

¿Cuál es el Efecto de Diferentes Agentes Antimicrobianos en el Crecimiento de Microorganismos en Agar Nutritivo?

What is the Effect of Different Antimicrobial Agents on the Growth of Microorganisms in Nutrient Agar?

Guzmán Giraldo, Isabella; Kanaseki Martínez, María; Van Londoño, Isabella.

GRADO DÉCIMO

DOCENTE: Blanca Helena Escorcia Aparicio

Colegio Jefferson

Yumbo, Valle del Cauca

Tel: 6582700 ext.118

bescorcia@jefferson.edu.co

INTRODUCCION/ANTECEDENTES

Para realizar esta investigación, llevamos a cabo varios procesos, en diferentes momentos. Todo comenzó con un proceso experimental realizado en la clase de ciencias naturales, cuando estábamos en grado octavo, en el año lectivo 2015- 2016.

En ese entonces, en el contexto del estudio de la reproducción y otros procesos de vida de organismos unicelulares, planteamos tres preguntas experimentales sobre las que trabajamos diferentes grupos de estudiantes.

Estas preguntas fueron: ***¿Cuál es la biodiversidad de microorganismos en diferentes objetos de uso diario antes y después del uso de agentes antimicrobianos? ¿Cuál es la biodiversidad de microorganismos en diferentes partes del cuerpo humano antes y después del uso de agentes antimicrobianos? ¿Cuál es el efecto de antibióticos comerciales y naturales en el crecimiento de microorganismos?***

Para contestar estas preguntas, tomamos muestras de distintas partes del cuerpo y de objetos de uso cotidiano, bajo dos condiciones, una con la muestra sola y otra con distintos productos antisépticos, y las sembramos en cajas Petri con agar nutritivo, preparado bajo condiciones de esterilidad. También incluimos controles negativos. Formulamos nuestras hipótesis según nuestras experiencias y observaciones previas y llevamos a cabo los experimentos, procurando las mejores condiciones de esterilidad posibles, teniendo en cuenta la ausencia de una cabina de flujo laminar para realizar los cultivos.

Registramos nuestras observaciones en tablas de resultados en las que consignamos la siguiente información: Número de especies de microorganismos presentes en el cultivo, número de especies de bacteria, número de especies de hongo, estimación del porcentaje del área cubierta por colonias de microorganismos, tipo de microorganismo predominante (ya fuera hongo/bacteria o la especie). Para realizar este trabajo primero aprendimos a diferenciar las colonias de hongos de las de bacterias, y luego aprendimos a diferenciar entre especies de bacterias, lo que no fue fácil debido a que diferentes especies de bacterias pueden producir colonias de aspecto similar, así como algunas levaduras. Para hacer una identificación más precisa tendríamos que haber realizado pruebas bioquímicas, recurso con

el cual no contábamos. Afortunadamente, esto no fue un impedimento para cumplir con los objetivos generales del proyecto.

Una vez hechas las observaciones, analizamos nuestros resultados y escribimos un reporte, a partir de una serie de preguntas guía, detallando con qué nos encontramos en el laboratorio, y finalmente nuestras conclusiones.

