

## PUBLICACIÓN ANTICIPADA

### Publicación anticipada

El Comité Editor de la Revista del Cuerpo Médico Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo aprobó para publicación este manuscrito, teniendo en cuenta la revisión de pares que lo evaluaron y levantamiento de observaciones. Se publica anticipadamente en versión pdf en forma provisional con base en la última versión electrónica del manuscrito, pero sin que aún haya sido diagramado ni se le haya hecho la corrección de estilo. Siéntase libre de descargar, usar, distribuir y citar esta versión preliminar tal y como lo indicamos, pero recuerde que la versión electrónica final y en formato pdf pueden ser diferentes.

### Advance publication

The Editorial Committee of the Journal Cuerpo Medico Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo approved this manuscript for publication, taking into account the peer review that evaluated it and the collection of observations. It is published in advance in a provisional pdf version based on the latest electronic version of the manuscript, but without it having been diagrammed or style corrected yet. Feel free to download, use, distribute, and cite this preliminary version as directed, but remember that the final electronic and pdf versions may differ.

**Citación provisional** / Domínguez Salvador JY, Lozano Peralta KY, Mercado Martínez P, Torres Chiclayo K, Esparza Mantilla MR. Actividad bactericida de textil con hilo de cobre frente a bacterias resistentes a antibióticos y productoras de carbapenemasas causantes de infecciones intrahospitalarias. Rev. Cuerpo Med. HNAAA [Internet]. 25 de junio de 2024 [citado 25 de junio de 2024];17(2). DOI: [10.35434/rcmhnaaa.2024.172.2201](https://doi.org/10.35434/rcmhnaaa.2024.172.2201)

Recibido / 10/10/2023

Aceptado / 30/04/2024

Publicación en Línea / 24/06/2024



**Actividad bactericida de textil con hilo de cobre frente a bacterias resistentes a antibióticos y productoras de carbapenemasas causantes de infecciones intrahospitalarias.**

**Bactericidal activity of textile with copper thread against antibiotic-resistant and carbapenemase-producing bacteria that cause nosocomial infections.**

Julitza Yanet Domínguez Salvador<sup>1a</sup>, Katherine Yolanda Lozano Peralta<sup>1b</sup>, Pedro Mercado Martínez<sup>1d</sup>, Keyla Torres Chiclayo<sup>1c</sup>, Mario Rodrigo Esparza Mantilla<sup>1ce</sup>

1. Universidad Privada Antenor Orrego. Facultad de Medicina Humana. Laboratorio de Genética, Reproducción y Biología Molecular. GENERBIM. Trujillo. Perú.
  - a. Estudiante de Medicina
  - b. Médico
  - c. Biólogo - Microbiólogo
  - d. Doctor en Ciencias Biomédicas
  - e. Doctor en Microbiología

**Orcid**

1. Julitza Yanet Domínguez Salvador  
[0000-0002-9343-6027](tel:0000-0002-9343-6027)  
[jdominguezs1@upao.edu.pe](mailto:jdominguezs1@upao.edu.pe)
2. Katherine Yolanda Lozano Peralta  
[0000-0003-3424-5789](tel:0000-0003-3424-5789)  
[klozanop@upao.edu.pe](mailto:klozanop@upao.edu.pe)
3. Pedro Mercado Martínez  
[0000-0002-0339-2885](tel:0000-0002-0339-2885)  
[pmercado@unitru.edu.pe](mailto:pmercado@unitru.edu.pe)
4. Keyla Torres Chiclayo  
[0000-0002-6110-807X](tel:0000-0002-6110-807X)  
[ktorresc3@upao.edu.pe](mailto:ktorresc3@upao.edu.pe)
5. Mario Rodrigo Esparza Mantilla  
[0000-0003-3604-6054](tel:0000-0003-3604-6054)  
[mesparzam2@upao.edu.pe](mailto:mesparzam2@upao.edu.pe)

**Correspondencia**

Dr. Mario Rodrigo Esparza Mantilla

Dirección: Panamá 396-B. Torres Araujo. Trujillo. La Libertad.

Teléfono: +51-913931217

**Email:** [mesparzam2@upao.edu.pe](mailto:mesparzam2@upao.edu.pe)

**Contribuciones de los autores:** JYDS, KYLP, PMM, KTCH, MREM han participado por igual en la concepción de la idea, recolección de información, redacción del manuscrito y aprobación de la versión final del mismo. Los autores reconocemos la autoría del presente trabajo, las responsabilidades éticas del mismo.

