



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Efecto antimicrobiano de un nano-recubrimiento de plata y cobre depositado sobre textiles de polipropileno usados en equipos de protección personal: estudio *in vitro*.

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

ESPECIALISTA EN PERIODONCIA E IMPLANTOLOGÍA

P R E S E N T A:

ALEJANDRO LEE COLIN

TUTOR Dra. ARGELIA ALMAGUER FLORES

VoBo

ASESOR: Dra. GINA PRADO PRONE



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Efecto antimicrobiano de un nano-recubrimiento de plata y cobre depositado en un textil de polipropileno: estudio *in vitro*.

Alejandro Lee Colín*, Gina Prado Prone§, Argelia Almaguer Flores§

Resumen.

Introducción. El equipo de protección personal (EPP) es utilizado por médicos y odontólogos para el control de infecciones durante procedimientos que generan salpicaduras o aerosoles contaminados con microorganismos. Uno de los materiales con los que se fabrican estos equipos es el polipropileno (PP) dado su alta capacidad de filtración.

Objetivo. Investigar la capacidad antimicrobiana de un nano-recubrimiento de plata y cobre (PP-AgCu) depositado sobre textiles de polipropileno, utilizando especies bacterianas asociadas a infecciones nosocomiales; *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*.

Materiales y Métodos. El efecto antimicrobiano del nano-recubrimiento se evaluó mediante la técnica de contacto directo, colocando una gota del cultivo de cada una de las cepas bacterianas sobre los textiles con y sin el nano-recubrimiento durante 24 horas, y posteriormente se midió la viabilidad celular de las bacterias que estuvieron en contacto con el nano-recubrimiento. Adicionalmente, se realizó un análisis cualitativo mediante el uso de microscopía óptica.

Resultados. Los resultados mostraron que el porcentaje de disminución del crecimiento de las bacterias expuestas al nano-recubrimiento fue de 36.6%, 40.9% y 55.8 % para *S. aureus*, *S. epidermidis* y *P. aeruginosa*, respectivamente. Mientras que *E. coli*, no mostró sensibilidad al efecto de nano-recubrimiento. Estos resultados fueron corroborados con el análisis cualitativo con microscopía óptica.

Conclusiones- El nanorecubrimiento PP-AgCu fue efectivo para disminuir la viabilidad de tres de las cuatro cepas bacterianas probadas, por lo que tiene el potencial de ser utilizado para como recubrimiento antibacteriano de textiles usados en la fabricación de EPP.

Palabras clave.

Propiedades antibacterianas, nano-recubrimiento, plata, cobre, polipropileno, control de infecciones.

* Residente de la Especialidad de Periodoncia e implantología, Facultad de Odontología, DEPeI, Universidad Nacional Autónoma de México.

§ Laboratorio de BioInterfases, Facultad de Odontología, DEPeI, Universidad Nacional Autónoma de México.

Abstract.

Introduction. Doctors and dentists use Personal protective equipment (PPE), such as face masks for infection control, during procedures that generate splashes or aerosols contaminated with microorganisms. One of the materials with which this equipment is manufactured is polypropylene (PP), given its high capacity of filtration.

Objective. To investigate the antimicrobial capacity of a silver and copper nano-coating (PP-AgCu) deposited on polypropylene textiles, using bacterial species associated with nosocomial infections: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and, *Staphylococcus epidermidis*.

Materials and methods. The antimicrobial effect of the nano-coating was evaluated using the direct contact technique, placing a drop of the culture of each of the bacterial strains on the textiles with and without the nano-coating for 24 hours, and subsequently, the cell viability of the bacteria that were in contact with the nano-coating. Additionally, a qualitative analysis was carried out using optical microscopy.

Results. The results showed that the percentage decrease in the growth of bacteria exposed to the nano-coating was 36.6%, 40.9%, and 55.8% for *S. aureus*, *S. epidermidis* and *P. aeruginosa*, respectively. In contrast, *E. coli* did not show sensitivity to the nano-coating effect. These results were corroborated by qualitative analysis with optical microscopy.

Conclusions. The PP-AgCu nano-coating effectively reduce the viability of three of the four bacterial strains tested, so it has the potential to be used as an antibacterial coating for textiles used in the manufacture of PPE.

Keywords:

Antibacterial properties, nano-coating, silver, copper, polypropylene, infection control.

Introducción.

