



# **BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA

**“Evaluación de la actividad antimicrobiana de superficies de acero  
inoxidable con depósitos de nanopartículas de oro, platino y  
oro/platino en presencia de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y  
*Staphylococcus aureus* ATCC 25923”**

## **TESIS**

PARA OBTENER EL GRADO DE  
LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO  
PRESENTAN

**Amelia Hadid Aguirre Estevez**

**y**

**Luis Fernando López Martínez**

DIRECTORA DE TESIS  
**Dra. Ana Marta de los Ángeles Lobo Sánchez**

CODIRECTOR  
**Dr. Roberto López Ramírez**

ASESORA INTERNA  
**Dra. Fabiola Gabriela Nieto Caballero**

**Febrero 2026**

## ÍNDICE GENERAL

|                                                                                                                                                    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| INDICE GENERAL                                                                                                                                     | 2  |
| RESUMEN                                                                                                                                            | 4  |
| 1. INTRODUCCIÓN                                                                                                                                    | 5  |
| 2. MARCO TEÓRICO                                                                                                                                   | 6  |
| 2.1. Resistencia a los antimicrobianos                                                                                                             | 6  |
| 2.2. <i>Pseudomona aeruginosa</i>                                                                                                                  | 7  |
| 2.3. <i>Staphylococcus aureus</i>                                                                                                                  | 7  |
| 2.4. Biopelículas                                                                                                                                  | 8  |
| 2.5. Nanopartículas, nanotecnología y nanomateriales                                                                                               | 10 |
| 2.5.1. Nanopartículas (NPs)                                                                                                                        | 10 |
| 2.5.1.1. Clasificación de las Nanopartículas (NPs)                                                                                                 | 10 |
| 2.5.1.2. Nanotecnología y nanomateriales                                                                                                           | 12 |
| 2.5.1.2.1. Método de Pulverización catódica (Sputtering)                                                                                           | 14 |
| 2.5.1.3. Nanopartículas en superficies de acero inoxidable con aplicaciones antimicrobianas                                                        | 15 |
| 2.5.1.3.1. Nanopartículas de oro y platino como agentes antimicrobianos                                                                            | 16 |
| 2.5.1.3.2. Nanopartículas de oro (AuNPs)                                                                                                           | 16 |
| 2.5.1.3.3. Nanopartículas de platino (PtNPs)                                                                                                       | 18 |
| 3. MARCO DE REFERENCIA                                                                                                                             | 18 |
| 4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA                                                                                                                      | 21 |
| 5. JUSTIFICACIÓN                                                                                                                                   | 22 |
| 6. OBJETIVOS                                                                                                                                       | 22 |
| 6.1. Objetivo general                                                                                                                              | 22 |
| 6.2. Objetivos específicos                                                                                                                         | 22 |
| 7. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN                                                                                                                      | 23 |
| 7.1. Tipo de la investigación                                                                                                                      | 23 |
| 7.2. Universo de estudio                                                                                                                           | 23 |
| 7.3. Tamaño de la muestra                                                                                                                          | 23 |
| 7.4. Sede y lugar del estudio                                                                                                                      | 24 |
| 7.5. Criterios de selección                                                                                                                        | 24 |
| 7.6. Recursos humanos                                                                                                                              | 24 |
| 7.7. Recursos financieros                                                                                                                          | 25 |
| 7.8. Diseño estadístico                                                                                                                            | 25 |
| 8. MATERIALES Y METODOLOGÍAS                                                                                                                       | 25 |
| 8.1. Cepas bacterianas                                                                                                                             | 25 |
| 8.2. Elaboración de las placas de acero inoxidable con depósitos de nanopartículas de oro, platino y oro/platino                                   | 25 |
| 8.3. Evaluación de la actividad antibacteriana de las placas de acero inoxidable con los depósitos de nanopartículas de oro, platino y oro/platino | 26 |
| 8.4. Recuento de viabilidad bacteriana                                                                                                             | 27 |
| 9. DIAGRAMA DE LA METODOLOGÍA                                                                                                                      | 28 |
| 10. RESULTADOS                                                                                                                                     | 30 |

|                  |    |
|------------------|----|
| 11.DISCUSIÓN     | 40 |
| 12.CONCLUSIÓN    | 43 |
| 13. BIBLIOGRAFÍA | 45 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|           |                                                                                                                                                              |    |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1  | Etapas de la formación de biofilm                                                                                                                            | 9  |
| Figura 2  | Esquema de la clasificación de los nanomateriales                                                                                                            | 12 |
| Figura 3  | Esquema de la síntesis de nanopartícula                                                                                                                      | 13 |
| Figura 4  | Esquema del método de sputtering                                                                                                                             | 15 |
| Figura 5  | Micrografía de microscopia electrónica de transmisión de barrido (STEM)                                                                                      | 31 |
| Figura 6  | Mapeo elemental de espectroscopía de dispersión de energía de rayos X (EDS)                                                                                  | 32 |
| Figura 7  | Espectro de espectroscopia de dispersión de energía de rayos x (EDS)                                                                                         | 33 |
| Figura 8  | Estructura y tamaño de las nanopartículas de oro analizadas por microscopia de transmisión (TEM)                                                             | 34 |
| Figura 9  | Análisis obtenido mediante microscopia electrónica de transmisión por barrido (STEM) de la muestra con nanopartículas del sistema Au/Pt                      | 35 |
| Figura 10 | Contenido de los elementos identificados en el espectro de EDS. El porcentaje atómico de hierro en un 45.82 %, debido a la composición del acero inoxidable. | 36 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|         |                               |    |
|---------|-------------------------------|----|
| Tabla 1 | Resultados de primer ensayo   | 37 |
| Tabla 2 | Resultados del segundo ensayo | 38 |

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

|           |                                                         |    |
|-----------|---------------------------------------------------------|----|
| Gráfico 1 | Resultados del ensayo para <i>Staphylococcus aureus</i> | 39 |
| Gráfico 2 | Resultados del ensayo para <i>Pseudomona aeruginosa</i> | 40 |

## RESUMEN

La resistencia bacteriana a múltiples fármacos representa una amenaza creciente para la salud pública, especialmente en entornos donde la desinfección es crítica. Una estrategia prometedora frente a este problema es el uso de superficies antimicrobianas. El acero inoxidable, ampliamente utilizado en diversos contextos, puede mejorarse mediante la incorporación de nanopartículas de oro y platino, conocidas por sus propiedades antimicrobianas. Este estudio evaluó superficies de acero inoxidable modificadas con nanopartículas (oro, platino y oro/platino) aplicadas mediante pulverización catódica, un método eficaz para crear recubrimientos delgados y duraderos. La actividad antimicrobiana se analizó frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, antes y después de la limpieza con detergente y la esterilización por calor húmedo. Los resultados muestran una mayor eficacia en las superficies tratadas con nanopartículas de oro y oro/platino. Para garantizar la validez de los resultados, se confirmó la conservación de las características morfológicas, metabólicas y fenotípicas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, asegurando que los efectos observados se debieran exclusivamente a la interacción bacteria-material. La caracterización estructural y composicional demostró que la pulverización catódica permite la deposición parcial y controlada de nanopartículas metálicas, generando superficies heterogéneas adecuadas para estudios de interacción bacteriana. Los ensayos evidenciaron una actividad antibacteriana significativa en todos los recubrimientos, dependiente tanto del tipo de nanopartícula como de la especie bacteriana. En particular, los recubrimientos bimetálicos Au/Pt presentaron el mayor efecto inhibitorio previo al tratamiento térmico, con reducciones bacterianas cercanas al 99 %, lo que sugiere un efecto sinérgico entre ambos metales. Sin embargo, tras los procesos de limpieza y esterilización a 121 °C, se observó una disminución de la actividad antibacteriana, especialmente en los recubrimientos Au/Pt, mientras que los recubrimientos monometálicos de Au y Pt mantuvieron una eficacia elevada, principalmente frente a *P. aeruginosa*. Estos resultados indican que, aunque los recubrimientos con nanopartículas de Au y Pt poseen un alto potencial para aplicaciones antimicrobianas, es necesario optimizar la estabilidad térmica, mecánica y adhesiva de los sistemas bimetálicos para su implementación en condiciones reales.

## 1. INTRODUCCIÓN

La proliferación de infecciones bacterianas resistentes a múltiples fármacos representa un desafío significativo para la salud pública, especialmente en entornos donde la higiene y la desinfección son fundamentales. Entre las diversas estrategias para combatir estas infecciones, el desarrollo de materiales antimicrobianos ha emergido como una solución prometedora. En este contexto, las superficies de acero inoxidable (ampliamente utilizadas en entornos hospitalarios, domésticos, industriales y públicos) ofrecen una base ideal para la incorporación de nanopartículas con propiedades antimicrobianas, capaces de inhibir el crecimiento de patógenos. Las nanopartículas de oro y platino, conocidas por su capacidad para interactuar con las membranas celulares bacterianas, inducir estrés oxidativo y alterar procesos metabólicos esenciales, han sido objeto de numerosos estudios. Uno de los enfoques clave para incorporar estas nanopartículas en superficies de acero inoxidable es la pulverización catódica (sputtering), un proceso fisicoquímico de deposición en fase vapor. Este método permite la formación de capas delgadas sobre un sustrato mediante la expulsión de átomos o moléculas de un blanco (material objetivo) bajo la acción de un campo eléctrico. La pulverización catódica resulta especialmente eficaz para la incorporación controlada de nanopartículas, como las de oro y platino, en matrices metálicas, lo que le confiere a las superficies propiedades antimicrobianas mejoradas y una mayor durabilidad frente a la contaminación bacteriana. En este estudio, se evalúa la actividad antimicrobiana de superficies de acero inoxidable modificadas mediante la deposición de nanopartículas de oro, platino y su combinación (oro/platino), obtenidas a través del método de pulverización catódica. Las pruebas se realizaron antes y después de someter las superficies a un proceso de limpieza con un detergente comercial y a una esterilización por calor húmedo (121 °C, 15 minutos, 15 psi). Los patógenos seleccionados para el ensayo fueron *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, debido a su implicación en numerosos procesos infecciosos, su capacidad para colonizar distintas superficies y su resistencia a una amplia gama de antibióticos y desinfectantes. Para la evaluación de las láminas de acero inoxidable modificadas se utilizó el método estandarizado de la norma ISO 22196:2011. La viabilidad bacteriana se determinó mediante el método de goteo en placa. Los resultados obtenidos muestran una mayor eficacia antimicrobiana en las superficies recubiertas con nanopartículas de oro y de oro/platino, tanto antes como después de los tratamientos de limpieza y esterilización.

## 2. MARCO TEÓRICO

Los microorganismos se desplazan en el ambiente de diversas maneras, en forma pasiva (bioaerosoles) (Mohajeri *et al.*, 2019), contacto directo entre dos objetos animados (Wu *et al.*, 2022) y fómites (Jaradat *et al.*, 2020). Algunos microorganismos pueden mantener su potencial patógeno mientras están fuera de su huésped durante días e incluso semanas en superficies inanimadas como plásticos y metales, a menudo consideradas superficies “higiénicas” (Cai *et al.*, 2022). El depósito de microorganismos en diferentes tipos de superficies es un aspecto crucial en la gestión de la contaminación y la prevención de infecciones, especialmente en entornos hospitalarios, domésticos, industriales y públicos. El contacto con estas superficies puede llevar a la transmisión de infecciones, especialmente en lugares donde la higiene es crítica. Algunos microorganismos pueden sobrevivir y proliferar en superficies metálicas durante periodos prolongados, aumentando el riesgo de infecciones. Las pruebas de sensibilidad antimicrobiana permiten evaluar la eficacia de estos nuevos materiales y recubrimientos, proporcionando datos valiosos para la investigación y el desarrollo.

### 2.1. Resistencia a los antimicrobianos

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) constituye una amenaza global significativa. Según declaraciones del secretario de Salud, Jorge Alcocer Varela, en la 2.ª Cumbre Internacional del Sector Salud (COISS), se estima que en 2019 esta problemática fue responsable de aproximadamente un millón 270 mil muertes a nivel mundial. El secretario subrayó que el uso eficaz de los antibióticos está comprometido por la creciente resistencia de bacterias, virus, hongos y parásitos, lo que ha dificultado su tratamiento con los medicamentos disponibles. En México se reportaron más de tres millones de casos de infecciones resistentes a tratamientos durante el año 2021, lo cual resultó en más de 48 mil fallecimientos. Entre las bacterias responsables de RAM se encuentran las bacterias Grampositivas como: *Staphylococcus aureus* y las Gramnegativas, como *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*, estas son las bacterias que se encuentran con mayor frecuencia en las infecciones humanas, por lo que el desarrollo de antibióticos nuevos, efectivos y la creación de alternativas de materiales antimicrobianos contra estas bacterias es de carácter prioritario (Secretaría de

Salud, Gobierno de México, 2024). Las bacterias multirresistentes a los antibióticos constituyen un problema de salud mundial, en los últimos años, el interés en las nanopartículas, específicamente las metálicas, han crecido como potenciales candidatos antimicrobianos (Gouyau *et al.*, 2021).

## **2.2. *Pseudomonas aeruginosa***

*P. aeruginosa* es una bacteria heterotrófica, móvil, Gram negativa, con forma de bastón, de aproximadamente de 1 a 5  $\mu\text{m}$  de largo y de 0.5 a 1.0  $\mu\text{m}$  de ancho, aerobio facultativo que crece mediante respiración aeróbica y respiración anaeróbica con el nitrato como aceptor final de electrones, puede crecer anaeróbicamente con arginina y tiene capacidades fermentativas limitadas, crece a 37 °C, pero puede sobrevivir a un amplio rango de temperaturas que van desde 4 a 42 °C. Es una bacteria importante del suelo, también se puede detectar en depósitos de agua contaminadas por animales y humanos, así como también en aguas residuales. Presenta resistencia a muchas clases de antibióticos y agentes terapéuticos, lo que la convierte en un problema durante la infección, ya que puede resultar difícil de tratar. A menudo se le denomina un “patógeno oportunista”, porque rara vez infecta a personas sanas. Las personas con sistemas inmunitarios comprometidos son los principalmente afectados por esta bacteria incluso pacientes con dispositivos médicos permanentes (Diggle *et al.*, 2020). *Pseudomonas aeruginosa* puede sobrevivir en el ambiente, en estado planctónico, en una suspensión líquida como la saliva, donde se reproducen rápidamente y son móviles o en estado sésil, adhiriéndose a superficies naturales o sintéticas, donde las bacterias crecen lentamente y tienen una movilidad restringida, por lo que forman racimos pegajosos en reordenamientos permanentes por la secreción de una matriz adhesiva y protectora conocida como *biofilm* que aparece como una respuesta adaptativa a un ambiente inadecuado para el crecimiento en forma planctónica (Tuon *et al.*, 2022).

