

<i>Nereis. Revista Iberoamericana Interdisciplinar de Métodos, Modelización y Simulación</i>	14	121-141	Universidad Católica de Valencia San Vicente Mártir	Valencia (España)	ISSN 1888-8550
--	----	---------	---	-------------------	----------------

## Mascarillas con tejido inteligente

### Intelligent fabric masks

Fecha de recepción y aceptación: 29 de febrero de 2022 y 25 de julio de 2022

DOI: 10.46583/nereis\_2022.14.1042

**Ángel Serrano Aroca**

Laboratorio de Biomateriales y Bioingeniería, Centro de Investigación Traslacional San Alberto Magno, Universidad Católica de Valencia San Vicente Mártir, c/Guillem de Castro 94, 46001 Valencia, España

**Correspondencia:** angel.serrano@ucv.es



Universidad  
**Católica de Valencia**  
San Vicente Mártir

#### RESUMEN

Se han desarrollado mascarillas con tejido inteligente capaz de inactivar virus con envoltura de forma instantánea y bacterias resistentes a los antibióticos mediante una tecnología antimicrobiana de bajo coste. Este tejido inteligente es capaz de inactivar el síndrome respiratorio agudo severo de tipo 2 (SARS-CoV-2) causante de la enfermedad Coronavirus 2019 (COVID-19) y a bacterias resistentes a antibióticos como la *Staphylococcus aureus* y la *Staphylococcus epidermidis*, resistentes a la meticilina. Esta nueva tecnología ha sido transferida del laboratorio ([www.serranoblalab.com](http://www.serranoblalab.com)) a la industria ([www.visormed.com/es](http://www.visormed.com/es)) en tiempo récord para la fabricación en masa de mascarillas de nueva generación FFP2 y mascarillas quirúrgicas tanto en tamaño adulto como infantil que les confiere capacidad antimicrobiana y que por tanto proporcionan una gran protección a su usuario frente a infecciones microbianas. Estas nuevas mascarillas serán útiles para reducir las infecciones por COVID-19 en la presente pandemia, y otras infecciones provocadas por virus respiratorios con envoltura como la gripe. Además, permitirá dotar de gran protección a la población en futuras pandemias y frente a la gran amenaza creciente de las bacterias resistentes a los antibióticos.

**PALABRAS CLAVE:** Mascarillas, Tejido inteligente, Material antimicrobiano, SARS-CoV-2, Resistencia bacteriana, MRSA, MRSE

#### ABSTRACT

Face masks made of a smart fabric capable of instantly inactivating enveloped viruses and antibiotic-resistant bacteria have been developed using a low-cost antimicrobial technology. thus, this smart fabric is capable of inactivating the severe acute respiratory syndrome type 2 (SARS-CoV-2) that causes Coronavirus disease 2019 (COVID-19) and antibiotic-resistant bacteria such as methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. This new technology has been transferred from the laboratory ([www.serranoblalab.com](http://www.serranoblalab.com)) to the industry ([www.visormed.com/es](http://www.visormed.com/es)) in record time for the mass production of new generation FFP2 masks and surgical masks in both adult and child sizes. These face masks possess antimicrobial activity and thus provide great protection to their users against microbial infections. These new face



masks will be very useful to reduce COVID-19 infections in the current pandemic and other infections caused by enveloped respiratory viruses such as influenza. They will also provide great protection to the general population in future pandemics and in the menace of the exponentially growing threat of bacterial resistance to antibiotics.

**KEYWORDS:** *Masks, Smart fabric, Antimicrobial material, SARS-CoV-2, Bacterial resistance, MRSA, MRSE*

---

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. COVID-19 y SARS-CoV-2

La historia ha manifestado repetidamente que los patógenos pueden causar efectos desastrosos en la vida de los seres humanos. El reciente brote del síndrome respiratorio agudo severo de tipo 2 (SARS-CoV-2), que ha causado la presente pandemia de la enfermedad Coronavirus 2019 (COVID-19) es un claro ejemplo [1]. A pesar de todo el esfuerzo científico y económico que ha supuesto el desarrollo de vacunas antiCOVID-19 en tiempo récord, la patología COVID-19 continúa propagándose debido a la dificultad logística y económica de llevar a cabo una acción global conjunta, cuyo peligro se está incrementando con la aparición de nuevas variantes que puedan esquivar a las vacunas.

El SARS-CoV-2 es un virus de ARN monocatenario de sentido positivo con envoltura [3-5], es el séptimo coronavirus que se sabe que ha infectado a seres humanos y el tercero que causa neumonía grave [8,9], una infección de los pulmones causada por bacterias, virus u hongos [10,11]. Las neumonías virales pueden complicarse por infecciones bacterianas secundarias, con síntomas de neumonía bacteriana [12]. Por tanto, la coinfección puede ser causada por virus en el contexto de una neumonía bacteriana extrahospitalaria [13-15]. La coinfección de pacientes con COVID-19 se observa con el tipo más común de neumonía bacteriana causada por *Streptococcus pneumoniae*, que normalmente reside en el tracto respiratorio superior y puede resultar fatal [16].

Existe una gran preocupación por la rápida propagación de nuevos patógenos, como el SARS-CoV-2, que puede coexistir con una amplia gama de otros tipos de patógenos clínicamente relevantes, incluidos los que son multirresistentes. Por lo tanto, la coinfección del SARS-CoV-2 con otros virus, bacterias u hongos constituye una amenaza real para la vida de los seres humanos. En este sentido, se han propuesto varios fármacos y tratamientos que incluyen remdesivir, hidroxiclороquina, lopinavir/ritonavir, interferón  $\beta$ -1a, tocilizumab, favipiravir, plitidepsina, infusiones de plasma de convalecencia y anticuerpos monoclonales, entre muchos otros [17]. Sin embargo, actualmente, existen tratamientos escasos que sean eficaces frente al COVID-19 [18]. Además, la resistencia a los antibióticos en el tratamiento de la neumonía bacteriana es un problema generalizado [19-21].

### 1.2. Resistencia a los antibióticos: problema de salud pública mundial

El uso de antibióticos ha generado un impacto muy positivo en la prolongación y mejora de la calidad de vida de las personas. Sin embargo, su uso excesivo [22] en humanos y animales ha dado



lugar a la aparición de resistencia microbiana (RM) en bacterias patógenas [23] debido a su alta capacidad de mutación que permite desarrollar nuevos mecanismos de resistencia con facilidad [24], lo que se ha convertido en un grave problema de salud pública mundial [25]. Las infecciones bacterianas pueden producir rechazo de un implante debido a la colonización bacteriana en los dispositivos y la formación de biopelícula resultante, que puede causar grandes pérdidas económicas y sufrimiento entre los pacientes [26] debido a la aparición de patógenos resistentes a múltiples fármacos (MDR) [27]. La formación de biopelícula puede dar como resultado infecciones crónicas a pesar del tratamiento con antibióticos [28]. Otros microorganismos como hongos, virus y parásitos también pueden desarrollar RM [29]. Las bacterias que desarrollan RM generalmente se conocen como superbacterias. Por lo tanto, los medicamentos se vuelven ineficaces y las infecciones persisten en el cuerpo, lo que aumenta el riesgo de propagación a otras personas. La RM en los microbios patógenos ha alcanzado niveles alarmantes en muchas partes del mundo que amenazan la prevención y el tratamiento efectivo de un amplio rango de infecciones cada vez mayor causadas por microorganismos [30]. De este modo, se ha anunciado que alrededor de 2 millones de personas están infectadas en los Estados Unidos con MDR y de estas, alrededor de 23,000 mueren al año. En Europa, 25,000 muertes al año también están asociadas con la infección causada por MDR [31]. Además, la situación en Asia y otros países en desarrollo es más crítica todavía. La gravedad del problema es muy preocupante, ya que la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha anunciado recientemente que 480000 personas desarrollan tuberculosis multirresistente (MDR-TB) cada año, y la resistencia a los medicamentos también está empezando a complicar la lucha contra el VIH y la malaria [32]. Además, el impacto económico es muy alto porque el coste de la atención médica para pacientes con infecciones resistentes es mayor que la atención para pacientes con infecciones no resistentes debido a una mayor duración de la enfermedad, pruebas adicionales y el uso de medicamentos más caros. Además, teniendo en cuenta que la tasa de RM está en rápido crecimiento en varios patógenos, se estima que para el año 2050, 10 millones de vidas al año y un total acumulado de 100 billones de dólares americanos (USD) están en riesgo debido al aumento de infecciones resistentes a los medicamentos si no se encuentran soluciones o se logran con éxito otras estrategias antimicrobianas válidas.

