

ACTIVIDAD BACTERICIDA DE SUPERFICIES DE COBRE SOBRE BACTERIAS MULTIRRESISTENTES ASOCIADOS A INFECCIONES INTRAHOSPITALARIAS

Ventura Flores Roberto^{1,a}, Uceda Campos Guillermo^{2,b}, Gonzales Gonzales Edwin Antonio^{3,c}

RESUMEN

Objetivo. Evaluar la actividad bactericida de superficies de cobre sobre bacterias multirresistentes asociados a infecciones intrahospitalarias. **Materiales y métodos:** Estudio experimental, donde la población estuvo constituido por bacterias multirresistente y la muestra por nueve cepas bacterianas, 3 de *Acinetobacter baumannii*, 3 de *Pseudomonas aeruginosa* y 3 de *Staphylococcus aureus*; los mismos que fueron inoculadas sobre láminas metálicas de 1cm² de cobre y acero inoxidable e incubados a temperatura ambiente durante 0, 5, 10, 20, 40 y 60 minutos para luego determinar la sobrevivencia en Mueller Hinton a través del recuento de unidades formadoras de colonias. **Resultados.** Las cepas de *A. baumannii* fueron las más sensible al cobre mientras que *S. aureus* la más resistente. Sin embargo todas las cepas permaneciendo viables a superficies de acero inoxidable hasta los 60 minutos de exposición. Hubo diferencias estadísticas significativas ($P < 0,05$) entre los promedios de las variables metal, cepa y tiempo; existiendo diferencias en el efecto de ambos metales, crecimiento de unidades formadoras de colonias durante el tiempo de exposición y diferencias en la respuesta de cada tipo de bacteria al contacto con superficies de cobre. **Conclusiones.** Las superficies del cobre tiene efecto bactericida al disminuir las unidades formadoras de colonias de *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* a medida que aumenta el tiempo de exposición.

Palabras clave: Bactericida, Superficies de cobre, infecciones intrahospitalarias. (Fuente: DeCS- BIREME).

BACTERICIDAL ACTIVITY OF COPPER SURFACES ON MULTI-RESISTANT BACTERIA ASSOCIATED WITH NOSOCOMIAL INFECTIONS

ABSTRACT

Objectives. To evaluate the bactericidal activity of copper surfaces on multiresistant bacteria associated with nosocomial infections. **Materials and Methods.** Experimental study, where the population consisted multidrug-resistant bacteria and the sample nine bacterial strains of *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*; the same as were inoculated on metal sheets 1cm² of copper and stainless steel and incubated at room temperature for 0, 5, 10, 20, 40 and 60 minutes and then determine the survival in Mueller Hinton by counting forming units colony. **Results.** *Acinetobacter* strains were more sensitive to copper while more resistant *S. aureus*. However all strains remain viable stainless steel surfaces to 60 minutes of exposure. There were significant statesmen differences ($P < 0.05$) between the averages of the variables metal, strain and time; there were differences in the effect of both metals, growth of colony forming units during the exposure time and differences in the response of each type of bacteria on contact with copper surfaces. **Conclusions.** copper surfaces has bactericidal effect by decreasing the colony forming units of *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* with increasing exposure time.

Key words: Copper surfaces, Bactericide copper, nosocomial infections. (Source: MeSH-NLM).

INTRODUCCIÓN

Las Infecciones Intrahospitalarias (IIH) continúan siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad, donde el seguimiento de bacteriemia en varios países estiman que estas infecciones afectan en promedio 1 de cada 20 pacientes hospitalizados y que solo en los Estados Unidos, causan alrededor de 100 000 muertes al año con aumentos de costos sanitarios entre 35 y 45 millones de dólares⁽¹⁾, siendo las

Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) asociadas con un mayor riesgo de desarrollar infecciones nosocomiales⁽²⁾.

La fuente principal de estas infecciones generalmente ha sido considerada la flora endógena, sin embargo un 20% a 40% lo han atribuido a las manos del personal de salud que han sido contaminadas por contacto directo o indirectamente con

¹ Laboratorio de Investigación. Hospital Regional Lambayeque. Chiclayo, Perú.

² Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque, Perú.

^a M. Sc. Microbiología Clínica.

^b Lic. Biología.