## **2.3. *Staphylococcus aureus***

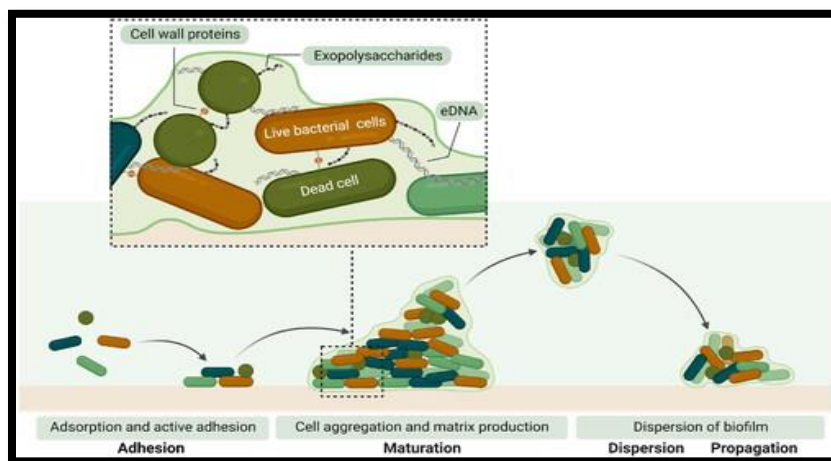
Es una bacteria Grampositiva en forma de coco y dispuestas en racimos; en los medios de cultivo, pueden crecer a temperaturas entre 18 °C y 40 °C, hasta con un 10 % de sal, son aerobios o anaerobios facultativos. Las pruebas de identificación bioquímica típicas incluyen catalasa positiva, coagulasa positiva, novobiocina sensible y la fermentación del manitol positivo. Las

cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la metilcilina (MRSA) son portadoras del gen *mec* en el cromosoma bacteriano, confiriéndole resistencia a múltiples antibióticos dependiendo del tipo de casete cromosómico estafilocócico (SCC) que transporte. Estas bacterias pueden causar infecciones invasivas y/o enfermedades mediadas por toxinas. Los mecanismos para la evasión de la respuesta inmune del huésped incluyen la producción de una cápsula antifagocítica, el secuestro de anticuerpos del huésped o el enmascaramiento antigénico por la proteína A, la formación de biofilm, la supervivencia intracelular y el bloqueo quimiotáctico de los leucocitos entre otros. Las infecciones de dispositivos protésicos a menudo están mediadas por la capacidad de las cepas de *Staphylococcus aureus* de formar biopelículas y comunicarse mediante detección de *quorum sensing* dependiente de la densidad celular bacteriana (Howden *et al.*, 2023; Tong *et al.*, 2015).

## **2.4. Biopelículas**

Las bacterias existen en forma de células individuales (células planctónicas) o en forma de agregados microbianos (biopelículas). La biopelícula es una estructura tridimensional compleja y multicapa, compuesta por diversas células bacterianas, ya sea en estado planctónico o agrupadas. Estas células secretan sustancias poliméricas extracelulares sobre superficies tanto biológicas como no biológicas. Las biopelículas pueden estar formadas por especies bacterianas individuales o mixtas. En función de las cepas bacterianas involucradas y los factores ambientales presentes, estas estructuras exhiben propiedades fisicoquímicas variables (Joshi *et al.*, 2020). La palabra "biopelícula" originalmente se refería al biomaterial en una superficie, sin embargo, las bacterias agregadas no adheridas a la superficie también se han reconocido como biopelículas. Las infecciones crónicas por biopelículas se dividen a su vez en infecciones asociadas a la superficie o no asociadas a la superficie. Las infecciones asociadas a la superficie se observan comúnmente en pacientes con implantes o dispositivos médicos. Las infecciones no asociadas a superficies incluyen infecciones que se han asociado con infecciones agudas que se pueden tratar con antibióticos, aunque el tratamiento exitoso depende en gran medida de un diagnóstico preciso y rápido (Sauer *et al.*, 2022). Algunos autores mencionan que en los casos en que las bacterias forman biopelículas dentro del huésped, la infección es a menudo intratable y se convierte en un estado crónico (Høiby *et al.*, 2015). Sin embargo, se sugieren que la diferencia entre las bacterias en infecciones agudas y crónicas se debe a la actividad metabólica

más que a la agregación (Kolpen *et al.*, 2022). En el ambiente, las biopelículas bacterianas se han asociado con una mayor protección contra el estrés, la desecación y la presencia de compuestos tóxicos. Además, la retención de enzimas en la matriz de la biopelícula mejora la eficiencia y la diversidad de la descomposición de la materia orgánica; la formación de biopelículas en las raíces de las plantas y las células fúngicas puede promover la adquisición y el transporte de nutrientes (Sauer *et al.*, 2022). Las biopelículas bacterianas son complejas comunidades de bacterias adheridas a la superficie en una matriz autoproducida compuesta principalmente por sustancias poliméricas extracelulares (EPS), incluyendo proteínas, polisacáridos, ADN extracelular y otras moléculas (Muhammad *et al.*, 2020). La formación de un biofilm es un proceso complejo que se clasifica típicamente en tres etapas (Arciola *et al.*, 2018) (figura 1). Las bacterias en un biofilm pueden censar la distancia y el tamaño de los cúmulos bacterianos vecinos utilizando quórum-sensing (QS) o autoinducción, mediante péptidos inductores. Las bacterias Gramnegativas utilizan la acil-homoserina lactonas y las bacterias Grampositivas se valen de oligopéptidos procesados que los guía a producir exopolisacáridos (EPS), que encierra a la comunidad de microcolonias y estabiliza la red de biofilm. En la etapa de dispersión, la matriz de biofilm puede interrumpirse y las bacterias pueden migrar a otros sitios (Van Hoogstraten *et al.*, 2024).



**Figura 1. ETAPAS DE LA FORMACIÓN DE BIOFILM.** *Adhesión.* Las bacterias se adhieren al biomaterial por fuerzas químicas y físicas. *Maduración de biofilm.* Se produce la matriz de exopolisacáridos (EPS) y se agregan las células bacterianas. *Dispersión y propagación.* Un biofilm maduro puede dispersarse y propagarse a una nueva ubicación (Van Hoogstraten *et al.*, 2024).

## 2.5. Nanopartículas, nanotecnología y nanomateriales

Las nanopartículas y la nanotecnología representan una revolución en la ciencia y la ingeniería, brindando soluciones innovadoras a desafíos complejos en una amplia variedad de campos, su tamaño tan pequeño les confiere propiedades como una mayor reactividad química, propiedades ópticas singulares y una relación superficie-volumen extremadamente alta, por lo que los nanomateriales pueden tener propiedades físicas, químicas y mecánicas significativamente diferentes a las de sus contrapartes en mayor escala.

### 2.5.1. Nanopartículas (NPs)

Son pequeñas partículas con tamaños que varían de 1 a 100 nanómetros. El concepto de un "nanómetro" fue propuesto por primera vez por Richard Zsigmondy, Premio Nobel de Química de 1925, para caracterizar el tamaño de las partículas, siendo el primero en medir el tamaño de partículas como los coloides de oro usando un microscopio (Hulla *et al.*, 2015). Estos materiales han ganado importancia e interés en los últimos años debido a su gran número de aplicaciones, ya que, a esta escala, la materia presenta una disposición más compacta de átomos y moléculas, generando fenómenos y adquiriendo o mejorando propiedades mecánicas, eléctricas, magnéticas, ópticas, catalíticas y antibacterianas. Pueden clasificarse según su composición, forma y tamaño. Los tipos más comunes de nanopartículas son metales, óxidos metálicos, basadas en carbono y puntos cuánticos. Debido a sus tamaños y propiedades las nanopartículas se pueden aplicar en diversos campos, incluyendo la medicina, la electrónica, la energía y la ciencia ambiental. Al reducir su tamaño, las nanopartículas pueden tener una mayor relación superficie-volumen, lo que permite un mayor número de átomos o moléculas por volumen, por lo que se necesita menos material para obtener la misma actividad y exhibir otras propiedades (Álvarez-Chimal & Arenas-Alatorre, 2023).

#### 2.5.1.1. Clasificación de las Nanopartículas (NPs)

En base a las características fisicoquímicas, algunas NPs conocidas, se han clasificado en (Khan *et al.*, 2022):

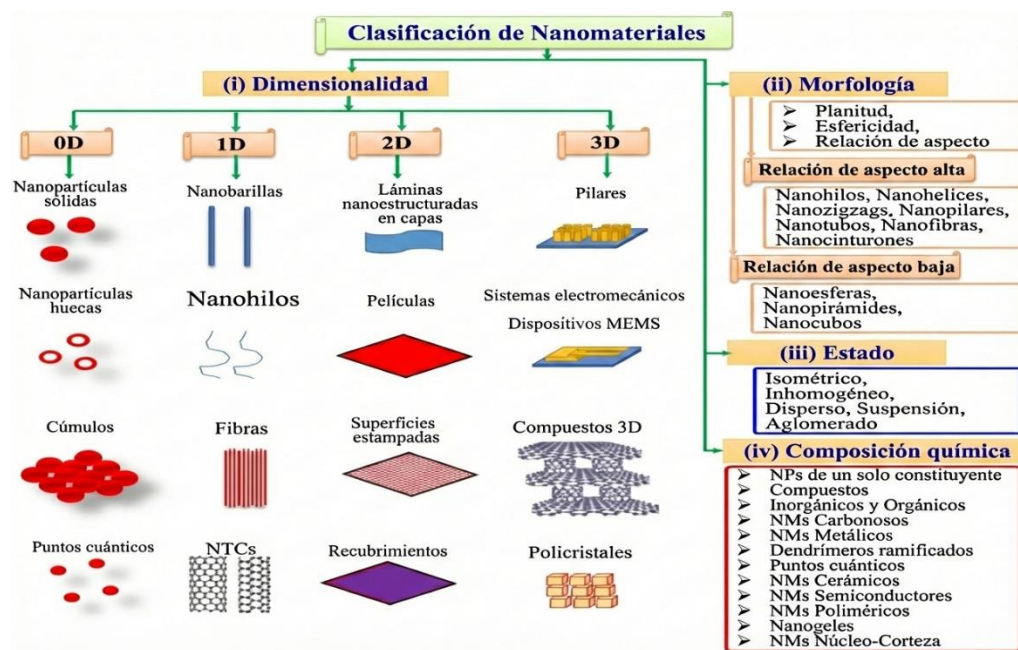
- a) Nanopartículas de carbón. Como los fullerenos y los nanotubos de carbón, cuyo interés comercial se debe a su conductividad eléctrica, alta resistencia, estructura, afinidad de los electrones y versatilidad.
- b) Nanopartículas metálicas. Están hechas de los precursores de diferentes metales, debido a sus propiedades, las NPs metálicas encuentran aplicaciones en muchas áreas de investigación.
- c) Nanopartículas de cerámica. Son sólidos no metálicos inorgánicos, sintetizados a través del calor y el enfriamiento sucesivo, se pueden encontrar en formas amorfas, policristalinas, densas, porosas o huecas, están siendo de gran interés para los investigadores debido a sus aplicaciones en catálisis, fotocatalisis, fotodegradación de tintes y aplicaciones en imágenes.
- d) Nanopartículas semiconductoras. Los nanomateriales semiconductores poseen propiedades entre metales y no metales y por lo que tienen varias aplicaciones en la foto óptica y dispositivos electrónicos.
- e) Nanopartículas poliméricas. Se basan en compuestos orgánicos, son en su mayoría nanoesferas, que forman una matriz sólida donde otras moléculas se adsorben en el exterior de la superficie esférica o nanocápsulas donde la masa sólida se encapsula completamente dentro de la partícula.
- f) Nanopartículas basadas en lípidos. Contienen fracciones lipídicas y se utilizan en muchas aplicaciones biomédicas (portadores de fármacos, liberación de moléculas de ARN en la terapia del cáncer, etc.); una NP lipídica es característicamente esférica con un diámetro que varía de 10 a 1000 nm, poseen un núcleo sólido hecho de lípidos.

Las nanopartículas son clasificadas también por su composición química, como orgánicas e inorgánicas; entre las primeras, se encuentran los dendrímeros, micelas, liposomas, partículas poliméricas, polímero-cápsulas, ferritina y polímeros mesoporos. En el caso de las nanopartículas inorgánicas se incluyen, puntos cuánticos, partículas paramagnéticas, superparamagnéticas, óxido metálicas y metálicas que suelen estar constituidas por Au, Cu, Ag, Zn, Pb, Co, Cd, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, SiO<sub>2</sub>, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, TiO<sub>2</sub>, CuO, CdSn, ZnO y ZnS (Ijaz *et al.*, 2020). Los seres vivos pueden estar expuestos a las nanopartículas liberadas al ambiente, durante los procesos de fabricación o al finalizar el ciclo de vida de los productos. Además de la descarga directa, las nanopartículas pueden redistribuirse en distintos medios a través de fenómenos naturales, como el caso de la captación desde la atmósfera y posteriormente el escurrimiento pluvial, por lo que es importante conocer la composición de los materiales, su estabilidad y carga superficial, la

complejidad de los enlaces y la velocidad de degradación de cada uno de sus componentes (Mohamed *et al.*, 2021).

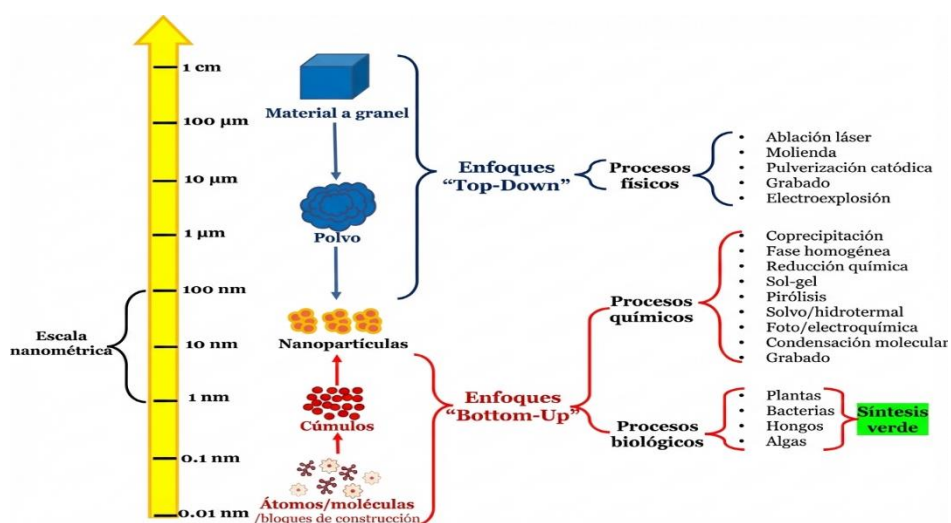
### 2.5.1.2. Nanotecnología y nanomateriales

La nanotecnología puede definirse como la ciencia y la ingeniería involucradas en el diseño, síntesis, caracterización y aplicación de materiales y dispositivos cuya organización funcional está en la escala de nanómetro o una milmillonésima de metro. A estas escalas, la consideración de moléculas individuales y grupos de moléculas que interactúan en relación con las propiedades macroscópicas permite tener control sobre la estructura molecular fundamental y las propiedades químicas y físicas macroscópicas (Forrest, 2001). La nanotecnología produce materiales de varios tipos a nivel de nanoescala. Los nanomateriales suelen clasificarse respecto a cuantas de las tres dimensiones (D) espaciales de sus componentes se encuentren en escala nanométrica: 0D (tiene todas sus dimensiones en nanoescala), 1D (son materiales con una dimensión que no está en nanoescala mientras que las otras dos dimensiones están en nanoescala), 2D (contienen solo una dimensión en nanoescala mientras que las otras dos no) y 3D (los materiales tienen varias dimensiones más allá de los 100 nm) (Mubarak *et al.*, 2021; Saleh, 2020; Tiwari *et al.*, 2012) (figura 2).