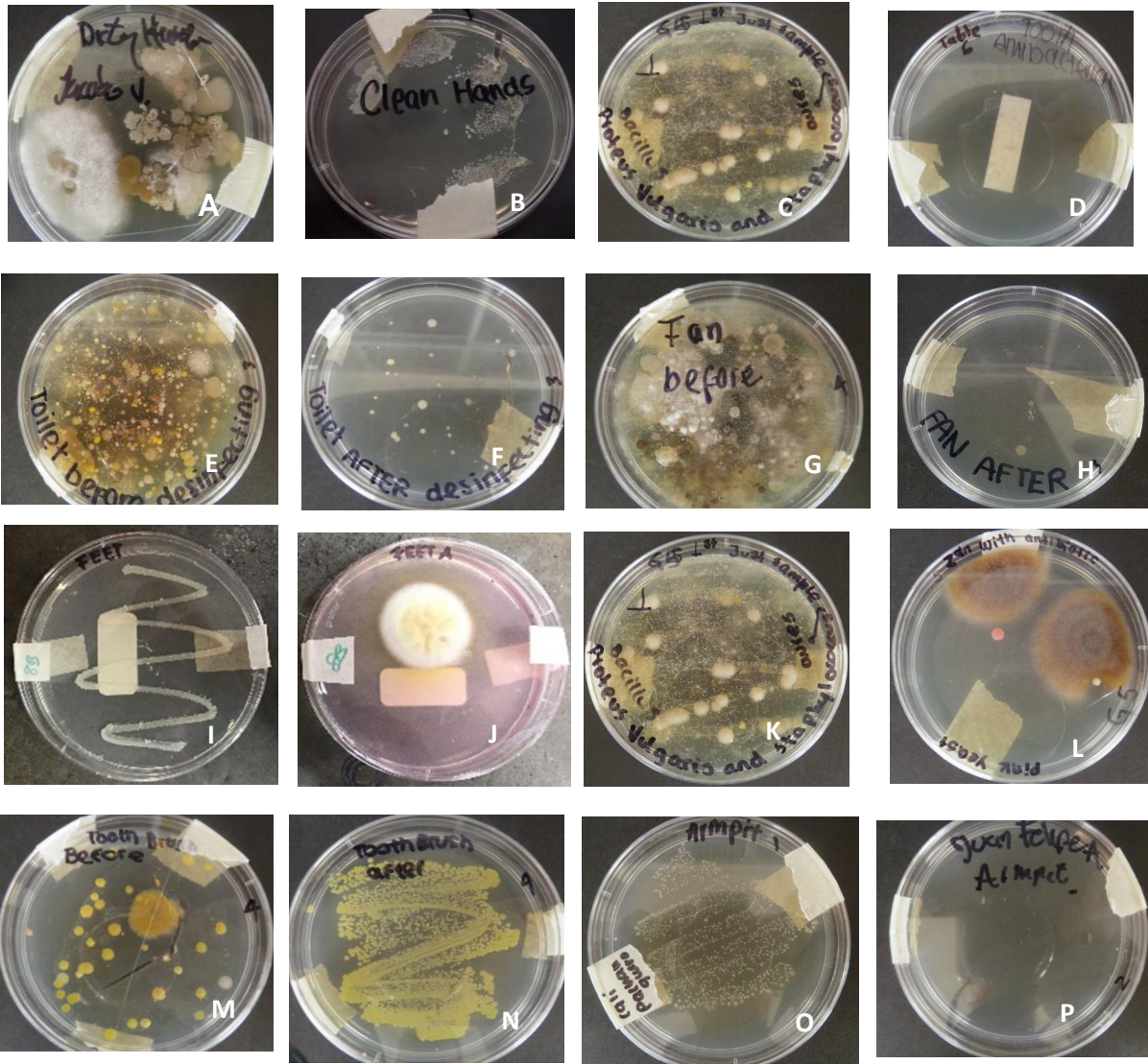


Figura 1. Cultivos de microorganismos en diferentes muestras. **A** Manos sin lavar. **B**. Manos lavadas con jabón antibacterial. **C**. Muestra de boca/dientes. **D**. Muestra de boca/dientes con jabón antibacterial agregado al cultivo. **E**. Muestra del inodoro antes de ser desinfectado con pañitos Clorox®. **F**. Muestra del inodoro después de ser desinfectado con pañitos Clorox®. **G**. Muestra del ventilador antes de ser desinfectado **H**. Muestra de ventilador después de ser desinfectado con pañitos Clorox®. **I**. Muestra de pies/dedos. **J**. Muestra de pies con antibiótico amoxicilina **K**. Muestra de boca/dientes (igual que C). **L**. Muestra de boca/dientes con amoxicilina agregada al medio de cultivo. **M**. Muestra de cepillo de dientes antes de ser lavado con crema dental. **N**. Muestra de cepillo de dientes después de ser lavado con crema dental. **O**. Muestra de axila sin desodorante. **P**. Muestra de axila con desodorante.

En este experimento inicial observamos que la mayor diversidad, como se observa en la Figura 1, se encontró en las muestras de las manos sin lavar, el ventilador y el inodoro antes de la desinfección. En la muestra del inodoro se encontraron más especies de bacteria que de hongos, al contrario que en la muestra del ventilador. Así mismo, en las muestras provenientes de partes del cuerpo predominaron bacterias, tres especies fueron las más comunes. En muestras provenientes de objetos encontramos mayor diversidad de hongos, pero también de bacterias, siendo cinco de ellas las más comunes.

Además, se observó un claro efecto de los agentes antimicrobianos sobre la diversidad y el área de crecimiento de los microorganismos en las muestras. El uso de pañitos Clorox® y jabón antibacterial tuvo este efecto. No podemos decir lo mismo de la crema dental, para la que los cultivos después de usar la crema para lavar el cepillo tuvieron una mayor área cubierta de bacterias.

