

Artículo Original / Original Article

[10.18004/mem.iics/1812-9528/2026.e24122606](https://doi.org/10.18004/mem.iics/1812-9528/2026.e24122606)

8 Efectos de las nanopartículas bimetálicas de plata y cobre sobre la proliferación y viabilidad de aislados clínicos de *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*

*Franklin Pacheco^{1, 2} , María Páez³ , Yohender Pandares³ 

¹Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud, Departamento de Ciencias Básicas. Maracay, Venezuela

²Instituto de Investigaciones Biomédicas "Dr. Francisco Triana Alonso" (BIOMED), Sección de Bioquímica Farmacológica. Maracay, Venezuela

³Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Bionálisis. Maracay, Venezuela

Editor Responsable: María Gloria Pedrozo Arrúa . Universidad Nacional de Asunción, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, San Lorenzo, Paraguay.

Email: mariagloriapedrozo@gmail.com

Cómo referenciar este artículo / How to reference this article:

Pacheco F, Páez M, Pandares Y. Efectos de las nanopartículas bimetálicas de plata y cobre sobre la proliferación y viabilidad de aislados clínicos de *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*. Mem Inst Investig Cienc Salud. 2026; 24(1): e24122606.
10.18004/mem.iics/1812-9528/2026.e24122606

RESUMEN

La resistencia bacteriana, incrementada por el uso indiscriminado de antibióticos, constituye una grave amenaza para la salud global. La Organización Mundial de la Salud (OMS) señala a *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* como microorganismos clave en infecciones humanas, con alta resistencia a tratamientos convencionales. En este contexto, las nanopartículas bimetálicas de plata y cobre (Ag-CuNPs) emergen como una alternativa prometedora con potencial antimicrobiano; por ello se evaluó su actividad antibacteriana sobre aislados clínicos de estos tres microorganismos. Se procedió a la síntesis y caracterización a través de espectrofotometría UV-Vis y microscopía electrónica de barrido (MEB). Se realizaron ensayos de 6 h para evaluar la proliferación y viabilidad celular mediante el método de reducción del bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazolio (MTT) y ensayos de 24 h. Las Ag-CuNPs inhibieron significativamente el crecimiento de *S. aureus* (CMI de aproximadamente 0,8 mg/mL). En contraste, *K. pneumoniae* y *E. coli* presentaron hormesis a bajas concentraciones (0,2 y 0,4 mg/mL, respectivamente), con valores de CMI cercanos a 1 mg/mL. La diferencia en la susceptibilidad observada puede atribuirse a la estructura de la envoltura celular bacteriana. Las Ag-CuNPs podrían representar una estrategia terapéutica innovadora y de baja toxicidad para combatir infecciones por diversos patógenos, apuntando a reducir la crisis de resistencia microbiana.

Palabras clave: Nanopartículas, plasmón superficial, actividad antimicrobiana, resistencia bacteriana.

Recepción: 27/12/2025. **Revisión:** 30/04/2026. **Aceptación:** 14/07/2026.

***Autor correspondiente:** Franklin Pacheco. Universidad de Carabobo, Venezuela.

Email: fpacheco2@uc.edu.ve



This is an open access article published under a Creative Commons License.

Effects of bimetallic silver-copper nanoparticles on the proliferation and viability of clinical isolates of *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Escherichia coli*

ABSTRACT

Bacterial resistance, exacerbated by the indiscriminate use of antibiotics, poses a serious threat to global health. The World Health Organization (WHO) identifies *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Escherichia coli* as key microorganisms in human infections that exhibit high resistance to conventional treatments. In this context, bimetallic silver-copper nanoparticles (Ag-CuNPs) emerge as a promising alternative with antimicrobial potential; therefore, their antibacterial activity was evaluated against clinical isolates of these three microorganisms. Synthesis and characterization were performed using UV-Vis spectrophotometry and scanning electron microscopy (SEM). Six-hour assays were conducted to evaluate cell proliferation and viability using the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction method, followed by 24-hour assays. The Ag-CuNPs significantly inhibited the growth of *S. aureus* (MIC of approximately 0.8 mg/mL). In contrast, *K. pneumoniae* and *E. coli* exhibited hormesis at low concentrations (0.2 and 0.4 mg/mL, respectively), with MICs close to 1 mg/mL. The difference in observed susceptibility may be attributed to the structure of the bacterial cell envelope. The Ag-CuNPs could represent an innovative and low-toxicity therapeutic strategy for combating infections caused by various pathogens, aiming to reduce the antimicrobial resistance crisis.

Keywords: Nanoparticles, surface plasmon, antimicrobial activity, bacterial resistance.

INTRODUCCIÓN

La eficacia de los antibióticos, se basa en la gran variedad de procesos dianas de la biología bacteriana sobre los cuales pueden actuar, entre los que destacan la síntesis de la pared celular, la maquinaria traduccional y la replicación de ADN^(1,2). La resistencia a múltiples antimicrobianos es producto de una combinación de mecanismos, algunos de ellos inherentes a la especie y otros adquiridos mediante elementos genéticos siendo un fenómeno complejo que se manifiesta a través de múltiples mecanismos. Uno de los más importantes es la inactivación farmacológica, donde las bacterias producen enzimas como las betalactamasas que destruyen la estructura del antibiótico, impidiendo que se una a las proteínas cruciales para la síntesis de la pared celular⁽³⁾. Otros mecanismos incluyen las bombas de expulsión activa, que expulsan el fármaco de la célula, y la adaptación genética, donde las bacterias adquieren genes de resistencia a través de plásmidos y transposones, modificando sus sitios de acción⁽⁴⁾.