**Figura 2.** Esquema de la clasificación de los nanomateriales (Saleh 2020).

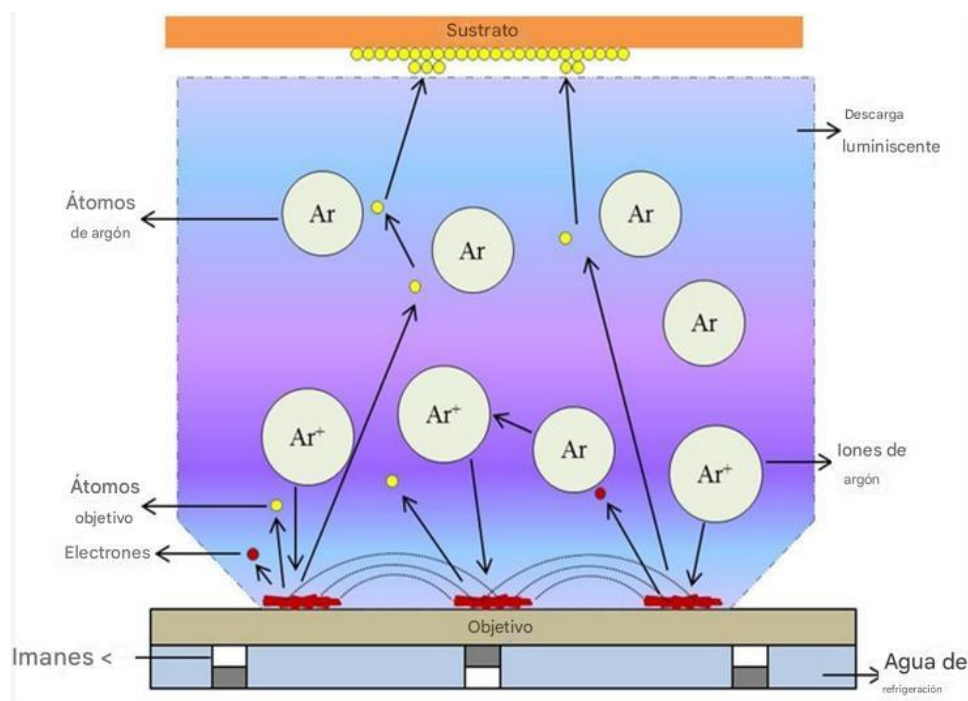
Estas características pueden influir en las propiedades fisicoquímicas de estas sustancias, por ejemplo, las propiedades ópticas. Una nanopartícula de oro de 20 nm (Au), platino (Pt), plata (Ag) y paladio (Pd), tienen color rojo vino, gris amarillento, negro y negro oscuro, respectivamente. el color de la solución cambia debido a la variación en la relación de aspecto, el espesor de la monocapa y la concentración en porcentaje de oro. Las NPs no son moléculas simples en sí, se componen de tres capas: a) La capa superficial, que puede fusionarse con una variedad de moléculas pequeñas, iones metálicos, tensoactivos y polímeros. b) La capa de protección, que es químicamente diferente del núcleo en todos los aspectos y c) El núcleo, que es esencialmente la parte central de la NP y generalmente se refiere a la propia NP. Las características de estos materiales han permitido el uso multidisciplinario de los mismos (Khan *et al.*, 2022). Otro criterio de clasificación de los nanomateriales depende del método de obtención, algunos nanomateriales surgen a partir de fenómenos naturales como erupciones volcánicas, fuegos forestales, polvos minerales, erosión del suelo o polvos de fuentes cósmicas o desiertos (Maiti, 2014) o la condensación y cristalización a través de neblina o precipitaciones (Mohamed *et al.*, 2021). Los nanomateriales manufacturados se clasifican de acuerdo con los métodos de síntesis, a) método químico (bottom-up) que consiste en la nucleación y el crecimiento de las partículas a partir de los átomos metálicos, que ofrece ventajas en cuanto al control del tamaño y reproducibilidad y b) método físico (top-down) si son sintetizados a partir de macromateriales hasta alcanzar escalas menores (Álvarez-Chimal & Arenas-Alatorre, 2023; Saleh 2020) (figura 3).



**Figura 3.** Esquema de la síntesis de nanopartícula (Álvarez-Chimal & Arenas-Alatorre, 2023).

#### 2.5.1.2.1. Método de Pulverización Catódica (Sputtering)

Este procedimiento se emplea ampliamente en la fabricación de capas delgadas sobre distintos materiales, así como en métodos de grabado y análisis técnico. El concepto de sputtering hace referencia a la eyección de átomos por el bombardeo de un sólido o líquido por partículas energéticas, principalmente iones (Depla *et al.* 2010). Las partículas en la superficie del material son expulsadas como resultado de las colisiones de partículas energéticas, las cuales ocurren tanto de manera elástica como no elástica. Los átomos que se liberan poseen una energía cinética igual o superior a las energías de enlace, lo que impacta la cinética de crecimiento de las películas y su microestructura. El sistema sputtering de corriente continua incluye un arreglo de placas paralelas dentro de una cámara de vacío, el cual es evacuado anteriormente ( $7.5 \times 10^{-6}$  Torr o menor). Para esto se inserta un gas pesado (Argón) a una presión de trabajo de  $10^{-3}$  Torr. Después se aplica una diferencia de potencial entre el ánodo y el cátodo con la suficiente energía para ionizar los átomos de argón, los cuales dan en el blanco y generan electrones secundarios que a la vez ionizan más átomos de Ar, generando un proceso de cascada y un plasma. Los iones de argón se atraen al cátodo y chocan con su superficie (Mastache *et al.*, 2023). La pulverización catódica con magnetrón de CC utiliza imanes detrás del objetivo para ayudar a atrapar iones con carga positiva cerca de la superficie del objetivo. El proceso se lleva a cabo en una cámara de vacío, para ayudar a eliminar los contaminantes que interferirán con la película generada. Dentro de la cámara, se introduce un gas inerte de alta pureza, normalmente argón. Cuando se exponen a una corriente continua o continúa pulsada, este gas se ioniza, lo que permite que se produzca el proceso de pulverización catódica. El material metálico del objetivo actúa como polo negativo (cátodo), mientras que el sustrato funciona como polo positivo (ánodo). Cuando se aplica una corriente eléctrica continua al objetivo, se ioniza el gas argón, lo que hace que los iones colisionen con fuerza con el material del objetivo cargado negativamente. Estas colisiones moleculares de alta energía desprenden iones metálicos de la superficie del objetivo y los liberan en el plasma (una mezcla de átomos de gas argón ionizado y electrones). El sustrato (ahora el ánodo) se encuentra en el camino del flujo de vapor generado por el objetivo, por lo que el vapor se condensará sobre la superficie y formará una fina capa del material del objetivo (figura 4) (Jena *et al.*, 2025).



**Figura 4.** Diagrama esquemático que ilustra los componentes básicos de un sistema de pulverización catódica (Maurya *et al.*, 2014).

#### 2.5.1.3. Nanopartículas en superficies de acero inoxidable con aplicaciones antimicrobianas

Desde que Harry Brearley descubrió el acero inoxidable en Inglaterra en 1913 (Keown, 1984), se ha convertido en uno de los materiales más utilizados en la vida diaria, siendo utilizado en utensilios de cocina, varios tipos de cubiertos, envases de alimentos, cintas transportadoras, conectores de almacenamiento etc., por lo que en la mayoría de los casos debe estar libre de contaminantes nocivos como los microorganismos. Sin embargo, la adhesión microbiana a las superficies de acero inoxidable seguidas de la colonización y el crecimiento de células puede dar lugar a la formación de biofilms que protegen a los microorganismos de los agentes de esterilización química y física, como el ozono, el  $\text{AgNO}_3$  y sus derivados, la luz ultravioleta y la radiación (Costerton *et al.*, 1999). Situación que incrementa el uso de productos químicos en las superficies y mayores costos para desinfectar y esterilizar equipos. Por lo tanto, se necesita un método antimicrobiano conveniente, eficiente, de bajo costo y a largo plazo para prevenir la adhesión de la biopelícula sobre el acero inoxidable (Chen *et al.*, 2010).

#### 2.5.1.3.1. Nanopartículas de oro y platino como agentes antimicrobianos

En los últimos años ha aumentado el interés por la nanotecnología y sus productos, las nanopartículas, se han aplicado en muchos campos, entre ellos la medicina, la veterinaria y la farmacología. Un gran avance en nanotecnología fue el desarrollo de un método físico para obtener nanopartículas de plata, oro y cobre. La fragmentación de las nanopartículas aumenta sus propiedades biocidas en contacto con microorganismos. Las aplicaciones biológicas de los nanomateriales se deben a su estructura especial y a su superficie activa excepcionalmente grande, lo que tiene una importancia decisiva en su efecto sobre las células de los microorganismos. Debido a la mayor superficie de las nanopartículas en relación con su masa, la membrana celular se cubre con una gran cantidad de nanopartículas, lo que provoca daños y deformaciones en las estructuras celulares externas. Cuando las nanopartículas se unen a los grupos tiol de los aminoácidos pueden provocar cambios en la conformación de las proteínas esenciales, bloquea centros de actividad enzimática e impide el intercambio de iones con el entorno (Wernicki *et al.*, 2014). También se ha demostrado, que las nanopartículas inducen alteraciones en los potenciales electroquímicos de la membrana celular de los microorganismos, lo que puede causar interrupciones significativas en los procesos que tienen lugar en el límite entre la célula y su entorno (Li, *et al.*, 210). El tamaño y la estructura de las nanopartículas son factores que determinan las propiedades biocidas de estas; un alto grado de fragmentación de las nanopartículas de 3 a 10 nm y una estructura triangular son más efectivas que las nanopartículas esféricas o varillas (Akter *et al.*, 2018).

#### 2.5.1.3.2. Nanopartículas de oro (AuNPs)

La aparición de organismos resistentes a los fármacos ha aumentado la necesidad de terapias antibacterianas y antivirales eficaces. Las nanopartículas de oro (AuNPs) debido a su pequeño tamaño, pueden interactuar eficazmente con virus y bacterias a nivel celular, lo que las convierte en agentes antimicrobianos eficaces. Las nanopartículas de oro presentan algunas ventajas sobre otras nanopartículas (Kokkarachedu & Sadiku, 2024):

1. Estabilidad: las nanopartículas de oro son conocidas por su alta estabilidad, tanto en términos de propiedades físicas como químicas. Son menos propensas a la oxidación y la degradación, lo que las convierte en una buena opción para aplicaciones a largo plazo.
2. Biocompatibilidad y no toxicidad: Lo que las convierte en un candidato atractivo para su uso en aplicaciones biomédicas, como la terapia génica, la administración de fármacos y la obtención de imágenes, sin inducir efectos secundarios nocivos en los organismos vivos.
3. Tamaño y forma: es posible sintetizar nanopartículas de oro en diversas formas y tamaños, desde esferas y bastones hasta triángulos y estrellas. Sus propiedades se pueden ajustar para aplicaciones particulares, como su resonancia plasmónica, su actividad catalítica o sus capacidades de orientación.
4. Relación superficie-volumen: Interacciona con gran cantidad de sitios activos debido a la alta relación superficie-volumen de las AuNPs.
5. Estabilidad e inercia: Lo que reduce la susceptibilidad al deterioro o la oxidación. Esto garantiza su confiabilidad en diversas aplicaciones.
6. Propiedades ópticas: Tienen características ópticas distintivas como resultado de la resonancia plasmónica superficial localizada (LSPR), lo que tienen implicaciones en la detección, la obtención de imágenes y la terapia del cáncer.
7. Funcionalización en superficies: La superficie de las nanopartículas de oro se puede fusionar fácilmente con varias biomoléculas, lo que permite la administración dirigida de fármacos.
8. Conductividad: El oro es un excelente conductor de electricidad y las estructuras a nano escala pueden mejorar aún más la conductividad eléctrica de las nanopartículas de oro.
9. Actividad catalítica: Siendo útil en una amplia gama de reacciones químicas y aplicaciones de catálisis.
10. Conversión fototérmica: Tienen la capacidad de convertir la energía de la luz en calor.
11. Versatilidad: las nanopartículas de oro encuentran aplicaciones en una amplia gama de campos, incluidos la medicina, la electrónica y la detección, debido a su combinación única de propiedades.

Dentro de las desventajas de las AuNPs encontramos: el alto costo, la toxicidad potencial al ser utilizadas en altas concentraciones, la formación de agregados y la estabilidad (Kokkarachedu & Sadiku, 2024).

#### 2.5.1.3.3. Nanopartículas de platino (PtNPs)

Las nanopartículas de platino (PtNPs) han ganado una atención significativa en varios campos, incluidas las aplicaciones médicas, biológicas, eléctricas y químicas, debido a su biocompatibilidad, estabilidad y química de superficie. Las PtNPs exhiben una biocompatibilidad celular notable, equivalente a la de las nanopartículas de oro; sin embargo, poseen un mayor impacto citotóxico, característica que las hace potencialmente valiosas en la terapia del cáncer, ya que los iones de platino pueden interactuar con el ADN e impedir su replicación. También tienen propiedades antibacterianas contra patógenos tanto grampositivos como gramnegativos. Las aplicaciones de las PtNPs están determinadas por su forma, tamaño, dispersión y morfología; se ha observado que las PtNPs cúbicas funcionan como catalizador en el proceso de adsorción y oxidación de monóxido de carbono (CO) y en celdas de combustible de membrana de intercambio de protones. Además, han encontrado una aplicación generalizada en varios procesos de hidrogenación de o-cloronitrobenceno y cinamaldehído. Dentro de las ventajas de las PtNPs se encuentran: la actividad catalítica, conductividad eléctrica, biocompatibilidad y la durabilidad en presencia de diferentes ambientes, teniendo como principales desventajas, el costo, la toxicidad, su alta reactividad y la formación de conglomerados entre otras (Kokkarachedu & Sadiku, 2024).

### 3. MARCO DE REFERENCIA

Bento de Carvalho y col., en 2024, revisaron investigaciones científicas, que les dio una perspectiva de los estudios que usan la norma ISO 22196, considerado el *gold standard* para recubrimientos de superficies antimicrobianos y examinaron el estado actual de la técnica en métodos de prueba antimicrobianos. Se centraron en detectar dificultades y como incluso pequeñas variaciones en los métodos pueden llevar a diferentes resultados, lo que afecta a la evaluación de la actividad antibacteriana de un producto en particular (Bento de Carvalho *et al.*, 2024).

Zhan y col., en 2022 realizaron un análisis de 27 estudios relacionados con los efectos antibacterianos de las superficies de material de implantes médicos modificadas con AuNPs,

encontrando que estos implantes médicos tienen buenos efectos antibacterianos contra bacterias Grampositivas y Gramnegativas, el cual puede ser mejorado por un láser de radiación de infrarrojo cercano (NIR). El efecto antimicrobiano de las nanopartículas de oro fue dependiente de la dosis, siendo aproximadamente el 5 % del contenido de nanopartículas de oro el más favorable para la respuesta inflamatoria, con un tamaño aproximado de 20 nm las más propicias para la biocompatibilidad (Zhan *et al.*, 2022).

Chlumsky y col., en 2021 estudiaron las propiedades antimicrobianas de las nanopartículas de paladio (PdNP) y nanopartículas de platino (PtNP) y su uso potencial en la industria alimentaria. Las NP se probaron contra los patógenos comunes transmitidos por los alimentos *Salmonella enterica infantis*, *Escherichia coli*, *Lysteria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*. Ambas NP redujeron las células bacterianas en log<sub>10</sub> UFC de 0.3-2.4 (PdNP) y 0.8-2.0 (PtNP), siendo las tasas inhibitorias promedio de 55.2-99 % para PdNP y 83.8-99 % para PtNP. Sin embargo, ambas Np parecieran ser menos efectivas para combatir la formación de las biopelículas. Las concentraciones más efectivas que se evaluaron fueron 22.25-44.5 mg/L para PdNP y 50.5-101 mg/L PtNP. Demostrando sus propiedades antimicrobianas, ambos tipos de NPs podrían combatir potencialmente patógenos transmitidos por los alimentos (Chlumsky *et al.*, 2021).