**Conflicto de intereses:** Ninguno

**Financiamiento:** Autofinanciado

### **Agradecimientos**

Se agradece al Fondo de Apoyo a la Investigación (FAIN- 2021)-UPAO. Al Dr. Luis Angelats, Silva, del Laboratorio LABIM-UPAO por la colaboración en los análisis de XDR. También agradecer a la empresa Coopertex SAC (Lima) por donación de muestras de hilo de cobre para estudio y por la colaboración en los análisis de microscopía electrónica realizados en Universidad Católica de Chile. Al Blgo. Hans Contreras Mogollón del Hospital de Huaraz - Víctor Ramos Guardia-Dpto de Anatomía y Patología Clínica. Área de Microbiología y Parasitología, por proporcionar la cepa de *S. aureus*.

### **Financiamiento**

Fondo de Apoyo a la Investigación (FAIN- 2021)-Universidad Privada Antenor Orrego, Resolución Vicerrectoral N° 49-2021-VIN-UPAO -MEM.

## RESUMEN

**Introducción:** Las infecciones intrahospitalarias (IIH) por bacterias resistentes a antibióticos son un problema de salud pública, y el ambiente hospitalario es un reservorio favorable para diversos patógenos por tanto una opción sanitaria, para el control patógenos es evaluar la actividad bactericida de plataformas textiles con hilo de cobre contra patógenos causantes de IIH resistentes a carbapenemasas. **Materiales y métodos:** se evaluó la capacidad bactericida del textil biomédico con y sin hilo de cobre en cuatro cepas bacterianas: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus aureus*. Las diferencias en el tiempo de sobrevida y la densidad bacteriana se estableció mediante pruebas de ANOVA y Tukey con un nivel de significancia de  $P < 0.05$  por triplicado. **Resultados:** La sobrevida de *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*, en textiles biomédicos con hilo de cobre, fue de 80, 90, 120 y 140 min, respectivamente. Pero en textil sin hilo de cobre la densidad bacteriana ( $1 \times 10^5$  UFC/ml) se mantuvo viable por más de 180 min para todas las cepas bacterianas. El textil de hilo de cobre es más efectivo en eliminar las bacterias Gram negativas (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli*), versus las bacterias Gram positivas (*S. aureus*). **Conclusión:** el textil con hilo de cobre tiene efecto antibacteriano contra *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *E. coli*; a diferencia de los textiles sin cobre, donde la bacterias permanecían viables, por ende el hilo de cobre tiene potencial como antimicrobiano frente a patógenos resistentes a carbapenemasas para aplicarse en plataformas textiles biomédicas o apósitos. **Palabras clave:** cobre, patógenos, antimicrobiano, antibacteriano, carbapenemasa (Fuente: DeCS).

## ABSTRACT:

**Introduction:** Hospital-acquired infections (HAI) due to antibiotic-resistant bacteria are a public health problem, and the hospital environment is a favorable reservoir for various pathogens, therefore a health option for pathogen control is to evaluate the bactericidal activity of textile platforms with yarn copper against pathogens that cause carbapenemase-resistant HAI. **Materials and methods:** the bactericidal capacity of the biomedical textile with and without copper thread was evaluated in four bacterial strains: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* and *Staphylococcus aureus*. Differences in survival time and bacterial density were established using ANOVA and Tukey tests with a significance level of  $P < 0.05$  in triplicate. **Results:** The survival of *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* and *S. aureus*, on biomedical textiles with copper thread, was 80, 90, 120 and 140 min, respectively. But in textile without copper thread the bacterial density ( $1 \times 10^5$  CFU/ml) remained viable for more than 180 min for all bacterial strains. Copper thread textile is more effective in eliminating Gram-negative bacteria (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli*), versus Gram-positive bacteria (*S. aureus*). **Conclusion:** the textile with copper thread has an antibacterial effect against *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* and *E. coli*; Unlike textiles without copper, where bacteria remained viable, copper thread has potential as an antimicrobial against carbapenemase-resistant pathogens to be applied in biomedical textile platforms or dressings.