^c Bachiller en Biología.

superficies inanimadas del hospital⁽³⁾. Siendo las bacterias más comunes el *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*; los mismos que por efecto de la presión selectiva de antibióticos, han incrementado la resistencia⁽⁴⁾, con aparición de cepas multidrogoresistentes (MDR), algunos de los cuales presentan clones panresistentes^(5,6). Haciendo de estos patógenos más difíciles de tratar debido a su resistencia intrínseca y a la capacidad para proliferar y propagarse en superficies u objetos inanimados⁽⁷⁾.

La capacidad inherente de las bacterias para colonizar y permanecer durante semanas en superficies de acero inoxidable y materiales poliméricos usados en los hospitales⁽⁸⁾, hacen de los patógenos su reservorio, aumentando la transmisión nosocomial^(9,10). Sin embargo existen estudios relacionados con la actividad de superficies de cobre sobre bacterias nosocomiales gram negativas productoras de carbapenemasas donde el Cu 99% mostro un efecto bactericida después de 2 horas (h) para *A. baumannii*, 5 h para *Klebsiella pneumoniae*, 6 h para *P. aeruginosa* y *Escherichia coli*⁽¹¹⁾. En tanto el efecto a *Enterobacter* resistentes fue evidenciado en 2 a 4 horas⁽¹²⁾. Siendo el uso del cobre una alternativa pero que se desconoce su efecto en bacterias aisladas en el Hospital Regional Lambayeque.

Por estas razones, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad bactericida de superficies de cobre sobre bacterias multirresistentes asociadas a infecciones intrahospitalarias y con ello contribuir a entender su viabilidad y reducción de sobrevivencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población y muestra

La población objeto de estudio estuvo constituida por bacterias multirresistentes y de ellos se consideró como muestra nueve cepas; 3 de *A. baumannii*, 3 de *P. aeruginosa* y 3 de *S. aureus*, procedentes de pacientes hospitalizados del Hospital Regional Lambayeque.

Aislamiento y susceptibilidad de microorganismos multirresistentes.

Las cepas almacenadas en el laboratorio de investigación del Hospital Regional Lambayeque fueron reactivadas siguiendo el manual de procedimientos bacteriológicos en infecciones intrahospitalarias⁽¹³⁾. Aislados los microorganismos se procedió al estudio de susceptibilidad mediante el Sistema semi-automatizado microScan y el método de disco difusión (Kirby – Bauer) en agar Mueller Hinton, siguiendo las recomendaciones y puntos de corte propuestos por la norma técnica N° 20 INS- Minsa⁽¹⁴⁾ y la Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI⁽¹⁵⁾. Se consideró *S. aureus* metilino resistente (MRSA) cuando fue resistente al cefoxitin, penicilina y oxacilina; mientras que cepa multirresistente de *A. baumannii* y *P. aeruginosa* cuando fue resistente a antibióticos de las familias de los carbapenémicos, cefalosporinas de tercera generación, quinolonas y aminoglucósidos.

Actividad bactericida de superficie de cobre

Para esta actividad se empleó la metodología previamente descrita por Noyce et al.⁽¹⁶⁾. Empleándose láminas metálicas (1cm x 1cm x 0,1cm) de cobre (Cu 99%) y acero inoxidable de la misma dimensión como control. Las láminas fueron esterilizadas previamente y luego a cada uno se inoculó 10 uL sobre su superficie de una suspensión bacteriana de $1,5 \times 10^7$ UFC durante 0, 5, 10, 20, 40 y 60 minutos; la turbidez de la suspensión de cada cepa bacteriana fue comparada con el tubo N° 0,5 de la escala de Mc Farland. Luego cada lámina fue lavada en 9mL de solución salina fisiológica y diluida hasta 10^{-3} UFC. De esta última dilución se inoculó 10 uL en placas Petri conteniendo Mueller Hinton por tres repeticiones. Dichas placas Petri se incubo hasta 48 horas por 37°C y posteriormente se realizó su lectura.

Análisis estadístico

La actividad bactericida de las superficies de cobre se evaluó aplicando el análisis de Varianza (ANOVA) ajustándose al diseño factorial 3x2x6x3, para demostrar las diferencias entre los 3 especies bacterianas; 2 metales, cobre y acero inoxidable (Utilizado como control), 6 tiempos y 3 repeticiones. El análisis estadístico de estas diferencias se complementó con la Prueba de Comparaciones Múltiples de Tukey (P<0.05). Para ello se usó el software estadístico: Statística, versión 5.