Joshi y col. en 2020, realizaron una serie de investigaciones para comprender las interacciones moleculares de las nanopartículas de oro y plata con diversas biopelículas bacterianas y los componentes del biofilm (ácidos nucleicos, proteínas, polisacáridos y lípidos) que interactúan con las nanopartículas de oro y nanopartículas de plata (AuNP y AgNP) a través de interacciones electrostáticas, interacciones hidrofóbicas, interacciones de enlace de hidrogeno, interacciones de Van der Waals, interacciones iónicas e interacciones aromáticas o interacciones  $\pi$ - $\pi$  concluyendo que el desarrollo tecnológico en el área de la nanoterapia durante las últimas décadas respalda un enorme potencial de las nanopartículas de Au y Ag para desarrollar nuevas aplicaciones antimicrobianas (Joshi *et al.*, 2020)

En 2023 Jiménez-Mejía y colaboradores, llevaron a cabo la biosíntesis y caracterización de nanopartículas de plata (AgNPs) a partir del sobrenadante de un cultivo de *Pseudomona aeruginosa* al cual se le adiciono el AgNO<sub>3</sub>. Se evaluó la actividad antimicrobiana en presencia de *Pseudomonas. aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*,

*Klebsiella neumonie* y *Lysteria monocytogenes*, siendo *P. aeruginosa* la más susceptible a las nanopartículas de plata y *K. neumonie* y *L. monocytogenes* las que mayor tolerancia mostraron a las AgNPs; concluyendo que el uso de sobrenadante de cultivos de *P. aeruginosa* es una alternativa viable para la síntesis ecológica de nanopartículas de plata, las cuales muestran actividad antibacteriana contra bacterias Gramnegativas y Grampositivas (Jiménez-Mejía *et al.*, 2023).

En 2024, González-López y col., desarrollaron películas a base de una matriz biopolimérica de quitosano adicionadas con nanopartículas de plata (AgNPs) (Q-AgNPs), evaluando sus propiedades fisicomecánicas, fisicoquímicas y microbiológicas para aplicaciones en el de envasado de alimentos. La combinación de Q-AgNPs mostró efecto bacteriostático, mientras que las AgNPs mostraron un retraso en el inicio de la fase de crecimiento logarítmico y disminuyó el crecimiento respecto al control. Las películas Q-AgNPs se observaron homogéneas sin porosidad. El color fue ligeramente más amarillo y menos luminoso, lo que podría conferir protección de la luz. En el mismo sentido, fueron menos permeables al vapor de agua lo que puede conferirles una función de barrera, ofreciendo un mejor efecto protector de los alimentos; fueron 9 % más resistentes a la elongación, lo cual las hace más maleables; concluyendo que las películas Q-AgNPs son factibles para aplicarse como recubrimientos o empaques para alimentos (González-López *et al.*, 2024).

En 2022 Abrica-González y Gómez-Arrollo, recopilaron información de distintos estudios sobre aplicaciones de nanopartículas de óxido de zinc y óxido de cobre, la manera en que pueden detectarse y el cómo pueden ser captadas y caracterizadas mediante el uso de plantas. También resalta la importancia de los estudios sobre la toxicidad y los efectos que se generan a través de la interacción con distintas especies de plantas, que contribuyen a entender los diversos mecanismos de toxicidad, interacción y acumulación de metales, así como su degradación en el ambiente. También se mencionan alternativas para mejorar la biocompatibilidad de las nanopartículas con el ambiente y los organismos (Abrica-González & Gómez-Arroyo, 2022).

En 2023 Lara-Vázquez, evaluó la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de cobre activadas con láser diodo contra *Enterococcus faecalis* para esto se creó una solución irrigante con nanopartículas de cobre y las probó a distintas concentraciones (300 µg/ml a 1000

µg/ml), obteniendo como resultado que en ambos grupos se obtuvo la misma capacidad de eliminación bacterias teniendo una concentración mínima inhibitoria de 700 µg/ml (Lara-Vázquez, 2023).

En este estudio se sintetizaron nanopartículas de óxido de calcio (CaO) mediante el método de precipitación y se evaluaron sus propiedades antibacterianas. Las nanopartículas presentaron una estructura cúbica simple con una pureza del 97.5 %, según análisis Difracción de Rayos X (DRX). El análisis Espectroscopía de Dispersión de Energía de Rayos X (EDS) mostró una composición de 52.84 % de calcio, 36.83 % de oxígeno y 10.32 % de carbono. El tamaño promedio de partícula fue de 68–78 nm, determinado por Microscopía de Fuerza Atómica (AFM). El análisis Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) identificó la vibración característica del enlace Ca–O en 505 cm<sup>-1</sup>. La actividad antibacteriana se evaluó mediante microdilución en caldo frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, determinando la concentración mínima inhibitoria. Los resultados muestran que las nanopartículas de CaO tienen buenas propiedades antibacterianas, lo que las convierte en una alternativa eficaz y sostenible frente a métodos tradicionales (Pérez-Morales, 2025).

#### **4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En el ámbito de la salud y la industria, la prevención de infecciones y la garantía de ambientes estériles son fundamentales para la protección de la Salud Pública y la eficacia de los procesos industriales. Las superficies de acero inoxidable son comúnmente utilizadas en equipos y áreas críticas debido a su durabilidad y facilidad de limpieza. Sin embargo, la persistencia de microorganismos patógenos en estas superficies puede representar un riesgo significativo, especialmente en ambientes donde la esterilidad es crucial. *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* son dos patógenos de importancia clínica y ambiental debido a su capacidad para causar infecciones graves y su resistencia a múltiples antibióticos. Estos microorganismos pueden sobrevivir y proliferar en superficies de acero inoxidable, contribuyendo a la transmisión de infecciones y la contaminación cruzada. Las estrategias actuales para controlar estos microorganismos incluyen el uso de agentes antimicrobianos y métodos de desinfección, pero su efectividad puede verse limitada por la formación de biofilms y la multiresistencia emergente de los patógenos.

## 5. JUSTIFICACIÓN

En la búsqueda de soluciones innovadoras para mejorar el control de infecciones, el uso de nanopartículas metálicas ha surgido como una opción prometedora. Las nanopartículas de oro y platino han mostrado propiedades antimicrobianas en diversos estudios, pero su aplicación sobre superficies de acero inoxidable y su efectividad frente a patógenos específicos como *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* aún no está completamente evaluada. La incorporación de nanopartículas de oro, platino y combinaciones de ambos metales en superficies de acero inoxidable podría ofrecer un enfoque novedoso para mejorar la actividad antimicrobiana. La eficacia de estas nanopartículas en la prevención del crecimiento y la proliferación de microorganismos patógenos en dichas superficies requiere una evaluación precisa que determine la estabilidad coloidal de las nanopartículas en la superficie de acero inoxidable, considerando factores como la fricción, el uso de surfactantes caseros, desinfectantes halógenos como el hipoclorito de sodio y la exposición a ambientes húmedos o corrosivos (esterilización en autoclave).

## 6. OBJETIVOS

### 6.1. Objetivo general

Evaluar la actividad antimicrobiana de superficies de acero inoxidable que han sido tratadas con depósitos de nanopartículas de oro, platino y combinaciones de oro/platino frente a las bacterias patógenas *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

### 6.2. Objetivos específicos

- Analizar las propiedades físicas y químicas de las superficies de acero inoxidable recubiertas con nanopartículas de oro, platino y oro/platino, incluyendo su distribución, tamaño y estabilidad.
- Evaluar la eficacia antimicrobiana de superficies de acero inoxidable tratadas con nanopartículas de oro, platino y oro/platino frente a las cepas bacterianas *Pseudomonas*

*aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, mediante métodos de cultivo y conteo de colonias.

- Investigar la estabilidad y durabilidad de las nanopartículas sobre las superficies de acero inoxidable, considerando factores como la fricción, el uso de surfactantes caseros, desinfectantes halógenos como el hipoclorito de sodio y la exposición a ambientes húmedos o corrosivos (esterilización en autoclave).
- Investigar en la bibliografía los posibles mecanismos de acción de las nanopartículas de oro, platino y oro/platino en la reducción de la viabilidad microbiana.

## **7. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

### **7.1. Tipo de estudio**

Observacional, prospectivo, transversal y descriptivo.

### **7.2. Universo del estudio**

Cepas bacterianas:

*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

6 placas de acero inoxidable de 3x3 cm con grosor de un milímetro sin depósito de nanopartículas.

18 placas de acero inoxidable de 3x3 cm con grosor de un milímetro, con depósitos de nanopartículas de oro, platino y oro/platino.

### **7.3. Tamaño de muestra**

Cepas bacterianas:

Bacteria Gramnegativa *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y Bacteria Grampositiva *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

24 de placas de acero inoxidable:

6 placas de acero inoxidables de 3x3 cm con grosor de un milímetro (control).

6 placas de acero inoxidable de 3x3 cm con grosor de un milímetro, con depósitos de nanopartículas de oro.

6 placas de acero inoxidable de 3x3 cm con grosor de un milímetro, con depósitos de nanopartículas de platino.

6 placas de acero inoxidable de 3x3 cm con grosor de un milímetro, con depósitos de nanopartículas de oro/platino.

#### **7.4. Sede y lugar del estudio**

-Laboratorio de Microbiología, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP).

-Laboratorio de Investigación, Departamento de Fisicomatemática, Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP).

-Ingeniería Mecatrónica, Tecnológico de Estudios Superiores de Jocotitlán. Estado de México.

#### **7.5. Criterios de selección**

Criterios de inclusión: Cepas bacterianas que sean *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Placas de acero inoxidable de 3x3 cm con grosor de un milímetro sin depósito de nanopartículas y placas de acero inoxidable de 3x3 cm con grosor de un milímetro, con depósitos de nanopartículas de oro, platino y oro/platino.

Criterios de exclusión: Cepas bacterianas que no sean *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Placas que no sean de acero inoxidable de 3x3 cm con grosor de un milímetro sin depósito de nanopartículas y placas que no sean de acero inoxidable de 3x3 cm con grosor de un milímetro, con depósitos de nanopartículas de oro, platino y oro/platino.

#### **7.6. Recursos humanos**

Directora de tesis de la Facultad de Ciencias Químicas, BUAP:

Dra. Ana Marta de los Ángeles Lobo Sánchez.

Codirector de tesis del área de Ingeniería Mecatrónica, Tecnológico de Estudios Superiores de Jocotitlán. Estado de México:

Dr. Roberto López Rodríguez.

Asesora Interna de la Facultad de Ciencias Químicas, BUAP:

Dra. Fabiola Gabriela Nieto Caballero.

Tesistas: Amelia Hadid Aguirre Estevez y Luis Fernando López Martínez

## **7.7. Recursos financieros**

Recursos personales.

Recursos del Tecnológico de Estudios Superiores de Jocotitlán. Estado de México:

## **7.8. Diseño estadístico**

Estadística descriptiva.

# **8. MATERIALES Y METODOLOGÍAS**

## **8.1. Cepas bacterianas:**

Se emplearon cepas bacterianas tipo: la Gramnegativa *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y la Grampositiva *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Ambas cepas fueron reactivadas en caldo nutritivo e incubadas a 37 °C durante 18 a 24 horas. Posteriormente, se realizaron siembras por estría cruzada en agar soya tripticaseína (TSA) y se incubaron nuevamente bajo las mismas condiciones. La pureza de los cultivos se confirmó mediante tinción de Gram y observación de las características morfológicas típicas de las colonias correspondientes a cada cepa.

## **8.2. Elaboración de las placas de acero inoxidable con depósitos de nanopartículas de oro, platino y oro/platino**

Las placas de acero utilizadas se obtuvieron a partir de una lámina de acero inoxidable tipo 430. Previo a cualquier tratamiento, se dividieron 24 placas de dimensiones 3 × 3 cm en cuatro grupos, cada uno conformado por seis placas. Esta distribución permitió diferenciar entre los grupos de control y aquellos que serían tratados con nanopartículas de oro, platino y una combinación oro/platino. Una vez clasificadas, las placas fueron sometidas a un proceso de

limpieza mediante lavado ultrasónico en el equipo Baku 9050. Este procedimiento consistió en lavados secuenciales con agua, jabón, acetona, alcohol al 70 % y un enjuague final con agua destilada. Cada etapa de lavado tuvo una duración de 5 minutos. Posteriormente, se procedió al recubrimiento de las placas mediante pulverización catódica (sputtering), utilizando el equipo Agar Auto Sputter Coater. Para este proceso, se seleccionaron como materiales diana (target) oro y platino. Antes de iniciar la pulverización, se verificó que las superficies estuvieran completamente limpias y secas. Las placas se colocaron individualmente en el soporte del equipo conforme se completaba su preparación. Una vez encendido el equipo, se permitió estabilizar el sistema, asegurando que la cámara alcanzara un vacío alto dentro de los parámetros recomendados. Luego, se seleccionó el material diana correspondiente (Gold target o Platinum target), el cual fue erosionado durante el proceso de sputtering. Se configuraron los parámetros operativos: una presión de trabajo entre 1 y 10 mTorr, un voltaje en el rango de 300 a 1000 V, y una corriente entre 36 y 40 mA. El tiempo de deposición fue de 180 segundos (3 minutos), ajustado en función del grosor de recubrimiento deseado. Durante todo el proceso, se monitorearon continuamente los parámetros de corriente, voltaje y presión para garantizar un funcionamiento adecuado. Al finalizar el tiempo programado, el proceso de pulverización se detuvo automáticamente y la cámara liberó el vacío. Finalmente, cada placa fue retirada cuidadosamente para su posterior análisis.

### **8.3. Evaluación de la actividad antibacteriana de las placas de acero inoxidable con los depósitos de nanopartículas de oro, platino y oro/platino**

Se aplicó la metodología propuesta por la norma ISO 22196:2011 (Cashera & Porosa, 2022), diseñada para evaluar la actividad antibacteriana en superficies no porosas, adaptada en este caso para placas de acero inoxidable.

#### **1. Preparación del inóculo bacteriano**

Se prepararon suspensiones bacterianas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en caldo nutritivo, ajustadas a una concentración de  $1.5 \times 10^8$  UFC/mL, correspondiente a un valor de 0.5 en la escala de McFarland, respectivamente.

## 2. Inoculación de las placas

Se inocularon las placas de acero inoxidable con las cepas bacterianas, tanto sin nanopartículas (control) como con nanopartículas de oro, platino y una mezcla de oro/platino. Cada tratamiento se realizó por triplicado para asegurar la reproducibilidad.

## 3. Incubación

Las placas inoculadas se cubrieron con una película estéril de polietileno y se incubaron a 37 °C durante 18-24 horas.

## 4. Recuperación del inóculo

Después de la incubación, se retiraron las biopelículas de polietileno y las placas con inóculo bacteriano se transfirieron a una solución buffer estéril para suspender las bacterias adheridas.

