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603)

Effect of the Biosynthesis of Silver Nanoparticles (AgNPs) and Lithium (LiNPs), obtained by reduction with Quercetin, on the proliferation of a strain of *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603)

Franklin Jesús Pacheco Coello\*, Michelina Rea y Patricia Reinoza

Universidad de Carabobo, Departamento de Ciencias Básicas, Instituto de Investigaciones Biomédicas “Dr. Francisco Triana Alonso” (Biomed), Sección de Bioquímica Farmacológica, Laboratorio de Metales Pesados y Solventes Orgánicos, Centro de Estudio en salud de los Trabajadores (CEST-UC), Calle Ruiz Pineda, La Morita II, Sector Santa Rita, estado Aragua, Código Postal 2103, Venezuela .

### Article history:

Received September 2, 2023

Received in revised form  
September 5, 2023

Accepted September 5, 2023

Available online October 31, 2023

### \* Corresponding author:

Franklin Jesús Pacheco Coello

Electronic mail address:

[fpacheco2@uc.edu.ve](mailto:fpacheco2@uc.edu.ve)

Número telefónico:

(0241)6004000

[http://orcid.org/0000-0002-2765-](http://orcid.org/0000-0002-2765-4069)

4069

## RESUMEN

**Introducción:** La creciente resistencia a los antibióticos ha originado que se diseñen y evalúen nuevas alternativas contra diversos patógenos de interés clínico, entre ellos *Staphylococcus aureus* *Klebsiella pneumoniae*. Entre estas alternativas están las llamadas nanopartículas metálicas, las cuales han exhibido un interesante potencial antimicrobiano. **Objetivo:** El estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de la biosíntesis de las nanopartículas de plata (AgNPs) y Litio (LiNPs) sobre la proliferación de una cepa de *S. aureus* y *K. pneumoniae*. **Metodología:** Las AgNPs y LiNPs, fueron sintetizadas empleando sales de litio y plata y la quercetina como agente reductor. Estas NPs fueron caracterizadas por microscopía electrónica de barrido (SEM). Para evaluar el efecto antimicrobiano de las NPs se estableció un rango de concentraciones (0,2; 0,4; 0,6; 0,8; y 1 mg/mL). Las bacterias fueron expuestas a dichas concentraciones realizando lecturas de densidad óptica cada 60 min por 6 h a 600 nm y una de 24 h para el cálculo de la concentración mínima inhibitoria (MIC). **Resultados:** Las AgNPs presentaron un tamaño de 38 nm y de 36 nm para las LiNPs, ambas con morfología esférica y ciertas agregaciones. Para todas las concentraciones evaluadas se observó inhibición del crecimiento bacteriano con una contracción mínima inhibitoria (MIC) cercana a 0,8 mg/mL-AgNPs y 0,6 mg/mL-LiNPs frente a *S. aureus* y de 1 mg/mL-AgNPs y 0,6 mg/mL-LiNPs frente a *K. pneumoniae*. **Conclusiones:** La biosíntesis de nanopartículas metálicas constituye una alternativa a futuro para el tratamiento de infecciones bacterianas. Las AgNPs y LiNPs exhibieron un excelente comportamiento contra el *S. aureus* y *K. pneumoniae* en todo el intervalo de concentraciones. **Palabras clave:** nanomateriales, morfología, actividad antimicrobiana, síntesis verde.

## ABSTRACT

**Introduction:** The growing resistance to antibiotics has led to the design and evaluation of new alternatives against various pathogens of clinical interest, including *Staphylococcus aureus* *Klebsiella pneumoniae*. Among these alternatives are the so-called metallic nanoparticles, which have exhibited interesting antimicrobial potential. **Objective:** The study aimed to evaluate