El uso de equipo de protección personal (ej. cubrebocas, batas y gorros) por profesionales de la salud como los odontólogos, es una medida para el control de infecciones ampliamente utilizada durante procedimientos que involucran la generación de salpicaduras o aerosoles con contenido de sangre u otros fluidos que pueden estar contaminados con bacterias, virus y hongos, entre otros patógenos (1-3).

Dado que la mayoría de este equipo de protección es de tipo textil y de un solo uso, el polipropileno (PP) es un material frecuentemente utilizado para la fabricación de dicho equipo. El PP es un polímero termoplástico que resulta de la polimerización del hidrocarburo propileno y que, si se somete a un proceso de hilado por fusión de dicho polímero fundido, es capaz de formar fibras con muchas aplicaciones en la industria textil dadas sus propiedades de protección y filtración (4).

Sin embargo, el polipropileno y sus textiles no cuentan con propiedades antimicrobianas inherentes al material, por lo que el uso del EPP durante el día, hace que se puedan acumular diferentes microorganismos del medio con el tiempo de uso; pudiéndose así convertirse en un fómite o fuente de infección.

Por lo anterior, y para aumentar la efectividad de los cubrebocas y el equipo de protección personal, se han estudiado diversas modificaciones a las superficies de dichos equipos mediante la incorporación de elementos químicos tales como el cloruro de benzalconio (10), y metales como el cobre (Cu) y la plata (Ag) (11, 12).

Una nueva forma propuesta para la incorporación de metales como plata y cobre a estos textiles es mediante la técnica de pulverización catódica o magnetron sputtering; un método físico de deposición por vapor que genera películas nanométricas y que pudiera ser una forma nueva para fabricar EPP con posibles efectos antimicrobianos.

La actividad de antimicrobiana del cobre es bien conocida, y se cree que está relacionada con su capacidad de unirse e inhibir ciertos citocromos presentes en las bacterias alterando su cadena respiratoria. Otro mecanismo de acción del cobre es la generación de radicales tóxicos que dañan componentes celulares como el superóxido cuando el metal se encuentra en altas concentraciones (13). Otro metal que se ha estudiado mucho por su alta actividad antimicrobiana y que se ha incorporado en diversos productos es la plata. Se ha propuesto que uno de los mecanismos de acción principales de la plata, se debe a la atracción electrostática y la afinidad de los iones de dicho elemento por las proteínas de la pared celular y la membrana citoplasmática de los microorganismos, aumentando su permeabilidad y provocando la alteración de la envoltura bacteriana (14).

En el ámbito odontológico, se ha reportado la contaminación de superficies de los consultorios dentales por bacterias durante la generación de aerosoles (5) y la contaminación del aire dentro de las clínicas odontológicas (6). Más aún, estudios realizados en centros educativos, reportaron una mayor exposición de los estudiantes de odontología a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) y a otras bacterias, comparado con estudiantes de otras carreras que no estaban expuestos a el contacto directo de los aerosoles generados en las clínicas de enseñanza dental (7, 8). De hecho, la Asociación Dental Americana ha reconocido a los aerosoles dentales como potenciales focos para el contagio de enfermedades

como tuberculosis, influenza, infecciones por *Legionella* y el síndrome respiratorio agudo severo SARS (9).

El propósito del presente estudio fue investigar la capacidad antimicrobiana de un recubrimiento nanométrico de plata y cobre depositado sobre un textil de polipropileno (PP-AgCu) utilizando especies bacterianas frecuentemente asociadas a infecciones de tipo nosocomial como; *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*.

Materiales y Métodos.

Depósito de los nano-recubrimientos.

Se depositaron nano-recubrimientos bimetálicos de Ag-Cu mediante la técnica de pulverización catódica de magnetron sputtering utilizando un blanco de Cu con seis inclusiones de alambre de Ag. Los nano-recubrimientos se depositaron sobre textiles de polipropileno (PP) bajo las siguientes condiciones de depósito: presión a 26 mTorr, flujo de Ar a 8 sccm, potencia a 200 W a 6 rpm. El nano-recubrimiento de AgCu se depositó en ambas caras del PP. La caracterización fisicoquímica del nano-recubrimiento se realizó mediante diferentes técnicas como microscopía electrónica de barrido y análisis por XPS y ha sido publicada previamente (15).

Una vez hecho el depósito del nano-recubrimiento se cortaron muestras circulares de 1 cm de diámetro tanto del del PP recubierto con AgCu como del PP sin recubrir (control).