Es sorprendente que se ha estimado que este problema de salud pueda superar a las demás enfermedades que amenazan la vida de las personas, incluido el cáncer, para el año 2050 [33]. La OMS ha revelado este año mediante el informe de vigilancia los altos niveles de resistencia frente a una serie de infecciones microbianas graves tanto en países desarrollados como subdesarrollados [34]. El Dr. Marc Sprenger, director de la Secretaría de Resistencia Microbiana de la OMS, ha anunciado que este informe confirma la grave situación de la resistencia a los antibióticos en todo el mundo. Según la OMS, la Resistencia de la bacteria intestinal *Klebsiella pneumoniae* [35], que es la principal causa de infecciones adquiridas en hospitales, se ha extendido a todas las regiones del mundo. Los antibióticos carbapenem no funcionan en más de la mitad de las personas tratadas por infecciones de este patógeno. La resistencia de *Escherichia coli* [36] a uno de los medicamentos más utilizados para el tratamiento de las infecciones del tracto urinario, los antibióticos fluoroquinolónicos, está muy extendida. La resistencia a la bacteria *Staphylococcus aureus* [37], que es un importante patógeno humano que causa una amplia gama de infecciones clínicas, hoy en día está muy extendida. Se estima que las personas con *S. aureus* resistente a la meticilina (MRSA) tienen un 64% más de probabilidades de morir que las personas con una forma no resistente de la infección. Recientemente se ha detectado resistencia a la colistina, que es el tratamiento de última instancia para las infecciones que amenazan



la vida causadas por *Enterobacteriaceae* que son resistentes a los antibióticos carbapenémicos, en varios países y regiones, lo que hace que las infecciones causadas por dichas bacterias sean intratables. La tuberculosis multirresistente y la tuberculosis ampliamente resistente a los medicamentos (XDR-TB) son resistentes a 2 y 4 potentes medicamentos contra la tuberculosis, respectivamente. El parásito protozoario unicelular de *Plasmodium falciparum* en humanos se ha vuelto resistente [38] a casi todos los medicamentos antipalúdicos disponibles en 5 países asiáticos. En 2010, se estimó que el 7% de las personas en los países en desarrollo y del 10 al 20% en los países desarrollados que comenzaron la terapia antirretroviral (ART) muestran VIH resistente a los medicamentos [39], y hasta el 40% entre las personas que reiniciaron el tratamiento.

Se ha publicado recientemente en la revista *The Lancet* que 1.27 millones por bacterias resistentes murieron en el año 2019 [40]. Por lo tanto, todos los países necesitan urgentemente planes de acción nacionales sobre RM, mayor innovación e inversión en investigación para desarrollar nuevas estrategias de prevención que puedan ayudar a combatir este grave problema.

### 1.3. Las mascarillas de nueva generación

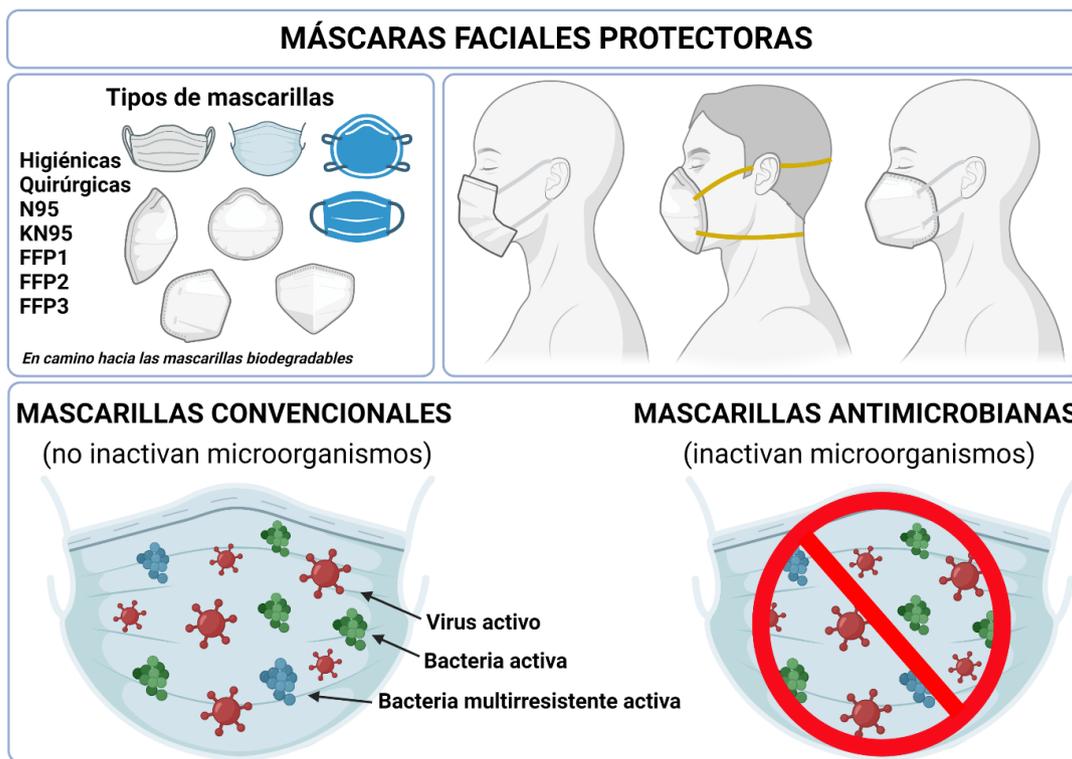
En la presente pandemia, las mascarillas han demostrado proporcionar gran protección frente a la transmisión de enfermedades provocadas por virus y bacterias. Sin embargo, cuando las mascarillas están fabricadas con tejido antimicrobiano, estas nos protegen mucho más, ya que en cuanto un virus o bacteria toca el tejido se produce una reacción que inactiva al microorganismo [41] (Figura 1).

Además, este tipo de mascarilla presenta una serie de ventajas frente a las convencionales, ya que es una mascarilla con responsabilidad social porque reduce la transmisión del COVID-19 en dos direcciones: protege a las personas sanas ejerciendo de escudo protector y las personas infectadas contagian mucho menos, ya que la mayoría de virus que expulsan se inactivan antes de salir de la mascarilla. Se disminuye el riesgo de transmisión por contacto, ya que los microorganismos presentes en la mascarilla se inactivan, y se evita el riesgo de infección que supone tocar la mascarilla con la mano y luego tocarnos la boca o un ojo. También tiene la ventaja de que, como inactivamos la mayoría de los microorganismos que expulsamos al hablar o recibimos, es una tecnología que produce muchos menos residuos infecciosos.

### 1.4. Planteamiento innovador y original

Está demostrado que una de las herramientas más eficaces para prevenir las infecciones bacterianas y virales son las mascarillas. Sin embargo, las mascarillas convencionales están fabricadas con materiales sin capacidad para destruir virus y bacterias y actúan únicamente como barrera física que impide que entren en nuestro sistema respiratorio. Ahora bien, los microorganismos llegan a la mascarilla y permanecen en ella activos. Por tanto, el usuario puede infectarse. En este proyecto se llevó a cabo el planteamiento innovador y original de desarrollar mascarillas fabricadas con un material inteligente, es decir, un material, que de forma inteligente es capaz de reaccionar ante un estímulo biológico produciendo una reacción instantánea de liberación de cationes que inactiva los virus y las bacterias resistentes en cuanto entraran en contacto.





**Figura 1.** Mascarilla de nueva generación: con capacidad antimicrobianas que inactivan microorganismos. Tipos de mascarillas. Creada con Biorender por Ángel Serrano Aroca.

Se pretendió desarrollar un proceso simple, de bajo costo, fiable, reproducible y mediante un método de recubrimiento fácilmente transferible a la industria. De este modo, se buscó desde el principio que la tecnología aplicada para conseguir este objetivo constituyera un mínimo coste adicional para que su fabricación en masa fuera viable y pudiera llegar a la mayoría de la población para hacer frente a la pandemia.

El presente desarrollo ha constituido el primer desarrollo industrial mundial de un tejido para mascarillas capaz de inactivar de forma instantánea el SARS-CoV-2 (inactivación mayor del 99% al cabo de un minuto de contacto) y el virus con envoltura phi 6 (inactivación del 100% al cabo de un minuto de contacto), y a bacterias multirresistentes como la *S. aureus* y *S. epidermidis* resistentes a la metilicina, y de ahí el gran impacto que causó la noticia en todos los medios nacionales e internacionales ([www.serranoblalab.com](http://www.serranoblalab.com) y [www.visormed.com/es](http://www.visormed.com/es)).

## 2. OBJETIVOS

En este proyecto se planteó el objetivo de conseguir funcionalizar la superficie de un tejido no tejido comúnmente utilizado como filtro de mascarillas con un compuesto biocida, el cloruro de benzalconio (BAK), a través del método de recubrimiento denominado en inglés dip-coating [42]



que pudiera inhibir la capacidad de infección del SARS-CoV-2. Al comienzo de la pandemia resultó imposible encontrar laboratorios de bioseguridad nivel 3 que trabajaran con el patógeno debido a que los pocos que hay en el mundo estaban saturados trabajando con el desarrollo de vacunas y testando fármacos reposicionados para tratar el COVID-19. Por tanto, en esta difícil situación, el Serrano BBlab comenzó trabajando con un modelo viral del SARS-CoV-2, el bacteriófago phi 6, que permite trabajar en condiciones bioseguras, ya que no infecta a personas. Este bacteriófago phi 6 es un virus ARN que tiene en común con el SARS-CoV-2 su envoltura lipídica, que es donde según nuestra hipótesis de trabajo podría actuar el BAK para inactivarlo. De este modo, se pretendía conseguir un tejido de mascarillas antimicrobiano capaz de inactivar el virus de forma instantánea a penas entrara el patógeno en contacto con el tejido para proporcionarnos mayor seguridad. Los filtros no tejidos son flexibles, resistentes, proporcionan buena filtración de bacterias y permeabilidad al aire, son materiales económicos, higiénicos y limpios, ya que son de uso único [43].