Hicimos algunas observaciones interesantes que motivaron nuestro interés en realizar nuevos experimentos. La primera fue que en presencia de jabón antibacterial, el crecimiento de microorganismos (tanto hongos como bacterias) era casi nulo o nulo en algunos cultivos. La segunda observación fue que en presencia de antibiótico amoxicilina efectivamente no había crecimiento bacteriano, pero sí proliferaban colonias de hongos. Y la tercera observación fue que en las muestras de axila con desodorante no creció ningún microorganismo versus las muestras de axila sin desodorante en la que crecieron colonias de una bacteria.

Estos resultados nos llevaron a indagar más sobre los ingredientes activos presentes en las sustancias utilizadas. Encontramos que el desodorante que se había utilizado contenía nanopartículas de plata y el jabón antibacterial contenía triclosán. Además nos llamó la atención el efecto de la amoxicilina, descrito en el párrafo anterior.

A partir de estos resultados decidimos, ya en décimo, ahondar en el experimento, poniéndonos nuevas interrogantes, buscando tener un experimento más completo, con un mejor diseño experimental. Planteamos la pregunta experimental ***¿Cuál es el Efecto de Diferentes Agentes Antimicrobianos en el Crecimiento de Microorganismos en Agar Nutritivo?***

MATERIALES Y MÉTODO

El proceso experimental que se describe a continuación fue realizado en Septiembre y Octubre del 2017. En esta ocasión nos concentramos en estudiar el efecto de algunos productos que en el experimento anterior habían mostrado resultados interesantes. Nos propusimos observar el efecto de algunos productos antimicrobianos sobre el crecimiento de microorganismos en cajas de petri, a saber, dos productos que contienen triclosán (jabón y gel antibacterial), dos productos que contienen nanopartículas de plata (plata coloidal y desodorante para pies) y dos antibióticos comerciales (cefalexina y amoxicilina) e incluimos más repeticiones y controles de las sustancias.

Para realizar este experimento, creamos una guía en la que definimos nuestros objetivos, nuestro diseño experimental, el procedimiento que seguiríamos y los materiales que

necesitaríamos, a la par de las investigaciones bibliográficas respecto a los ingredientes activos que estábamos utilizando.

Según nuestras observaciones anteriores escribimos nuestras predicciones entre las cuáles estaba que los productos con triclosán inhibirían el crecimiento tanto de bacterias como de hongos, que los antibióticos comerciales inhibirían el crecimiento de bacterias pero favorecerían el crecimiento de hongos, y que los productos con nanopartículas de plata inhibirían el crecimiento tanto de hongos como bacterias, como sugerían las observaciones del experimento anterior.

Diseño Experimental. Las muestras que se incluyeron en este estudio se muestran en la **Tabla 1**. Todas las condiciones se llevaron a cabo tanto en muestras de raspado de boca como de pies. Además, se incluyeron controles negativos del agua estéril utilizada para sembrar las muestras y controles de todas las sustancias antimicrobianas utilizadas. Con el fin de que se puedan reproducir los experimentos se incluyen las marcas usadas.

Muestra Pies	Muestra Boca
Muestra de pies sin sustancias antimicrobianas x 4	Muestra de boca sin sustancias antimicrobianas x 4
Amoxicilina MK© 250 mg/5 ml x 3 repeticiones	Amoxicilina MK© 250 mg/5 ml x 3 repeticiones
Cefalexina MK© 250 mg/5 ml x 3 repeticiones	Cefalexina MK© 250 mg/5 ml x 3 repeticiones
Desodorante para pies con nanopartículas de plata (Hansaplast©) x 3 repeticiones	Desodorante para pies con nanopartículas de plata (Hansaplast©) x 3 repeticiones
Plata coloidal Sovereign silver© 10 ppm x 3 repeticiones	Plata coloidal Sovereign silver© 10 ppm x 3 repeticiones
Jabón antibacterial con triclosán Capibell© x 3 repeticiones	Jabón antibacterial con triclosán Capibell© x 3 repeticiones
Gel antibacterial con triclosán Bacterion© x 3 repeticiones	Gel antibacterial con triclosán Bacterion© x 3 repeticiones

Tabla 1. Muestras del experimento, cada una con tres repeticiones. Además se incluyeron controles para todas las sustancias utilizadas, incluyendo el agua estéril.