Ensayos antibacterianos.

Para evaluar la efectividad antimicrobiana del nanorecubrimiento de AgCu se utilizaron las cepas bacterianas *Escherichia coli* (ATCC® 33780), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC® 43636), *Staphylococcus aureus* (ATCC® 25923) y *Staphylococcus epidermidis* (ATCC® 14990). Las cepas se crecieron en agar TSB (agar soya triptica, BBL, Becton-Dickinson) y se incubaron a 35° C durante 24 horas para posteriormente ser transferidas hasta obtener cultivos puros. De cada bacteria se obtuvo una suspensión ajustada a una concentración de 1×10^7 células/mL.

Los discos del PP y PP-AgCu fueron previamente esterilizados en autoclave y se colocaron individualmente en cajas de cultivo de 24 pozos. Posteriormente, se colocó una gota de 40 µL con la suspensión ajustada de cada una de las especies bacterianas y se dejaron incubar durante 24 horas a 35° C en condiciones aeróbicas. Estos ensayos se realizaron por triplicado. Adicionalmente, se colocó un disco extra en cada experimento para poder ser observado de manera cualitativa por microscopía óptica.

Después de la incubación, cada uno de los discos de tela fue lavado dos veces con medio TSB y transferido a un pozo nuevo utilizando pinzas estériles. Posteriormente, se adicionó a cada pozo, 400 µL de medio TSB y 40 µL de MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio) (Sigma-Aldrich) y se dejó

incubar por 3 horas en oscuridad a 35 °C. El ensayo de MTT es un método colorimétrico para evaluar la viabilidad celular. El MTT es reducido a formazán por acción de las deshidrogenasas de la membrana y citoplasma bacteriano, la cantidad de formazán reducido por las células es proporcional al número de células metabólicamente activas en los cultivos y por lo tanto puede ser considerado como una medida indirecta de la viabilidad o proliferación celular.

Pasadas las 3 horas se descartó el medio con MTT y se adicionó 400 µL de Isopropanol:DMSO (1:1) a cada uno de los pozos. Se tomaron 3 alícuotas de 100 µL de cada una de las disoluciones y se colocaron por triplicado en una placa de 96 pozos para medir su absorbancia con un lector de placas o espectrofotómetro (FilterMax F5, Molecular Devices) a una longitud de onda de $\lambda = 570$ nm. En la **fig 1** se puede observar una representación gráfica de la secuencia del estudio.

Con el resultado de las absorbancias obtenidas con el ensayo de MTT determinó el porcentaje de viabilidad celular (VC %) y se calculó mediante la siguiente formula:

$$VC\% = \left(\frac{O.D \text{ muestra} - O.D \text{ blanco}}{O.D \text{ control} - O.D \text{ blanco}} \right) \times 10$$

En donde:

O.D. muestra: corresponde a la absorbancia de las alícuotas de las soluciones de Formazán:ISO:DMSO obtenido de las células del grupo experimental.

O.D control: corresponde a la absorbancia de las soluciones de Formazán:ISO:DMSO obtenido de las células control.

O.D blanco: corresponde a la absorbancia de las soluciones de Formazán:ISO:DMSO obtenido después de la incubación con el material o solución experimental, ya que a veces estos materiales pueden reaccionar con el MTT y generar alguna señal adicional.

Además del ensayo de viabilidad celular, se realizó un análisis del efecto antibacteriano de los nanorecubrimientos de manera cualitativa, mediante microscopía óptica utilizando un microscopio Nikon Eclipse Ni.

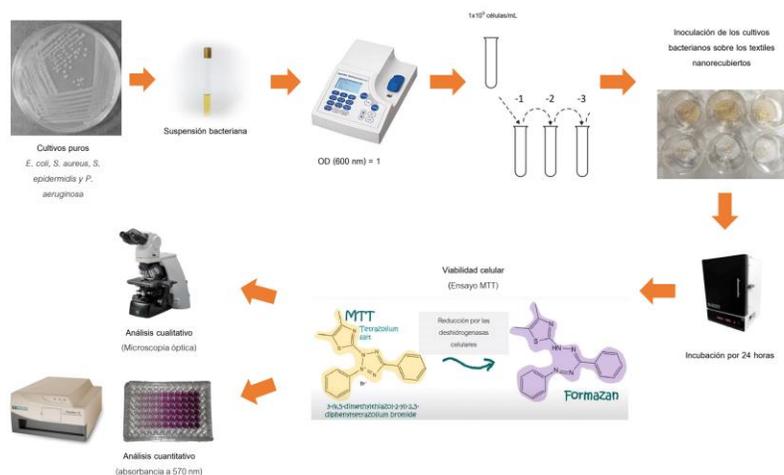


Figura 1. Representación gráfica de la secuencia metodológica del estudio.