Además, en este proyecto, nuestro objetivo era también que el filtro con recubrimiento biofuncional de BAK fuera desarrollado de modo que pudiera inhibir el crecimiento bacteriano de dos bacterias resistentes a los antibióticos clínicamente relevantes: la *S. aureus* resistente a la meticilina y la *S. epidermidis* resistente a la meticilina (MRSE). Además de la pandemia actual, la resistencia a los antibióticos es otro desafío creciente global del siglo actual según la Organización Mundial de la Salud (OMS) [44]. La MRSE es un patógeno nosocomial que se está propagando a nivel mundial y, a menudo, es la causa de la enfermedad asociada a catéteres, especialmente entre los recién nacidos prematuros de bajo peso [45,46]. La MRSA está causando problemas de salud global, especialmente en instrumentos médicos y catéteres porque la bacteria *S. aureus* es un patógeno humano que puede desarrollar fácilmente resistencia a los antibióticos [47,48]. Por lo tanto, en este proyecto, se pretendía desarrollar un filtro de mascarilla avanzado que fuera capaz de inactivar el SARS-CoV-2, y las bacterias MRSA y MRSE en cuanto los patógenos contactaran con el tejido. El objetivo del proyecto buscó desde el principio una tecnología de bajo coste para que pudiera ser accesible económicamente a todo el mundo de países desarrollados y subdesarrollados en la presente pandemia, y que pudiera servir para futuras pandemias y para todo el personal sanitario expuesto constantemente a bacterias resistentes.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Preparación de las muestras

Se prepararon muestras de aproximadamente 10 mm de diámetro con un filtro de tela spunlace no tejida de NV EVOLUTIA (Valencia, España) en forma de disco mediante corte en seco con punzón cilíndrico. Los discos de filtro de mascarilla antimicrobianos (filtro BAK) (n = 6) se prepararon mediante el método de recubrimiento por dip-coating [42] utilizando alcohol etílico comercial al 70% con cloruro de benzalconio al 0,1% p/p de Montplet (Barcelona, España) durante 1 minuto a 25°C para lograr un contenido de BAK de  $0,46 \pm 0,13\%$  determinado gravimétricamente. Otro disco de filtro de mascarilla (filtro S) (n = 6) se sometió al mismo tratamiento de recubrimiento por dip-coating, pero usando solamente una solución de etanol absoluto/agua destilada en la misma proporción (70/30% v/v) sin BAK durante 1 min a 25°C. Como referencia, se prepararon discos de filtro



de mascarilla (filtro U) sin tratar (n = 6). Posteriormente, los discos se secaron a 60°C durante 48 h hasta peso constante y se esterilizaron mediante radiación ultravioleta (TELSTAR Technologies S.L, Terrassa, España) durante una hora por cada lado.

### 3.2. Caracterización del cloruro de benzalconio

El cloruro de benzalconio utilizado en el recubrimiento biofuncional del filtro de tejido no tejido comercial se caracterizó mediante resonancia magnética nuclear (RMN) en la Universidad de Ciencia y Tecnología de Noruega. Antes de la preparación de la muestra de RMN, el disolvente etanol/agua de la mezcla de alcohol etílico al 70% Montplet con cloruro de benzalconio (99,9 / 0,1% *p/p*) se evaporó a 25°C. A continuación, la muestra de cloruro de benzalconio se preparó disolviendo 10 mg en 550  $\mu$ L de D<sub>2</sub>O (D, 99,9%) (Sigma-Aldrich, Noruega) y se transfirió a un tubo de RMN LabScape Stream de 5 mm. Los experimentos de RMN se registraron en un BRUKER AVIIIHD 800 MHz (Bruker BioSpin AG, Fälladen, City, Suiza) equipado con un CP-TCI criogénico de 5 mm. Para la caracterización del cloruro de benzalconio se registraron los siguientes espectros: protón 1D, espectroscopía de correlación de doble filtrado cuántico 2D (DQF-COSY) y coherencia cuántica simple heteronuclear 2D 13C (HSQC) con edición de multiplicidad. Los espectros se registraron, procesaron y analizaron utilizando el software TopSpin 3.7 (Bruker BioSpin AG, Fällanden, Suiza).

### 3.3. Microscopio electrónico

Se utilizó un microscopio electrónico de barrido por emisión de campo Zeiss Ultra 55 (FESEM, modelo Zeiss Ultra 55, microscopía Carl Zeiss, Jena, Alemania) a un voltaje de aceleración de 3 kV para observar la morfología porosa de los filtros tratados y no tratados a dos aumentos ( $\times 100$  y  $\times 1000$ ). Las muestras de filtro se prepararon para que fueran conductoras mediante revestimiento de platino con una unidad de revestimiento por pulverización catódica.

### 3.4. Cultivo de la bacteria propagadora del bacteriófago phi 6

Se cultivó la bacteria *Pseudomonas syringae* (DSM 21482) del Instituto Leibniz DSMZ de la colección alemana de microorganismos y cultivos celulares GmbH (Braunschweig, Alemania) en agar de soja tríptico sólido (TSA, Liofilchem) y posteriormente en medio de soja tríptico líquido (TSB, Liofilchem). La incubación del líquido se llevó a cabo a 25°C y 120 rpm.

### 3.5. Propagación del bacteriófago phi 6

La propagación del bacteriófago phi 6 (DSM 21518) se llevó a cabo de acuerdo con las especificaciones proporcionadas por el Instituto Leibniz DSMZ de la colección alemana de microorganismos y cultivos celulares GmbH (Braunschweig, Alemania).



### 3.6. Test antiviral utilizando el bacteriófago phi 6

Se añadió un volumen de 50 µL de una suspensión de bacteriófagos en TSB a cada filtro a un título de aproximadamente  $1 \times 10^6$  unidades formadoras de placa por ml (PFU/ml) y se dejó incubar durante 1, 10 y 30 min. Cada filtro se colocó en un tubo Falcon con 10 mL de TSB y se sonicó durante 5 min a 24°C. A continuación, cada tubo se agitó con vórtex durante 1 min. Se realizaron diluciones en serie de cada muestra para la titulación de bacteriófagos, y se pusieron en contacto 100 µl de cada dilución de bacteriófagos con 100 µl de la cepa huésped a una densidad óptica a 600 nm de 0,5. La capacidad infecciosa del bacteriófago se midió mediante el método de doble capa [49], donde se agregaron 4 mL de agar superior (TSB + agar bacteriológico al 0,75%, Scharlau) y  $\text{CaCl}_2$  5 mM a la mezcla bacteriófago-bacteria que se vertió en placas TSA. Las placas se incubaron durante 24 a 48 h en un horno a 25 °C. El título de bacteriófagos de cada tipo de muestra se calculó en PFU/mL y se comparó con el control que consistió en agregar 50 µL de bacteriófagos a la bacteria sin entrar en contacto con ningún filtro y sin ser sonicados. La actividad antiviral en reducciones logarítmicas de títulos se estimó a 1, 10 y 30 min de contacto con el virus. Se comprobó que las cantidades residuales de desinfectantes en las muestras tituladas no interfirieran con el proceso de titulación y que el tratamiento de sonicación-vorteo no afectó la capacidad infecciosa del bacteriófago. Las pruebas antivirales se realizaron tres veces durante dos días diferentes (n=6) para asegurar la reproducibilidad de los experimentos.

### 3.7. Tests antivirales con SARS-CoV-2

La cepa SARS-CoV-2 utilizada en este estudio (SARS-CoV-2/Hu/DP/Kng/19-027) nos fue amablemente proporcionada por el Dr. Tomohiko Takasaki y el Dr. Jun-Ichi Sakuragi del Instituto de la Prefectura de Kanagawa de Salud Pública de Japón. El virus se purificó en placa y se propagó en células Vero. El SARS-CoV-2 se almacenó a -80°C. Se añadió un volumen de 50 µL de una suspensión de virus en solución salina tamponada con fosfato (PBS) a cada filtro a una dosis de título de  $1,3 \times 10^5$  TCID50/filtro, y luego se incubó durante 1 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se añadió 1 ml de PBS a cada filtro y luego se agitó con vórtex durante 5 min. A continuación, cada tubo se agitó durante 5 min a temperatura ambiente. Los títulos virales se determinaron mediante ensayos de dosis infecciosas de cultivo tisular medio (TCID50) dentro de un laboratorio de nivel 3 de bioseguridad en la Universidad de Kioto en Japón. Brevemente, las células TMPRSS2/Vero [50] (JCRB1818, JCRB Cell Bank), cultivadas con el medio esencial mínimo (MEM, Sigma-Aldrich) complementado con suero bovino fetal (FBS) al 5%, penicilina / estreptomycin al 1%, fueron sembradas en placas de 96 pocillos (Thermo Fisher Scientific). Las muestras se diluyeron en diluciones seriadas de  $10^{-1}$  a  $10^{-8}$  en el medio de cultivo. Las diluciones se colocaron en las células TMPRSS2 / Vero por triplicado y se incubaron a 37 °C durante 96 h. El efecto citopático se evaluó al microscopio. La TCID50/ml se calculó mediante el método Reed-Muench.