**Keywords:** copper, pathogens, antimicrobial, antibacterial, carbapenemase. (Source: MeSH)

## INTRODUCCIÓN

Las infecciones intrahospitalarias (IIH) son una de las complicaciones más comunes durante la hospitalización y una amenaza importante para la seguridad de los pacientes <sup>(1)</sup>. Los patógenos como *Staphylococcus aureus*, resistentes a meticilina (SARM), *Enterococcus sp.* resistentes a vancomicina (ERV), esporas de *Clostridium difficile* y los norovirus que son excretadas por pacientes infectados y/o trabajadores de salud, se reportan como contaminantes frecuentes del entorno clínico <sup>(2)</sup>. Se ha establecido que algunos patógenos pueden sobrevivir en la superficie durante meses, lo que supone un riesgo de transmisión a los pacientes y personal de salud por contacto directo o indirecto <sup>(3)</sup>.

El cobre, ha sido reportado como un metal con efecto universal como agente antimicrobiano y como potente viricida <sup>(4-8)</sup>, según Gabbay J, Borkow G “las fibras impregnadas de cobre reducen la colonización bacteriana sin propiedades sensibilizantes para la piel sin ningún otro efecto adverso” <sup>(9)</sup>. Las máscaras respiratorias impregnadas con óxido de cobre, presentan características biocidas <sup>(10,11)</sup>, siendo de utilidad como equipo de protección personal hospitalaria, con reducción de la transmisión por contacto, de diferentes microorganismos patógenos. El cobre que se emplea en las instalaciones de las unidades de salud ha demostrado una actividad bactericida contra las principales bacterias patógenas causantes de infecciones intrahospitalarias en Perú, logrando la muerte celular bacteriana de *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, en 10, 15 y 60 min respectivamente <sup>(12)</sup>.

El mecanismo de acción biocida del cobre se da por la capacidad de ceder y aceptar electrones, lo que induce apoptosis de microorganismos en pocas horas <sup>(13)</sup>, mediante *contact Killing* (muerte celular por contacto) <sup>(12)</sup>. Algunos estudios sugieren que el cobre suspendido en la superficie juega un importante rol biocida; en concentraciones elevadas, tiene efecto tóxico, producto de la liberación de radicales de peróxido <sup>(12,14,15)</sup>. Los iones de cobre podrían sustituir iones esenciales para el metabolismo bacteriano como el hierro, interfiriendo inicialmente con la función de la membrana celular y luego a nivel citoplasmático, alterando la síntesis proteica, inhibiendo la formación de proteínas o provocando síntesis de proteínas disfuncionales, alterando la actividad de enzimas esenciales para el metabolismo bacteriano. También inactiva, reduce y degrada irreversiblemente el ARN y ADN, y causa inhibición viral mediante la destrucción de la cápside e inhibición de proteínas <sup>(12,16,17)</sup>.

Las estrategias de control de las IIH en relación al rol de los objetos inanimados como potenciales fómites, se han centrado principalmente en el instrumental médico y objetos no porosos de alto contacto, como barandillas de cama y tiradores de puerta. Estudios han demostrado la supervivencia de patógenos multidrogoresistentes en textiles como, batas, uniformes quirúrgicos, cortinas, sábanas y almohadas, dentro de los ambientes hospitalarios <sup>(18,19,20)</sup>. El sector salud no cuenta con Equipo de Protección Personal (EPP) que eliminen estos agentes patógenos; a pesar de los avances con nanotecnología, existen mascarillas de propileno con nanopartículas (NPs) de cobre, estas tecnologías no han escalado a otro tipo de indumentaria médica <sup>(16)</sup> por ser poco amigable con la piel versus los textiles de algodón.

Escasas investigaciones han abordado nuevas e innovadoras estrategias tecnológicas con textiles biomédicos con capacidad antimicrobial <sup>(21)</sup>, no hay evidencia de estudios sobre la acción de textiles de algodón que incluya hilo de cobre en la matriz textil y su efecto frente a bacterias intrahospitalarias. En esta investigación se plantea determinar la