the effect of the biosynthesis of silver nanoparticles (AgNPs) and Lithium (LiNPs) on the proliferation of a strain of *S. aureus* and *K. pneumoniae*. Methodology: AgNPs and LiNPs were synthesized using lithium and silver salts and quercetin as a reducing agent. These NPs were characterized by scanning electron microscopy (SEM). To evaluate the antimicrobial effect of the NPs, a range of concentrations was established (0.2; 0.4; 0.6; 0.8; and 1 mg/mL). The bacteria were exposed to these concentrations by taking optical density readings every 60 min for 6 h at 600 nm and one at 24 h to calculate the minimum inhibitory concentration (MIC). **Results:** The AgNPs had a size of 38 nm and 36 nm for the LiNPs, both with spherical morphology and certain aggregations. For all the concentrations evaluated, inhibition of bacterial growth was observed with a minimum inhibitory contraction (MIC) close to 0.8 mg/mL-AgNPs and 0.6 mg/mL-LiNPs against *S. aureus* and 1 mg/mL-AgNPs and 0.6 mg/mL-LiNPs against *K. pneumoniae*. **Conclusions:** The biosynthesis of metallic nanoparticles constitutes a future alternative for the treatment of bacterial infections. AgNPs and LiNPs exhibited excellent performance against *S. aureus* and *K. pneumoniae* over the entire range of concentrations.

**Keywords:** nanomaterials, morphology, antimicrobial activity, green synthesis.

## INTRODUCCIÓN

En el 2021 la Organización Mundial de la Salud (OMS), destacó que la resistencia a los antimicrobianos representa una de las 10 principales amenazas a la salud pública, haciendo énfasis en el aumento de las muertes entre niños y adultos jóvenes (1). Las enfermedades infecciosas han constituido una de las primeras causas de morbilidad en países subdesarrollados, por lo que el tratamiento adecuado y oportuno de las mismas tendrá un impacto favorable en los indicadores de salud (2). En este sentido uno de los principales microorganismos causante de una amplia variedad de infecciones es el *Staphylococcus aureus*, el cual es un importante patógeno humano bacteriano que causa una amplia variedad de manifestaciones clínicas (neumonía, endocarditis infecciosa, sepsis, infección en tejidos blando, entre otros), que pueden ser adquiridas en entornos comunes (en crecimiento) como hospitalarios (más frecuente) (3). Por su parte *Klebsiella pneumoniae* es un patógeno bacteriano Gram negativo que suele asociarse a infecciones nosocomiales, infecciones del tracto urinario, del tracto respiratorio, torrente sanguíneo afectando principalmente a personas inmunodeprimidas (4,5).

Motivado entonces a la resistencia antimicrobiana, han surgido disciplinas como la Bionanotecnología la cual ha desarrollado y evaluado una diversidad de nanomaterial con capacidad antimicrobiana. Entre estos nanomateriales destacan las nanopartículas de metálicas (oro, cobre, plata, hierro, cadmio) de las cuales se han evidenciado que originan daños

significativos en la pared celular, además de la alteración de sus procesos celulares vitales, dando como resultado la inhibición del crecimiento microbiano produciendo un efecto biocida (6,7).

Las diversas tecnologías aplicadas para la síntesis de nanopartículas metálicas, están basadas en procesos físicos y químicos, que presentan desventajas no sólo desde el punto de vista económico (altos costos), o tecnológico (necesidad de equipamiento especializado), sino también daño ambiental por el requerimiento del uso de solventes orgánicos de elevada toxicidad y otros compuestos químicos de alta agresividad (8). Es por ello que en la actualidad los esfuerzos tecnológicos estén basados en métodos biológicos, los cuales son más factibles y amigables con el medio ambiente, donde se requiere el uso de plantas, biomoléculas aisladas tipo flavonoides, extractos vegetales, células y tejidos, para la síntesis de las NPs (9,10).

De acuerdo con lo anteriormente expuesto y tomando en cuenta el aumento de la farmacoresistencia por parte de los agentes bacterianos, es conveniente la síntesis de nuevos nanomateriales que puedan ser implementados como tratamientos con efectos antibacterianos, para tratar las enfermedades de manera eficaz y segura. Por tal motivo el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el Efecto de la Biosíntesis de Nanopartículas de Plata (AgNPs) y Litio (LiNPs), obtenida por reducción con quercetina sobre la proliferación de una cepa de *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*.