### 3.8. Pruebas antibacterianas

La actividad antibacteriana de los filtros tratados y no tratados se estudiaron mediante el método de difusión en agar [51,52]. De este modo, se cultivó placas de *S. aureus* resistente a meticilina,



COL [53] y *S. epidermidis* resistente a la meticilina, RP62A [54], en una concentración de aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  PFU/ml en caldo de soja triptica, en placas de agar triptona de soja. Los discos de muestra esterilizados se colocaron sobre el césped de las bacterias para incubarlos aeróbicamente a  $37^\circ\text{C}$  durante 24 h. La actividad antibacteriana de los discos de filtro probados se expresó de acuerdo con la Ecuación (1) [51]:

$$nw_{halo} = ((d_{iz} - d) / 2) / d \quad (1)$$

donde  $nw_{halo}$  indica el ancho normalizado de la zona de inhibición microbiana,  $d_{iz}$  es el diámetro de la zona de inhibición y  $d$  se refiere al diámetro del disco de muestra. Estos diámetros se midieron mediante análisis de software de imágenes (Image J, Wayne Rasband (NIH), Bethesda, MD, USA). Las pruebas se realizaron seis veces en días diferentes para garantizar la reproducibilidad.

### 3.9. Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron mediante ANOVA seguido de la prueba post hoc de Tukey (\* $p > 0,05$ , \*\*\* $p > 0,001$ ) con el software GraphPad Prism 6 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EE. UU.).

## 4. IDENTIFICACIÓN DE LAS ACTUACIONES REALIZADAS

El Serrano BBlab del Centro de Investigación Traslacional San Alberto Magno de la Universidad Católica de Valencia (CITSAM-UCV) ha liderado un proyecto internacional para conseguir desarrollar un tejido inteligente para uso en mascarillas capaz de inactivar virus con envoltura como el SARS-COV-2 causante de la enfermedad COVID-19 y bacterias resistentes a los antibióticos como la *S. aureus* y *S. epidermidis*, resistentes a la meticilina. En este proyecto han colaborado investigadores internacionales de la Universidad de Kioto de Japón y de la Universidad de Ciencia y Tecnología de Noruega, y la empresa alicantina Visor Medical, que es una división dentro de la organización de la empresa Visor Fall Arrest Nets S.L. con una dilatada experiencia en el campo de las redes de seguridad y elementos de seguridad colectiva y que se unió a este proyecto para frenar la propagación del virus.

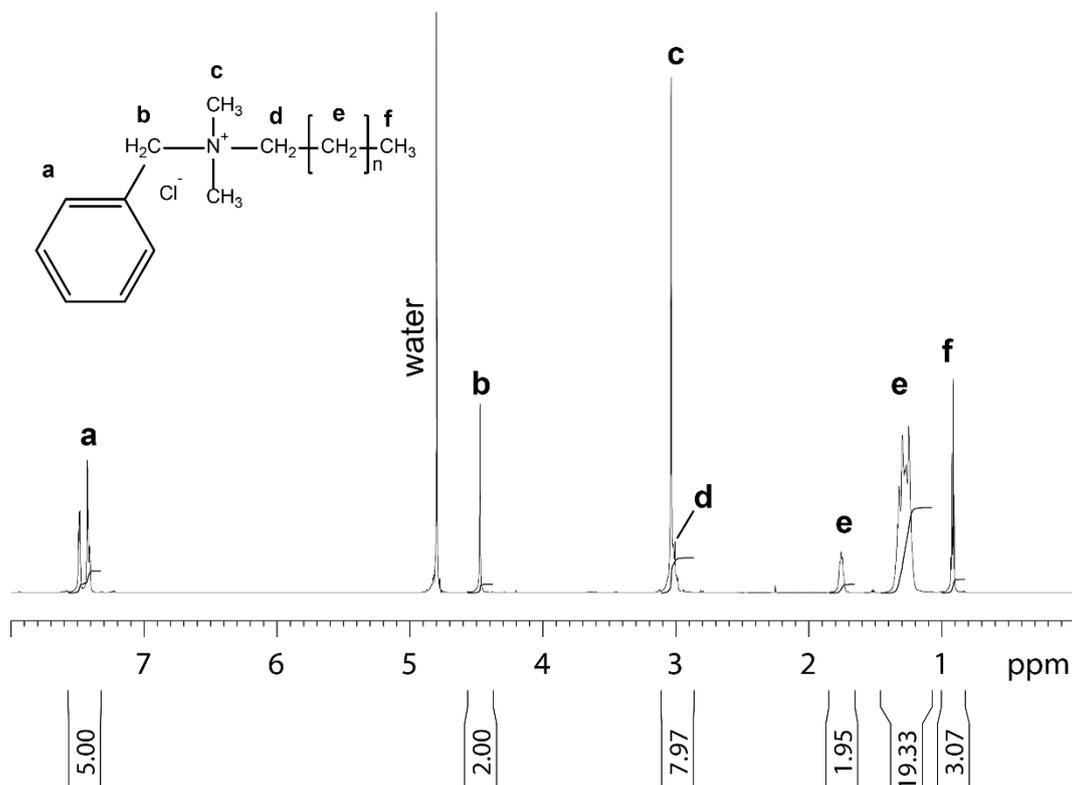
En la Universidad Católica de Valencia se desarrolló el tejido inteligente antimicrobiano capaz de inactivar el virus con envoltura phi 6, modelo bioseguro del SARS-CoV-2, y a las bacterias resistentes a los antibióticos MRSA y MRSE. En la Universidad de Kioto se han realizado los ensayos antivirales frente al SARS-CoV-2, ya que disponen de un laboratorio de bioseguridad nivel 3 para poder trabajar con este patógeno. En la Universidad de Ciencia y Tecnología de Noruega se ha caracterizado el cloruro de benzalconio utilizado en el desarrollo del tejido inteligente mediante resonancia magnética nuclear. Todo el conocimiento adquirido a nivel de laboratorio ha sido transferido a la empresa Visor Medical para desarrollar mascarillas con tejido inteligente antimicrobiano a nivel industrial.



## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Resonancia magnética nuclear del cloruro de benzalconio

El cloruro de benzalconio utilizado en este estudio para el tratamiento del filtro de tejido no tejido analizado por RMN se muestra en la Figura 2.



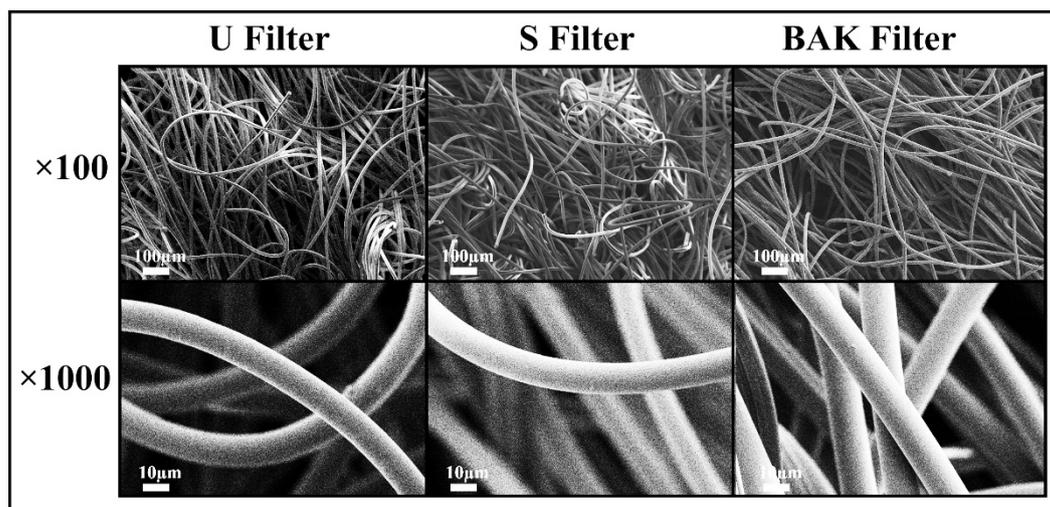
**Figura 2.** Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de protones del cloruro de benzalconio disuelto en D<sub>2</sub>O al 99,9% y medido a 25°C. Se muestran la estructura molecular, la asignación y la integral para el cloruro de benzalconio. Las letras en la estructura molecular y el espectro indican el protón en los diferentes subgrupos químicos del cloruro de benzalconio [55].