capacidad del hilo de cobre, en textiles de algodón, como agente antimicrobiano, frente a cepas bacterianas con resistencia a carbapenemasas (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* y *K. pneumoniae*) productoras de IIH.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Diseño:** Estudio experimental con muestreo no probabilístico. **Población:** Cepas bacterianas causantes de IIH. **Criterio de selección:** Cepas bacterianas con resistencia a carbapenemasas con PCR (+). **Muestra:** Textil con o sin hilo de cobre conteniendo inóculo celular bacteriano de 4 cepas bacterianas. **Muestreo:** Alícuota (10 µl) de suspensión celular de cepa bacteriana expuesta a textil con y sin hilo de cobre. **Intervenciones:** Las 4 cepas bacterianas fueron proporcionadas por Laboratorio GENERBIM-UPAO. Los análisis de ANOVA y de Tukey fueron aplicados para evaluar la actividad bactericida de textil con y sin hilo de cobre contra las 4 cepas causantes de IIH, usando el software Microsoft Excel Real Statistis.

### Textil con hilo de cobre

Los textiles usados en esta investigación fueron proporcionados por Coopertex SAC (Lima). El textil con cobre presenta 6,7% hilo de cobre, 77,7% algodón, 14,8 % nylon, y 0,8% elastano. El textil control sin hilo de cobre contiene 84,4% algodón, 14,8 % nylon y 0,8% elastano.

### Cepas bacterianas patógenas

Las cepas bacterianas con resistencia a carbapenemasas fueron proporcionadas por el Laboratorio GENERBIM de Universidad Privada Antenor Orrego (UPAO) (Tabla 1). Las bacterias fueron replicadas desde sus cultivos puros, sembradas e incubadas independientemente en medio Luria-Bertani (LB) y agar nutritivo (*E. coli*, *K. pneumoniae*), agar Sangre (*S. aureus*) y agar Pseudomonas (*P. aeruginosa*). Cada cepa fue reactivada y almacenadas a 36°C para su posterior evaluación del hilo cobre.

**Tabla 1.** Características de las cepas bacterianas causantes de infecciones intrahospitalarias (IIH) usadas en este estudio de hilo de cobre.

Cepa bacteriana	IIH Asociada	Observaciones	Respuesta al Gram	PCR de Carbapenemasas
<i>E. coli</i>	Infección urinaria	Lactosa (+)	Negativa	Positivo
<i>K. pneumoniae</i>	Infección Branquial	Lactosa (+)	Negativa	Positivo
<i>P.aeruginosa</i>	Infección de Piel	Lactosa (-)	Negativa	Positivo
<i>S.aereus</i>	Infección de Piel	Lactosa (-)	Positivo	ND*

Las cepas de *E. coli*, *K. pneumoniae* y *P.aeruginosa* fueron proporcionadas por el Hospital Virgen de la Puerta – Trujillo y analizadas por Biología Molecular (PCR) para detección de genes (IMP<sup>(+)</sup>, NDM<sup>(+)</sup>, GES<sup>(-)</sup>, VIM<sup>(-)</sup>, OXA<sup>(-)</sup>, KPC<sup>(-)</sup>) de carbapenemasas en Laboratorio GENERBIM-UPAO. \* *S. aureus* fue proporcionada por Hospital de Huaraz Víctor Ramos Guardia, ND: No Determinado la presencia de genes de carbapenemasas.

### **Caracterización por difracción de rayos**

Los patrones de difracción de rayos X (DRX) de tejidos de punto con de hilo cobre se obtuvieron con un difractómetro D8 Advance Eco -Bruker (Laboratorio LABIM-UPAO), aplicando un voltaje de 30 kV y una corriente de 10 mA y una radiación de Cu-K a temperatura ambiente con una longitud de onda = 1.5418 Å. Los patrones DRX se registraron en una geometría Bragg-Brentano en el rango  $2\theta$  desde 10 hasta 80° a una velocidad de barrido  $2\theta = 0.02^\circ$ . Para el procesamiento y análisis se emplearon los softwares DIFFRAC.SUITE y Diffract.EVA. v.4.5, y complementado con el software Crystallographic Search Match v.2.1.

### **Caracterización por Microscopia electrónica SEM/EDX**

Se empleó el microscopio electrónico de barrido de presión variable Hitachi TM3000, ubicado en la Pontificia Universidad Católica de Chile, para la obtención de imágenes SEM de muestras de tejidos de punto con hilo de cobre. Se realizaron adquisiciones de imágenes a aumentos de 50, 100 y 800x con el objetivo de evitar artefactos en la imagen, tales como la carga de la muestra, que puede presentarse durante el análisis del haz de electrones de alta energía.