Procedimiento. Se siguió el mismo procedimiento que llevamos a cabo en el experimento descrito en la introducción. Los experimentos fueron realizados en los laboratorios del Colegio Jefferson, en el que no contamos con cabina de flujo laminar. La siembra de los cultivos se hizo bajo las mejores condiciones de esterilidad posibles. El agar nutritivo en las cajas de Petri fue elaborado por una casa comercial bajo condiciones estrictas de esterilidad. La siembra de las muestras se hizo frente a mecheros de alcohol, con copitos de algodón estériles, agua estéril y jeringas estériles para la reconstitución de algunas sustancias como cefalexina y amoxicilina, además de recipientes estériles comprados en farmacia.

Para cada muestra se humedeció el copito en agua estéril, se raspó la superficie de la muestra ya fuera del interior de la boca o de los pies con un copito de algodón estéril y luego se sembró en el medio de cultivo, en forma de zig zag. En los casos en que se agregaron sustancias antimicrobianas, se agregaron 2.5 ml de la sustancia y tras cerrarlos se repartió bien por toda la superficie, moviendo las cajas en forma circular. Todo esto se hizo frente al

mechero de alcohol. Las cajas estaban previamente rotuladas. Se cerraron con papel Parafilm® no totalmente sellado para permitir la entrada de oxígeno. Se pusieron las cajas Petri boca abajo en bandejas y se incubaron a temperatura ambiente. Se incubaron durante 5-7 días, tiempo tras el cual se observó crecimiento de microorganismos en las muestras.

Registro de Observaciones y Resultados. Al igual que en el experimento anterior, en una tabla registramos lo siguiente para cada muestra: estimación del porcentaje de superficie de cultivo cubierta de colonias, número total de especies, número de especies de hongo, número de especies de bacteria, tipo de organismo predominante (bacteria u hongo) y especie predominante. Para identificar las especies, usamos diferentes guías. Como se explica en la introducción, ya habíamos aprendido a diferenciar hongos de bacterias, en la mayoría de los casos. Para determinar la biodiversidad, no usamos índices de biodiversidad, sino número total de especies.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se muestran los datos registrados de nuestra observación. En el desarrollo del texto se describen las generalidades de nuestras observaciones a partir de los datos. Además, en la Figura 2 se incluyen algunas fotos de los cultivos a partir de los cuáles se elaboró la tabla de resultados.

MUESTRA	% SUPERFICIE CUBIERTA	Número total de especies	Número especies de hongo	Número especies de bacteria	Especie predominante	Tipo microorganismo predominante
Control agua 1	2%	1	1	0	Levadura blanca	Hongo
Control agua 2	35%	3	1	2	Bacteria blanca	Bacteria
Control agua 3	0%	0	0	0	N.A	N.A
Control agua 4	0%	0	0	0	N.A	N.A
Solo pies R1	45%	5	1	4	<i>Proteus vulgaris</i>	Bacteria
Solo pies R2	10%	2	0	2	<i>Proteus vulgaris</i>	Bacteria
Solo Pies R3	50%	3	2	1	<i>Proteus vulgaris</i>	Bacteria
Solo pies R4	80%	2	0	2	<i>Proteus vulgaris</i>	Bacteria
Solo Boca R1	20%	5	2	3	1 hongo	Hongo
Solo Boca R2	5%	1	0	1	<i>Proteus vulgaris</i>	Bacteria
Solo Boca R3	30%	4	2	2	2 hongos	Hongos
Solo Boca R4	32%	2	0	2	<i>Proteus vulgaris</i>	Bacteria
Amoxicilina 1 Control	3%	2	2	0	1 Hongo poco abundante	Hongo
Amoxicilina 2 Control	3%	3	3	0	1 Hongo poco abundante	Hongo
Amoxicilina pies 1	85%	6	5	1	Especies de hongo	Hongos
Amoxicilina pies 2	3%	1	1	0	Especies de hongo	Hongos
Amoxicilina pies 3	85%	10	9	1	Especies de hongo	Hongos
Amoxicilina boca 1	10%	4	4	0	<i>Trichoderma/2 verdes</i>	Hongo
Amoxicilina boca 2	85%	5	5	0	Especies de hongo	Hongo
Amoxicilina boca 3	27%	1	1	0	Verdes/blancos	Hongo
Cefalexina 1 Control	1%	1	1	0	1 hongo verde oscuro negro abajo	Hongo