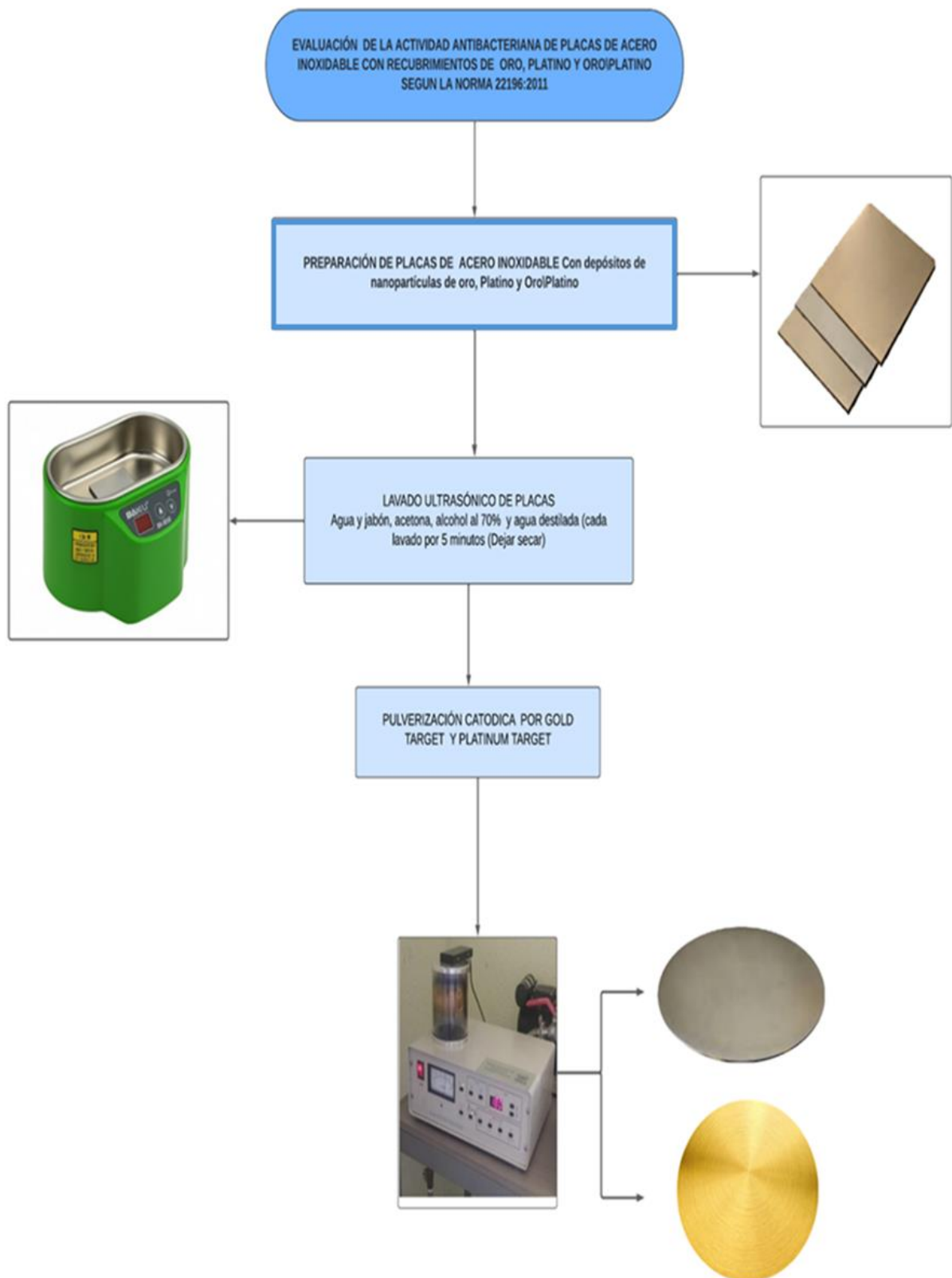
## 5. Limpieza y esterilización

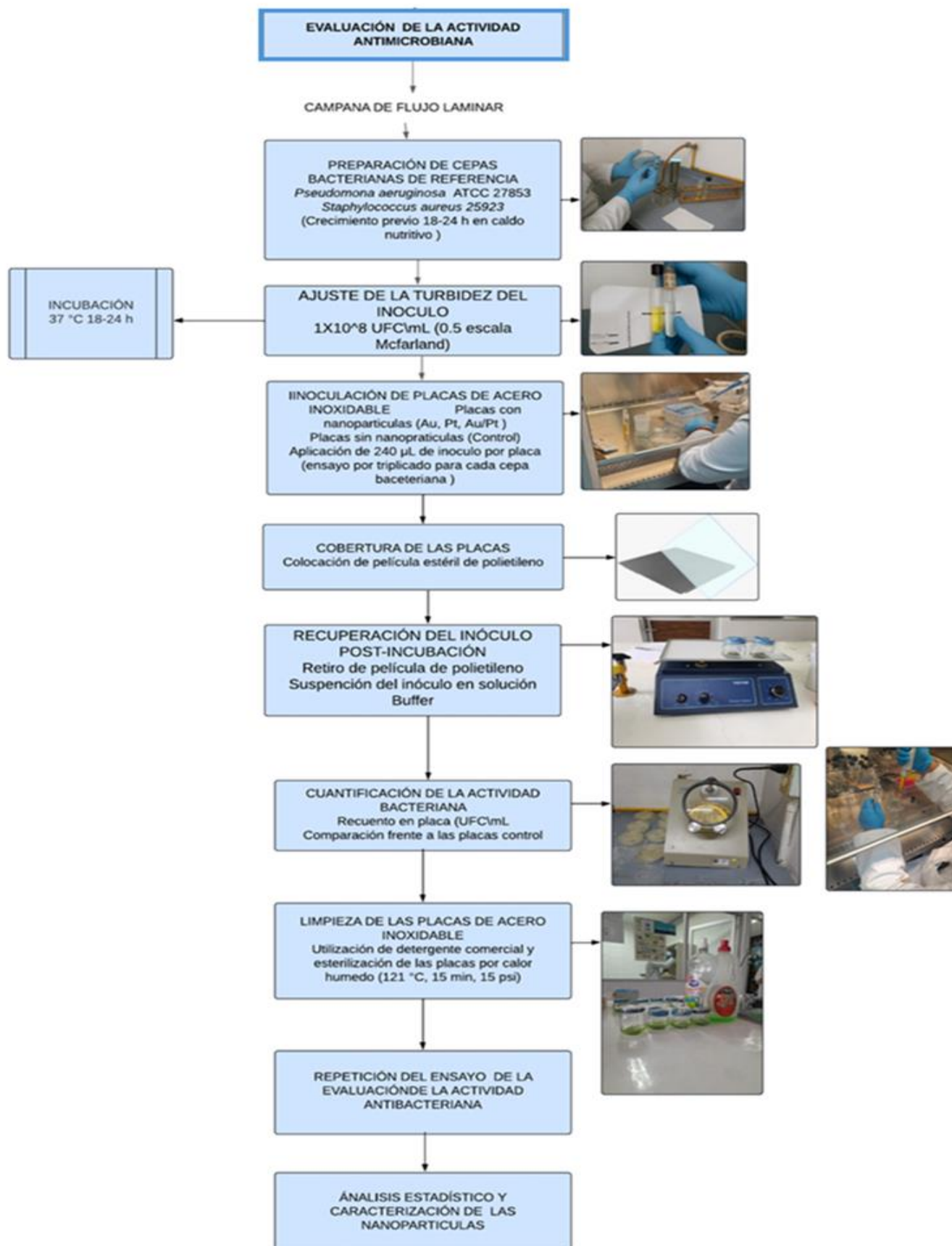
Posterior al ensayo, las placas (tanto las que contenían nanopartículas como los controles) se limpiaron con un detergente comercial seguido de esterilización mediante calor húmedo (121 °C, 15 minutos a 15 Psi). Luego, se realizó un segundo ciclo del ensayo para evaluar la estabilidad y persistencia de la actividad antibacteriana tras limpieza y esterilización.

### 8.4. Recuento de viabilidad bacteriana

El recuento bacteriano se llevó a cabo mediante la técnica de “goteo en placa”, la cual consiste en realizar diluciones seriadas del cultivo original, en un rango de  $10^{-1}$  a  $10^{-6}$  (Muñoz-Rojas *et al.*, 2016). De cada dilución se tomaron alícuotas de 20 µL, las cuales fueron depositadas en forma de gotas individuales sobre la superficie de placas con medio Mueller Hinton previamente gelificado. Las gotas se colocaron separadas entre sí para evitar mezclas o superposiciones. Una vez aplicadas las gotas, las placas se dejaron reposar con la tapa entreabierta durante algunos minutos, permitiendo que el medio absorbiera las gotas sin que estas se expandieran. Posteriormente, las placas se incubaron a 37 °C durante 18 a 24 horas. Finalizado el periodo de incubación, se seleccionó la dilución que presentó un número contable de colonias, y con base en el recuento obtenido, se realizaron los cálculos correspondientes para determinar la concentración bacteriana inicial de la muestra.

## 9. DIAGRAMAS DE LA METODOLOGÍA



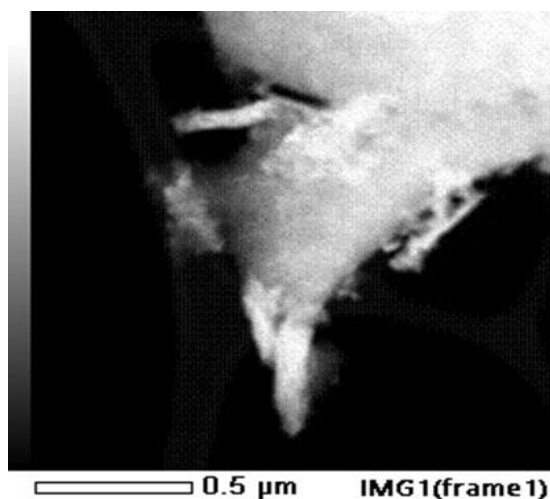


## 10. RESULTADOS

Para las cepas bacterianas utilizadas en este ensayo se confirmó la pureza y la morfología esperada mediante tinción de Gram y la caracterización de las colonias cultivadas en agar soya tripticaseína (TSA). *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 presentó bacilos Gramnegativos dispuestos de forma aislada o en pares. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mostró cocos Grampositivos agrupados en racimos característicos, en concordancia con las descripciones morfológicas previamente reportadas para ambas especies (Habib *et al.*, 2015). En cuanto a las características coloniales, *Pseudomonas aeruginosa* desarrolló colonias grandes, opacas y planas, con bordes irregulares o continuos y un olor distintivo dulce o afrutado, atribuible a la producción de compuestos volátiles típicos de la especie, como la 2-aminoacetofenona. En las placas con TSA se observaron colonias de color azul verdoso, no fluorescentes, asociadas con la síntesis del pigmento piocianina, un metabolito secundario característico con funciones antioxidantes y de competencia microbiana. La ligera difusión de este pigmento en el medio concuerda con lo descrito en cepas tanto ambientales como clínicas, reflejando la capacidad de *Pseudomonas aeruginosa* para producir metabolitos extracelulares con potencial antibiótico (Abdelaziz *et al.*, 2023). *Staphylococcus aureus* formó colonias redondeadas, lisas, convexas y brillantes, de color blanco porcelana y consistencia húmeda. Esta morfología es indicativa de un crecimiento estable y homogéneo, representativo de cultivos viables y libres de contaminación. La ausencia de microorganismos indeseados en todos los aislamientos confirmó la eficacia de las condiciones de reactivación y mantenimiento, asegurando la pureza y reproducibilidad de los resultados experimentales.

La elaboración de las placas de acero inoxidable con depósitos de nanopartículas de oro, platino y oro/platino recubiertas mediante pulverización catódica mostraron una cobertura homogénea, con un brillo metálico característico según el material depositado. Las placas con nanopartículas de oro presentaron una tonalidad dorada suave, mientras que las de platino mostraron un color gris plateado. Las placas con mezcla Au/Pt presentaron una coloración intermedia. No se detectaron irregularidades ni zonas sin recubrimiento visibles. La caracterización morfológica y composicional de las muestras obtenidas por pulverización catódica de oro, platino y oro/platino sobre sustratos de acero inoxidable se llevó a cabo mediante microscopía electrónica de transmisión de barrido (STEM) acoplada a espectroscopía de dispersión de energía de rayos X (EDS). Para el depósito de platino (Pt), la micrografía STEM

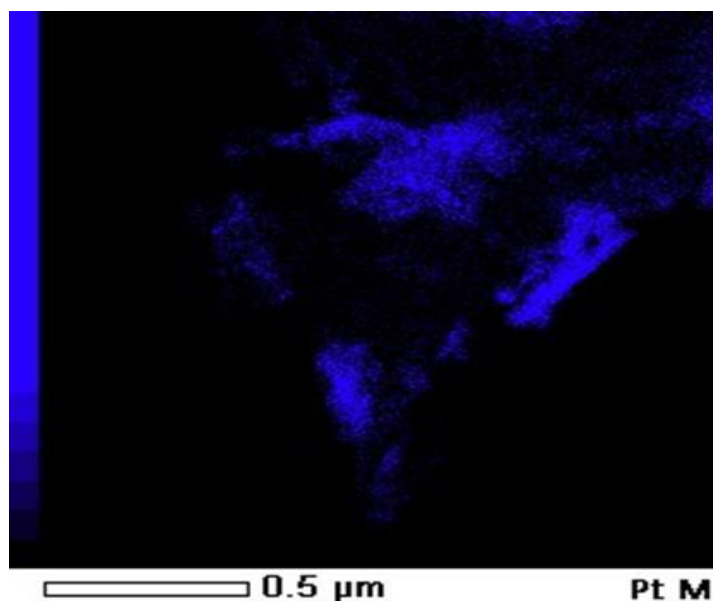
(figura 5) se distinguen entidades con un contraste claramente definido, observadas a una escala de 0.5  $\mu\text{m}$ , correspondientes a partículas colectadas del sustrato de acero inoxidable. Así mismo, se observan algunas partículas más pequeñas con una morfología de tipo longitudinal tipo aguja, cuyo contraste se ve más brillante que el resto de la partícula. Esto sugiere que, si bien, estas partículas pueden estar compuestas de acero inoxidable, en su superficie se encuentra el metal Pt, debido a que este último tiene un número atómico mucho más grande que los elementos principales que componen al acero inoxidable (Fe, Cr, Ni, C). Este contraste observado de manera homogénea indica que pueden existir nanopartículas y que estas se han aglomerado en la superficie de las partículas tipo aguja de acero inoxidable. La formación de aglomerados de Pt es un fenómeno esperado en este tipo de recubrimientos, ya que el proceso de pulverización catódica favorece la nucleación y crecimiento en islas metálicas debido a la movilidad limitada de los átomos depositados y a la rugosidad inherente de la superficie del acero inoxidable (Andreazza *et al.*, 2002).