### **Actividad bactericida del del hilo de cobre**

La evaluación de la actividad bactericida del hilo de cobre se realizó siguiendo el protocolo descrito por Neciosup y cols <sup>(12)</sup>. Los textiles con y sin hilo de cobre fueron cortados en tamaños de 1 cm<sup>2</sup>, y posteriormente esterilizados por autoclave durante 30 min. Posteriormente, 1 cm<sup>2</sup> de textil fue colocado en microtubos de 2 mL y se adicionó en 1 mL de suero salino fisiológico estéril (SSFE) incluyendo suspensiones bacterianas (*S. aureus*, *K. pneumoniae*, *S. aeruginosa* y *E. coli*), independientes de  $\sim 1.0 \times 10^5$  UFC/mL. Cada suspensión bacteriana se distribuyó por homogenización sobre textil y se mezcló por agitación por 30 segundos. Luego se incubó en estufa a 37°C, cada microtubo conteniendo textil con y sin hilo de cobre por triplicado, a diferentes tiempos de exposición ( $t_0 = 0$  min,  $t_1 = 10$  min,  $t_2 = 20$  min,  $t_3 = 30$  min,  $t_4 = 40$  min,  $t_5 = 50$  min,  $t_6 = 60$  min,  $t_7 = 70$  min,  $t_8 = 80$  min,  $t_9 = 90$ ,  $T_{10} = 100$ ,  $t_{11} = 120$ ,  $t_{12} = 130$ ,  $t_{13} = 140$ ,  $t_{14} = 150$ ,  $t_{15} = 160$ ,  $t_{16} = 170$ ,  $t_{17} = 180$ ). Después de cumplir el tiempo de incubación respectivo de exposición al textil se procedió a evaluar el efecto antimicrobiano; para ello, se tomó un inóculo (microgota) de 10  $\mu$ l de cada tubo a diferentes tiempos de incubación por triplicado. Luego, cada suspensión con células bacterianas (10  $\mu$ L) se sembró en placa de Petri con medio agar LB y/o agar sangre por la técnica de la microgota <sup>(12)</sup> y se incubó a 37°C por 24 horas. Para todos los tiempos de exposición se siguió este procedimiento. Todas las determinaciones de recuento de células bacterianas (UFC/ml) se realizaron por triplicado.

### **Análisis estadístico**

Los resultados obtenidos de la acción antibacteriana en textiles con hilo de cobre fueron comparados con el textil control sin hilo de cobre y con la formación de UFC/ml de las cepas en estudio (Tabla 1). La significancia estadística se obtuvo mediante análisis de ANOVA, aplicando Microsoft Excel Real Statistis. Posteriormente, se realizó una prueba Tukey ( $P < 0,05$ ), para establecer el grupo determinado de estas diferencias significativas.

## Aspectos éticos

La investigación fue sometida a análisis por ético y se aprobó su protocolo de acuerdo con el reglamento del Comité de Bioética de la Universidad Privada Antenor Orrego (Resolución Comité de Bioética N°0155-2021-UPAO).

## RESULTADOS

Se observó diferencias significativas en el crecimiento de las cepas bacterianas frente al textil con hilo de cobre en relación al control (textil sin hilo de cobre) ( $F= 1.13225$ ;  $P<0,05$ ) durante los distintos tiempos de exposición al hilo de cobre:  $t_0= 0$  min,  $t_1= 10$  min,  $t_2= 20$  min,  $t_3= 30$  min,  $t_4= 40$  min,  $t_5= 50$  min,  $t_6= 60$  min,  $t_7= 70$  min,  $t_8= 80$  min,  $t_9= 90$  min,  $t_{10}= 100$  min,  $t_{11}= 120$  min,  $t_{12}= 140$  min,  $t_{15}= 160$  min,  $t_{17}= 180$  min ( $F=1,77051$ ;  $P<0,05$ ). El análisis Tuckey permitió determinar que existen diferencias significativas en el crecimiento de las cepas bacterianas en el control ( $P:7,0-1,19$ ) respecto a las cepas bacterianas incorporadas en textil con hilo de cobre ( $P: 0,006-0,048$ ). Las cepas bacterianas con IC 95% demuestran un valor de  $P<0,05$  (*E. coli*  $P:0,026$ , *P. aeruginosa*  $P: 0,048$ , *S. aureus*  $P: 0,006$ ), y  $P<0,04$  (*K. pneumoniae*  $P:0,040$ ). En los tiempos de exposición (0 min, 10 min, 20 min, 30 min, 40 min, 50 min, 60 min, 70 min, 80 min, 90 min, 100 min, 120 min, 140 min, 160 min y 180 min) y el crecimiento microbiano no se encontró diferencias significativas ( $P>0,05$ ).