Cepas de *Staphylococcus aureus* meticilino-resistentes (MRSA) han modificado sus proteínas fijadoras de penicilina, volviéndose extremadamente difíciles de tratar. De igual forma, bacilos Gram-negativos como *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* han adquirido un amplio arsenal de betalactamasas de espectro extendido^(4,5). La profundización en el estudio de los efectos potenciales que estos patógenos causan en el organismo, ha impulsado el desarrollo y la aplicación de diversos nanomateriales con actividad antimicrobiana, entre las que destacan las nanopartículas metálicas, definidas como aquellas partículas en el rango de 0 a 100 nanómetros y propiedades físico-químicas que difieren de las propiedades de las partículas a gran escala, debido a su tamaño y su alta relación superficie-volumen^(6,7).

Las nanopartículas (NPs) se dividen en dos categorías principales: nanopartículas monometálicas (MNPs) con un solo metal y nanopartículas bimetálicas (BNP) con dos metales diferentes. Investigaciones recientes destacan los atributos superiores de las BNP, impulsados por su mayor área superficial, lo que las hace particularmente significativas⁽⁸⁾. Las BNP aprovechan las propiedades distintivas de ambos metales, lo que resulta en atributos combinados únicos y diversas aplicaciones⁽⁹⁾. Las nanopartículas de plata (Ag) y cobre (Cu), sintetizadas a partir de fuentes biológicas como plantas, hongos, bacterias y algas, exhiben actividades antibacterianas, anticancerígenas, antibiofilm y antioxidantes. En tal sentido surgen como candidatos prometedores en varios campos, especialmente la biomedicina, medicamentos hidrofóbicos, hipertermia y terapias contra el cáncer⁽¹⁰⁻¹¹⁾. La combinación de Ag y Cu en nanopartículas bimetálicas ha despertado interés por su eficacia antimicrobiana contra diversos patógenos y su toxicidad preferencial para las células cancerosas, lo que la posiciona como una herramienta valiosa para combatir la resistencia a múltiples fármacos^(8,9,11). Por tanto, la presente investigación se enfocó en evaluar el efecto de este tipo de NP sobre aislados clínicos de *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* de alta importancia epidemiológica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestra biológica

Para el presente estudio, se emplearon aislados clínicos de *S. aureus*, *K. pneumoniae* y *E. coli* las cuales fueron proporcionadas por el "Laboratorio Clínico Biounilab C.A". y preservadas en el Instituto de Investigaciones Biomédicas "Dr Francisco Triana Alonso" de la Universidad de Carabobo, sede Aragua.

Es importante resaltar que estos aislados presentaron resistencia a una familia de antibióticos:

S. aureus resistencia a la meticilina, *K. pneumoniae* y *E. coli* productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE)

Optimización de la síntesis de las nanopartículas bimetálicas (Ag-Cu NP)

La síntesis de las Ag-CuNPs se realizó en tres fases⁽⁸⁾:

1. Se establecieron las condiciones adecuadas para obtener el mejor rendimiento de síntesis de las nanopartículas de cobre (CuNPs) y nanopartículas de plata (AgNPs) por separado para ello se utilizó concentraciones de sulfato de cobre y nitrato de plata (0,4; 0,8; 1,2 mM), las cuales se combinaron en relación 1:1; 1:2 y 2:1 con una concentración fija de 2 Mm de ácido glutámico (Glu), manteniendo el pH⁽⁵⁾, y la temperatura de reacción constante (50 °C) y completándose a un volumen final de 8 mL con agua destilada.
2. Los 8 mL fueron centrifugados a 4500 r.p.m por 5 minutos para luego descartar todo el volumen y proceder a secar a temperatura ambiente el sedimento correspondiente a cada una de las nanopartículas (NPs).
3. Ambas NPs fueron resuspendidas con 2 mL de una nueva solución de Glu para luego combinar ambas NPs en un tubo cónico de 15 mL e incubar a 37 °C por 10 min. Transcurrido este tiempo, se procedió a realizar las respectivas caracterizaciones.

Estimación de la formación de las Ag-CuNPs, por espectrofotometría UV-Vis (Plasmón superficial)

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 400 a 620 nm. Para el análisis de las nanopartículas, se tomaron 2 mL de cada síntesis y se diluyeron con agua destilada hasta un volumen final de 4 mL. Se agregó 1 mL de la dilución anterior en una celda de 1 cm de camino óptico y se realizó el barrido espectral^(12,13).

Determinación del tamaño de las nanopartículas por microscopia electrónica de barrido (MEB).

El tamaño de las Ag-CuNPs 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⁽¹⁴⁾.

Evaluación de la actividad antibacteriana de las Ag-CuNPs sobre aislados clínicos de *S. aureus*, *K. pneumoniae* y *E. coli*

Para comenzar los estudios de crecimiento bacteriano de los aislados clínicos de *S. aureus*, *K. pneumoniae* y *E. coli*, 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)⁽¹⁵⁾.

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 600) en el cultivo utilizado para la curva de crecimiento. De esta manera, cada ensayo de la curva de crecimiento inicio con la misma cantidad de bacterias en el medio de cultivo LB⁽¹⁵⁾. Las soluciones de ácido sulfúrico al 1% y cloruro de bario al 1% para los estándares de McFarland se prepararon en agua ultrapura y se mezclaron según correspondiera para obtener diferentes estándares de 0,5 a 10.⁽¹⁶⁾

El efecto de la Ag-CuNPs sobre el crecimiento bacteriano, se determinó en ausencia (control) y en presencia de diferentes concentraciones de las Ag-CuNPs (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 constituido por 200 μL medio de cultivo. Seguidamente, el crecimiento bacteriano se determinó mediante la densidad óptica a 600 nm para cada concentración, cada 60 min hasta por 6 horas. Con los datos obtenidos se graficó las lecturas de DO 600 en función de la concentración de las diferentes concentraciones utilizadas. Para finalizar, se realizó una lectura a las 24 horas para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI)^(8,15).