Cefalexina 2 Control	1%	1	1	0	Hongo	Hongos
Cefalexina Pies 1	7%	6	6	0	4 especies de hongo	Hongos
Cefalexina Pies 2	1%	1	1	0	hongo blanco	Hongos
Cefalexina Pies 3	7%	4	4	0	3 hongos	Hongos
Cefalexina Boca 1	4%	2	1	1	<i>Bacillus/ Trichoderma</i>	Hongo
Cefalexina Boca 2	1%	1	1	0	Trichoderma	Hongo
Cefalexina Boca 3	3%	2	1	1	<i>Trichoderma/ Bacillus</i>	Hongo
Gel antibacterial Control 1	0%	0	0	0	N.A	N.A
Gel antibacterial Control 2	0%	0	0	0	N.A	N.A
Gel Antibacterial pies 1	0%	0	0	0	N.A	N.A
Gel Antibacterial pies 2	0%	0	0	0	N.A	N.A
Gel Antibacterial pies 3	0%	0	0	0	N.A	N.A
Gel Antibacterial Boca 1	0%	0	0	0	N.A	N.A
Gel Antibacterial Boca 2	0%	0	0	0	N.A	N.A
Gel Antibacterial Boca 3	0%	0	0	0	N.A	N.A
Jabón antibacterial Control	0%	0	0	0	N.A	N.A
Jabón antibacterial Pies 1	3%	1	0	1	<i>Proteus vulgaris</i>	Bacteria
Jabón antibacterial Pies 2	4%	1	0	1	<i>Proteus vulgaris</i>	Bacteria
Jabón antibacterial Boca 1	0%	0	0	0	N.A.	N.A.
Jabón antibacterial Boca 2	25%	1	0	1	<i>Proteus vulgaris</i>	Bacteria
Jabón antibacterial Boca 3	5%	1	0	1	<i>Proteus vulgaris</i>	Bacteria
Plata coloidal control 1	10%	4	1	3	<i>Proteus vulgaris</i>	Bacteria
Plata coloidal control 2	100% contaminado	3	2	1	<i>Proteus vulgaris</i>	Bacteria
Plata coloidal boca 1	30%	5	2	3	<i>Bacillus subtilis</i>	Bacteria
Plata coloidal boca 2	17%	3	1	2	<i>Bacillus subtilis</i>	Bacteria
Plata coloidal boca 3	48,30%	4	1	3	<i>Proteus vulgaris</i>	Bacteria
Plata coloidal pies 1	100% contaminado	2	0	2	<i>Proteus vulgaris</i>	Bacteria
Plata coloidal pies 2	90% contaminado	3	0	3	<i>Proteus vulgaris</i>	Bacteria
Plata coloidal pies 3	95% contaminado	4	1	3	<i>Proteus vulgaris</i>	Bacteria
Desodorante pies plata control 1	8%	3	3	0	Levadura blanca	Hongo
Desodorante pies plata control 2	20%	2	1	1	<i>Proteus vulgaris</i>	Bacteria
Desodorante pies plata Boca 1	5%	3	1	2	<i>Proteus vulgaris</i>	Bacteria
Desodorante pies plata Boca 2	3%	3	1	2	<i>Proteus vulgaris</i>	Bacteria
Desodorante pies plata Boca 3	5%	4	2	2	Levadura rosada	Hongo
Desodorante Pies plata 1	15%	4	2	2	<i>Proteus vulgaris</i>	Bacteria
Desodorante pies plata 2	20%	5	2	3	<i>Proteus vulgaris</i>	Bacteria
Desodorante pies plata 3	15%	6	4	2	<i>Proteus vulgaris</i>	Bacteria

Tabla 2. Registro de observaciones de los diferentes cultivos incluyendo: estimación de porcentaje de superficie cubierta con colonias, número total de especies, número de especies de hongos, número de especies de bacteria, tipo de organismo predominante (bacteria/hongo), especie predominante.