En presencia de textiles con hilo de cobre, las cuatro cepas bacterianas fueron eliminadas en 80 a 140 min; además, el número de bacterias viables disminuyó al aumentar el tiempo de exposición. En cambio, en el control (sin cobre), todas las bacterias permanecieron vivas después de ser inoculadas, incluso sin reducción celular. En las figuras 5A y Figura 6, se observa el crecimiento (control) de *E. coli* todavía hasta el minuto 180, pero con textil de hilo de cobre se elimina  $\sim 1 \times 10^5$  UFC/mL células de *E. coli* en 120 min. Resultados similares se muestran con la exposición al textil con cobre de *P. aeruginosa* y *K. pneumoniae*; aquí se observó la eliminación completa de bacterias 80 y 90 minutos respectivamente (figuras 5 C y D). Considerando los resultados para *S. aureus* (figura 5 B), estos difieren a los obtenidos con las bacterias Gram negativas; puesto que una exposición de 140 min al hilo de cobre mostró una eliminación completa, a pesar de reconocer una mayor resistencia a *S. aureus* y un grado menor de resistencia a *K. pneumoniae* (Figura 5D). Según las curvas de muerte bacteriana versus el tiempo (figuras 5 y 6), en presencia del textil con hilo de cobre; se determinó que para eliminar las bacterias Gram negativas (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* y *E. coli*) son necesarios al menos 80 a 120 minutos y para Gram positivas (*S. aureus*) 140 minutos de exposición.

## Análisis microscópico de textil biomédico con hilo de cobre

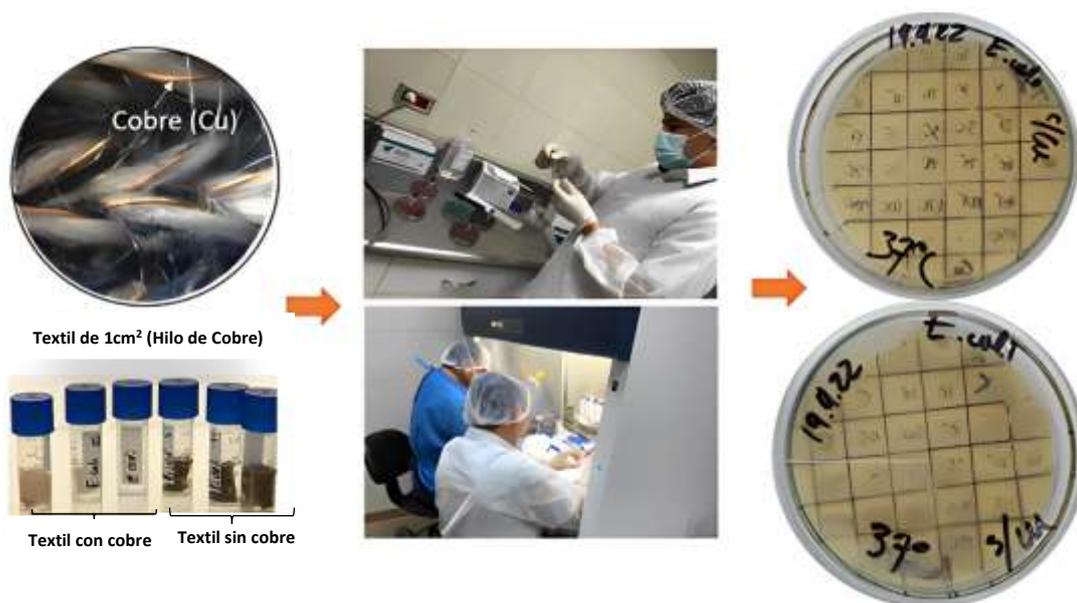
La figura 1 muestra el análisis de microscopía óptica (40 X) de dos muestras de textil con hilo de cobre. El entramado de la matriz textil presenta 93.3 % de algodón, nylon y elastano y 6,7% de hilo de cobre. Los hilos de cobre se observan alineados con la fibra de algodón como lo indican las flechas (figura 1), se puede apreciar las cantidades de hebras de algodón (93%) versus las de hilo de cobre, correspondiente al menos del 7% de cobre. En la figura 2, se aprecia el ensayo de actividad antibacterial de textil biomédico con hilo de cobre, frente a *E. coli*, el textil con y sin hilo de cobre (1 cm<sup>2</sup>) fue sumergido