Determinación de la viabilidad celular de *S. aureus*, *K. pneumoniae* y *E. coli* mediante el método de reducción del Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difenil tetrazolio (MTT)

La viabilidad celular de *S. aureus*, *K. pneumoniae* y *E. coli* fue determinada empleando la técnica de reducción de una sal de tetrazolio, en este caso Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazolio (MTT), el cual se fundamenta en la reducción del MTT por las deshidrogenasas bacterianas para reducir el formazán, un compuesto soluble sólo en disolventes orgánicos como el etanol y el

isopropanol. La cantidad de formazán producido es directamente proporcional al número de células viables⁽¹⁷⁾.

Previo a la aplicación de la técnica del MTT, fue necesario calcular la concentración mínima inhibitoria (CMI) para reportar la viabilidad en presencia y ausencia de las diferentes drogas. En este sentido, se siguió el protocolo de incubación descrito en el punto anterior y se procedió a aplicar el método de reducción del MTT.

Una vez cumplido el tiempo de incubación, se agitó la microplaca durante 30 minutos a 960 rpm, luego se trasvasó 100 μ L a cada pocillo de una microplaca de fondo plano para luego realizar lecturas de absorbancia a 595 nm. De esta manera, se obtuvieron las lecturas de absorbancia de las diferentes muestras. Una vez registrada la absorbancia, se adicionó 10 μ L de MTT a una concentración de 5 mg/mL, y se incubó a temperatura ambiente durante 10 minutos protegido de la luz. Luego se agregó 100 μ L de solución detergente de MTT, se mezcló a 250 rpm para disolver los cristales de formazán y finalmente se realizó la lectura de absorbancia a 550 nm⁽¹⁷⁾.

RESULTADOS

Síntesis de las Ag-CuNPs con ácido glutámico

En la tabla 1, se observan las condiciones adecuadas que permitieron el mayor rendimiento en la síntesis de las nanopartículas de cobre (CuNPs) y nanopartículas de plata (AgNPs) por separado manteniendo una concentración fija de 2 mM de ácido glutámico, pH⁽⁵⁾, y temperatura de reacción constante (50°C). Bajos estas condiciones se procedió a su combinación con Glu para la obtención de las Ag-CuNPs y realizar su posterior plasmón superficial.

Tabla 1. Optimización de la síntesis de nanopartículas de plata (AgNPs) y cobre (CuNPs)

Concentración AgNO ₃ (mM)	Relación Sal/Glu	Concentración CuSO ₄ (mM)	Relación Sal/Glu
0,4	1/1	0,4	1/1
0,8*	2/1	0,8 [¶]	2/1 [¶]
1,2	1/2*	1,2	1/2

Nota: *volumen de sal de nitrato de plata (AgNO₃) 2 mL y 4 mL de ácido glutámico (Glu). [¶]4 mL de sulfato de cobre (CuSO₄) y 2 mL de Glu.

Plasmón superficial de las AgNPs, CuNPs y las Ag-CuNPs por espectrofotometría UV-Vis

Para la estimación de la formación de las NPs se procedió a medir la absorbancia en un amplio rango de longitudes de onda, originando así el plasmón característico. En la Figura 1 se observa el plasmón correspondiente a cada síntesis, con su respectivo máximo de absorción.

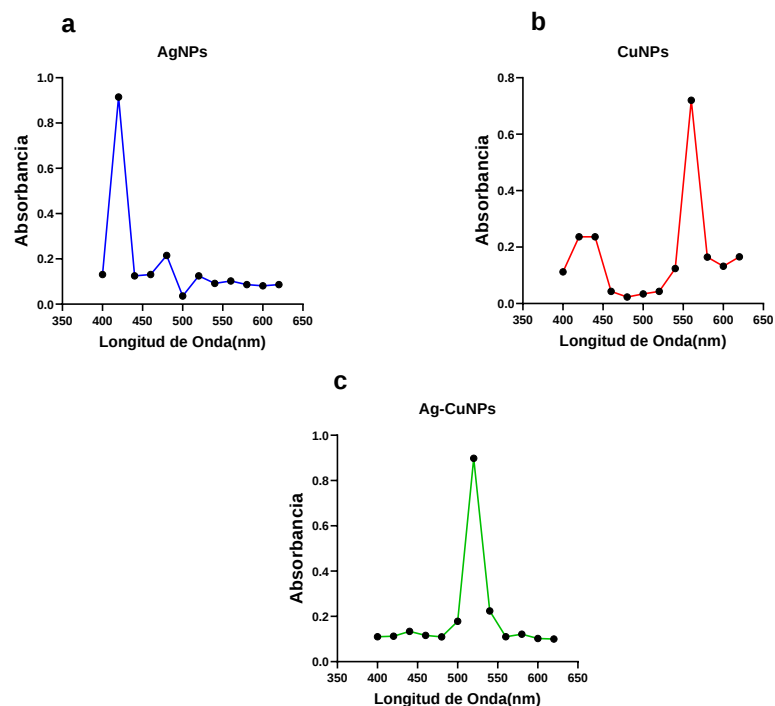


Figura 1. Resonancia del plasmón superficial de las AgNPs, CuNPs y Ag-CuNPs

Tamaño de las nanopartículas por microscopía electrónica de barrido (MEB)

Para determinar el tamaño más exacto de las NPs se utilizó Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). En este sentido con la información arrojada por esta metodología se elaboró un gráfico de distribución del tamaño de las NPs (figura 2).