**Figura 5.** Micrografía STEM de nanopartículas de Pt en sustrato de acero inoxidable obtenida por pulverización catódica

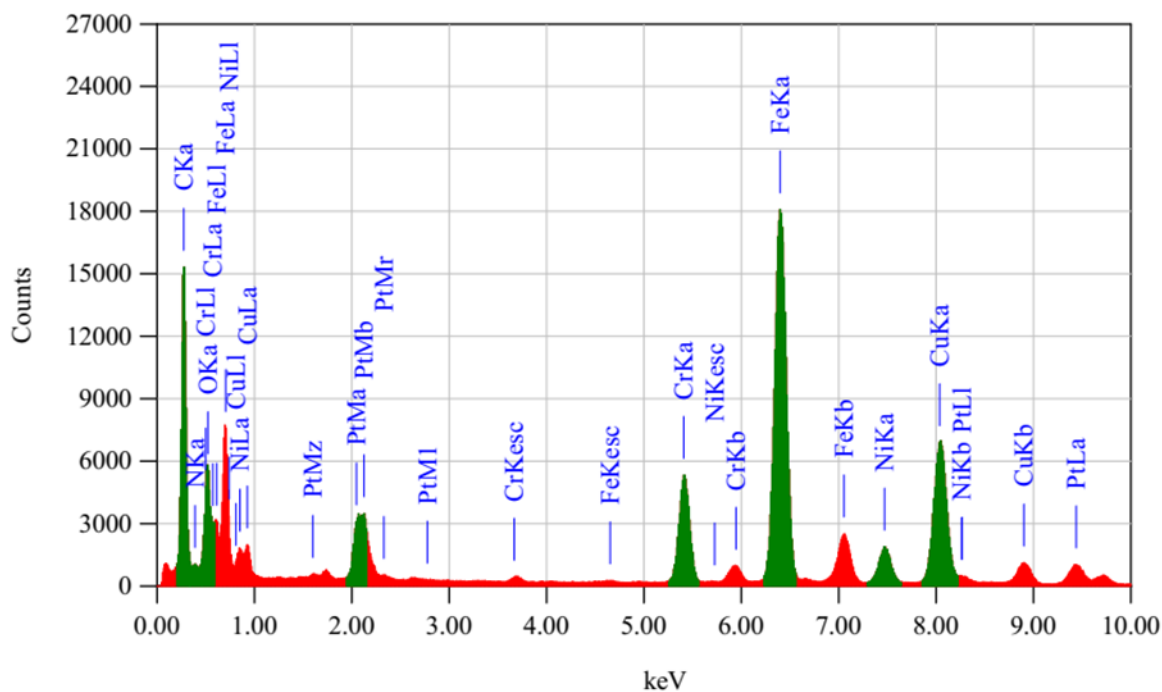
Con el fin de confirmar la naturaleza de las partículas, se realizó un mapeo elemental por EDS (figura 6). El análisis de la señal correspondiente a Pt (líneas M) demuestra una correlación espacial directa entre las zonas contrastadas en la micrografía STEM y la presencia de platino, lo que valida que las entidades observadas pueden corresponder a nanopartículas metálicas depositadas sobre la superficie del acero inoxidable. Este resultado es consistente con la

literatura, donde se ha reportado que la pulverización catódica de metales nobles tiende a producir recubrimientos discontinuos en etapas iniciales, caracterizados por la formación de nanopartículas aisladas que posteriormente pueden coalescer para formar películas, siempre y cuando se incremente el tiempo de depósito (Murata *et al.*, 2012).



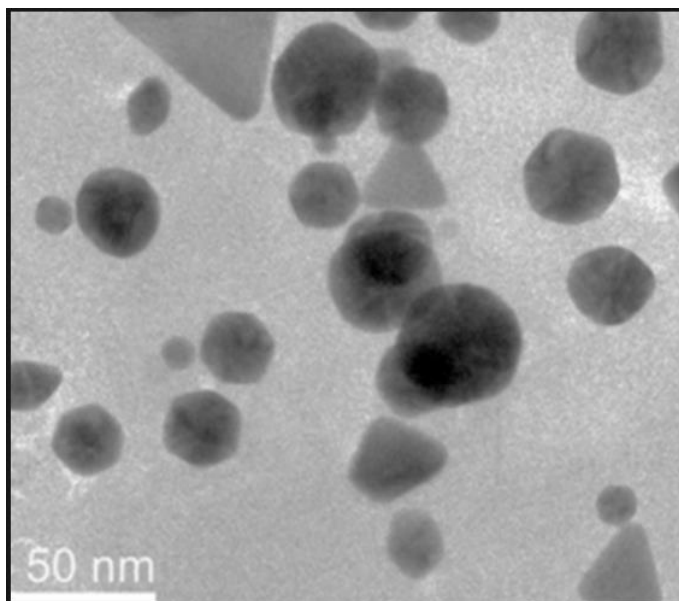
**Figura 6.** Mapeo elemental de espectroscopía de dispersión de energía de rayos X (EDS) de las nanopartículas de Pt obtenidas por pulverización catódica.

El espectro de EDS (figura 7) complementa el análisis anterior, mostrando los picos característicos del platino, particularmente en las regiones energéticas asociadas a las líneas M ( $\sim 2$  keV) y L ( $>9$  keV). Además, se identifican señales correspondientes a Fe, Ni y Cr, que son elementos mayoritarios en el sustrato de acero inoxidable; así como trazas de C y O, que pueden estar relacionadas con la contaminación superficial o con óxidos nativos del acero. La presencia de estos elementos secundarios es esperada debido a que el haz de electrones utilizado en TEM excita no solo las nanopartículas depositadas, sino también las regiones cercanas del sustrato.



**Figura 7.** Espectro de espectroscopía de dispersión de energía de rayos X (EDS) de las nanopartículas de Pt depositadas por pulverización catódica.

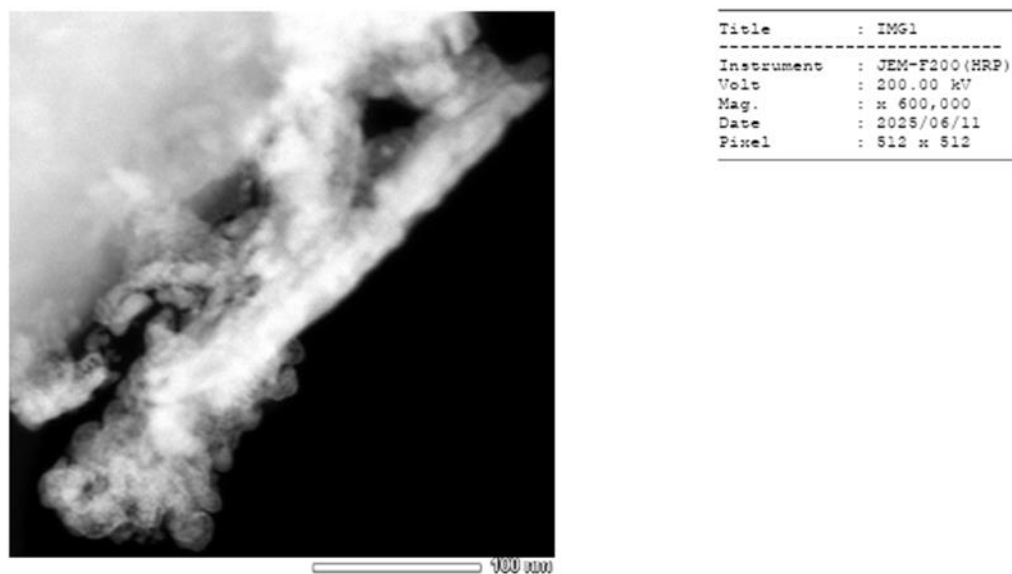
La estructura y el tamaño de las nanopartículas de oro al ser analizadas mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) revelaron que las nanopartículas presentaban predominantemente una morfología esférica, con un tamaño que varía entre 10 y 50 nm, ubicándose dentro del rango característico de las nanopartículas, definido entre 1 y 100 nanómetros (figura 8).



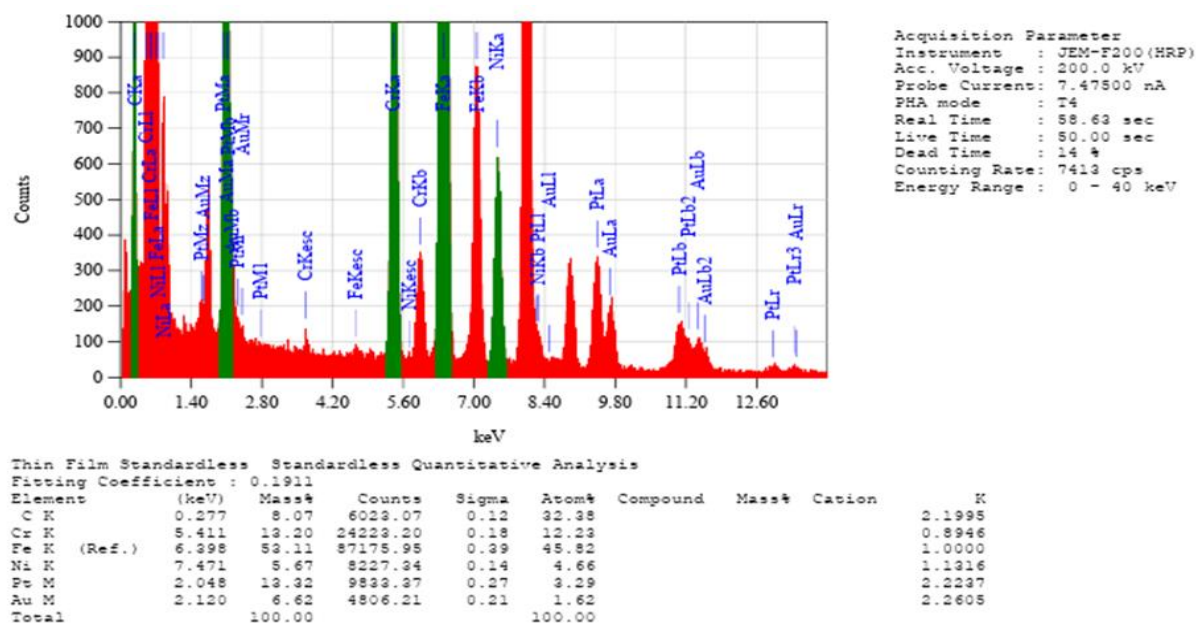
**Figura 8.** Estructura y tamaño de las nanopartículas de oro analizadas por microscopía electrónica de transmisión (TEM). Los resultados revelaron que las nanopartículas presentaban predominantemente una morfología esférica, con un tamaño que varía entre 10 y 50 nm.

La elaboración de las placas de acero inoxidable recubiertas con nanopartículas de oro (Au), platino (Pt) y la aleación Au/Pt mediante pulverización catódica resultó en superficies con una cobertura uniforme y un brillo metálico característico de cada material depositado. Visualmente, las placas recubiertas con nanopartículas de oro mostraron una tonalidad dorada suave, mientras que las de platino presentaron un color gris plateado. En el caso de las placas con la mezcla Au/Pt, se observó una coloración intermedia, indicativa de la combinación de ambos metales. No se detectaron irregularidades ni zonas sin recubrimiento visibles, lo que sugiere una adecuada adherencia del material depositado sobre el sustrato metálico. En la Figura 9 se presenta el análisis obtenido mediante microscopía electrónica de transmisión por barrido (STEM) de la muestra con nanopartículas del sistema Au/Pt, donde se aprecia una de las dos partículas longitudinales analizadas previamente, a partir de la cual se realizó el barrido para determinar la distribución elemental en su superficie. El espectro de energía dispersiva de rayos X (EDS) evidencia la presencia de varios elementos, entre ellos níquel, hierro y cromo, característicos del acero inoxidable. Asimismo, se observan picos correspondientes a Au y Pt,

lo que confirma que las nanopartículas depositadas sobre el soporte metálico pertenecen al sistema Au/Pt desarrollado para evaluar el efecto antibacterial.



**Figura 9.** Análisis obtenido mediante microscopía electrónica de transmisión por barrido (STEM) de la muestra con nanopartículas del sistema Au/Pt. En la imagen se aprecia una de las dos partículas longitudinales analizadas previamente, a partir de la cual se realizó el barrido para determinar la distribución elemental en su superficie.



**Figura 10.** Espectro EDS y porcentaje atómico de elementos presentes en muestra con nanopartículas de Pt y Au sobre acero inoxidable

La actividad antibacteriana de las superficies de acero inoxidable modificadas con nanopartículas de Au, Pt y Au/Pt se evaluó frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, siguiendo la metodología ISO 22196:2011. Los resultados obtenidos se presentan como el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) recuperadas después del periodo de incubación, así como la reducción bacteriana respecto al control sin nanopartículas. Los ensayos se realizaron por triplicado, por lo que de los datos obtenidos se sacó el promedio y se trabajó con porcentajes.

En el recuento bacteriano en superficies sin nanopartículas (control); las placas de acero inoxidable sin modificación mostraron altos niveles de recuperación bacteriana en ambas cepas, lo que indica que el material por sí solo no presenta actividad antibacteriana significativa. En el caso de *Staphylococcus aureus*, el recuento promedio de bacterias viables fue de  $55.6 \times 10^5$  UFC/mL (100 %), mientras que para *Pseudomonas aeruginosa* fue de  $5.22 \times 10^5$  UFC/mL (100 %). Estos valores se tomaron como referencia para calcular los porcentajes de reducción en las superficies tratadas. La actividad antibacteriana de las superficies tratadas con nanopartículas de Au, Pt y Au/Pt mostraron una disminución notable en el número de colonias recuperadas (en comparación con el control). En la superficie de las placas con nanopartículas de oro (AuNP) la

viabilidad bacteriana fue en promedio de  $3.08 \times 10^5$  UFC/mL (6 %) para *S. aureus* y de  $0.15 \times 10^5$  UFC/mL (3 %) para *P. aeruginosa*. Por su parte, el tratamiento con PtNP mostró reducciones de  $13.5 \times 10^5$  (24 %) y de  $0.12 \times 10^5$  (5 %), respectivamente. La mayor actividad antibacteriana se observó en las superficies con nanopartículas bimetálicas Au/Pt, donde el recuento bacteriano disminuyó hasta  $0.623 \times 10^5$  UFC/mL (1 %) en *S. aureus* y  $0.0311 \times 10^5$  UFC/mL (1 %) en *P. aeruginosa*, lo cual indica un posible efecto sinérgico entre ambos metales (tabla 1).

**Tabla 1.**

Resultados del primer ensayo con placas de acero inoxidable sin nanopartículas (NP) (control) y con nanopartículas de oro (AuNP), platino (PtNP) y oro/platino (Au/PtNP) en presencia de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (ensayos realizados por triplicado).

| <b><i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923</b>  |                     |                                      |
|-------------------------------------------------|---------------------|--------------------------------------|
| PLACAS                                          | PROMEDIO (UFC/mL)   | PORENTAJE (%)<br>(Promedio (UFC/mL)) |
| Control                                         | $55.6 \times 10^5$  | 100                                  |
| AuNP                                            | $3.08 \times 10^5$  | 6                                    |
| PtNP                                            | $13.3 \times 10^5$  | 24                                   |
| Au/PtNP                                         | $0.623 \times 10^5$ | 1                                    |
| <b><i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853</b> |                     |                                      |
| PLACAS                                          | PROMEDIO (UFC/mL)   | PORENTAJE (%)<br>(Promedio (UFC/mL)) |
| Control                                         | $5.22 \times 10^5$  | 100                                  |
| AuNP                                            | $0.15 \times 10^5$  | 3                                    |
| PtNP                                            | $0.261 \times 10^5$ | 5                                    |
| Au/PtNP                                         | $0.311 \times 10^5$ | 1                                    |

Después del proceso de limpieza con detergente comercial y esterilización a 121 °C, las superficies tratadas conservaron parcialmente su actividad antibacteriana. En el recuento de bacterias viables en las superficies sin nanopartículas (control) se obtuvieron los siguientes resultados, para *Staphylococcus aureus*, el recuento promedio de bacterias viables fue de  $75.6 \times 10^5$  UFC/mL (100 %), mientras que para *Pseudomonas aeruginosa* fue de  $26.4 \times 10^5$  UFC/mL (100 %). Aunque los recuentos bacterianos aumentaron en comparación con el primer

ensayo, las placas con nanopartículas oro (Au) continuaron mostrando la mayor reducción de viabilidad bacteriana en presencia de *S. aureus*, con valores de  $28.1 \times 10^6$  UFC/mL (37 %). En el caso de *P. aeruginosa* tanto el oro como el platino (Pt) mantuvieron alta la actividad antibacteriana con  $0.86 \times 10^5$  UFC/mL (3 %) para las AuNP y  $0.35 \times 10^5$  UFC/mL (1 %) para las PtNP. En el caso de las nanopartículas bimetalicas Au/Pt los porcentajes de inhibición se disminuyeron drásticamente con  $35.0 \times 10^5$  UFC/mL (46 %) para *S. aureus*; en el caso de *P. aeruginosa* no hubo inhibición del crecimiento y se incrementó con respecto al control en  $42.2 \times 10^5$  UFC/mL (160 %), probablemente por desprendimiento del material o por agregación de las nanopartículas después del tratamiento térmico (tabla 2). En todos los ensayos, *S. aureus* mostró una menor sensibilidad a las superficies modificadas, probablemente a la mayor resistencia estructural debido a la composición de su pared celular. Los resultados obtenidos evidenciaron diferencias significativas en la supervivencia bacteriana entre placas control (sin recubrimiento de nanopartículas) y aquellas con los recubrimientos. En los gráficos 1 y 2 se observa la comparación de los resultados promedio del crecimiento bacteriano en las placas de acero inoxidable sin nanopartículas (control 1 y 2) y con nanopartículas antes (placas 1) y después de la limpieza de las placas de acero inoxidable (placas 2).