en SSFE (1mL) conteniendo suspensiones de bacterias de  $1 \times 10^5$  cel/mL, e incubadas a  $37^\circ\text{C}$  diferentes tiempos (hasta 180 min). Los procedimientos de actividad antibacteriana se trabajaron en cabina de bioseguridad tipo 2A (Labconco). Los conteos de viabilidad bacteriana se realizaron por la técnica de la microgota como se observa en la figura 2 y se usaron cuatro cepas bacterianas causantes IHH con resistencia a carbapenemasas como se indica en la (tabla 1).

**Figura 1.** Textil biomédico de hilo de cobre (con 77.7% algodón, 14.8 % nylon, hilo de cobre 6.7% y 0.8% elastano (Coopertex SAC). Observación a microscopio óptico 40 X.



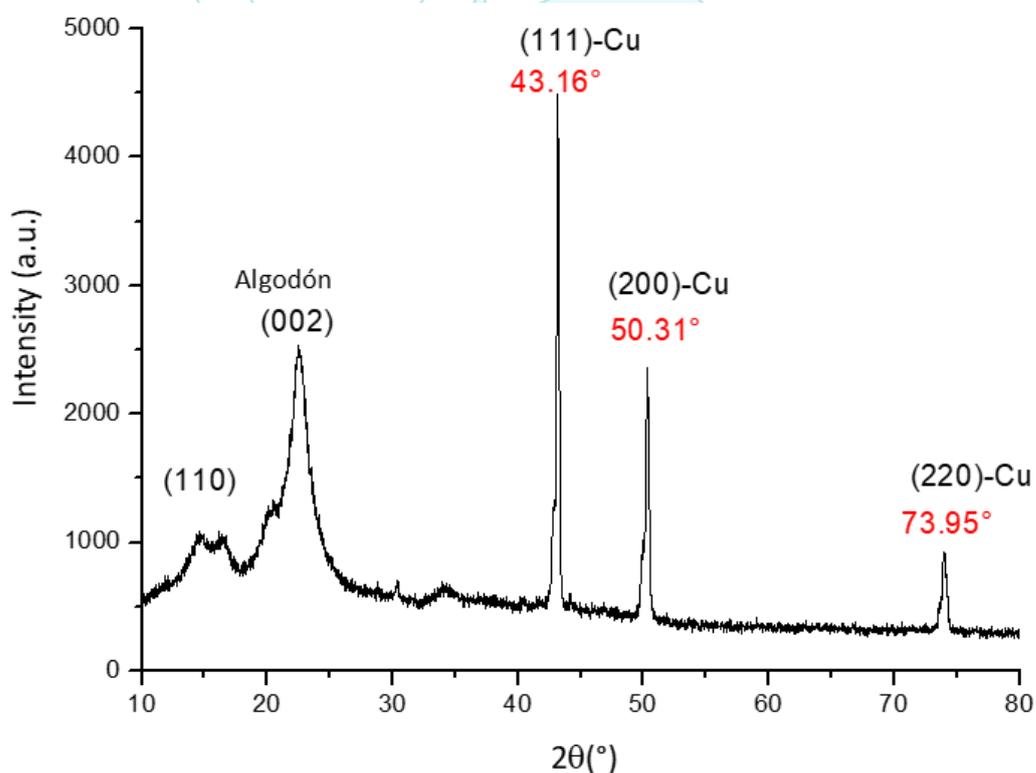
**Figura 2.** Ensayo de actividad antibacterial de textil biomédico con hilo de cobre, frente a *E. coli*.