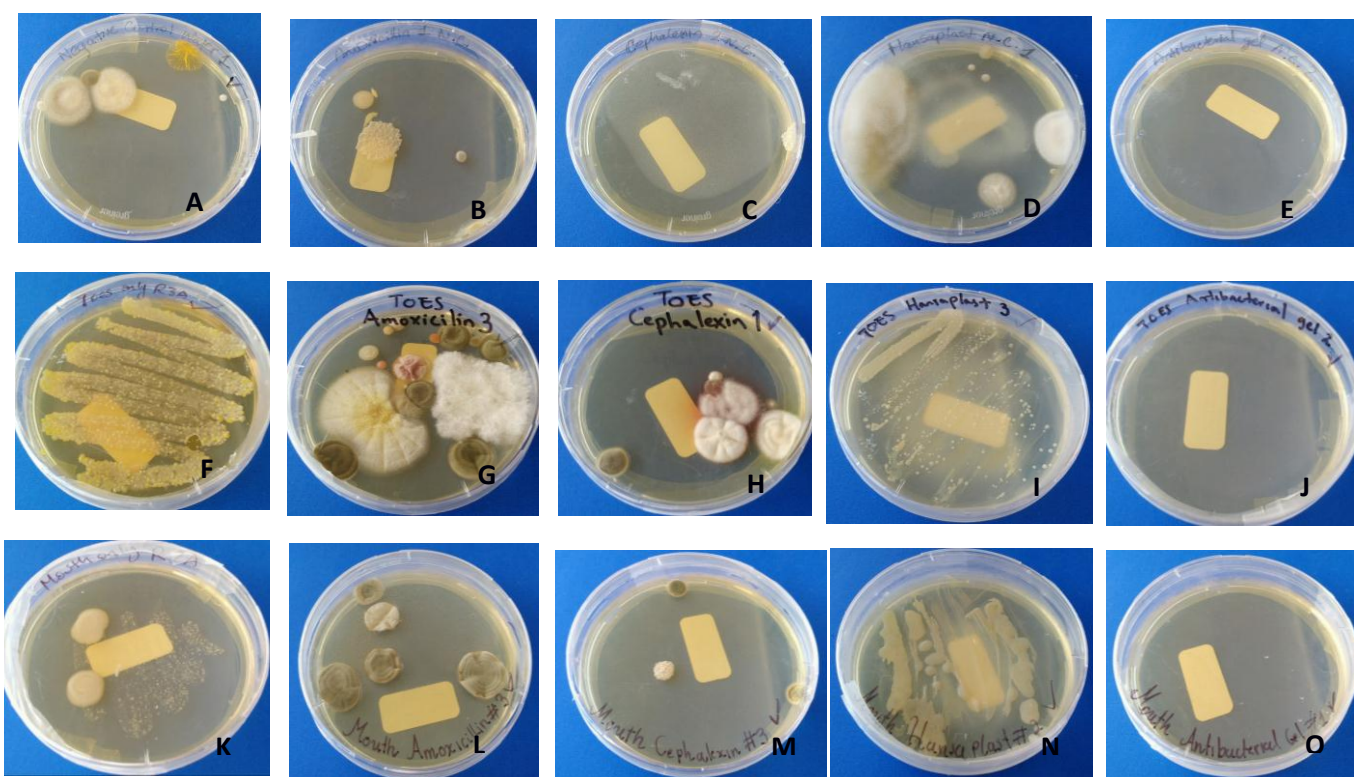


Figura 2. Fotos de algunos de los cultivos obtenidos en nuestro experimento. **A-E Controles de las sustancias** (A. Agua estéril B. Amoxicilina. C. Cefalexina. D. Desodorante para pies con nanopartículas de plata. E. Gel antibacterial con triclosán.) **F-J. Muestra de pies con los diferentes agentes antimicrobianos.**(F. Muestra de pies sola. G. Con amoxicilina H. Con cefalexina I. Con desodorante para pies J. Con gel antibacterial con triclosán) **K-O Muestra de boca con los diferentes agentes antimicrobianos.**(K. Muestra de boca sola. L. Con amoxicilina M. Con cefalexina N. Con desodorante para pies O. Con gel antibacterial con triclosán.)

Como se puede observar tanto en la Tabla 2 como en la Figura 2, dos de cuatro de los controles de agua estériles presentan contaminación por hongos. Esta contaminación probablemente provino del aire, ya que no todos estaban contaminados y la fuente de agua fue la misma para todos los controles.

En todas las muestras provenientes de pies y boca sin sustancias antimicrobianas, crecieron bacterias, y en cuatro de ocho cultivos, también crecieron hongos, sin ser el tipo de microorganismo predominante en ninguno de los casos. Una vez más, los organismos predominantes procedentes de muestras del cuerpo fueron bacterias que pensamos son de la especie *Proteus vulgaris*.