### 5.2. Morfología porosa de los filtros de mascarilla de tejido no tejido

La morfología porosa del filtro de mascarilla de tejido no tejido comercial no tratado y tratado se muestran en la Figura 3.

La microscopía electrónica no mostró signos de cambio morfológico poroso después de realizar el recubrimiento por dip-coating tanto con disolvente a base de etanol como con el disolvente que contiene el biocida BAK. Estos resultados sugirieron que no se produce ningún cambio en la respirabilidad ni en la eficiencia de filtración bacteriana para su comercialización de acuerdo con la norma europea para revestimientos faciales comunitarios (CWA 17553: 2020).





**Figura 3.** Morfología de los filtros de la mascarilla de tejido no tejido mediante microscopía electrónica de barrido por emisión de campo. Filtro sin tratar (U Filter), filtro tratado mediante recubrimiento por dip-coating con el disolvente a base de etanol (S Filter) y filtro de tejido no tejido con  $0.46 \pm 0.13\%$  *p/p* de recubrimiento biofuncional de cloruro de benzalconio (BAK) (BAK Filter) a dos aumentos ( $\times 100$  y  $\times 1000$ ) [55].

### 5.3. Ensayos antivirales con el bacteriófago phi 6 y SARS-CoV-2

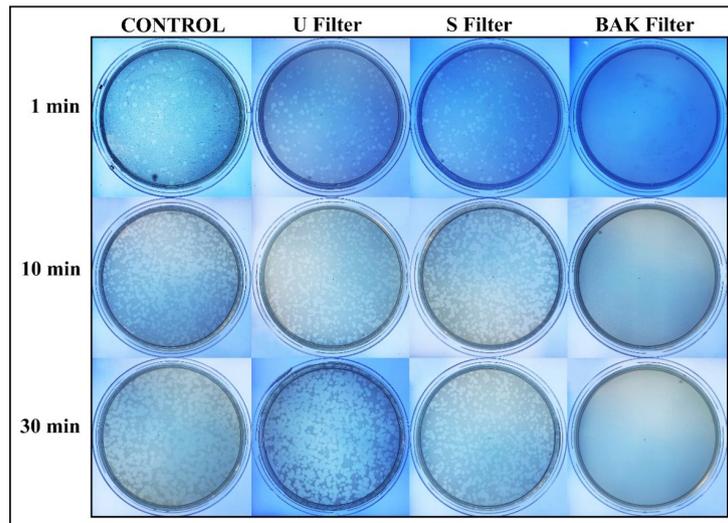
El bacteriófago phi 6 es un virus de ARN bicatenario segmentado de tres partes con un total de aproximadamente 13,5 kb de longitud. Aunque este tipo de bacteriófago lítico pertenece al grupo III de la clasificación de Baltimore [56], aquí se ha utilizado como modelo viral del SARS-CoV-2, por razones de bioseguridad, ya que también tiene una membrana lipídica alrededor de su nucleocápside. De este modo, el filtro BAK mostró una potente actividad antiviral (100% de inhibición viral, ver Figuras 4 y 5) frente a este virus con envoltura. Las bacterias habían crecido claramente en la placa y no se observaron calvas después de estar el bacteriófago durante 1, 10 o 30 minutos en contacto con el filtro BAK. Además, el filtro U y el filtro S mostraron resultados similares al control mostrando ausencia de actividad antiviral (ver Figuras 4 y 5).

Se calcularon los títulos de bacteriófagos de cada tipo de muestra de filtro de mascarilla y se compararon con el control (ver Figura 5).

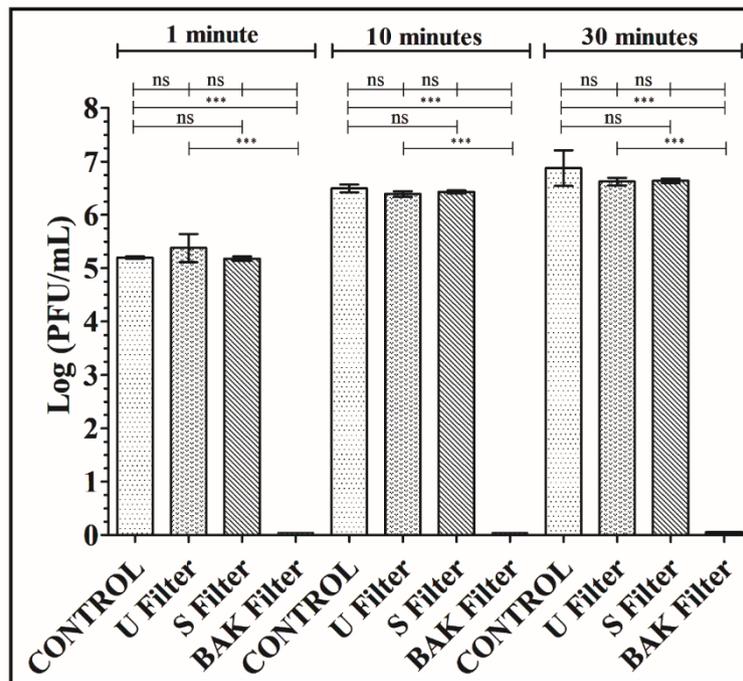
La Figura 5 muestra que los títulos obtenidos al poner en contacto los bacteriófagos con el filtro U o S son similares al control. Sin embargo, el filtro BAK mostró una fuerte inactivación de bacteriófagos.

Los resultados obtenidos con el método TCID<sub>50</sub>/mL sobre la reducción de títulos infecciosos de SARS-CoV-2 después de 1 min de contacto con el control, el filtro U, el filtro S y el filtro BAK que contiene el recubrimiento biofuncional se muestran en la Figura 6.



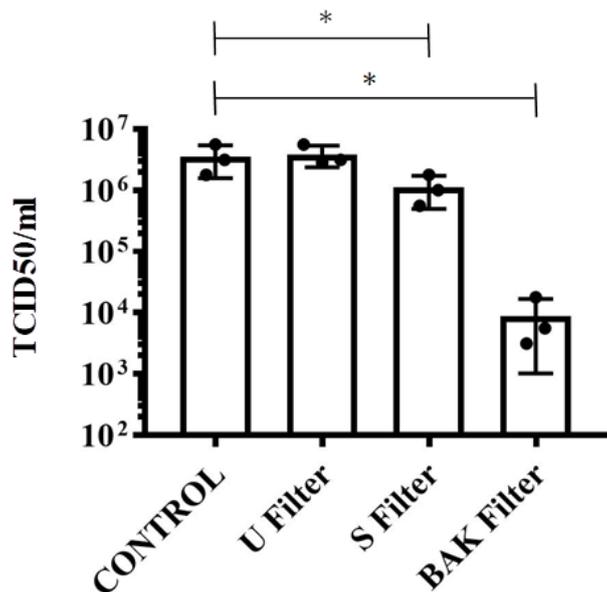


**Figura 4.** Pérdida de viabilidad del bacteriófago phi 6 medida por el método de doble capa. Imágenes de titulación del bacteriófago 6 de muestras sin diluir para control, filtro sin tratar (U Filter), filtro tratado mediante recubrimiento por dip-coating con el disolvente a base de etanol (S Filter) y filtro con recubrimiento biofuncional BAK (BAK Filter) a 1, 10 y 30 minutos de contacto viral [55].



**Figura 5.** Resultados de la titulación en el método de doble capa con el bacteriófago phi 6. Logaritmo de unidades formadoras de placa por mL (log (PFU/mL)) del control, filtro sin tratar (U Filter), filtro tratado mediante recubrimiento por dip-coating con el disolvente a base de etanol (S Filter) y filtro con recubrimiento biofuncional de BAK (BAK Filter) a 1, 10 y 30 minutos de contacto viral [55].





**Figura 6.** Reducción de títulos infecciosos del SARS-CoV-2 después de 1 min de contacto. Filtro sin tratar (U Filter), filtro tratado con el solvente etanol (S Filter), filtro con el recubrimiento biofuncional BAK (BAK Filter) y control mediante el método TCID50/mL[55].

Estos resultados demuestran claramente que el filtro BAK es muy eficaz frente al patógeno SARS-CoV-2 incluso con tan solo 1 minuto de contacto. Estos resultados coinciden con los resultados antivirales obtenidos para el otro virus con envoltura bioseguro utilizado en este estudio (ver Figuras 4 y 5). La reducción de los títulos infecciosos en PFU/mL determinada en el ensayo de doble capa para el bacteriófago phi 6 y por el método TCID50/mL para el SARS-CoV-2 se muestra en la Tabla 1.