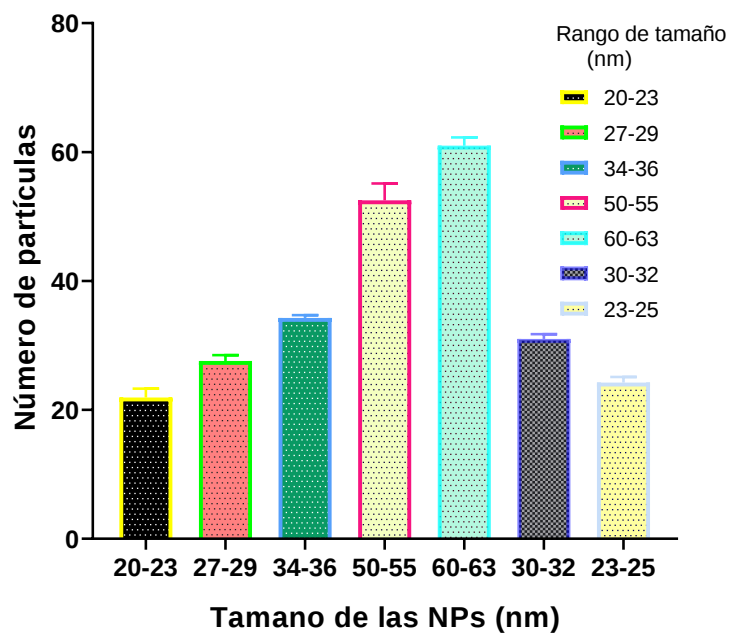


Figura 2. Distribución del rango de tamaño de las Ag-CuNPs simbolizadas por colores mediante los datos obtenidos por MEB.

Efecto de las Ag-CuNPs sobre la proliferación de los aislados de *S. aureus*, *K. pneumoniae* y *E. coli*

Para determinar los efectos de las Ag-CuNPs sobre la proliferación de los aislados bacterianos, se realizaron ensayos de 6 horas que cubrieron rangos muy amplios de concentraciones de las Ag-CuNPs. En la figura 3, que muestra los resultados de los ensayos, en el que se puede apreciar que para todo el rango de concentraciones de las Ag-CuNPs evaluadas, hubo inhibición del crecimiento en los aislados bacterianos de *S. aureus*. Al analizar el efecto sobre los aislados bacterianos de *K. pneumoniae* y *E. coli*, se evidenció que en las concentraciones de 0,2 y 0,4 hubo estimulación en el crecimiento bacteriano.

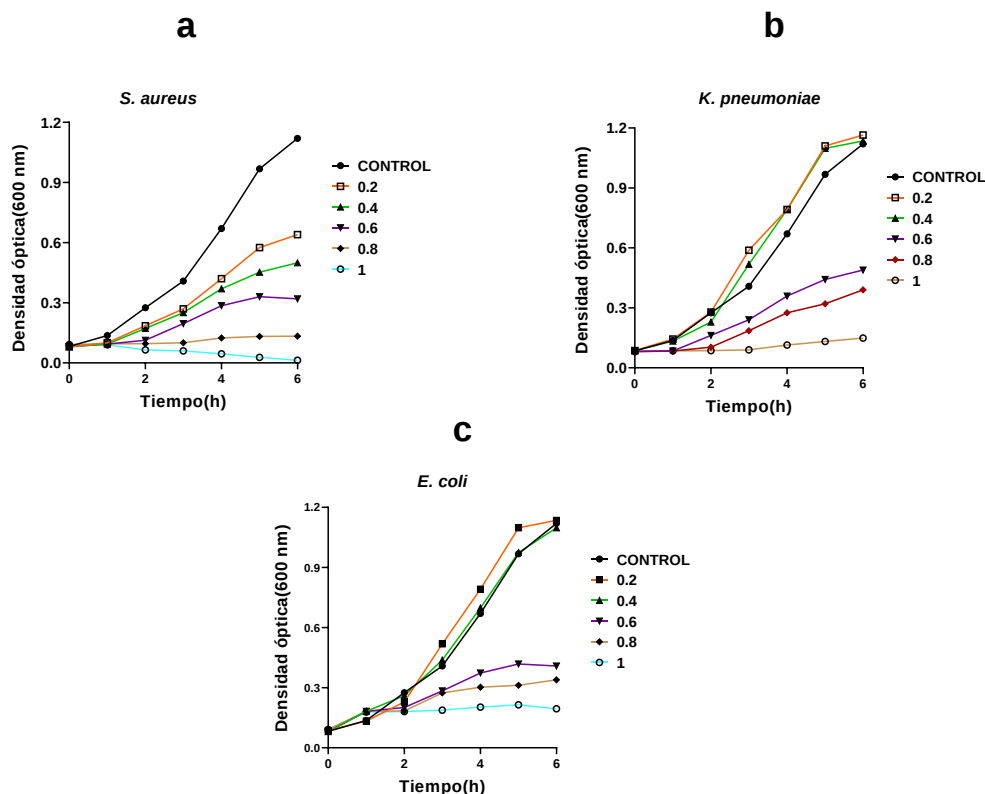


Figura 3. Efecto de las Ag-CuNPs sobre la proliferación de los aislados bacterianos de *S. aureus*, *K. pneumoniae* y *E. coli* en ensayos de 6 horas.