Ética.

El presente proyecto ha sido aprobado por el Comité de Investigación y Ética de la Facultad de Odontología, UNAM (**CIE/0102/08/2022**).

Análisis estadístico.

Todos los experimentos se realizaron por triplicado utilizando tres muestras independientes para cada especie bacteriana que fue probada, y se repitieron al menos una vez. Los resultados se expresaron como valores de la Media \pm EEM (error estándar de la media). La significancia estadística se determinó mediante la prueba T-student pareada y se consideraron diferencias estadísticamente significativas a partir de una $p < 0.05$.

Resultados.

Evaluación de la capacidad antibacteriana.

Los resultados obtenidos del análisis cuantitativo para determinar la capacidad antibacteriana del nano-recubrimiento mediante la medición de la viabilidad celular de las cuatro cepas utilizadas en este estudio utilizando el ensayo de MTT, se presentan en la **Tabla 1**.

Se puede observar que hubo una disminución de la viabilidad celular cuando las bacterias estuvieron en contacto con el nano-recubrimiento (PP Ag-Cu) excepto con *E. coli*. Mientras que la bacteria que presentó mayor sensibilidad al contacto con el nanorecubrimiento fue *P. aeruginosa*.

Con los datos de absorbancia obtenida con el ensayo de MTT, se determinó el porcentaje de viabilidad celular de cada una de las bacterias al ser expuestas al nano-recubrimiento (PP Ag-Cu). Los resultados de las cuatro cepas analizadas se muestran en la **Figura 2**. Se puede observar que la única especie que no mostró sensibilidad a la presencia del nanorecubrimiento de AgCu fue *E. coli*, ya que su porcentaje de viabilidad celular se incrementó hasta 113.7 ± 6 . Por el contrario, el porcentaje de viabilidad de *S. aureus* fue de 69.3 ± 3.4 %, de *S. epidermidis* fue de 59.4 ± 14.9 % y de *P. aeruginosa* de 44.2 ± 4.9 %, todas ellas con diferencias estadísticamente significativas comparadas con el textil del PP sin el nanorecubrimiento. Considerando estos datos, hubo una disminución del crecimiento bacteriano de *S. aureus*, *S. epidermidis* y *P. aeruginosa* del 36.6%, 40.9% y del 55.8%, respectivamente.

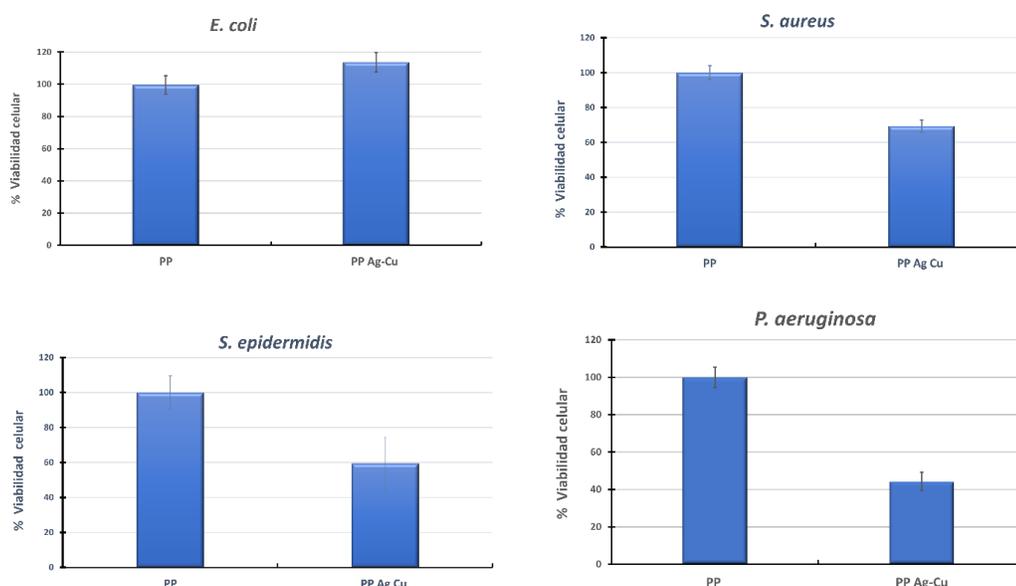


Figura 2. Porcentaje de la viabilidad celular de las cuatro cepas estudiadas después de su inoculación y cultivo sobre los discos del PP y PP Ag-Cu. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