## MÉTODOLÓGIA

### Tipo de investigación

Se realizó un estudio de tipo descriptivo-experimental, en el cual estableció el efecto antimicrobiano de las diferentes concentraciones de nanopartículas de plata y litio sintetizadas a partir de quercetina, sobre una cepa de *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*.

### Muestra biológica

Para evaluar el efecto antibacteriano de las NPs se emplearon dos cepas certificadas, una de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y otra *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, proporcionadas por el laboratorio de Bioquímica Farmacológica del Instituto de Investigaciones Biomédicas “Dr Francisco Triana Alonso” (BIOMED-UC).

### Optimización de la síntesis de las nanopartículas de plata (AgNPs) y litio (LiNPs)

Para obtener el mejor rendimiento de síntesis de las AgNPs se emplearon tres concentraciones de nitrato de plata 0,4; 0,8; 1,2 mM, relación de volumen de quercetina/AgNO<sub>3</sub> de 1:1, 1:2 y 2:1. Para la síntesis de las LiNPs las concentraciones de sulfato de litio fueron de 0,2; 0,6 y 1 mM, relación de volumen de quercetina (QCT)/ Li<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> de 1:1, 1:2 y 2:1. En ambos casos se mantuvo constante el pH a 5, estabilizado con hidróxido de sodio 0,1 M, y la temperatura de reacción a 50 °C. La formación de las nanopartículas fue determinada mediante espectrofotometría UV-VIS (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, EE.UU), realizando un barrido espectral de cada síntesis obtenida, en un rango de longitudes de onda de 250 a 750 nm. Para el análisis de las nanopartículas, se tomaron 2 ml de cada síntesis y se diluyó con agua destilada hasta un volumen final de 4 ml. Se colocó 1 mL de la dilución anterior en una celda de 1 cm de camino óptico y se realizó el barrido espectral (11).

### Determinación del tamaño y morfología de las nanopartículas de cobre por microscopía electrónica de barrido (SEM)

La morfología y tamaño de las AgNPs y LiNPs sintetizadas se analizó utilizando el equipo JEOL/EO JSM-5600 SEM a 200 µm, 10 µm y 2 µm. Las películas delgadas de la muestra se prepararon en una rejilla de cobre recubierta con carbón dejando caer 20–50 µL de muestra en la rejilla y luego se observaron bajo el analizador. El material extraño se limpió con papel de seda y luego se dejó secar bajo una lámpara de mercurio durante 4 a 5 minutos (12).

### Evaluación de la actividad antibacteriana de las AgNPs y LiNPs, sobre una cepa de *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*

Para iniciar los estudios de crecimiento bacteriano de la cepa de *S. aureus* y *K. pneumoniae*, se procedió a su cultivo en condiciones aeróbicas a 37 °C con agitación constante (250 rpm), durante 24 horas (Pre-inóculo) en 30 mL de medio líquido Luria-Bertani (LB); este es un medio rico en nutrientes que consta de: triptona 1%, extracto de levadura 0,5 % y NaCl 1% (el pH fue ajustado a 7 con NaOH). Posteriormente, a partir de este pre-inóculo, se determinó la cantidad necesaria para inocular 0,05 U/mL de densidad óptica a 600 nm (DO<sub>600</sub>) en el cultivo utilizado para la curva de crecimiento (13). De esta manera, cada ensayo de la curva de crecimiento se inició con la misma cantidad de bacterias en el medio de cultivo LB.