RESULTADOS

Los resultados muestran el promedio del recuento de colonias de *A. baumannii*, *P. aeruginosa* y *S. aureus* a superficies de acero inoxidable (Ai) permaneciendo viables hasta los 60 minutos de exposición. Mientras al ser expuestas al cobre (Cu), el recuento disminuyo conforme aumentaba el tiempo; siendo los *A. baumannii*, los más sensibles al observarse su eliminación rápida del número de bacterias iniciales de $2-3 \times 10^7$ UFC después de los 10 minutos; por otro lado las cepas de *P. aeruginosa* y *S. aureus* permanecieron viables hasta los 20 minutos, siendo los *S. aureus* metilino resistente (MRSA) el que mostro mayor resistencia al presentar un número mayor de colonias. Sin embargo su eliminación total al cobre se evidencio a los 40 minutos de exposición (Tabla 01, figura 01).

Tabla 01. Promedio de *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* (UFC/mL) al evaluar la actividad bactericida de superficies de cobre comparados con superficies de acero inoxidable, durante 60 minutos.

Tiempo (minutos)	Promedio UFC/mL					
	<i>A. baumannii</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>S. aureus</i>	
	Ai	Cu	Ai	Cu	Ai	Cu
0	7,56	7,67	12,00	11,22	10,33	9,11
5	6,33	4,11	11,11	7,33	9,89	8,89
10	8,11	0,11	8,78	0,33	8,67	4,67
20	7,33	0	11,11	0,11	10,00	1,22
40	7,00	0	10,44	0	8,11	0
60	6,89	0	9,33	0	8,44	0

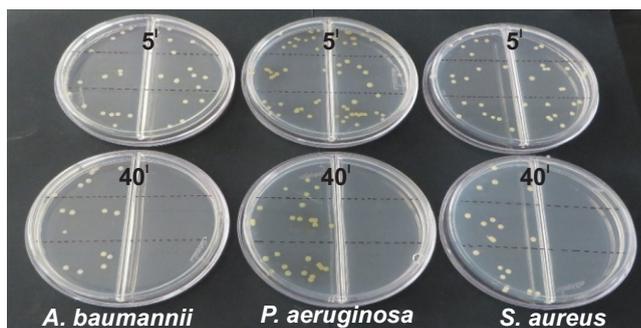


Figura 01: Unidades formadoras de colonias en placas con Mueller Hinton después de 5 y 40 minutos de exposición a láminas de acero inoxidable (lado izquierdo) y cobre (lado derecho).

El efecto bactericida de la superficie de cobre sobre las cepas bacterianas se evaluó a través del ANOVA encontrándose diferencias estadísticas significativas ($P < 0,05$) entre los promedios de las variables metal, cepa y tiempo; existiendo diferencias en el efecto de ambos metales, crecimiento de unidades formadoras de colonias durante el tiempo de exposición y diferencias en la respuesta de cada tipo de bacteria (*A. baumannii*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*) al contacto con superficies de cobre.

Tabla 02: Análisis de Varianza de la actividad bactericida de superficies de cobre sobre *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

	SS	DF	MS	F	P
Intercept	11664.00	1	11664.00	4180.46	0.00
Bacteria	463.17	8	57.90	20.75	0.00
Tiempo	1322.41	5	264.48	94.79	0.00
Metal	2809.00	1	2809.00	1006.77	0.00
Bacteria*Tiempo	260.76	40	6.52	2.34	0.00
Bacteria*Metal	200.61	8	25.08	8.99	0.00
Tiempo*Metal	906.74	5	181.35	65.00	0.00
Bacteria*Tiempo*Metal	198.65	40	4.97	1.78	0.01
Error	602.67	216	2.79		

SS: Suma de Cuadrados DF: Grados de libertad MS: Cuadrados Medios.

Los resultados de exposición bacteriana a láminas de cobre y acero inoxidable, fueron sometidos a la prueba discriminativa de Tukey, determinándose que sólo las superficies de cobre influyeron sobre el crecimiento bacteriano de *A. baumannii*, *P. aeruginosa* y *S. aureus* (Tabla 03), indicando que el afectó del cobre fue distinta a cada cepa bacteriana; así el crecimiento de unidades formadoras de colonias fue mayor en el *S. aureus* que *P. aeruginosa* y *A. baumannii*. Asimismo la cepa 2 de *A. baumannii* resultó ser la más afectada por acción del cobre en relación a las demás cepas (Figura 02).