Finalmente, el análisis cualitativo con microscopía óptica confirmó los hallazgos encontrados con el ensayo de MTT, ya que sí hubo un efecto antibacteriano del nanorecubrimiento de AgCu excepto con la cepa de *E. coli* (**Figura 3**).

En estas microfotografías se puede observar la topografía de las fibras que conforman los textiles del PP y se puede confirmar que no existe una alteración en la topografía de estas con el depósito del nano-recubrimiento. La presencia del color morado sobre las fibras del textil del PP, se debe a los cristales de formazán que se forma en la membrana y citoplasma de las bacterias durante el ensayo de MTT; es decir, a mayor cantidad de tinción morada, mayor cantidad de bacterias viables. En el análisis cualitativo de estas imágenes, se puede observar una menor cantidad de color morado en las muestras con el nanorecubrimiento de AgCu, con lo que se

puede inferir que hubo una menor actividad metabólica de las bacterias y por ende, una menor viabilidad celular en los textiles recubiertos. Esto fue cierto con todas las bacterias probadas, excepto en los textiles inoculados con *E. coli* en donde no se observaron diferencias en la cantidad de tinción morada entre las muestras del PP y las muestras con el nanorecubrimiento (PP-AgCu).

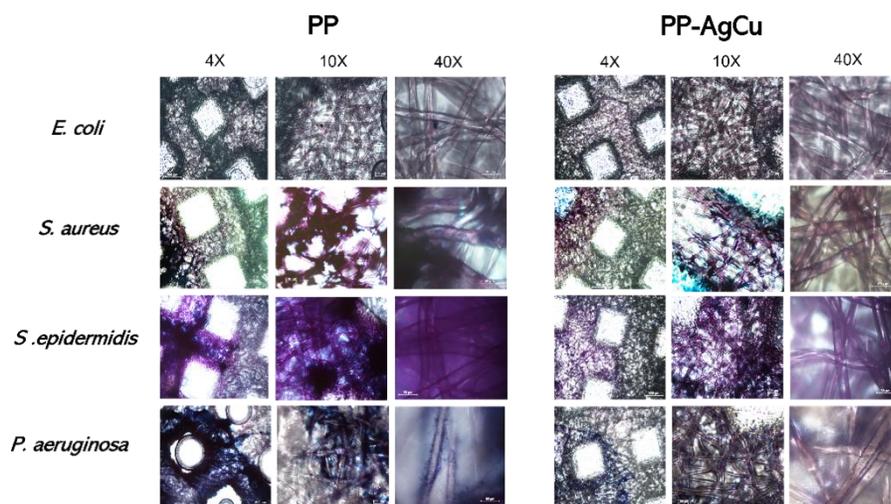


Figura 3. Imágenes de microscopía óptica a 4X, 10X y 40X aumentos después de haber realizado el ensayo MTT.

Discusión.

La incorporación de metales a superficies mediante la técnica magnetron sputtering con fines antibacterianos ha sido probada ya en superficies metálicas de titanio y talio (16). Una ventaja de esta técnica es que se puede aplicar a materiales que son sensibles al calor como lo son los textiles.

En este estudio se evaluó el efecto antimicrobiano de un nanorecubrimiento bimetálico de plata y cobre depositado sobre un textil de polipropileno (PP-AgCu) utilizando las cepas bacterianas; *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *S. epidermidis*. Cultivos puros de cada una de estas cepas se colocaron sobre los textiles con y sin nanorecubrimiento, simulando el contacto directo de gotas contaminadas. La medición del efecto antimicrobiano, se realizó mediante el ensayo de viabilidad celular de MTT. El ensayo MTT es un ensayo colorimétrico utilizado para determinar la viabilidad celular de bacterias metabólicamente activas mediante la reducción del MTT a formazán, que resulta en la formación de cristales de color morado los cuales se disuelven para poder medir la absorbancia resultante con la ayuda de un espectrofotómetro (17).