El efecto de las nanopartículas sobre el crecimiento bacteriano, se determinó en ausencia (control) y en presencia de diferentes concentraciones de las mismas (0,2-0,4-0,6-0,8 y 1 mg/mL). En una placa de 96 pocillos de fondo en U se colocó 2 µL de las soluciones correspondientes a las nanopartículas y 198 µL de cultivo de bacterias. En todos los ensayos se empleó un control de crecimiento. Seguidamente, el crecimiento bacteriano se determinó mediante la D<sub>600</sub> para cada concentración de las diferentes concentraciones cada 60 minutos hasta por 6 horas. Finalmente se graficó las lecturas de DO<sub>600</sub>

en función de la concentración de las diferentes concentraciones utilizadas. Para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (MIC) se procedió a leer la DO las 24 h de incubación siendo el MIC la concentración donde la DO fuese igual menor a 0,2 unidades.

### Análisis estadístico

Las diferencias estadísticas se determinaron mediante análisis de varianza. (ANOVA) usando Statistic 9.0 para Windows. Por su parte los valores se expresaron como media ± desviación estándar. Durante el estudio se realizaron tres ensayos independientes y cada uno por triplicado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Optimización de la síntesis de las nanopartículas de plata (AgNPs) y litio (LiNPs)

Las condiciones óptimas de síntesis para las AgNPs y LiNPs se observan en la **Tabla 1**. Este proceso de optimización representa un paso fundamental para obtener el mayor rendimiento de síntesis y también lograr que las NPs sean estabilizadas por el propio agente que orina su reducción hasta la formación de las NPs. En este sentido y como se observa en la **Figura 1**, las AgNPs son estabilizadas por la QCT a través o interacciones no covalentes como las fuerzas de Van der Waals formando además colides dispersos (14). Este fenómeno de estabilización sucede también con las LiNPs.

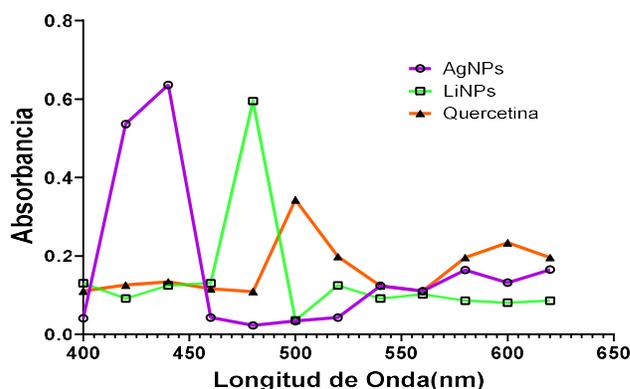
**Tabla 1.** Optimización de la síntesis de nanopartículas de plata (AgNPs) y litio (LiNPs)

**Table 1.** Optimization of the synthesis of silver (AgNPs) and lithium (LiNPs) nanoparticles

Concentración AgNO <sub>3</sub> (mM)	Relación Vol. Sal/QCT	Concentración Li <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (mM)	Relación Vol. Sal/QCT
<b>*0,4</b>	<b>*1/1</b>	0,2	1/1
0,8	2/1	<b>*0,6</b>	<b>*2/1</b>
1,2	1/1	1	1/2

**Nota:** \*volumen de sal de nitrato de plata (AgNO<sub>3</sub>) 500 µL y 500 µL de quercetina (QCT) \*500 µL de sulfato de litio (Li<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y 1000 µL de QCT

Para evidenciar la formación de las NPs es importante realizar el pasmón superficial (UV/Visible), es decir, someter a las NPs un barrido espectral a diferentes longitudes de onda (Figura 2). En este caso las AgNPs presentaron un máximo de absorción a 420 nm, resultado muy semejante a los reportando en otros estudios los cuales indica que las AgNPs pueden presentar picos de absorción que varían en un intercalo de 418 y 426 nm. Respecto a las LiNPs, hay un punto a destacar, ya que esta representa la prima síntesis de LiNPs en VENEZUELA y primera en el MUNDO en la cual se evalúan este tipo de NPs en bacterias. El plasmó superficial arrojó que estas LiNPs presentaron un máximo de absorción a 480nm, congruente con lo reportado por Álvarez et al. (15) del Centro de Investigación en Física de la Universidad de Sonora (15), los cuales fueron primeros en reportar LiNPs sintetizadas por ruta química con LiNPs con picos de absorción de 380, 460 y 480 dependiendo del tamaño de las LiNPs.