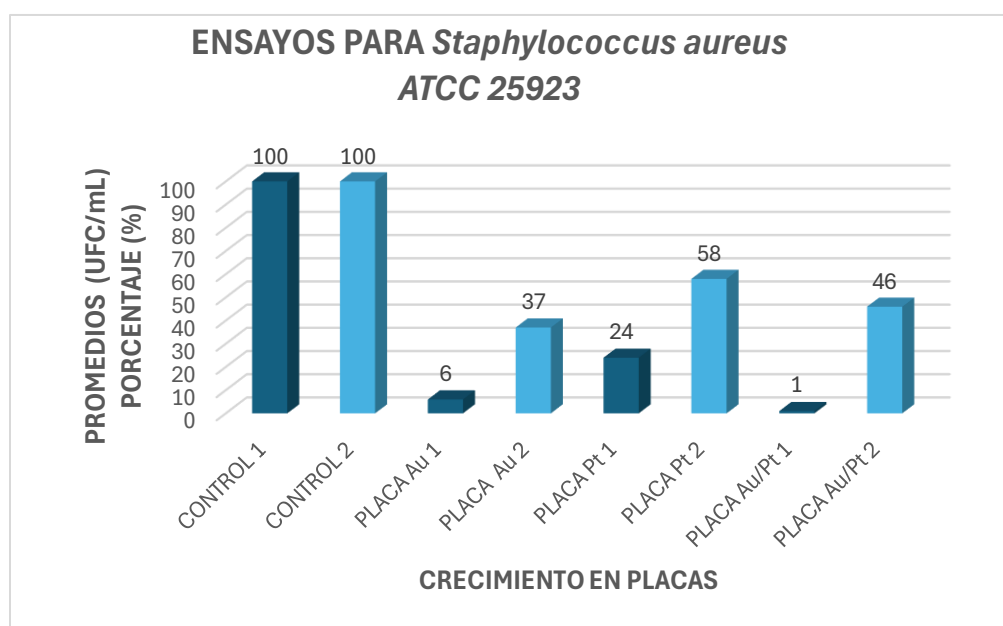
**Tabla 2.**

Resultados del segundo ensayo con placas de acero inoxidable sin nanopartículas (NP) (control) y con nanopartículas de oro (AuNP), platino (PtNP) y oro/platino (Au/PtNP) en presencia de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 tras ser sometidos a limpieza y esterilización (ensayos realizados por triplicado).

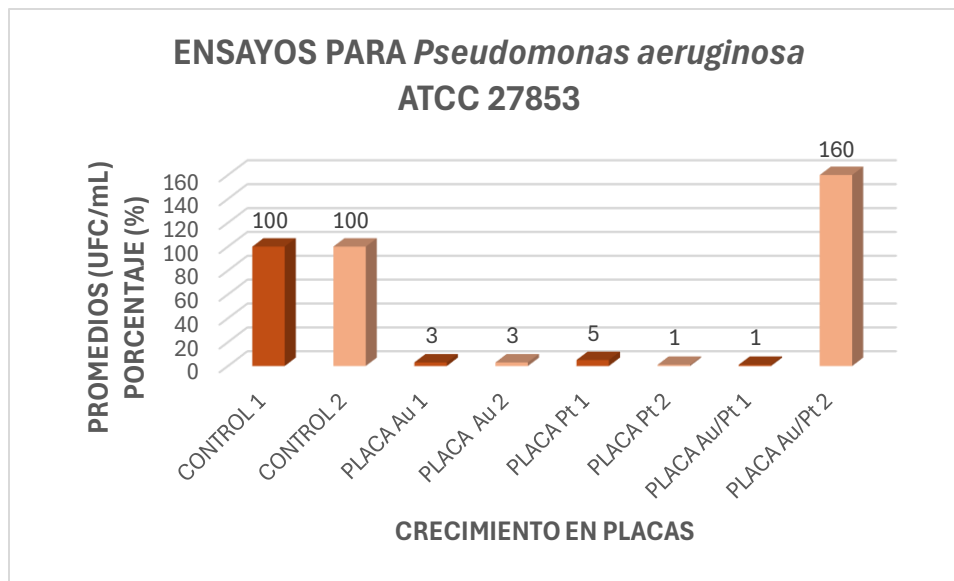
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 |                    |                                      |
|-----------------------------------------|--------------------|--------------------------------------|
| PLACAS                                  | PROMEDIO (UFC/mL)  | PORENTAJE (%)<br>(Promedio (UFC/mL)) |
| Control                                 | $75.6 \times 10^5$ | 100                                  |
| AuNP                                    | $28.1 \times 10^5$ | 37                                   |
| PtNP                                    | $43.6 \times 10^5$ | 58                                   |
| Au/PtNP                                 | $35 \times 10^5$   | 46                                   |

***Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**

| PLACAS  | PROMEDIO (UFC/mL)   | PORENTAJE (%)<br>(Promedio (UFC/mL)) |
|---------|---------------------|--------------------------------------|
| Control | $26.4 \times 10^5$  | 100                                  |
| AuNP    | $0.858 \times 10^5$ | 3                                    |
| PtNP    | $0.35 \times 10^5$  | 1                                    |
| Au/PtNP | $0.422 \times 10^5$ | 160                                  |



**Gráfico 1.** Resultados de los ensayos de inhibición bacteriana realizados para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Primer ensayo: placas de acero inoxidable sin nanopartículas con un promedio de crecimiento bacteriano de  $55.6 \times 10^5$  UFC/mL (control 1). Placas con nanopartículas (placas 1): AuNP ( $3.08 \times 10^5$  UFC/mL), PtNP ( $13.3 \times 10^5$  UFC/mL) y Au/PtNP ( $13.3 \times 10^5$  UFC/mL). Segundo ensayo (limpieza de las placas): placas de acero inoxidable sin nanopartículas con un promedio de crecimiento bacteriano de  $75.6 \times 10^5$  UFC/mL (control 2). Placas con nanopartículas (placas 2): AuNP ( $28.1 \times 10^5$  UFC/mL), PtNP ( $43.6 \times 10^5$  UFC/mL) y Au/PtNP ( $35 \times 10^5$  UFC/mL).



**Gráfico 2.** Resultados de los ensayos de inhibición bacteriana realizados para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Primer ensayo: placas de acero inoxidable sin nanopartículas con un promedio de crecimiento bacteriano de  $5.22 \times 10^5$  UFC/mL (control 1). Placas con nanopartículas (placas 1): AuNP ( $0.15 \times 10^5$  UFC/mL), PtNP ( $0.261 \times 10^5$  UFC/mL) y Au/PtNP ( $0.311 \times 10^5$  UFC/mL). Segundo ensayo (limpieza de las placas): placas de acero inoxidable sin nanopartículas con un promedio de crecimiento bacteriano de  $26.4 \times 10^5$  UFC/mL (control 2). Placas con nanopartículas (placas 2): AuNP ( $0.858 \times 10^5$  UFC/mL), PtNP ( $0.35 \times 10^5$  UFC/mL) y Au/PtNP ( $0.422 \times 10^5$  UFC/mL).

## 11. DISCUSIÓN

La confirmación de la pureza y morfología esperada de las cepas bacterianas utilizadas constituye un paso esencial para garantizar la fiabilidad de los ensayos de actividad antibacteriana. Los resultados obtenidos en la tinción de Gram y la observación colonial corroboraron que tanto *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 como *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 conservaron sus características fenotípicas, lo que asegura que las respuestas observadas en los tratamientos con nanopartículas metálicas pueden atribuirse directamente a la interacción entre las bacterias y las superficies recubiertas, sin interferencia de contaminantes u otras especies microbianas. La morfología observada en *Pseudomonas aeruginosa* coincide con

las descripciones que menciona Diggle *et al.*, 2020, clásicas de esta especie. La presencia y difusión de la piocianina observada en este estudio reflejan un metabolismo activo, propio de cepas viables y sugiere que las condiciones de cultivo fueron adecuadas para mantener el comportamiento fisiológico esperado. Esta característica resulta particularmente relevante, ya que *Pseudomonas aeruginosa* se utiliza frecuentemente como modelo de microorganismo resistente para la evaluación de materiales antimicrobianos debido a su capacidad de formar biopelículas y tolerar ambientes hostiles (Krell & Matilla, 2024). *Staphylococcus aureus*, representa un modelo grampositivo de alta relevancia clínica, asociado a infecciones nosocomiales y conocido por su capacidad de supervivencia en superficies inertes, características que coinciden con lo descrito por Habib y col., para cepas de esta especie (Habib *et al.*, 2015). La morfología uniforme y la ausencia de contaminaciones observadas sugieren un crecimiento controlado y estable, condiciones indispensables para asegurar la reproducibilidad de los ensayos antibacterianos. La confirmación morfológica de ambas cepas valida el protocolo de reactivación y mantenimiento (ATCC, 2012).

En cuanto a la caracterización de los recubrimientos metálicos, la microscopía STEM y el análisis EDS demostraron que el proceso de pulverización catódica permitió la formación de nanopartículas de Pt, Au y Au/Pt depositadas de manera parcial sobre la superficie del acero inoxidable. La presencia de aglomerados observada en la muestra con Pt coincide con lo descrito en recubrimientos metálicos obtenidos por sputtering, donde la nucleación inicial tiende a generar islas metálicas antes de la coalescencia en películas continuas (Andreazza *et al.*, 2002). De igual forma, la detección de Pt, Au y la aleación Au/Pt mediante EDS confirma que los depósitos permanecen adheridos al sustrato y se encuentran distribuidos heterogéneamente, lo cual es relevante para la interacción de las nanopartículas con las células bacterianas. Los análisis TEM revelaron que las nanopartículas de oro presentaron un tamaño entre 10 y 50 nm, dimensiones que se sitúan dentro del rango óptimo de reactividad biológica. Se ha reportado ampliamente que partículas en este intervalo tienden a generar daño membranal, estrés oxidativo e interferencia en la replicación bacteriana, otorgando al oro propiedades antibacterianas incluso en ausencia de agentes funcionalizantes (Eker *et al.*, 2024; Dykman & Khlebtsov, 2012). La evaluación de la actividad antibacteriana demostró que los recubrimientos metálicos reducen significativamente la viabilidad tanto de *S. aureus* como de *P. aeruginosa*, aunque con diferente

intensidad según el tipo de nanopartícula. En el primer ensayo, las superficies con AuNP y PtNP mostraron reducciones marcadas en ambas especies, pero el efecto más pronunciado se observó en las nanopartículas bimetálicas Au/Pt, las cuales alcanzaron reducciones del 99 % en ambos microorganismos. Este comportamiento sugiere un posible efecto sinérgico, ya que la combinación de metales nobles puede potenciar mecanismos de daño celular como la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), la alteración de la integridad de la membrana y la desestabilización de proteínas esenciales (Zhang *et al.*, 2021; Shaikh *et al.*, 2019). La mayor susceptibilidad de *P. aeruginosa* frente a los recubrimientos metálicos también ha sido documentada, posiblemente debido a la fragilidad relativa de su membrana externa ante los efectos oxidativos y la capacidad de las nanopartículas para interactuar con el lipopolisacárido (LPS). Por el contrario, *S. aureus* mostró mayor resistencia, probablemente debido a la característica de su pared celular rica en peptidoglicano, lo que podría limitar el acceso de nanopartículas metálicas y radicales libres al interior celular (Franco *et al.*, 2022). Tras la limpieza y esterilización a 121 °C, la actividad antibacteriana se conservó parcialmente, aunque con variaciones entre materiales. Las AuNP mantuvieron la mayor eficacia frente a *Staphylococcus aureus*, mientras que AuNP y PtNP conservaron su efectividad elevada frente a *Pseudomonas aeruginosa*. Sin embargo, la actividad de las nanopartículas bimetálicas Au/Pt disminuyó drásticamente. Esta pérdida puede explicarse por fenómenos como desprendimiento del material, coalescencia térmica o reagrupamiento superficial de las nanopartículas, efectos conocidos en sistemas bimetálicos sometidos a calor o fricción (Cuenya, 2010). El incremento del crecimiento bacteriano observado en *P. aeruginosa* sobre las superficies Au/Pt después del tratamiento térmico (160 % respecto al control) podría deberse a una redistribución de nanopartículas que genere zonas activas heterogéneas, ya que además de los factores termodinámicos, el comportamiento de los materiales bimetálicos se ve afectado por su composición, la formación de barreras químicas, enfriamiento significativo y la fuerza de arrastre entre otros (Itina, 2024), ocasionando el deterioro de los recubrimientos, facilitando la adherencia microbiana, otro factor que pudo influir en esto es la corrosión del acero inoxidable, esto puede darse porque *Pseudomona aeruginosa* forma una biopelícula sobre el acero inoxidable y esta gracias a su capacidad electroactiva y a la transferencia de electrones extracelular degrada la película pasiva de óxido de cromo, favoreciendo la corrosión por picaduras y acción de iones corrosivos siendo capaz de iniciar y acelerar la corrosión

influenciada microbiológicamente del acero inoxidable (Maji & Lavanya 2024). En conjunto, los resultados confirman la capacidad antibacteriana de AuNP, PtNP y particularmente de Au/PtNP, destacando que la combinación bimetalica presenta un alto potencial antes del tratamiento térmico. No obstante, la estabilidad de estos recubrimientos frente a condiciones de uso real (limpieza, calor, abrasión) debe ser optimizada para garantizar su aplicación industrial. La persistencia parcial de la actividad antibacteriana tras la esterilización sugiere que estos materiales podrían emplearse en la fabricación de superficies antimicrobianas, aunque será necesario evaluar la adherencia, resistencia y durabilidad en condiciones prolongadas.

## 12. CONCLUSIÓN

La conservación de las características morfológicas, metabólicas y fenotípicas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 permitió atribuir de manera directa los efectos observados a la interacción entre las bacterias y los recubrimientos metálicos, sin interferencias derivadas de contaminaciones o alteraciones fisiológicas no controladas.

La caracterización morfológica y composicional de los recubrimientos confirmó que el proceso de pulverización catódica es una técnica eficaz para la deposición parcial de nanopartículas de Au, Pt y Au/Pt sobre acero inoxidable, generando superficies heterogéneas con características favorables para la interacción bacteria-nanopartículas.

Desde el punto de vista funcional, los ensayos demostraron que todos los recubrimientos metálicos presentan actividad antibacteriana significativa, con diferencias dependientes tanto del tipo de nanopartícula como de la especie bacteriana. Antes del tratamiento térmico, las nanopartículas bimetalicas Au/Pt mostraron el mayor efecto inhibitorio, alcanzando reducciones cercanas al 99 % en *S. aureus* y *P. aeruginosa*, lo que sugiere un claro efecto sinérgico entre ambos metales.

Tras los procesos de limpieza y esterilización a 121 °C, se evidenció una pérdida parcial de la actividad antibacteriana, particularmente marcada en los recubrimientos Au/Pt. Mientras que las AuNP y PtNP conservaron una eficacia elevada, especialmente frente a *P. aeruginosa*, la

disminución drástica observada en las nanopartículas bimetálicas indica una menor estabilidad frente a condiciones térmicas severas.