Tabla 03: Prueba discriminativa de Tukey (0,05) para la acción bactericida de superficies de cobre sobre *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, según cepas bacterianas.

Cepas	Crecimiento	1	2	3	4	5
Aba3	3.750000				****	
Aba2	4.583333				****	****
Aba1	5.305556	****				****
Sau3	5.916667	****	****			
Sau2	6.166667	****	****			
Pae3	6.500000	****	****	****		
Pae1	6.833333		****	****		
Pae2	7.472222			****		
Sau1	7.472222			****		

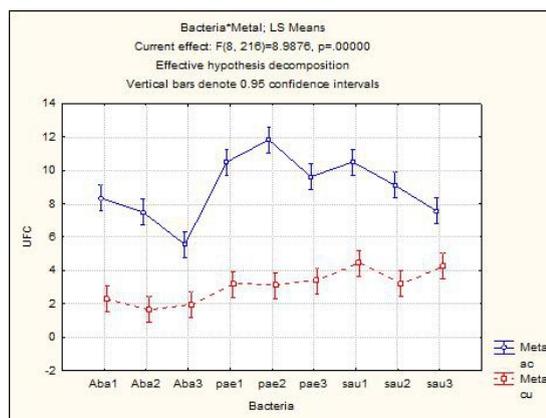


Figura 02: Diferencia del crecimiento de *Acinetobacter baumannii* (aba), *Pseudomonas aeruginosa* (pae) y *Staphylococcus aureus* (sau) como respuesta a su exposición a láminas de cobre.

Respecto al factor tiempo se demostró estadísticamente que el crecimiento bacteriano de *A. baumannii*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*, disminuyeron significativamente cuando se incrementó el tiempo de exposición a superficies de cobre (Tabla 04). Así las unidades formadoras de colonias a los 5 minutos (T2) fueron mayores en comparación a los 20 minutos de exposición (T4), donde el *S. aureus*, siguió una disminución lenta.

Tabla 04: Prueba de significación de Tukey (0,05) para la acción bactericida de superficies de cobre sobre *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, según tiempo de exposición.

Tiempo	crecimiento	1	2	3	4
t6	4.111111		****		
t5	4.259259	****	****		
t4	5.074074	****			
t3	5.166667	****			
t2	7.740741			****	
t1	9.648148				****

DISCUSIÓN

Los microorganismos causantes de infecciones nosocomiales son diseminados vía contacto directo entre una persona colonizada y un hospedero susceptible e indirectamente por instrumentos médicos contaminados^(9,17). Pero también sobreviven y colonizan superficies inanimadas de Hospitales, tales como pisos, rieles de cama y manijas de puertas, siendo una fuente de transmisión al estar en constante contacto con pacientes y personal de salud^(18,19). Esta capacidad de resistencia generada, propagación y dispersión contribuyen al incremento de las IIH⁽²⁰⁾.

Nuestro estudio *in vitro* da cuenta de la actividad bactericida del cobre sobre bacterias multiresistentes. Reflejando que estas superficies antimicrobianas es de gran utilidad para

reducir la población bacteriana patógena en el entorno sanitario al evitar su adherencia y replicación⁽²¹⁾. Sin embargo, se evidenció la viabilidad de estas bacterias en láminas de acero inoxidable el cual carece de dicha capacidad⁽²²⁻²⁴⁾, lo que constituye un potencial reservorio de *A. baumannii*, *P. aeruginosa* y *S. aureus* en los hospitales.

La mayor formación de colonias de *S. aureus* a la exposición del cobre da cuenta de cierta capacidad y tolerancia del microorganismo, lo cual explicaría del por qué las bacterias Gram positivas multirresistentes podrían ser más frecuentemente aislados del entorno inanimado que patógenos Gram negativos⁽²⁵⁾. Sin embargo, difiere con reportes que dan cuenta que las superficies de cobre fueron capaces de eliminar una concentración de 10^7 UFC de MRSA, en 15, 60 y 90 minutos respectivamente⁽¹⁶⁾. Mientras que en Sudáfrica encontraron la inhibición total del crecimiento a patógenos intrahospitalarios de MRSA, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis* y *Candida albicans*⁽²⁶⁾.