Los resultados de la efectividad antibacteriana del nanorecubrimiento de PP-AgCu, mostraron que tres de las cuatro cepas bacterianas tuvieron una disminución

significativa en su viabilidad celular cuando estuvieron en contacto con el nanorecubrimiento durante 24 horas.

La especie bacteriana que fue más susceptible al efecto del nanorecubrimiento de AgCu fue la especie Gram negativa, *P. aeruginosa*. Se ha reportado en la literatura el efecto antimicrobiano sinérgico de la plata y el cobre sobre esta especie bacteriana en cultivos en medio líquido, usando una combinación de sales de nitrato de Ag y sulfato de Cu (18). Además, el uso de nanopartículas de plata y cobre depositados sobre fibras de grafeno también ha mostrado un efecto antimicrobiano sobre biopelículas de *P. aeruginosa* y en heridas infectadas (19), coincidiendo con los resultados obtenidos en el presente estudio.

La segunda especie con mayor susceptibilidad al nanorecubrimiento fue *S. epidermidis*. Se ha reportado una reducción de la viabilidad celular de biopelículas de esta especie expuestas a nanopartículas de plata (20). Más aún, se ha reportado que es posible una inhibición completa en la formación de biopelículas de *S. epidermidis*, cuando han sido expuestas a iones de cobre (21).

Respecto al efecto del nanorecubrimiento contra *S. aureus*, los resultados obtenidos mostraron una disminución moderada en el crecimiento bacteriano. Estudios previos ya han demostrado la capacidad bactericida del nitrato de plata y el cloruro de cobre contra esta especie bacteriana cuando estos compuestos se encuentran en solución (22). También se ha reportado previamente la capacidad antimicrobiana de sales de cobre y plata contra *S. aureus* en forma de biopelícula cuando estas se unen a compuestos orgánicos tales como el quitosano.

De manera interesante, cuando se probó el efecto antimicrobiano del nanorecubrimiento contra la especie Gram negativa *E. coli*, los resultados no mostraron una disminución en la viabilidad celular de esta especie y más aún, cuando se observan las imágenes obtenidas con microscopía óptica, pareciera que no hay presencia de bacterias sobre las muestras analizadas tanto del PP como del PP-AgCu. Lo anterior pudiera explicarse por la incapacidad intrínseca de *E. coli* para adherirse a las superficies de polipropileno como ha sido previamente descrito en la literatura (23).

Un aspecto importante para considerar es la posible citotoxicidad que pudiera tener este nanorecubrimiento. A este respecto, un estudio ha mostrado la ausencia de citotoxicidad utilizando fibroblastos dérmicos humanos y queratinocitos después de 48 horas de cultivo sobre los textiles PP-Ag Cu y mediante el ensayo de viabilidad celular MTT, indicando que el nanorecubrimiento de AgCu depositado sobre PP, puede estar en contacto directo con la piel humana (15).

Los resultados obtenidos en presente el estudio demuestran el potencial del nanorecubrimiento de plata-cobre para ser utilizado en equipo de protección personal fabricado con textiles de polipropileno como batas, gorros y cubrebocas, y comenzar a usarse en entornos clínicos. Dicho equipo podría disminuir la exposición del personal de salud a estos y otros patógenos e incluso disminuir el riesgo de infecciones de tipo nosocomial en los pacientes hospitalizados.

Conclusiones.

El nanorecubrimiento disminuyó la viabilidad celular de las cepas bacterianas *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *S. epidermidis* cuando estuvieron en contacto con el textil nanorecubierto, pero no fue así con la cepa *E.coli*.

Agradecimientos. Este proyecto fue financiado por UNAM-PAPIIT # IT201121. Los autores agradecen el apoyo de L. Reyes-Carmona para el depósito de los nanorecubrimientos y el apoyo técnico de la laboratorista L. Cruz-Fonseca de la Facultad de Odontología, UNAM.

Referencias.