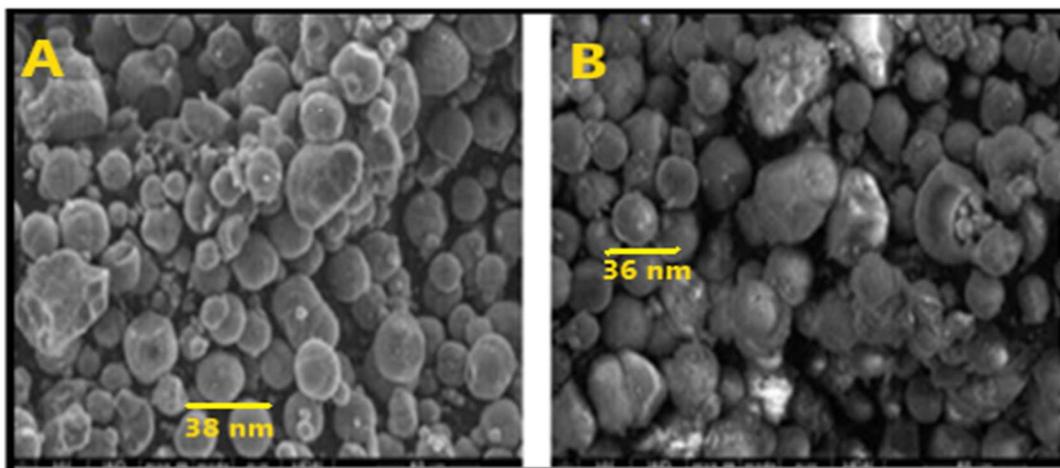
**Figura 1.** Plasmón superficial de las nanopartículas de las AgNPs y LiNPs y su comparación con quercetina  
**Figure 1.** Surface plasmon of AgNPs and LiNPs nanoparticles and their comparison with quercetin

### Determinación del tamaño y morfología de las nanopartículas por microscopia electrónica de barrido (SEM)

Si bien el pasmón superficial proporciona información valiosa relacionada a la formación de las NPs, es importante conocer el tamaño exacto y la morfología de estas, puesto que estas dos variables desempeñan un rol fundamental en el efecto antimicrobiano. La técnica de microscopia

electrónica de barrido (SEM), arrojó que las AgNPs presentaron un tamaño de 38 nm, con una morfología esférica (**Figura 2A**). De acuerdo a lo indicado por Khodadadi, *et al.* (16), las AgNPs podrían incluso presentar tamaños inferiores a los 20 nm, considerando la variabilidad de biomoléculas que se podrían combinar para

originar dichas NPs. En lo que respecta a las LiNPs el tamaño obtenido fue de 36 nm con forma esférica (**Figura 2B**). Hasta la fecha no existe publicaciones de algún artículo que indique el tamaño aproximado de LiNPs obtenido por esta técnica (SEM).