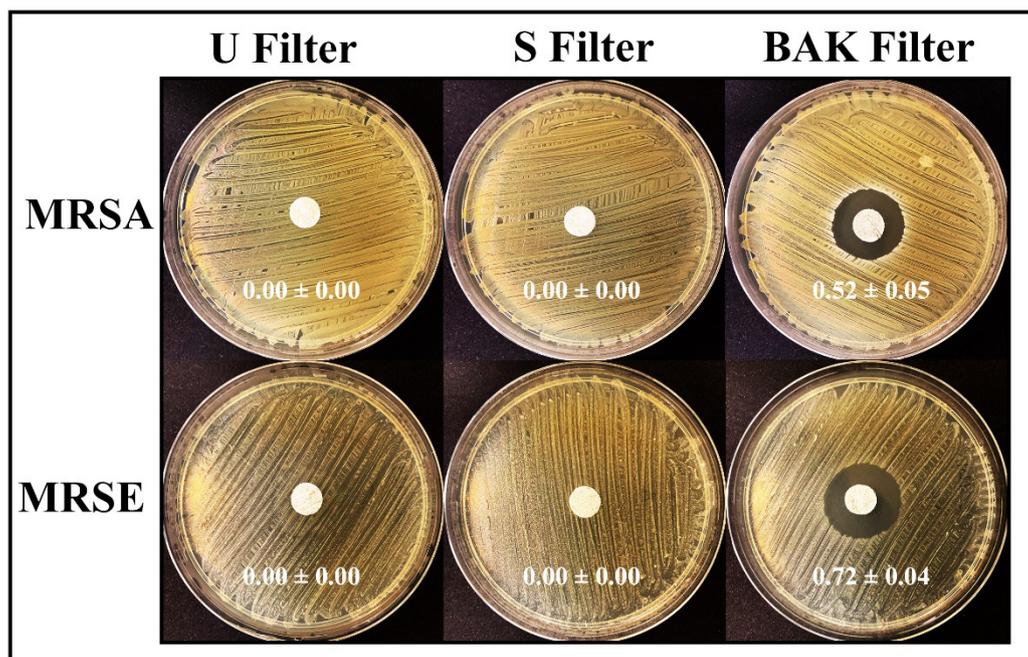
**Tabla 1.** Reducción de los títulos infecciosos determinados por el ensayo de doble capa para el bacteriófago phi 6 a 1, 10 y 30 minutos de contacto y mediante el método TCID50/mL para SARS-CoV-2 a 1 minuto de contacto. Control, filtro sin tratar (U Filter), filtro tratado con el disolvente de etanol (S Filter), filtro con el recubrimiento biofuncional BAK (BAK Filter) [55].

Muestra	Phi 6 a 1 min (PFU/mL)	Phi 6 a 10 min (PFU/mL)	Phi 6 a 30 min (PFU/mL)	SARS-CoV-2 a 1 min (PFU/mL)
Control	$1.6 \times 10^5 \pm 1.4 \times 10^4$	$3.2 \times 10^6 \pm 8.9 \times 10^5$	$1.4 \times 10^7 \pm 1.8 \times 10^7$	$3.5 \times 10^6 \pm 1.9 \times 10^6$
U Filter	$3.5 \times 10^5 \pm 3.9 \times 10^5$	$2.5 \times 10^6 \pm 5.1 \times 10^5$	$4.3 \times 10^6 \pm 1.3 \times 10^6$	$3.9 \times 10^6 \pm 1.5 \times 10^6$
S Filter	$1.5 \times 10^5 \pm 2.4 \times 10^4$	$2.7 \times 10^6 \pm 2.8 \times 10^5$	$4.4 \times 10^6 \pm 7.4 \times 10^5$	$1.1 \times 10^6 \pm 6.2 \times 10^5$
BAK Filter	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	$8.9 \times 10^3 \pm 7.8 \times 10^3$

#### 5.4. Pruebas antibacterianas frente a bacterias resistentes

Los resultados de los ensayos antibacterianos de los filtros tratados y no tratados frente a las bacterias multirresistentes MRSA y MRSE se muestra en la Figura 7.





**Figura 7.** Ensayos antibacterianos mediante el método de difusión en disco de agar. Filtro sin tratar (U Filter), filtro tratado por recubrimiento por dip-coating con el disolvente a base de etanol (S Filter) y filtrado con el recubrimiento biofuncional BAK (BAK Filter) después de 24 h de cultivo a 37°C. Los anchos normalizados de los halos antibacterianos, expresados como media  $\pm$  desviación estándar y calculados con la Ecuación (1), se muestran en cada imagen [55].

El filtro tratado por dip-coating con alcohol etílico al 70% que contenía BAK al 0.1% mostró una alta actividad antibacteriana frente a las bacterias multirresistentes MRSA y MRSE. El modo de acción antimicrobiano de los compuestos de amonio cuaternario como el BAK contra las membranas de fosfolípidos bacterianos y virales se atribuye a los átomos de nitrógeno cargados positivamente. Esto puede conseguir erradicar bacterias y virus comunes como la gripe al alterar su membrana bicapa de fosfolípidos [57], la envoltura glucoproteínica y las glucoproteínas espiga asociadas que interactúan con el receptor ACE2 en la infección de las células huésped [58]. Por esta razón, el BAK se utiliza como producto biocida aprobado por la FDA americana y la EMA europea en muchas toallitas y aerosoles desinfectantes domésticos y también como aditivo en varios jabones y desinfectantes de manos sin alcohol [59-61].

Este filtro de mascarilla ha sido desarrollado mediante recubrimiento por dip-coating, un método simple, de bajo costo, fiable y reproducible, a partir de filtro comercial de tejido no tejido donde se consiguió adsorber [62] una capa micrométrica de BAK sobre la superficie de los filamentos que constituyen el tejido. La actividad antibacteriana de este tipo de filtro frente a MRSA y MRSE, y su capacidad de inhibición viral contra SARS-CoV-2, así como el bacteriófago phi 6, demuestra su amplia protección frente a un amplio rango de patógenos.

### 5.5. Transferencia tecnológica del laboratorio a la industria

Esta nueva tecnología ha sido transferida del Serrano BBlab del CITSAM-UCV a la industria, en concreto, a la empresa alicantina Visor Medical (<https://www.visormed.com/es>) en tiempo récord para la fabricación en masa de mascarillas FFP2 antimicrobianas (FFPCOVID MASK, <https://www.ucv.es/mascarillas>, Figura 8):



**Figura 8.** Mascarilla FFP 2 con tejido inteligente (FFPCOVID MASK) capaz de inactivar virus con envoltura como el SARS-CoV-2 y bacterias resistentes: (A) diseño de mascarilla con arnés; (B) diseño de mascarilla con orejeras. <https://www.visormed.com/es/catalogo-productos-visor-medical>

Además, muy recientemente, la transferencia del conocimiento ha sido extendida a la fabricación de mascarillas quirúrgicas tanto en tamaño adulto como infantil y la FFP2 en color negro (Figura 9).



**Figura 9.** Mascarilla quirúrgica con tejido inteligente color azul (A) y blanco (B), quirúrgica infantil azul (C), rosa (D) y blanco (E) y la FFP 2 con tejido inteligente color negro capaz de inactivar virus con envoltura como el SARS-CoV-2 y bacterias resistentes a los antibióticos. <https://www.visormed.com/es/productos/mascarillas-quirurgicas-con-tejido-inteligente>



Estas mascarillas presentan muchas ventajas frente a las mascarillas convencionales (Figura 10).



**Figura 10.** Ventajas de las mascarillas con tejido inteligente (FFPCOVID MASK) frente a las mascarillas convencionales. <https://www.ucv.es/mascarillas>

Además, en este proyecto, la empresa Visor Medical ha certificado las mascarillas (Figuras 8 y 9) en el Instituto Tecnológico Textil AITEX de Valencia, España, acreditado para garantizar que cumplen todas las características requeridas en cuanto a respirabilidad, filtración bacteriana y salpicaduras. Además, Visor Medical ha garantizado la total seguridad del producto final a través de un laboratorio externo acreditado de gran prestigio internacional, EUROFINS, Organismo Notificado con número 2865, mediante ensayos de citotoxicidad *in vitro* con la línea celular de fibroblastos BALB/3T3 clone A31 (ATCC®; CCL163™) de acuerdo con la norma ISO 10993-5:2009 de evaluación biológica de dispositivos médicos ([https://visormed.com/assets/downloads/ensayo\\_toxicidad\\_negativa.pdf](https://visormed.com/assets/downloads/ensayo_toxicidad_negativa.pdf)).

## 6. CONCLUSIONES

El desarrollo de la presente tecnología ha supuesto un paso de gigante en materia de salud, ya que se han conseguido fabricar mascarillas de nueva generación capaces de inactivar virus con envoltura



como el SARS-CoV-2 en menos de un minuto y bacterias resistentes a los antibióticos. Constituye el primer desarrollo industrial sin precedentes de mascarillas de estas características en todo el mundo. Se espera que el desarrollo de mascarillas antimicrobianas de este tipo tenga un alto impacto en la sociedad, ya que constituye un gran avance en la prevención de enfermedades infecciosas para la mejora de la salud humana, especialmente para los sanitarios que están expuestos constantemente a enfermedades infecciosas. Por tanto, esta nueva tecnología de bajo coste y accesible para todos servirá para dotar de gran protección a la población cuando acude a un hospital, se viaja en medios públicos, se asiste a eventos multitudinarios, etc. Estas mascarillas conseguirán reducir las infecciones por COVID-19 en la presente pandemia, otras infecciones provocadas por virus con envoltura como la gripe o en futuras pandemias, y además hacer frente al gran problema global de las infecciones causadas por bacterias resistentes a los antibióticos.