1. CDC. Summary of Infection Prevention Practices in Dental Settings: Basic Expectations for Safe Care. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention, US Dept of Health and Human Services; 2016. Available from: <http://www.cdc.gov/oralhealth/infectioncontrol/pdf/safe-care.pdf> (Fecha de consulta: 13 de abril de 2023)
2. Leggat PA, Kedjarune U. Bacterial aerosols in the dental clinic: a review. *Int Dent J*. 2001;51(1):39-44. doi: 10.1002/j.1875-595x.2001.tb00816.x. PubMed PMID: 11326448.
3. Zemouri C, de Soet H, Crielaard W, Laheij A. A scoping review on bio-aerosols in healthcare and the dental environment. *PLoS One*. 2017;12(5):e0178007. Epub 20170522. doi: 10.1371/journal.pone.0178007. PubMed PMID: 28531183; PubMed Central PMCID: PMC5439730.
4. Encyclopedic Dictionary of Polymers. Second edition ed. New York, NY.2007. Polypropilene and Polypropilene fiber; p. 764-65.
5. Rautemaa R, Nordberg A, Wuolijoki-Saaristo K, Meurman JH. Bacterial aerosols in dental practice - a potential hospital infection problem? *J Hosp Infect*. 2006;64(1):76-81. Epub 20060703. doi: 10.1016/j.jhin.2006.04.011. PubMed PMID: 16820249; PubMed Central PMCID: PMC7114873.
6. Chatoutsidou SE, Saridaki A, Raisi L, Katsivela E, Tsiamis G, Zografakis M, et al. Airborne particles and microorganisms in a dental clinic: Variability of indoor concentrations, impact of dental procedures, and personal exposure during everyday practice. *Indoor Air*. 2021;31(4):1164-77. Epub 20210603. doi: 10.1111/ina.12820. PubMed PMID: 34080742.
7. Martinez-Ruiz FJ, Carrillo-Espindola TY, Bustos-Martinez J, Hamdan-Partida A, Sanchez-Perez L, Acosta-Gio AE. Higher prevalence of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* among dental students. *J Hosp Infect*. 2014;86(3):216-8. Epub 20140114. doi: 10.1016/j.jhin.2013.12.007. PubMed PMID: 24548405.
8. Mirhoseini SH, Koolivand A, Bayani M, Sarlak H, Moradzadeh R, Ghamari F, et al. Quantitative and qualitative assessment of microbial aerosols in different indoor environments of a dental school clinic. *Aerobiologia (Bologna)*. 2021;37(2):217-24. Epub 20210113. doi: 10.1007/s10453-020-09679-z. PubMed PMID: 33462523; PubMed Central PMCID: PMC7805567.

9. Harrel SK, Molinari J. Aerosols and splatter in dentistry: a brief review of the literature and infection control implications. *J Am Dent Assoc.* 2004;135(4):429-37. doi: 10.14219/jada.archive.2004.0207. PubMed PMID: 15127864; PubMed Central PMCID: PMC7093851.
10. Sorci M, Fink TD, Sharma V, Singh S, Chen R, Arduini BL, et al. Virucidal N95 Respirator Face Masks via Ultrathin Surface-Grafted Quaternary Ammonium Polymer Coatings. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2022;14(22):25135-46. Epub 20220525. doi: 10.1021/acscami.2c04165. PubMed PMID: 35613701; PubMed Central PMCID: PMC9185690.
11. Jung S, Yang JY, Byeon EY, Kim DG, Lee DG, Ryoo S, et al. Copper-Coated Polypropylene Filter Face Mask with SARS-CoV-2 Antiviral Ability. *Polymers (Basel).* 2021;13(9). Epub 20210422. doi: 10.3390/polym13091367. PubMed PMID: 33922136; PubMed Central PMCID: PMC8122733.
12. Paranthaman MP, Peroutka-Bigus N, Larsen KR, Phadke KS, Summers T, Theodore M, et al. Effective antiviral coatings for deactivating SARS-CoV-2 virus on N95 respirator masks or filters. *Mater Today Adv.* 2022;14:100228. Epub 20220308. doi: 10.1016/j.mtadv.2022.100228. PubMed PMID: 35284812; PubMed Central PMCID: PMC8901369.
13. Steinhauer K, Meyer S, Pfannebecker J, Teckemeyer K, Ockenfeld K, Weber K, et al. Antimicrobial efficacy and compatibility of solid copper alloys with chemical disinfectants. *PLoS One.* 2018;13(8):e0200748. Epub 20180810. doi: 10.1371/journal.pone.0200748. PubMed PMID: 30096209; PubMed Central PMCID: PMC6086424.
14. Yin IX, Zhang J, Zhao IS, Mei ML, Li Q, Chu CH. The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and Its Application in Dentistry. *Int J Nanomedicine.* 2020;15:2555-62. Epub 20200417. doi: 10.2147/IJN.S246764. PubMed PMID: 32368040; PubMed Central PMCID: PMC7174845.
15. Bello-Lopez JM, Silva-Bermudez P, Prado G, Martinez A, Ibanez-Cervantes G, Cureno-Diaz MA, et al. Biocide effect against SARS-CoV-2 and ESKAPE pathogens of a noncytotoxic silver-copper nanofilm. *Biomed Mater.* 2021;17(1). Epub 20211112. doi: 10.1088/1748-605X/ac3208. PubMed PMID: 34673548.
16. Markowska-Szczupak A, Paszkiewicz O, Michalkiewicz B, Kaminska A, Wrobel RJ. Fabrication of Antibacterial Metal Surfaces Using Magnetron-Sputtering Method. *Materials (Basel).* 2021;14(23). Epub 20211129. doi: 10.3390/ma14237301. PubMed PMID: 34885454; PubMed Central PMCID: PMC8658246.
17. Oh YJ, Hong J. Application of the MTT-based colorimetric method for evaluating bacterial growth using different solvent systems. *Lwt-Food Sci Technol.* 2022;153. doi: ARTN 112565
10.1016/j.lwt.2021.112565. PubMed PMID: WOS:000709876200008.
18. Pormohammad A, Turner RJ. Silver Antibacterial Synergism Activities with Eight Other Metal(loid)-Based Antimicrobials against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics (Basel).* 2020;9(12). Epub 20201128. doi: 10.3390/antibiotics9120853. PubMed PMID: 33260495; PubMed Central PMCID: PMC7760997.
19. Jang J, Lee JM, Oh SB, Choi Y, Jung HS, Choi J. Development of Antibiofilm Nanocomposites: Ag/Cu Bimetallic Nanoparticles Synthesized on the Surface of Graphene