El estudio demuestra que los recubrimientos basados en nanopartículas de Au y Pt poseen un alto potencial para aplicaciones antimicrobianas.

Las nanopartículas bimetálicas Au/Pt destacan por su elevada eficacia inicial. No obstante, la pérdida de actividad tras la esterilización subraya la necesidad de optimizar la estabilidad mecánica, térmica y adhesiva de estos recubrimientos para su implementación en entornos reales.

### 13. BIBLIOGRAFÍA

- Abdelaziz, A. A., Kamer, A. M. A., Al-Monofy, K. B., & Al-Madboly, L. A.** (2023). *Pseudomonas aeruginosa's greenish-blue pigment pyocyanin: its production and biological activities. Microbial Cell Factories*, 22(1), 110.
- Ablica-González, P., & Gómez-Arroyo, S.** (2022). Efectos y caracterización de nanopartículas atmosféricas (NP-CuO, ZnO) en plantas. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 38.
- Akter, M., Sikder, M. T., Rahman, M. M., Ullah, A. A., Hossain, K. F. B., Banik, S., ... & Kurasaki, M.** (2018). A systematic review on silver nanoparticles-induced cytotoxicity: Physicochemical properties and perspectives. *Journal of advanced research*, 9, 1-16.
- Álvarez-Chimal, R., & Arenas-Alatorre, J. Á.** (2023). Green synthesis of nanoparticles: A biological approach. In *Green chemistry for environmental sustainability-prevention-assurance-sustainability (PAS) approach*. IntechOpen.
- Andreazza, P., Andreazza-Vignolle, C., Rozenbaum, J. P., Thomann, A. L., & Brault, P.** (2002). Nucleation and initial growth of platinum islands by plasma sputter deposition. *Surface and Coatings Technology*, 151, 122-127.
- Arciola, C. R., Campoccia, D., & Montanaro, L.** (2018). Implant infections: adhesion, biofilm formation and immune evasion. *Nature reviews microbiology*, 16(7), 397-409.
- ATCC.** (2012). ATCC® Bacterial Culture Guide: *Tips and Techniques for Culturing Bacteria and Bacteriophages*. ATCC. [https://www-atcc-org.translate.goog/resources/culture-guides/bacteriology-culture-guide?\\_x\\_tr\\_sl=en&\\_x\\_tr\\_tl=es&\\_x\\_tr\\_hl=es&\\_x\\_tr\\_pto=sge](https://www-atcc-org.translate.goog/resources/culture-guides/bacteriology-culture-guide?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=es&_x_tr_hl=es&_x_tr_pto=sge)
- Bento de Carvalho, T., Barbosa, J. B., & Teixeira, P.** (2024). Assessing Antimicrobial Efficacy on Plastics and Other Non-Porous Surfaces: A Closer Look at Studies Using the ISO 22196:2011 Standard. *Biology*, 13(1), 59.
- Cai, Y., Liu, J., Li, G., Wong, P. K., & An, T.** (2022). Formation mechanisms of viable but nonculturable bacteria through induction by light-based disinfection and their antibiotic resistance gene transfer risk: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 52(20), 3651-3688.

- Chen, L., Zheng, L., Lv, Y., Liu, H., Wang, G., Ren, N., ... & Boughton, R. I.** (2010). Chemical assembly of silver nanoparticles on stainless steel for antimicrobial applications. *Surface and Coatings Technology*, 204(23), 3871-3875.
- Chlumsky, O., Purkrtova, S., Michova, H., Sykorova, H., Slepicka, P., Fajstavr, D., Ulbrich, P., Viktorova, J., & Demnerova, K.** (2021). Antimicrobial Properties of Palladium and Platinum Nanoparticles: A New Tool for Combating Food-Borne Pathogens. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(15), 7892.
- Costerton, J. W., Stewart, P. S., & Greenberg, E. P.** (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *science*, 284(5418), 1318-1322.
- Cuenya, B. R.** (2010). Synthesis and catalytic properties of metal nanoparticles: Size, shape, support, composition, and oxidation state effects. *Thin Solid Films*, 518(12), 3127-3150.
- Depla, D., Mahieu, S., & Greene, J. E.** (2010). Sputter deposition processes. En *Handbook of Deposition Technologies for Films and Coatings* (Third Edition) (pp. 253–296).
- Diggle, S. P., & Whiteley, M.** (2020). Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat. *Microbiology*, 166(1), 30-33.
- Dykman, L., & Khlebtsov, N.** (2012). Gold nanoparticles in biomedical applications: recent advances and perspectives. *Chemical Society Reviews*, 41(6), 2256-2282.
- Eker, F., Akdaşçı, E., Duman, H., Bechelany, M., & Karav, S.** (2024). Gold nanoparticles in nanomedicine: unique properties and therapeutic potential. *Nanomaterials*, 14(22), 1854.
- Erkihun, M., Asmare, Z., Endalamew, K., Getie, B., Kiros, T., & Berhan, A.** (2024). Medical scope of biofilm and quorum sensing during biofilm formation: Systematic review. *Bacteria*, 3(3), 118-135.
- Forrest, D. R.** (2001). Molecular nanotechnology. *IEEE Instrumentation & Measurement Magazine*, 4(3), 11-20.
- Franco, D., Calabrese, G., Guglielmino, S. P. P., & Conoci, S.** (2022). Metal-based nanoparticles: Antibacterial mechanisms and biomedical application. *Microorganisms*, 10(9), 1778.
- González-López, D. M., Bustos-Martínez, J., Hamdan Partida, A., Schettino-Bermúdez, B. S., & Chamorro-Ramírez, F. H.** (2024). Physical-mechanical and functional properties of Chitosan-based films incorporated with silver nanoparticles. *Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*, 17(32).

- Gouyau, J., Duval, R. E., Boudier, A., & Lamouroux, E.** (2021). Investigation of nanoparticle metallic core antibacterial activity: Gold and silver nanoparticles against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *International journal of molecular sciences*, 22(4), 1905.
- Habib, F., Rind, R., Durani, N., Bhutto, A. L., Buriro, R. S., Tunio, A., ... & Shoaib, M.** (2015). Morphological and cultural characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from different animal species. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, 5(2), 15-26.
- Høiby, N., Bjarnsholt, T., Moser, C., Bassi, G. L., Coenye, T., Donelli, G., ... & Zimmerli, C. E. E. W.** (2015). ESCMID guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infections 2014. *Clinical microbiology and infection*, 21, S1-S25.
- Howden, B. P., Giulieri, S. G., Wong Fok Lung, T., Baines, S. L., Sharkey, L. K., Lee, J. Y., ... & Stinear, T. P.** (2023). *Staphylococcus aureus* host interactions and adaptation. *Nature Reviews Microbiology*, 21(6), 380-395.
- Hulla, J. E., Sahu, S. C., & Hayes, A. W.** (2015). Nanotechnology: History and future. *Human & experimental toxicology*, 34(12), 1318-1321.
- Itina, T. E.** (2024). Understanding mono-and bi-metallic Au and Ni nanoparticle responses to fast heating. *Nanoscale advances*, 6(21), 5451-5463.
- Jaradat, Z. W., Ababneh, Q. O., Sha'aban, S. T., Alkofahi, A. A., Assaleh, D., & Al Shara, A.** (2020). Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and public fomites: a review. *Pathogens and Global Health*, 114(8), 426-450.
- Jena, S., Madhuri, A., & Swain, B. P.** (2025). Introduction to sputtering. In *Nanostructured Thin Film Deposition by Sputtering* (pp. 1-35). Woodhead Publishing.
- Jiménez Mejía, R., Ramírez Herrera, Á. D., Orozco Ceja, J. A., & González Domínguez, M. I.** (2024). Biosíntesis de nanopartículas de plata con actividad antimicrobiana por *Pseudomonas aeruginosa* ambiental. *Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*, 17(32).
- Joshi, A. S., Singh, P., & Mijakovic, I.** (2020). Interactions of gold and silver nanoparticles with bacterial biofilms: Molecular interactions behind inhibition and resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(20), 7658.
- Keown, S. R.** (1984). The history of alloy steels with special reference to Sheffield contributions. *Perspectives in Metallurgical Development*, 36-46.

- Khan, S., & Hossain, M. K.** (2022). Classification and properties of nanoparticles. In *Nanoparticle-based polymer composites* (pp. 15-54). Woodhead Publishing.
- Kokkarachedu, V., & Sadiku, R.** (Eds.). (2024). *Nanoparticles in Modern Antimicrobial and Antiviral Applications*. Springer International Publishing, Imprint: Springer.
- Kolpen, M., Kragh, K. N., Enciso, J. B., Faurholt-Jepsen, D., Lindegaard, B., Egelund, G. B., ... & Bjarnsholt, T.** (2022). Bacterial biofilms predominate in both acute and chronic human lung infections. *Thorax*, 77(10), 1015-1022.
- Krell, T., & Matilla, M. A.** (2024). *Pseudomonas aeruginosa*. *Trends in microbiology*, 32(2), 216-218.
- Lara-Vázquez, D.** (2023). Evaluación de la actividad antibacteriana de las nanopartículas de cobre activadas con láser diodo contra *Enterococcus faecalis*. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. <https://hdl.handle.net/20.500.12371/19493>
- Li, W. R., Xie, X. B., Shi, Q. S., Zeng, H. Y., Ou-Yang, Y. S., & Chen, Y. B.** (2010). Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli*. *Applied microbiology and biotechnology*, 85, 1115-1122.
- Maiti, S.** (2014). Tailored bio-polysaccharide nanomicelles for targeted drug delivery. In *Nanoparticles' Promises and Risks: Characterization, Manipulation, and Potential Hazards to Humanity and the Environment* (pp. 335-355). Cham: Springer International Publishing.
- Maji, K., & Lavanya, M.** (2024). Microbiologically influenced corrosion in stainless steel *Pseudomona aeruginosa*: an overview. *Journal of Bio-and Tribo-corrosion*, 10(1).16.
- Mastache, J. E. M., López, R., Santiago, E. V., & Vargas, O. S.** (2023). Platinum (Pt), gold (Au), and silver (Ag) ohmic contacts to cupric oxide (CuO) films deposited by air-based sputtering and thermal annealing. *Results in Physics*, 46, 106292.
- Maurya, D. K., Sardarinejad, A., & Alameh, K.** (2014). Recent developments in RF magnetron sputtered thin films for pH sensing applications—an overview. *Coatings*, 4(4), 756-771.
- Mohajeri, P., Soltani, S., Getso, M. I., Khatib, M., Dastranj, M., & Farahani, A.** (2019). Investigation of bio-air contamination in some hospitals of Kermanshah, Iran. *Advances in Human Biology*, 9(1), 65-70.

- Mohamed, A. M. O., Rodrigues, V. G., & Paleologos, K. E.** (2021). Pollution assessment of nanomaterials. In *Pollution assessment for sustainable practices in applied sciences and engineering* (pp. 921-973). Butterworth-Heinemann.
- Mubarak, N. M., Khalid, M., Walvekar, R., & Numan, A.** (2021). *Contemporary nanomaterials in material engineering applications*. Berlin: Springer International Publishing.
- Muhammad, M. H., Idris, A. L., Fan, X., Guo, Y., Yu, Y., Jin, X., ... & Huang, T.** (2020). Beyond risk: bacterial biofilms and their regulating approaches. *Frontiers in microbiology*, *11*, 928.
- Muñoz-Rojas, J., Morales-García, Y. E., Baez-Rogelio, A., Quintero-Hernández, V., & River-Urbalejo, A. P.** (2016). Métodos económicos para la cuantificación de microorganismos. *Instituciones de Educación Superior la Labor Investigadora e Innovadora en México; Science Associated Editors: Cheyenne, WY, USA*, 67-84.
- Murata, A., Oka, N., Nakamura, S., & Shigesato, Y.** (2012). Visible-light active photocatalytic WO<sub>3</sub> films loaded with Pt nanoparticles deposited by sputtering. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, *12*(6), 5082-5086.
- Pérez Morales, C. P.** 2025. Síntesis y caracterización de nanopartículas de óxido de calcio para la evaluación de actividad antibacterial por la técnica de microdilución. [https://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:ebInNjICeW8J:scholar.google.com/+nanopartículas+universidades+puebla&hl=es&as\\_sdt=0,5&as\\_ylo=2024](https://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:ebInNjICeW8J:scholar.google.com/+nanopartículas+universidades+puebla&hl=es&as_sdt=0,5&as_ylo=2024)
- Saleh, T. A.** (2020). Nanomaterials: Classification, properties, and environmental toxicities. *Environmental Technology & Innovation*, *20*, 101067.
- Sauer, K., Stoodley, P., Goeres, D. M., Hall-Stoodley, L., Burmølle, M., Stewart, P. S., & Bjarnsholt, T.** (2022). The biofilm life cycle: expanding the conceptual model of biofilm formation. *Nature Reviews Microbiology*, *20*(10), 608-620.
- Secretaría de Salud, Gobierno de México.** (2024). 227. Resistencia a antimicrobianos es amenaza mundial: Jorge Alcocer Varela. Recuperado el 12 de agosto del 2024 de <https://www.gob.mx/salud/prensa/227-resistencia-a-antimicrobianos-es-amenaza-mundial-jorge-alcocer-varela?idiom=es-MX#:~:text=Ante%20autoridades%20de%20sector%20Salud,que%20provocaron%2048%20mil%20muertes.>

- Shaikh, S., Nazam, N., Rizvi, S. M. D., Ahmad, K., Baig, M. H., Lee, E. J., & Choi, I.** (2019). Mechanistic insights into the antimicrobial actions of metallic nanoparticles and their implications for multidrug resistance. *International journal of molecular sciences*, 20(10), 2468.
- Tiwari, J. N., Tiwari, R. N., & Kim, K. S.** (2012). Zero-dimensional, one-dimensional, two-dimensional, and three-dimensional nanostructured materials for advanced electrochemical energy devices. *Progress in Materials Science*, 57(4), 724-803.
- Tong, S. Y., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., & Fowler Jr, V. G.** (2015). *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical microbiology reviews*, 28(3), 603-661.
- Tuon, F. F., Dantas, L. R., Suss, P. H., & Tasca Ribeiro, V. S.** (2022). Pathogenesis of the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm: a review. *Pathogens*, 11(3), 300.
- Van Hoogstraten, S. W. G., Kuik, C., Arts, J. J. C., & Cillero-Pastor, B.** (2024). Molecular imaging of bacterial biofilms—a systematic review. *Critical reviews in microbiology*, 50(6), 971-992.
- Wernicki, A., Puchalski, A. N. D. R. Z. E. J., Urban-Chmiel, R. E. N. A. T. A., Dec, M., Stegierska, D., Dudzic, A. N. N. A., & Wojcik, A. N. N. A.** (2014). Antimicrobial properties of gold, silver, copper and platinum nanoparticles against selected microorganisms isolated from cases of mastitis in cattle. *Med. Weter*, 70(9), 564-567.
- Wu, Y. X., Yang, X., Leng, Y., Li, J. C., Yuan, L., Wang, Z., ... & Li, H.** (2022). Human-to-human transmission of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus through potential ocular exposure to infectious blood. *International Journal of Infectious Diseases*, 123, 80-83.
- Zhan, X., Yan, J., Tang, H., Xia, D., & Lin, H.** (2022). Antibacterial Properties of Gold Nanoparticles in the Modification of Medical Implants: A Systematic Review. *Pharmaceutics*, 14(12), 2654.
- Zhang, S., Lu, Q., Wang, F., Xiao, Z., He, L., He, D., & Deng, L.** (2021). Gold–platinum nanodots with high-peroxidase-like activity and photothermal conversion efficiency for antibacterial therapy. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 13(31), 37535-37544.