En ese contexto también existe estudios en la práctica clínica donde compararon dos salas de consulta; una de ellas equipada con láminas de cobre y la otra una sala control con superficies originales como madera y acero inoxidable, dando cuenta que las superficies de cobre reducía la carga bacteriana en mayor medida que los materiales estándar⁽²⁷⁾. Asimismo un estudio multicéntrico en salas de UCI donde incluyeron la participación de tres hospitales reemplazaron superficies de cobre metálico o aleaciones a aquellos puntos que son de alto contacto para los pacientes y el personal sanitario, reportando que hubo una reducción bastante significativa en 83 % de la carga bacteriana total y de patógenos específicos como MRSA⁽²⁸⁾. En tal escenario nuestros resultados coinciden con estos reportes con la salvedad que nuestro estudio fue bajo un modelo *in vitro* pero que permite conocer que las bacterias aisladas de pacientes del Hospital Regional son susceptibles y no colonizan este material.

Otros informes afirman que diferentes aleaciones de cobre (de 61 a 95 %) reducen la viabilidad de *E. coli* en solo 75 minutos⁽²⁹⁾. Siendo el uso una alternativa en los ambientes hospitalarios. Sin embargo, el mecanismo de acción de las superficies de cobre debido a la rapidez con la que elimina a una bacteria y el modo de acción de sus principales blancos se desconoce. Resaltando que las soluciones de cobre sobre las bacterias es distinta al de superficies, incluso entre superficies de cobre húmedas y secas⁽³⁰⁾.

Como limitaciones del efecto bactericida del cobre es no haber contado con mayor número de cepas multirresistentes causantes de infecciones intrahospitalarias, tampoco se realizó por igual número de cepas gram negativas y gram positivas que nos hubiese permitido sincerar con mayor amplitud el análisis. Recomendando ampliar estudios de la actividad del cobre sobre bacterias aisladas de pacientes del Hospital Regional Lambayeque.