Efecto de las Ag-CuNPs sobre la viabilidad celular de *S. aureus*, *K. pneumoniae* y *E. coli* mediante el método de reducción del Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difenil tetrazolio (MTT)

En la Figura 4, se observan los efectos individuales de las Ag-CuNPs sobre la viabilidad bacteriana en ensayos de 24 horas. El crecimiento bacteriano disminuye progresivamente a medida que aumenta la concentración de las Ag-Cu NPs. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se alcanza notablemente a una concentración cercana a 0,8 mg/mL frente a *S. aureus*, donde la densidad óptica (D.O.) se reduce a 0,2. En contraste, en las figuras B (*E. coli*) y C (*K. pneumoniae*) se observa que los aislados clínicos de las bacterias Gram-negativas muestran una menor reducción de la viabilidad celular en el rango de concentraciones ensayadas, con una CMI mayor, cercana a 1 mg/mL.

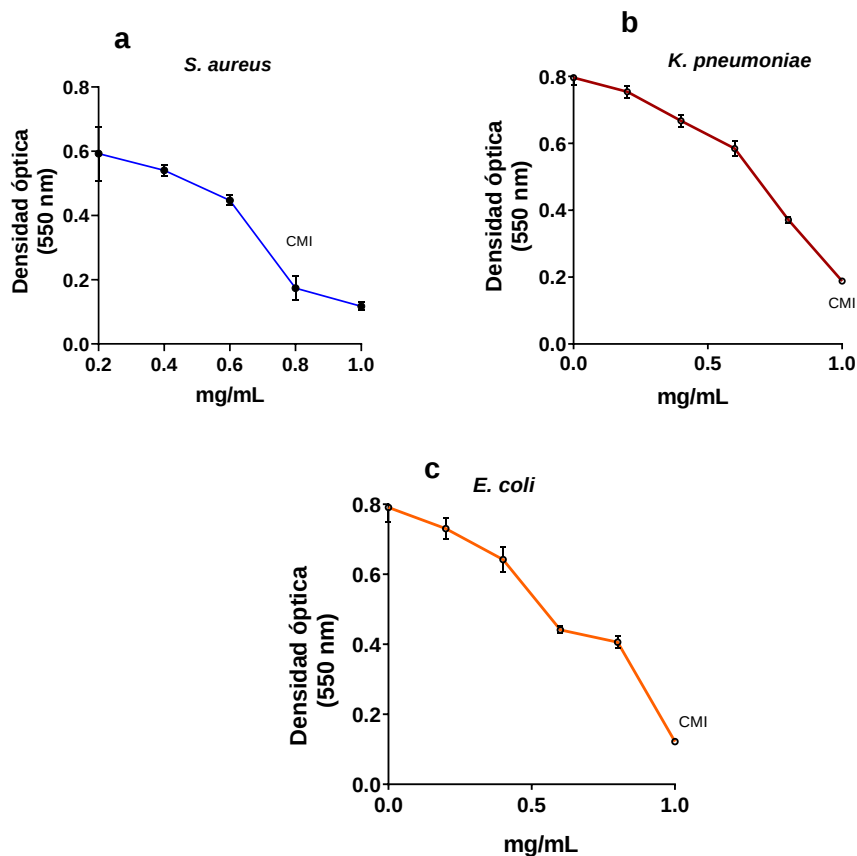


Figura 4. Efectos de las Ag-CuNPs sobre viabilidad celular de los aislados bacterianos de (a) *S. aureus*, (b) *K. pneumoniae* y (c) *E. coli* en ensayos de 24 horas.

DISCUSIÓN

El desarrollo de nanomateriales como las NPs bimetálicas ha originado un gran interés gracias a sus características y excelentes propiedades tanto físicas como químicas, producto del tamaño nanométrico, la morfología de la superficie de las mismas y el área superficial. Las nuevas tendencias en la síntesis de nanomateriales están enfocadas en la "síntesis verde", es decir, en el uso de productos naturales o de moléculas aisladas como flavonoides, aminoácidos, azúcares y antocianinas^(18,19).

Con respecto a la optimización de la síntesis de las Ag-CuNPs, se observó que bajo todas las concentraciones ensayadas de sales de nitrato de plata y sulfato de cobre y de relación de volumen sal y Glu se obtuvieron las NPs, esto atribuido al efecto que ejerce el Glu, de reducir el metal y originar la formación de las NPs correspondientes, contribuyendo al mismo tiempo a su estabilización por medio interacciones tipo Van der Waals^(20,21). Así mismo el plasmón superficial (barrido espectral), coincide con lo reportado en diversas investigaciones que señalan que el máximo de absorción para este tipo de NPs bimetálica formadas por plata y cobre esta alrededor de los 525 nm y con una mayor distribución de tamaño de 60 a 63 nm⁽²²⁾. Por otro lado, diversos investigadores han logrado la síntesis de nanopartículas bimetálicas de Cu-Ni, las cuales se obtuvieron a partir de suspensiones de carbonato de níquel y carbonato de cobre, y soluciones de nitrato de níquel y nitrato de cobre en etilenglicol, como disolvente y agente reductor,

obteniendo en dicha síntesis de nanopartículas de CuNi_3 y Cu_3Ni un de tamaño uniforme en un rango de 20-30 nm, lo que indica que la distribución del tamaño de las NPs es dependiente de la ruta de síntesis⁽²³⁾.