Los controles negativos de amoxicilina y cefalexina, tuvieron un leve crecimiento de hongos, más no de bacterias. Además, en las muestras del pie y la boca, con antibióticos, no observamos crecimiento bacteriano, confirmando la función del antibiótico de inhibir el mismo. En contraste, las muestras de pies y boca con amoxicilina, tuvieron una mayor área de crecimiento y mayor diversidad de hongos. Podría pensarse que este crecimiento micótico se pueda deber a contaminación de la muestras, pero si contrastamos las poblaciones que crecieron de la boca y pies sin presencia de amoxicilina, versus las mismas muestras con amoxicilina podemos observar que en las primeras (sin el antibiótico) hay crecimiento de

bacterias y poco crecimiento de hongos y en la segunda, con amoxicilina, hay una gran proliferación de hongos (en un cultivo hay por lo menos diez especies diferentes) y ningún crecimiento bacteriano. Esto confirma nuestras observaciones anteriores. El antibiótico es eficaz contra el crecimiento bacteriano pero los resultados sugieren que la ausencia de bacterias, permite la proliferación de hongos.

Un efecto parecido se observa con la cefalexina, pero el crecimiento de hongos es menor y menos diverso que con la amoxicilina.

Según nuestras consultas bibliográficas, los antibióticos pueden actuar de dos formas: eliminando directamente las bacterias o inhibiendo su crecimiento y proliferación. En el experimento se utilizaron dos de los antibióticos más comunes, de amplio espectro, la amoxicilina y la cefalexina. Su efecto fue notable al inhibir el crecimiento de bacterias en el agar, pero se observó un crecimiento de hongos exuberante. Todas las repeticiones realizadas en los dos experimentos llegaron al mismo resultado. Se plantea entonces la siguiente reflexión: los antibióticos eliminan únicamente el dominio de las bacterias, las cuales están presentes junto a los hongos en todo ambiente. Al obtener este estado antinatural donde no hay bacterias, los hongos, al no tener una competencia natural, se reproducen y crecen en proporciones anormales, lo que no se observa bajo condiciones normales (sin antibiótico). De acuerdo a algunos estudios, los efectos que se observan en el agar, también se pueden observar en el cuerpo humano al consumir antibióticos, causando infecciones debidas a hongos. De ser necesario el uso de antibióticos, pensamos que sería conveniente que los antibióticos se fabricaran junto con sustancias antimicóticas para el tratamiento.

Como se puede observar en la Tabla 2 y Figura 2, la gran mayoría de las muestras con antibacteriales con triclosán como ingrediente activo (incluyendo los controles de las sustancias), sugieren una eficacia de la sustancia tanto como antibiótico, como antimicótico, ya que no se observó crecimiento ni de bacterias ni hongos, con excepción de un leve crecimiento bacteriano en algunos cultivos con el jabón.

Esto lo confirmamos en nuestra investigación bibliográfica en la que encontramos que el triclosán es un potente agente antibacteriano y fungicida. Es un componente comúnmente usado para productos de limpieza e higiene como, por ejemplo el gel antibacterial, jabones para manos, crema dental y desodorantes. Recientemente (2013) fue prohibido su uso en Estados Unidos, tras una extensa investigación, al concluir que el triclosán producía efectos adversos en el cuerpo humano. Al contener una actividad tan potente para eliminar los agentes microbianos, al entrar en contacto con la piel, se eliminan también las bacterias naturales del cuerpo, las cuales son esenciales para un bienestar en cuanto a la salud, al haber este desbalance antinatural, el cuerpo es más propenso a las bacterias y hongos externos y contraer fácilmente enfermedades. Además, se sugiere que el triclosán podría alterar el sistema endocrino y producir cáncer. Según la FDA, los fabricantes de estos productos en EE.UU. no pudieron demostrar que ingredientes como el triclosán y el tengan un beneficio antibacterial adicional a la combinación de jabón tradicional y agua, mientras que diversos estudios científicos evidencian que el uso repetitivo de este tipo de productos pueden ocasionar que los gérmenes generen resistencia a estos y por ende no solo no cumplan su función, sino que generen una problemática mayor. Aunque en nuestro

experimento, sí observamos un claro efecto antimicrobiano, sería interesante realizar uno nuevo contrastando el efecto de los productos con triclosán, con el efecto del jabón común.

Aunque la plata es usada desde la antigua Grecia como antibiótico y en algunos estudios las nanopartículas de plata han probado ser un antibacterial muy eficiente, en nuestro experimento no pudimos observar un claro efecto antibiótico ni antimicótico de ninguno de los productos con plata, ya que, tanto en los controles con y sin plata coloidal, crecieron poblaciones similares de bacterias. Sin embargo, las poblaciones bacterianas parecen ser diferentes, ya que en el control predomina *Proteus vulgaris* y en la muestra con plata predomina *Bacillus subtilis*. En las muestras con desodorante para pies, además de bacterias, crecieron diferentes especies de hongo.