### AGRADECIMIENTOS

El autor agradece el apoyo de la Fundación Universidad Católica de Valencia San Vicente Mártir (2020-231-006UCV) y del Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2020-119333RB-I00 / AEI / 10.13039/501100011033).

### REFERENCIAS

- [1] WHO, Coronavirus disease (COVID-19) Pandemic, World Heal. Organ. 2019 (2020) 2633. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>.
- [2] R. Verity, L.C. Okell, I. Dorigatti, P. Winskill, C. Whittaker, N. Imai, G. Cuomo-Dannenburg, H. Thompson, P.G.T. Walker, H. Fu, A. Dighe, J.T. Griffin, M. Baguelin, S. Bhatia, A. Boonyasiri, A. Cori, Z. Cucunubá, R. FitzJohn, K. Gaythorpe, W. Green, A. Hamlet, W. Hinsley, D. Laydon, G. Nedjati-Gilani, S. Riley, S. van Elsland, E. Volz, H. Wang, Y. Wang, X. Xi, C.A. Donnelly, A.C. Ghani, N.M. Ferguson, Estimates of the severity of coronavirus disease 2019: a model-based analysis, *Lancet. Infect. Dis.* (2020). [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30243-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30243-7).
- [3] J.F.W. Chan, K.H. Kok, Z. Zhu, H. Chu, K.K.W. To, S. Yuan, K.Y. Yuen, Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan, *Emerg. Microbes Infect.* 9 (2020) 221–236. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1719902>.
- [4] R. Lu, X. Zhao, J. Li, P. Niu, B. Yang, H. Wu, W. Wang, H. Song, B. Huang, N. Zhu, Y. Bi, X. Ma, F. Zhan, L. Wang, T. Hu, H. Zhou, Z. Hu, W. Zhou, L. Zhao, J. Chen, Y. Meng, J. Wang, Y. Lin, J. Yuan, Z. Xie, J. Ma, W.J. Liu, D. Wang, W. Xu, E.C. Holmes, G.F. Gao, G. Wu, W. Chen, W. Shi, W. Tan, Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding, *Lancet.* 395 (2020) 565–574. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8).
- [5] N. Zhu, D. Zhang, W. Wang, X. Li, B. Yang, J. Song, X. Zhao, B. Huang, W. Shi, R. Lu, P. Niu, F. Zhan, X. Ma, D. Wang, W. Xu, G. Wu, G.F. Gao, W. Tan, A novel coronavirus from patients



- with pneumonia in China, 2019, *N. Engl. J. Med.* 382 (2020) 727–733. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>.
- [6] K.G. Andersen, A. Rambaut, W.I. Lipkin, E.C. Holmes, R.F. Garry, The proximal origin of SARS-CoV-2, *Nat. Med.* (2020) 1–3. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0820-9>.
- [7] M. Seyran, D. Pizzol, P. Adadi, T.M.A. El-Aziz, S.S. Hassan, A. Soares, R. Kandimalla, K. Lundstrom, M. Tambuwala, A.A.A. Aljabali, A. Lal, G.K. Azad, P.P. Choudhury, V.N. Uversky, S.P. Sherchan, B.D. Uhal, N. Rezaei, A.M. Brufsky, Questions concerning the proximal origin of SARS-CoV-2, *J. Med. Virol.* (2020) jmv.26478. <https://doi.org/10.1002/jmv.26478>.
- [8] V.M. Corman, D. Muth, D. Niemeyer, C. Drosten, Hosts and Sources of Endemic Human Coronaviruses, in: *Adv. Virus Res.*, 2018: pp. 163–188. <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2018.01.001>.
- [9] X. Yang, Y. Yu, J. Xu, H. Shu, J. Xia, H. Liu, Y. Wu, L. Zhang, Z. Yu, M. Fang, T. Yu, Y. Wang, S. Pan, X. Zou, S. Yuan, Y. Shang, Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study, *Lancet Respir. Med.* 8 (2020) 475–481. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30079-5](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30079-5).
- [10] S.N. Shah, R.G. Bachur, D.L. Simel, M.I. Neuman, Childhood pneumonia, *JAMA - J. Am. Med. Assoc.* 318 (2017) 490. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.9428>.
- [11] D.R. Brenner, J.R. McLaughlin, R.J. Hung, Previous lung diseases and lung cancer risk: A systematic review and meta-analysis, *PLoS One.* 6 (2011). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017479>.
- [12] M.B. Rothberg, S.D. Haessler, R.B. Brown, Complications of Viral Influenza, *Am. J. Med.* 121 (2008) 258–264. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2007.10.040>.
- [13] I.C. Su, K.L. Lee, H.Y. Liu, H.C. Chuang, L.Y. Chen, Y.J. Lee, Severe community-acquired pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa* coinfection in an influenza A(H1N1)pdm09 patient, *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 52 (2019) 365–366. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2018.05.007>.
- [14] C.C. Chou, C.F. Shen, S.J. Chen, H.M. Chen, Y.C. Wang, W.S. Chang, Y.T. Chang, W.Y. Chen, C.Y. Huang, C.C. Kuo, M.C. Li, J.F. Lin, S.P. Lin, S.W. Ting, T.C. Weng, P.S. Wu, U.I. Wu, P.C. Lin, S.S.J. Lee, Y.S. Chen, Y.C. Liu, Y.C. Chuang, C.J. Yu, L.M. Huang, M.C. Lin, Recommendations and guidelines for the treatment of pneumonia in Taiwan, *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 52 (2019) 172–199. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2018.11.004>.
- [15] J.Y. Lee, P.C. Yang, C. Chang, I.T. Lin, W.C. Ko, C.T. Cia, Community-acquired adenoviral and pneumococcal pneumonia complicated by pulmonary aspergillosis in an immunocompetent adult, *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 52 (2019) 838–839. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2019.05.014>.
- [16] W.C. Albrich, F. Rassouli, F. Waldeck, C. Berger, F. Baty, Influence of Older Age and Other Risk Factors on Pneumonia Hospitalization in Switzerland in the Pneumococcal Vaccine Era, *Front. Med.* 6 (2019). <https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00286>.
- [17] K. Lundstrom, Coronavirus pandemic—Therapy and vaccines, *Biomedicines.* 8 (2020) 109. <https://doi.org/10.3390/BIOMEDICINES8050109>.
- [18] G. Chauhan, M.J. Madou, S. Kalra, V. Chopra, D. Ghosh, Nanotechnology for COVID-19: Therapeutics and Vaccine Research, *ACS Nano.* 14 (2020) 7760–7782. <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c04006>.
- [19] D.R. Feikin, A. Schuchat, M. Kolczak, N.L. Barrett, L.H. Harrison, L. Lefkowitz, A. McGeer, M.M. Farley, D.J. Vugia, C. Lexau, K.R. Stefonek, J.E. Patterson, J.H. Jorgensen, Mortality



- from invasive pneumococcal pneumonia in the era of antibiotic resistance, 1995-1997, *Am. J. Public Health.* 90 (2000) 223–229. <https://doi.org/10.2105/AJPH.90.2.223>.
- [20] B. Huttner, B. Cappello, G. Cooke, S. Gandra, S. Harbarth, M. Imi, M. Loeb, M. Mendelson, L. Moja, C. Pulcini, M. Sharland, E. Tacconelli, M. Zeng, N. Magrini, 2019 community-acquired pneumonia treatment guidelines: There is a need for a change toward more parsimonious antibiotic use, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 201 (2020) 1315–1316. <https://doi.org/10.1164/rccm.201911-2226LE>.
- [21] A. Lal, J. Akhtar, A. Ullah, G.M. Abraham, First Case of Pleural Empyema Caused by *Staphylococcus simulans*: Review of the Literature, *Case Rep. Infect. Dis.* 2018 (2018) 1–5. <https://doi.org/10.1155/2018/7831284>.
- [22] K. Kümmerer, Resistance in the environment, *J. Antimicrob. Chemother.* 54 (2004) 311–320. doi:10.1093/jac/dkh325.
- [23] S.B. Levy, M. Bonnie, Antibacterial resistance worldwide: Causes, challenges and responses, *Nat. Med.* 10 (2004) S122–S129. doi:10.1038/nm1145.
- [24] V.W.L. Ng, J.M.W. Chan, H. Sardon, R.J. Ono, J.M. García, Y.Y. Yang, J.L. Hedrick, Antimicrobial hydrogels: A new weapon in the arsenal against multidrug-resistant infections, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 78 (2014) 46–62. doi:10.1016/j.addr.2014.10.028.
- [25] J. Fernández, F. Bert, M.H. Nicolas-Chanoine, The challenges of multi-drug-resistance in hepatology, *J. Hepatol.* 65 (2016) 1043–1054. doi:10.1016/j.jhep.2016.08.006.
- [26] E.R.M. Sydnor, T.M. Perl, Hospital epidemiology and infection control in acute-care settings, *Clin. Microbiol. Rev.* 24 (2011) 141–173. doi:10.1128/CMR.00027-10.
- [27] A.J. Alanis, Resistance to antibiotics: Are we in the post-antibiotic era?, *Arch. Med. Res.* 36 (2005) 697–705. doi:10.1016/j.arcmed.2005.06.009.
- [28] R.A. Puiu, G. Dolete, A.M. Ene, B. Nicoară, G.M. Vlăsceanu, A.M. Holban, A.M. Grumezescu, A. Bolocan, Properties of biofilms developed on medical devices, in: *Biofilms Implant. Med. Devices Infect. Control*, Elsevier, 2016: pp. 25–46. doi:10.1016/B978-0-08-100382-4.00002-2.
- [29] M. Gotte, A. Berghuis, G. Matlashewski, M.A. Wainberg, D. Sheppard, *Handbook of antimicrobial resistance*, Springer New York, New York, NY, 2017. doi:10.1007/978-1-4939-0694-9.
- [30] WHO | Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014, World Health Organization, 2016.
- [31] P. Holmstrup, B. Klausen, The growing problem of antimicrobial resistance, *Oral Dis.* (2017). doi:10.1111/odi.12610.
- [32] World Health Organization, WHO | Antimicrobial resistance, WHO. (2017). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/> (accedido 26 Enero, 2022).
- [33] J. O'Neill, Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations the Review on Antimicrobial Resistance, (2016). doi:10.1016/j.jpha.2015.11.005.
- [34] WHO | High levels of antibiotic resistance found worldwide, new data shows, WHO. (2018). <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2018/antibiotic-resistance-found/en/>.
- [35] J.D.D. Pitout, P. Nordmann, L. Poirel, Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*, a key pathogen set for global nosocomial dominance, *Antimicrob. Agents Chemother.* 59 (2015) 5873–5884. doi:10.1128/AAC.01019-15.