Diversos estudios destacan que las Ag-CuNPs han demostrado poseer propiedades bacteriostáticas y bactericidas asociadas con un incremento en el área de contacto, aumentando sus actividades físicas y químicas, las cuales desencadenan una serie de eventos moleculares en la cual las especies reactivas de oxígeno desempeñan un rol fundamental con daño al ADN bacteriano^(8,22). En este sentido, la evaluación del efecto antimicrobiano de las Ag-CuNPs, para todo el rango de concentraciones ensayadas, permitió evidenciar inhibición en la proliferación de los aislados bacterianos de *S. aureus* con una concentración mínima inhibitoria cercana a los 0,8 mg/mL. Sin embargo, cuando se detallan los efectos de las Ag-CuNPs sobre los aislados bacterianos de *K. pneumoniae* y *E. coli*, es notable el fenómeno denominado hormesis, ya que en las dos concentraciones más bajas de las Ag-CuNPs (0,2 y 0,4 mg/mL), hubo crecimiento por encima del control. El fenómeno hormesis representa una estrategia evolutiva central que está restringida por los límites de la plasticidad biológica^(23,24). El hecho de que dichas respuestas integrativas y adaptativas compartan características cuantitativas similares en general en todos los filos sugiere que se adoptó un compromiso evolutivo clave entre el grado en que se produce el rendimiento biológico (es decir, la amplitud de la estimulación) y el coste de dicho rendimiento mejorado en el contexto de la gestión de recursos biológicos limitados⁽²⁵⁾. Basándose en la enormidad y diversidad de respuestas horméticas en los reinos vegetal, microbiano y animal, el rango estimulador consistentemente modesto de la hormesis (entre 30 y 60% por encima de los controles) representa y realmente define los límites de la plasticidad biológica⁽²⁵⁾. Aunque algunos estudios describen que los antibióticos pueden estimular una respuesta hormética en bacterias Gram-negativas, no parece haber ningún estudio que haya investigado las respuestas horméticas inducidas por NP metálicas relacionadas con bacterias Gram-negativas⁽²⁷⁾. Estudios sobre las respuestas horméticas en bacterias expuestas a antibióticos sugieren que dichas respuestas comprenden mecanismos de supervivencia especializados y facilitan el crecimiento exponencial a bajas concentraciones de agentes antimicrobianos. Se han realizado estudios que exploran la forma en que las nanopartículas pueden iniciar respuestas horméticas^(28,29). Sin embargo, aún no se han dilucidado los mecanismos mediante los cuales las nanopartículas pueden lograr dicha respuesta en las células bacterianas^(30,31). Respecto a las CMI, éstas estuvieron cercanas a 1 mg/mL, una concentración mayor si la comparamos con la de *S. aureus*. Esta diferencia puede estar atribuida a la estructura bacteriana (Figura 5).

Fuente: Sagulenko et al. (2014)(32).

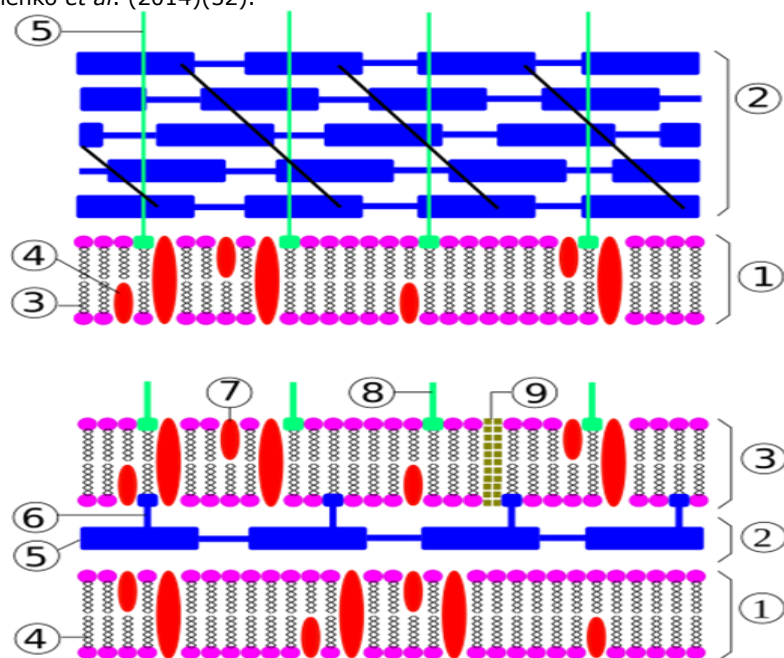


Figura 5. Comparación de las envolturas celulares bacterianas. Arriba: Bacteria Gram positiva. 1-membrana citoplasmática, 2-peptidoglicano, 3-fosfolípidos, 4-proteínas, 5-ácido lipoteicoico. Abajo: Bacteria Gram negativa. 1-membrana citoplasmática (membrana interna), 2-espacio periplasmático, 3-membrana externa, 4-fosfolípidos, 5-peptidoglicano, 6-lipoproteína, 7-proteínas, 8-lipopolisacáridos, 9-porinas.

Los efectos observados con otro tipo de NPs bimetálica, demuestran inhibición en la proliferación de *S. aureus* con una CMI cercana a 0,9 mg/mL al emplear nanopartículas estructuradas de hierro y plata en la investigación realizada por Elkashif y Seleem, (2020)⁽³³⁾, asociando este efecto a las condiciones de síntesis. De igual manera, destaca el estudio realizado por Gabriel et al., 2022⁽³⁴⁾, quienes evaluaron la eficiencia antimicrobiana de las NPs de cobre y oro obtenidas con *Allium sativum* leaf sobre diversos patógenos entre ellos *S. aureus* y *K. pneumoniae*. Sin embargo, la CMI obtenida por estos investigadores estuvo cercana a 1,8 mg/mL, lo que podría atribuirse al mayor tamaño de las CuNPs (74nm).