CONCLUSIÓN

Se concluye que las superficies del cobre tuvieron efecto bactericida sobre cepas multirresistentes de *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* a medida que se incrementaba el tiempo de exposición.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Organización Panamericana de la Salud, Vigilancia Epidemiológica de las Infecciones Asociadas a la Atención de Salud. Washington 2012.
- Custovic A, Smajlovic J, S Hadzic, Ahmetagic S, Tihic N, Hadzagic H. Epidemiological Surveillance of Bacterial Nosocomial Infections in the Surgical Intensive Care Unit. *Mater Sociomed* 2014; 26(1):7-11
- Weber DJ, Rutala WA, Miller MB, Huslage K, Sickbert-Bennett E. Role of hospital surfaces in the transmission of emerging health care-associated pathogens: *Norovirus*, *Clostridium difficile*, and *Acinetobacter* species. *Am J Infect Control* 2010; 38 (5 Suppl 1): 25-33.
- Majumdar S, Padiglione A. Nosocomial infections in the intensive care unit. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine* 2012; 13 (5): 204-8.
- Giamarellou H, Antoniadou A, Kanellakopoulou K. *Acinetobacter baumannii*: una amenaza universal a la salud pública. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2008; 32:106-19.
- Oliver A. Impacto de la desinfección de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente productora de metalo- β -lactamasa en los hospitales: presente y futuro. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2009; 27 (5): 255-6.
- Morgan DJ, Rogawski E, Thom KA, Johnson JK, Perencevich EN, Shardell M, Leekha S, Harris AD. Transfer of multidrug-resistant bacteria to healthcare workers' gloves and gowns after patient contact increases with environmental contamination. *Crit Care Med* 2012; 40(4): 1045-51.
- Michels HT, Wilks SA, Noyce JO, Keevil CW. Copper alloys for human infectious disease control. In Proceedings of the Materials Science and Technology Conference, Copper for the 21st Century Symposium, Pittsburgh, PA, 25 to 28 September, 2005: 1-11.
- Kramer A, Schwebke I, Kampf G. 2006. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infect. Dis* 2006; 6 (130).
- Schabrun S, Chipchase L. Healthcare equipment as a source of nosocomial infection: a systematic review. *J. Hosp. Infect* 2006; 63:239-45.
- Schabrun S, Chipchase L. Healthcare equipment as a source of nosocomial infection: a systematic review. *J. Hosp. Infect* 2006; 63:239-45.
- Tian WX, Yu S, Ibrahim M, Almonaofy AW, He L, Hui Q, Bo Z, Xie GL. Copper as an antimicrobial agent against opportunistic pathogenic and multidrug resistant *Enterobacter* bacteria. *Journal of Microbiology* 2012; 50(4): 586-93.
- Sacsquispe Contreras R y Ventura Egúzquiza G. Manual de procedimientos bacteriológicos en infecciones intrahospitalarias. Serie de normas técnicas n° 28 Minsa/INS 2005.
- Sacsquispe Contreras R y Velásquez pomar J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Serie de normas técnicas n° 30 Minsa/INS 2002.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-third Informational Supplement. CLSI document M100-S23. (ISBN 1-56238-865-7 [Print]; ISBN 1-56238-866-5 [Electronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2013.
- Noyce JO, Michels H, Keevil CW. Potential use of copper surfaces to reduce survival of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the healthcare environment. *Journal of Hospital Infection* 2006; 63(3): 289-97.
- Cataño JC, Echeverri LM, and Szela C. Bacterial contamination of clothes and environmental items in a third-level hospital in Colombia. *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases*, 2012; 2012: 5 pag.
- Bhalla A, Pultz NJ, Gries DM, Ray AJ, Eckstein EC, Aron DC and Donskey CJ. Acquisition of nosocomial pathogens on hands after contact with environmental surfaces near hospitalized patients. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 2004; 25(2): 164-7.
- Hota B. Contamination, disinfection, and cross-colonization: are hospital surfaces reservoirs for nosocomial infection. *Clinical infectious diseases* 2004; 39(8): 1182-9
- Cabrera CE, Gómez RF and Zúñiga AE. Resistance to bacterial antibiotics, antiseptics and disinfectants a manifestation of the survival and adaptation mechanisms. *Colombia Médica* 2007; 38(2): 149-58.
- Page K, Wilson M and Parkin I. Antimicrobial surfaces and their potential in reducing the role of the inanimate environment in the incidence of hospital-acquired infections. *J. Mater. Chem* 2009; 19: 3819-31.
- Airey P, Verran J. Potential use of copper as a hygienic surface; problems associated with cumulative soiling and cleaning *Journal of Hospital Infection* 2007; 67: 271-7.

23. Michels HT., Moran W, Michel J. Antimicrobial properties of copper alloy surfaces, with a focus on hospital-acquired infections. *Advanced Materials and Processes*. Web Exclusive 2008.
24. O'Gorman J, Humphreys H. Application of copper to prevent and control infection. Where are we now? *Journal of Hospital Infection* 2012; 81(4): 217-23.
25. Lemmen SW, Hafner H, Zolldann D, Stanzel S, Luticken R. Distribution of multi-resistant Gram-negative versus Gram-positive bacteria in the hospital inanimate environment. *J Hosp Infec* 2004; 56(3): 191-7.
26. Mehtar S, Wiid I, Todorov SD. The antimicrobial activity of copper and copper alloys against nosocomial pathogens and *Mycobacterium tuberculosis* isolated from healthcare facilities in the Western Cape: an in-vitro study. *Journal of Hospital Infection* 2008; 68(1): 45-51.
27. Marais F, Mehtar S, Chalkley L. Antimicrobial efficacy of copper touch surfaces in reducing environmental bioburden in a South African community healthcare facility. *Journal of Hospital Infection* 2010; 74(1): 80-2.
28. Schmidt MG, Attaway HH, Sharpe PA, John J, Sepkowitz KA, Morgan A, Salgado CD. Sustained reduction of microbial burden on common hospital surfaces through introduction of copper. *Journal of clinical microbiology* 2012; 50(7): 2217-23.
29. Noyce JO, Michels H, Keevil CW. Use of copper cast alloys to control *Escherichia coli* O157 cross-contamination during food processing. *Applied and environmental microbiology* 2006; 72(6): 4239-44.
30. Espiritu santo CE, Lam EW, Elowsky CG, Quaranta D, Domaille DW, Chang CJ, Grass, G. Bacterial killing by dry metallic copper surfaces. *Applied and environmental microbiology* 2011; 77(3): 794-802.

Revisión de pares:

Recibido: 04/03/16 Aceptado: 28/03/16