Oxide Nanosheets. ACS Appl Mater Interfaces. 2020;12(32):35826-34. Epub 20200728. doi: 10.1021/acsami.0c06054. PubMed PMID: 32667802.

20. Takahashi C, Yamada T, Yagi S, Murai T, Muto S. Preparation of silver-decorated Soluplus(R) nanoparticles and antibacterial activity towards *S. epidermidis* biofilms as characterized by STEM-CL spectroscopy. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2021;121:111718. Epub 20201215. doi: 10.1016/j.msec.2020.111718. PubMed PMID: 33579506.

21. Kaul L, Abdo AI, Coenye T, Krom BP, Hoogenkamp MA, Zannettino ACW, et al. The combination of diethyldithiocarbamate and copper ions is active against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms in vitro and in vivo. Front Microbiol. 2022;13:999893. Epub 20220909. doi: 10.3389/fmicb.2022.999893. PubMed PMID: 36160243; PubMed Central PMCID: PMC9500474.

22. Pulit-Prociak J, Staron A, Staron P, Chmielowiec-Korzeniowska A, Drabik A, Tymczyna L, et al. Preparation and of PVA-based compositions with embedded silver, copper and zinc oxide nanoparticles and assessment of their antibacterial properties. J Nanobiotechnology. 2020;18(1):148. Epub 20201021. doi: 10.1186/s12951-020-00702-6. PubMed PMID: 33087105; PubMed Central PMCID: PMC7579989.

23. Adnan M, Sousa AM, Machado I, Pereira MO, Khan S, Morton G, et al. Role of *bolA* and *rpoS* genes in biofilm formation and adherence pattern by *Escherichia coli* K-12 MG1655 on polypropylene, stainless steel, and silicone surfaces. Acta Microbiol Immunol Hung. 2017;64(2):179-89. Epub 20161115. doi: 10.1556/030.63.2016.018. PubMed PMID: 27842452.

TABLAS.

Tabla 1. Viabilidad celular de las bacterias expuestas a los nanorecubrimientos de plata-cobre (Ag-Cu) sobre textiles de polipropileno (PP) mediante el ensayo de MTT.

Bacteria	Gram	PP Abs a 570 nm (ME \pm SEM)	PP-AgCu Abs a 570 nm (ME \pm SEM)
<i>E. coli</i>	-	0.10 \pm 0.01	0.12 \pm 0.01
<i>S. aureus</i>	+	0.73 \pm 0.02	0.53 \pm 0.02
<i>S. epidermidis</i>	+	0.40 \pm 0.03	0.27 \pm 0.04
<i>P. aeruginosa</i>	-	0.33 \pm 0.01	0.19 \pm 0.01