En conclusión, las Ag-CuNPs exhibieron un prometedor efecto antimicrobiano selectivo contra la bacteria Gram-positiva *S. aureus*, inhibiendo su crecimiento de forma dependiente de la dosis. Así mismo la actividad fue menor contra los aislados clínicos de bacterias Gram-negativas (*K. pneumoniae* y *E. coli*). La baja actividad, sumado a la evidencia del fenómeno de Hormesis a bajas concentraciones, sugiere una resistencia determinada por la estructura de su envoltura celular.

Contribución de los autores

Diseño del experimento, Análisis de datos e interpretación de datos, Metodologías, Supervisión de actualización de referencias: Franklin Pacheco. Análisis de datos, Metodologías, Diseño de gráficos, Actualización de referencias: María Páez. Aplicación de Metodologías, Diseño de figuras, Actualización de referencias: Yohender Pandares.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Financiamiento

Recursos propios de los autores.

Disponibilidad de datos

Todos los datos generados en cada experimento y analizados durante la investigación están disponibles previa solicitud al autor correspondiente: Franklin Jesús Pacheco Coello, correo electrónico: fpacheco2@uc.edu.ve

Revisión por pares

Este artículo fue evaluado mediante un proceso de revisión por pares doble ciego, conforme a la política de transparencia editorial de la revista. Los comentarios de los evaluadores y su identidad no están disponibles para esta publicación. Las observaciones y sugerencias fueron consideradas por los autores, quienes realizaron las modificaciones necesarias hasta llegar a la versión final publicada. Este procedimiento tiene como objetivo garantizar la integridad científica del artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. 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; 33(1):79-92. <https://doi.org/10.18273/revion.v33n1-2020008>
2. Raji M, Umaru G, Kwaga J, Bello A, Joshua I, Ido, F. et al. *Staphylococcus aureus* sequence type (ST) 1 isolated from sub clinical mastitis in settled Fulani herds in Kaduna State. *J Microbiol Antimicrob*. 2024; 16(1): 11-20. <https://doi.org/10.5897/jma2021.0446>.
3. López J, Echeverri, L. K. *pneumoniae*: ¿la nueva "superbacteria"? Patogenicidad, epidemiología y mecanismos de resistencia. *IA TREIA*. 2016; 23(2): 157-165. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030288>
4. Arnaiz García AM, Sotelo García M, Varela César C. Intravesical colistin as treatment of complicated urinary infection due to *Klebsiella pneumoniae* BLEE OXA-48. Colistina intravesical en el tratamiento de la infección urinaria complicada por *Klebsiella pneumoniae* BLEE OXA-48. *Med Clin*. 2020; 155(12): 563-564. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2019.09.017>
5. Maraki S, Papadakis IS. Evaluation of antimicrobial combinations against colistin-resistant carbapenemase (KPC)-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J. Chemother*. 2015; 27(6): 348-352. <https://doi.org/10.1179/1973947814Y.000000218>
6. Richards BA, Goncalves AG, Sullivan MO, Chen W. Engineering protein nanoparticles for drug delivery. *Curr Opin Biotechnol*. 2024; 86: 103-1070. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2024.103070>
7. Neamati F, Kodori M, Feizabadi MM, et al. Bismuth nanoparticles against microbial infections. *Nanomedicine*. 2022; 17(27): 2109-2122. <https://doi.org/10.2217/nnm-2022-0153>
8. Pacheco f. Synthesis of lithium and silver nanoparticles by greenchemistry and its antimicrobial effect on *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae*. *Rev.Bol.Quim*. 2024; 41(1): 60-66. <https://doi.org/10.34098/2078-3949.41.1.8>
9. Gutiérrez-Wing C, Velázquez-Salazar JJ, José-Yacamán M. Procedures for the Synthesis and Capping of Metal Nanoparticles. *Methods Mol. Biol*. 2020; 2118: 3-20. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0319-2_1
10. Osorio HM, Castillo-Solís F, Barragán SY, Rodríguez-Pólit C, Gonzalez-Pastor R. Graphene Quantum Dots from Natural Carbon Sources for Drug and Gene Delivery in Cancer Treatment. *Int. J Mol Sci*. 2024; 25(19): 10539. <https://doi.org/10.3390/ijms251910539>
11. Gour A, Jain NK. Advances in green synthesis of nanoparticles. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2019; 47(1): 844-851. <https://doi.org/10.1080/21691401.201>
12. Pérez-Ocón F, Pozo AM, Cortina J, Rabaza O. Design of a Surface Plasmon Resonance CO Sensor. *Sensors (Basel)*. 2022; 22(9): 3299. <https://doi.org/10.3390/s22093299>