- [36] D.A. Tadesse, S. Zhao, E. Tong, S. Ayers, A. Singh, M.J. Bartholomew, P.F. McDermott, Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950-2002, *Emerg. Infect. Dis.* 18 (2012) 741–749. doi:10.3201/eid1805.111153.
- [37] T.J. Foster, Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects, *FEMS Microbiol. Rev.* 41 (2017) 430–449. doi:10.1093/femsre/fux007.
- [38] A.M. Dondorp, F. Nosten, P. Yi, D. Das, A.P. Phyto, J. Tarning, K.M. Lwin, F. Ariey, W. Hanpithakpong, S.J. Lee, P. Ringwald, K. Silamut, M. Imwong, K. Chotivanich, P. Lim, T. Herdman, S.S. An, S. Yeung, P. Singhasivanon, N.P.J. Day, N. Lindegardh, D. Socheat, N.J. White, Artemisinin Resistance in Plasmodium falciparum Malaria, *N. Engl. J. Med.* 361 (2009) 455–467. doi:10.1056/NEJMoa0808859.
- [39] F. Kyeyune, R.M. Gibson, I. Nanky, C. Venner, S. Metha, J. Akao, E. Ndashimye, C.M. Kityo, R.A. Salata, P. Mugenyi, E.J. Arts, M.E. Quiñones-Mateua, Low-Frequency Drug Resistance in HIV-Infected Ugandans on Antiretroviral Treatment Is Associated with Regimen Failure, *Antimicrob.*
- [40] Antimicrobial Resistance Collaborators, Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis, *The Lancet* 399 (2022) 629–55
- [41] A. Tuñón-Molina, K. Takayama, E. M. Redwan, V. N. Uversky, J. Andrés, Á. Serrano-Aroca, Protective Face Masks: Current Status and Future Trends, *ACS Applied Materials & Interfaces* 13, 48, (2021) 56725–56751
- [42] J. Zhang, B. Li, L. Wu, A. Wang, Facile preparation of durable and robust superhydrophobic textiles by dip coating in nanocomposite solution of organosilanes, *Chem. Commun.* 49, (2013) 11509–11511.
- [43] O. Das, R.E. Neisiany, A.J. Capezza, M.S. Hedenqvist, M. Försth, Q. Xu, L. Jiang, D. Ji, S. Ramakrishna, The need for fully bio-based facemasks to counter coronavirus outbreaks: A perspective. *Sci. Total Environ.* 736, (2020) 139611.
- [44] WHO. Antibiotic Resistance. Available online: <https://www.who.int/health-topics/antimicrobial-resistance> (accedido el 2 de Enero 2022)
- [45] K.C. Wade, D.K. Benjamin, *Clinical Pharmacology of Anti-Infective Drugs*. In *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2011; pp. 1160–1211.
- [46] J.Y.H. Lee, I.R. Monk, A. Gonçalves da Silva, T. Seemann, K.Y.L. Chua, A. Kearns, R. Hill, N. Woodford, M.D. Bartels, B. Strommenger, et al. Global spread of three multidrug-resistant lineages of *Staphylococcus epidermidis*. *Nat. Microbiol.* 3, (2018) 1175–1185.
- [47] S. Lakhundi, K. Zhang, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clin. Microbiol. Rev.* 31, (2018) e00020-18.
- [48] D. Chessa, G. Ganau, L. Spiga, A. Bulla, V. Mazzarello, G.V. Campus, S. Rubino, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* Virulence Strains as Causative Agents of Persistent Infections in Breast Implants. *PLoS ONE* 11, (2016) e0146668.
- [49] A.M. Kropinski, A. Mazzocco, T.E. Waddell, E. Lingohr, R.P. Johnson, Enumeration of bacteriophages by double agar overlay plaque assay. *Methods Mol. Biol.* 501, (2009) 69–76
- [50] S. Matsuyama, N. Nao, K. Shirato, M. Kawase, S. Saito, I. Takayama, N. Nagata, T. Sekizuka, H. Katoh, Kato, F.; et al. Enhanced isolation of SARS-CoV-2 by TMPRSS2- expressing cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 117, (2020) 7001–7003



- [51] M. Martí, B. Frígols, Á. Serrano-Aroca, Antimicrobial Characterization of Advanced Materials for Bioengineering Applications. *J. Vis. Exp.* (2018) e57710, doi:10.3791/57710.
- [52] W. Shao, H. Liu, X. Liu, S. Wang, J. Wu, R. Zhang, H. Min, M. Huang, Development of silver sulfadiazine loaded bacterial cellulose/sodium alginate composite films with enhanced antibacterial property. *Carbohydr. Polym.* 132, (2015) 351–358.
- [53] S.R. Gill, D.E. Fouts, G.L. Archer, E.F. Mongodin, R.T. DeBoy, J. Ravel, I.T. Paulsen, J.F. Kolonay, L. Brinkac, M. Beanan, et al. Insights on evolution of virulence and resistance from the complete genome analysis of an early methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain and a biofilm-producing methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* strain. *J. Bacteriol.* 187, (2005) 2426–2438.
- [54] G.D. Christensen, A.L. Bisno, J.T. Parisi, B. McLaughlin, M.G. Hester, R.W. Luther, Nosocomial septicemia due to multiply antibiotic-resistant *Staphylococcus epidermidis*. *Ann. Intern. Med.* 96, (1982) 1–10.
- [55] M. Martí, A. Tuñón-Molina, F.L. Aachmann, Y. Muramoto, T. Noda, K. Takayama, and Á. Serrano-Aroca, Protective Face Mask Filter Capable of Inactivating SARS-CoV-2, and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*, *Polymers* 13(2), (2021) 207
- [56] D. Baltimore, Expression of animal virus genomes. *Bacteriol. Rev.* 35, (1971) 235–241
- [57] C.L. Schrank, K.P.C. Minbiole, W.M. Wuest, Are Quaternary Ammonium Compounds, the Workhorse Disinfectants, Effective against Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus-2? *ACS Infect. Dis.* 6, (2020) 1553–1557.
- [58] P.I. Hora, S.G. Pati, P.J. McNamara, W.A. Arnold, Increased Use of Quaternary Ammonium Compounds during the SARS-CoV-2 Pandemic and Beyond: Consideration of Environmental Implications. *Environ. Sci. Technol. Lett.* 7, (2020) 622–631.
- [59] E. Tuladhar, M.C. de Koning, I. Fundeanu, R. Beumer, E. Duizer, Different virucidal activities of hyperbranched quaternary ammonium coatings on poliovirus and influenza virus. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, (2012) 2456–2458.
- [60] T. Yamanaka, H. Bannai, K. Tsujimura, M. Nemoto, T. Kondo, T. Matsumura, Comparison of the virucidal effects of disinfectant agents against equine influenza a virus. *J. Equine Vet. Sci.* 34, (2014) 715–718.
- [61] C.P. Gerba, Quaternary ammonium biocides: Efficacy in application. *Appl. Environ. Microbiol.* 81, (2015) 464–469.
- [62] I.A. Neacșu, A.I. Nicoară, O.R. Vasile, B.Ș. Vasile, Inorganic micro- and nanostructured implants for tissue engineering. In *Nanobiomaterials in Hard Tissue Engineering: Applications of Nanobiomaterials*; Elsevier Inc.: Amsterdam, The Netherlands, 2016; pp. 271–29