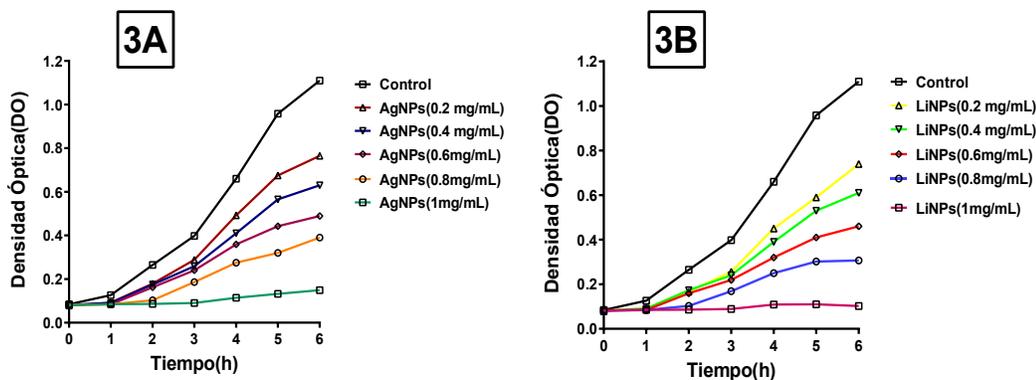


**Figura 2.** Tamaño y morfología de las AgNPs (A) y LiNPs (B) por Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)

**Figure 2.** Size and morphology of AgNPs (A) and LiNPs (B) by Scanning Electron Microscopy (SEM)

**Evaluación de la actividad antibacteriana de las AgNPs y LiNPs, sobre una cepa de *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae***  
Referente al efecto de las AgNPs sobre *S. aureus* se observó una inhibición de la proliferación para todo el rango de concentraciones empleadas, con una

concentración mínima inhibitoria (MIC) cercana a 0,8 mg/mL (lectura de la densidad óptica  $\geq 0,2$  a las 24 h). Para las LiNPs sobre *S. aureus* el comportamiento fue semejante a las AgNPs, pero con un MIC cercano a 0,6 mg/mL (**Figura 3A y 3B**).

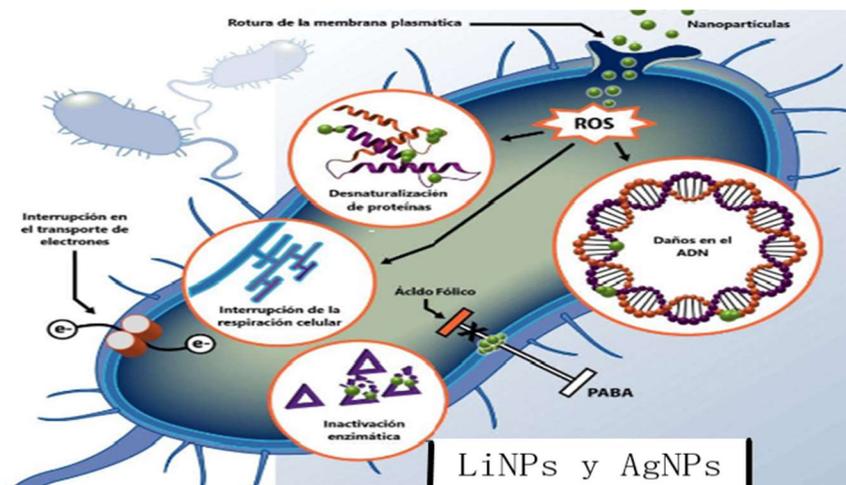


**Figura 3.** Efecto de las AgNPs (3A) y LiNPs (3B), sobre la proliferación de *S. aureus*

**Figure 3.** Effect of AgNPs (3A) and LiNPs (3B) on the proliferation of *S. aureus*

Esta diferencia puede estar asociada al tamaño de las LiNPs de 36 nm, lo que le permite tener mayor superficie de contacto incrementado así el efecto antimicrobiano por medio de diversos mecanismos como la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Figura 4). Comprando los efectos observados con otro tipo de