13. Qiao X, Xue Z, Liu L, Liu K, Wang T. Superficial-Layer-Enhanced Raman Scattering (SLERS) for Depth Detection of Noncontact Molecules Adv Mater. 2019; 31(4): e1804275. <https://doi.org/10.1002/adma.201804275>
14. Triana JL, Triana-Alonso F, González G, Lozano G, Reggio R, Ferreras AC. Efecto de la insulina en *Saccharomyces cerevisiae*: estimulación de la actividad enzimática de piruvato quinasa, expresión de proteínas citoplasmáticas y proliferación celular. Rev Soc Ven Microbiol. 2011; 31: 48-56. <https://doi.org/10.1186/s12934-024-02571-2>
15. Nagime PV, Singh S, Shaikh NM, Gomare KS, Chitme H, Abdel-Wahab BA, Alqahtany YS, Khateeb MM, Habeeb MS, Bakir MB. Biogenic Fabrication of Silver Nanoparticles Using *Calotropis procera* Flower Extract with Enhanced Biomimetics Attributes. Materials (Basel). 2023 May 30; 16(11): 4058. doi: <https://doi.org/10.3390/ma16114058> PMID: 37297192; PMCID: PMC10254777.
16. McFarland J. The nephelometer—An instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. J. Am. Med. Assoc. 1907; 49: 1176-1178. <https://doi.org/10.1001/jama.1907.25320140022001f>
17. Denizot F, Lang R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. J Immunol Methods. 1986;89(2):271-277. [https://doi.org/10.1016/00221759\(86\)90368-6](https://doi.org/10.1016/00221759(86)90368-6)
18. More PR, Zannella C, Folliero V, et al. Antimicrobial Applications of Green Synthesized Bimetallic Nanoparticles from *Ocimum basilicum*. Pharmaceutics. 2022;14(11):2457. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14112457>
19. Lomeli-Marroquín D, Medina Cruz D, Nieto-Argüello A, et al. Starch-mediated synthesis of mono- and bimetallic silver/gold nanoparticles as antimicrobial and anticancer agents. Int J Nanomedicine. <https://doi.org/10.2147/IJN.S192757>
20. Yoshinaga T, Hashimoto K, Teranishi N, Ono A. Photon confinement in a silicon cavity of an image sensor by plasmonic diffraction for near-infrared absorption enhancement. Opt Express. 2022; 30(20):35516-35525. <https://doi.org/10.1364/oe.472401>
21. Scattolo E, Cian A, Petti L, Lugli P, Giubertoni D, Paternoster G. Near Infrared Efficiency Enhancement of Silicon Photodiodes by Integration of Metal Nanostructures Supporting Surface Plasmon Polaritons. Sensors. 2023; 23(2):856. <https://doi.org/10.3390/s23020856>
22. Al-Haddad J, Alzaabi F, Pal P, Rambabu K, Banat, F. Síntesis ecológica de nanopartículas bimetálicas de cobre y plata y su aplicación en actividades catalíticas y antibacterianas. Clean Technol Envir. 2020, 22: 269-277. <https://doi.org/10.3390/cryst13040637>
23. Naranjo-Herrera AM, Correa-Torres SN, Herrera-Barros AP. Evaluación de la propiedad antimicrobial de las nanopartículas de oro sintetizadas con extractos de *Tamarindus Indica L* y *Mangifera Indica L*. Ing Investig Tecnol. 2017; (4): 389-398. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-77432017000400389
24. Khan A, Anas M, Bibi F. Phytochemical-Mediated Green Synthesis of Silver, Copper, and Ag-Cu Bimetallic Nanoparticles Using *Peganum harmala* Demonstrating Advanced Catalytic, Antioxidant, and Biomedical Applications. Appl Biochem Biotechnol. 2025; 197(6): 3630-3667. <https://doi.org/10.1007/s12010-025-05186-4>
25. Van der Schalie WH, Gentile JH. Ecological risk assessment: implications of hormesis. J Appl Toxicol. 2000; 20(2): 131-139. <https://doi.org/10.1038/s41514-024-00155-3>
26. Si H, Zhou G, Luo Y, Wang Z, Pan X, Dao G. Hormesis in the Assessment of Toxicity Assessment by Luminescent Bacterial Methods. Toxics. 2024; 12(8): 596. <https://doi.org/10.3390/toxics12080596>
27. Wan Y, Liu J, Mai Y, et al. Current advances and future trends of hormesis in disease. NPJ Aging. 2024;10(1): 26.
28. Calabrese EJ, Baldwin LA. Defining hormesis. Hum Exp Toxicol. 2002; 21(2): 91-97. <https://doi.org/10.1191/0960327102ht217oa>
29. Migliore L, Rotini A, Thaller MC. Dosis bajas de tetraciclina desencadenan el crecimiento de *E. coli*: Un caso de respuesta hormética. Dose-response. 2013; 11(4): 13-26. <https://doi.org/10.2203/doseresponse.13-002.Migliore>

30. Yang Y, Alvarez PJ. Las concentraciones subletales de nanopartículas de plata estimulan el desarrollo de biopelículas. *Environ Sci Technol Lett.* 2015; 2(8): 221-226.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics14030289>
31. Iavicoli I, Leso V, Fontana L, Calabrese EJ. Exposición a nanopartículas y respuestas dosis-efecto horméticas: una actualización. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(3): 805-818.
<https://doi.org/10.3390/ijms19030805>
32. Sagulenko E, Morgan G.P, Webb R.I, Yee B, Lee K-C, Fuerst J.A. «Structural Studies of *Planctomycete Gemmata obscuriglobus* Support Cell Compartmentalisation in a Bacterium». *PLoS One.* 2014; 9(3): e91344.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091344>
33. Elkashif A, Seleem MN. Investigation of auranofin and gold-containing analogues antibacterial activity against multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae*. *Sci Rep.* 2020;10(1):5602.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-62696-3>
34. Gabriel T, Vestine A, Kim KD, Kwon SJ, Sivanesan I, Chun SC. Antibacterial Activity of Nanoparticles of Garlic (*Allium sativum*) Extract against Different Bacteria Such as *Streptococcus mutans* and *Poryphomonas gingivalis*. *Applied Sciences.* 2022; 12(7): 3491.
<https://doi.org/10.3390/app12073491>