CONCLUSIONES

Los antibióticos comerciales inhiben el crecimiento bacteriano, pero parecen favorecer el crecimiento de hongos. Esto podría tener implicaciones importantes en el equilibrio de poblaciones de microorganismos en el cuerpo.

La amoxicilina parece producir un efecto más pronunciado en la proliferación de hongos que la amoxicilina.

Los productos antimicrobianos más efectivos de todos los probados fueron los antibacteriales con triclosán (gel y jabón), mostrando acción antibiótica y antimicótica.

Bajo nuestras condiciones experimentales, la plata coloidal y el desodorante para pies con nanopartículas de plata, no mostraron un claro efecto antibiótico ni antimicótico.

REFERENCIAS

Abott, Alison (Enero 8 de 2016). *Scientists bust myth that our bodies have more bacteria than human cells*. Nature Online. Recuperado de: <https://www.nature.com/news/scientists-bust-myth-that-our-bodies-have-more-bacteria-than-human-cells-1.19136>

Ballantyne, Coco (Junio 7 de 2007). *Strange but True: Antibacterial Products May Do More Harm Than Good. Antibacterial soaps and other cleaners may actually be aiding in the development of superbug*. Scientific American. Recuperado de: <https://www.scientificamerican.com/article/strange-but-true-antibacterial-products-may-do-more-harm-than-good/>

Carey, Daniel E. y McNamara, Patrick J. (Enero 15 de 2015). *The impact of triclosan on the spread of antibiotic resistance in the environment*. Frontiers in Microbiology. Recuperado de: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2014.00780/full>

Huffnagle, Gaby B., Noggle, Rachael M., Noverr, Mairi C. y Toews, Galen B. (Junio 16 de 2004). *Role of Antibiotics and Fungal Microbiota in Driving Pulmonary Allergic Responses*. American Society for Microbiology. Recuperado de: <https://pdfs.semanticscholar.org/9b71/c89c337fb0281d52577c81f836aa2ae772c6.pdf>

Jurga, L., Krcméry, V Jr., Kunová, A., Matejicka, F., Pichnová, E., Sulcova, M., y West, D. (Octubre 11 de 1999). *Documented fungal infections after prophylaxis or therapy with wide spectrum antibiotics: relationship between certain fungal pathogens and particular antimicrobials*. Journal of chemotherapy. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10632385>

LeOuay, Benjamin y Stellacci, Francesco (Junio 2015). *Actibacterial activity of silver nanoparticles: A surface science insight*. ScienceDirect. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1748013215000493>

Leung, Beatrice y Liu, Shijun (sin fecha). *Identifying cultured bacteria*. Recuperado de: https://www.teachengineering.org/content/mis_/activities/mis_biosensors/mis_biosensors_lesson01_activity1_idcultures_v2_tedl_dwc.pdf

Leung, Beatrice y Liu, Shijun (sin fecha). *Interpreting plates*. Recuperado de: <https://www.sciencebuddies.org/science-fair-projects/references/interpreting-agar-plates>

Mercola, Joseph (Mayo 17 de 2016). *Many Prescribed Antibiotics are Unnecessary and Cause Damage*. Recuperado de: <https://www.mercola.com/forms/background.htm>

Microbiology Society (sin fecha). *Observing microbes – Observing bacteria in a petri dish*. The Microbiology Society. Recuperado de: <http://microbiologyonline.org/teachers/observing-microbes/observing-bacteria-in-a-petri-dish>

Molins, Albert (Mayo 31 de 2018). *Un antimicrobiano bajo vigilancia*. La Vanguardia. Recuperado de: <http://www.lavanguardia.com/ciencia/cuerpo-humano/20180531/443956824480/triclosan-impacto-salud-medio-ambiente-biocida.html>

Redacción Salud (Septiembre 7 de 2016). *Invima estudia prohibir antibacteriales en Colombia*. El Espectador. Recuperado de: <https://www.elespectador.com/noticias/salud/invima-estudia-prohibir-antibacteriales-colombia-articulo-653478>

Montemor, AF., P Léo., Rinaldi, BG., Rodrigues, MFA., y Salomoni, R. (Junio 29 de 2017). *Antibacterial effect of silver nanoparticles in Pseudomonas aeruginosa*. Nanotechnology, science and applications. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28721025>

Wenner, Melinda (Noviembre 30 de 2007). *Humans Carry More Bacterial Cells than Human Ones: You are more bacteria than you are you, according to the latest body census*. Scientific American. Recuperado de: <https://www.scientificamerican.com/article/strange-but-true-humans-carry-more-bacterial-cells-than-human-ones/>