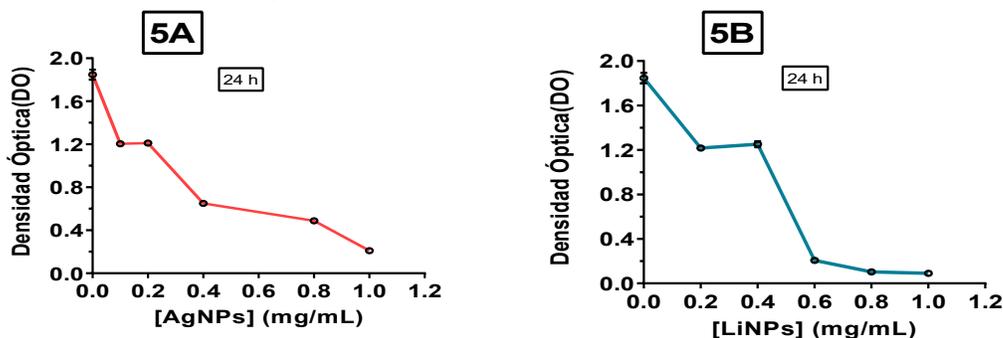
NPs, el estudio realizado por Figueroa Calderón (18), empleando nanopartículas de hierro hallaron que las FeNPs inhibían la proliferación de *S. aureus* con un MIC cercano a 0,9 mg/mL, asociando este efecto a las condiciones de síntesis.



**Figura 4.** Mecanismo molecular antimicrobiano de las nanopartículas metálicas. **Fuente:** Elaboración propia  
**Figure 4.** Antimicrobial molecular mechanism of metal nanoparticles. **Source:** self made

El efecto de las AgNPs y LiNPs sobre *K. pneumoniae* fue diferente en lo refiere al MIC. Con ambas NPs se observó un comportamiento positivo de inhibir la proliferación de *K. pneumoniae*, sin embargo el MIC de las AgNPs estuvo cercano a 1mg/mL, a diferencia del MIC de las LiNPs que se mantuvo cerca de 0,6 mg/mL (Figura 5A y 5B). La explicación a este comportamiento no solo está ligada al tamaño de

las AgNPs, sino también a que *K. pneumoniae* ,una de sus características principales es un microorganismo encapsulado. Esta cápsula es una estructura superficial formada por exopolisacáridos complejos formado por envolturas gruesas que recubren la superficie bacteriana, protegiendo a la célula de potenciales antimicrobianos (19).



**Figura 5.** Concentración mínima inhibitoria (MIC) de las AgNPs(A) y LiNPs(B), sobre *K. pneumoniae*  
**Figure 5.** Minimum inhibitory concentration (MIC) of AgNPs(A) and LiNPs(B), on *K. pneumoniae*

## CONCLUSIÓN

Las nanopartículas de litio y plata presentaron un efecto inhibitorio en ambas cepas, sin embargo *K. pneumoniae* fue más resistente a dicho efecto. Las nuevas alternativas como el uso de las nanopartículas metálicas constituyen un paso importante en el desarrollo de nuevos y más eficaces antimicrobianos.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

## REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antimicrobianos. [On line] 2021 [Citado 30 de abril 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
2. Tong S, Davis J, Eichenberger E, Holland T, Fowler Y. *Staphylococcus aureus*. Infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. Clin Micro Rev, 2015; 28(3): 603-661.
3. Cueto M, Pascual A. Microbiología y Patogenia de las infecciones producidas por *Staphylococcus aureus*. En: Pahissa A, Soler H, Soto A, Matos L, Serrano E, Roig MA editores. Infecciones producidas por *Staphylococcus aureus*. 1a ed. Barcelona (España): Marge Books ed.; 2009. P. 15- 29.
4. Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clin Microbiol Rev. 2018; 11(4):589-603.
5. Martin RM, Bachman MA. Colonization, infection, and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae*. Front Cell Infect Microbiol. 2018; 8(2):4-12.
6. Ramyadevi J, Jeyasubramanian K, Marikani A, Rajakumar G, Rahuman A.A. Synthesis and antimicrobial activity of copper nanoparticles. Materials Letters. 2012; 71(1):114-116. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2011.12.055>
7. Hajipour MJ, Fromm KM, Ashkarran A A, Jiménez de Aberasturi D, De Larramendi IR, Rojo T, Serpooshan V, Parak WJ, Mahmoudi M. Antibacterial properties of nanoparticles. Tren biotechnol, 2012;30(10), 499-511. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.06.004>
8. Albrecht M.A, Evans C.W. Raston C.L. Green chemistry and the health implications of nanoparticles. Green Chem. 2006; 8(5):417-424. <https://doi.org/10.1039/b517131h>
9. Kasithevar M, Saravanan M, Prakash P, Kumar H, Ovais M, Barabadi H, Shinwari ZK. Green synthesis of silver nanoparticles using *Alysicarpus monilifer* leaf extract and its antibacterial activity against MRSA and CoNS isolates in HIV patients. J Interdis Nanomed. 2017; 2(2): 131-141. <https://doi.org/10.1002/jin2.26>
10. Sarkar D, Paul G. Green Synthesis of Silver Nanoparticles using Mentha asiatica (Mint) Extract and Evaluation of their Antimicrobial Potential. Int J Cur Res Bio . 2017; 4(1): 77-82. <https://doi.org/10.20546/ijcrbp.2017.401.009>
11. Rodríguez-León E, Iñiguez-Palomares R, Navarro R.E, Herrera-Urbina R, Tánori J, Iñiguez-Palomares C, Maldonado A. Synthesis of silver nanoparticles using reducing agents obtained from natural sources (Rumex hymenosepalus extracts), Nano Res Lett. 2013; 8(1): 318. DOI: <https://doi.org/10.1186/1556-276X-8-318>
12. Gondwal G.J.N. Pant, Biological evaluation and green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of *Calotropis procera*, Int. J. Pharm. Biol. Sci.2013; 4(4): 635-643.
13. Triana P, De Freitas A, Gómez, K. *Estudio de las bacterias que afectan al pie diabético: crecimiento in vitro, efectos de la insulina y susceptibilidad a antibióticos*. [Tesis de grado en Bioanálisis] Maracay, Venezuela, Universidad de Carabobo, 2008.
14. Jayandran M, Haneefa MM, Balasubramanian V. Green synthesis of copper nanoparticles using natural reducer and stabilizer and an evaluation of antimicrobial activity. J Chem Pharm Res. 2015;7:251-9
15. Ramón A.B, Álvarez AM, Cortez-Valadez AR, Britto-Hurtado AL. Bueno O, Flores-Lopez NS , Hernández-Martínez AR. Raman scattering and optical properties of lithium nanoparticles obtained by green synthesis. Vibra Spectro. 2015; 77 (2): 5-9
16. Khodadadi S, Mahdinezhad N, Fazeli-Nasab B, Heidari MJ, Fakheri B, Miri A. Investigating the Possibility of Green

- Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Vaccinium arctostaphylos* Extract and Evaluating Its Antibacterial Properties. *BioMed Res Inter.* 2021; 1(1): 1-13. <https://doi.org/10.1155/2021/5572252>.
17. Figuera-Calderon M. Síntesis de nanopartículas de hierro a partir del extracto acuoso de hojas de *Eucalyptus robusta* Sm. y evaluación de su actividad antimicrobiana. [Tesis de grado para Licenciada en Química], Caracas, Venezuela, 2019.
  18. Avila-Novoa, M. G., Iñiguez-Moreno, M., González-Gómez, J. P., Zacarías-Castillo, E., Guerrero-Medina, P. J., ... & Gutiérrez-Lomelí, M. (2018). Detection of enterotoxin genes of *Staphylococcus aureus* isolates from food contact surfaces in the dairy industry of Jalisco, Mexico. *Biotecnia*, 20(2), 72-78. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v20i2.602>
  19. Yuan J, Chen C, Cui J, Chan Y, Liung F, Hanh P. Fatty liver disease caused by high-alcohol-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Cell Metab.* 2019; 30(4):675-688.



**Mexican Academy of Health Education A.C.**

**Membership:** Our commitment is to keep professionals and students in training updated in this constantly evolving area. If you are interested

in being part of our community and accessing exclusive benefits, the first step is to obtain your membership. Join us and stay up to date with advances in health education.

MEMBERSHIP SUBSCRIPTION IS FREE.  
Request your membership to the  
<https://forms.gle/kVYBYRdRnYZff14y9>