### Caracterización por SEM/DRX de textil biomédico con hilo de cobre

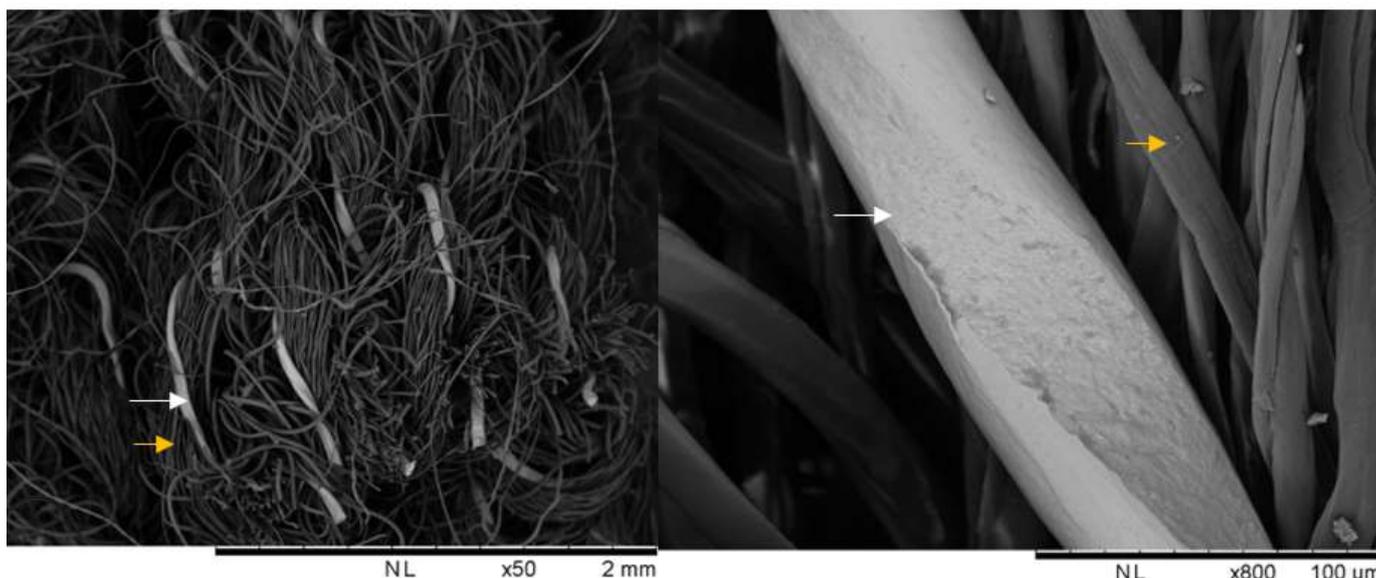
La figura 3, muestra el análisis de DRX donde los picos más altos detectan la presencia de cobre (<10%) y los demás picos corresponde a matriz de algodón – poliéster (<90%). Como se puede ver en los datos presentados en la parte superior de la (figura 3), sólo el “Cu” alcanza su punto máximo en  $2\theta = 43,16^\circ$ ,  $50,31^\circ$  y  $73,95^\circ$  claramente dominan en el difractograma de rayos X. En ese momento, solo dos picos de algodón se observaron en  $2\theta = 002^\circ$  y  $110^\circ$ . Por lo tanto, se puede afirmar que el textil usado en este estudio tiene cobre en su formulación. La morfología del textil de algodón con hilo de cobre se evaluó mediante microscopía electrónica de barrido. ¿El hilo de cobre (60  $\mu\text{m}$  de diámetro) se observa con superficies moderadamente lisas, pero con profundidad rugosa y con aglomerados que se observan en imágenes SEM (figura 4) a diferentes aumentos (50  $\times$ , 800 $\times$ ).

**Figura 3.** Patrón de difracción de rayos X de la muestra de textil de algodón conteniendo hilos de cobre (Cu).



La composición química elemental de las muestras textiles se analizó utilizando mapeo de elementos presentados por difracción de rayos X (figura 3) mostró la presencia de cobre en las muestras textiles estudiadas. Integrando los resultados del análisis de difracción de rayos X y de microscopía electrónica (figura 3 y 4), se confirma la presencia de hilo de cobre en matriz textil con algodón.

**Figura 4.** Microscopia electrónica por SEM de 50 ×, 800× aumentos y distribución de fibras de algodón (flecha amarilla) con hilo de cobre (Cu) (flecha blanca).

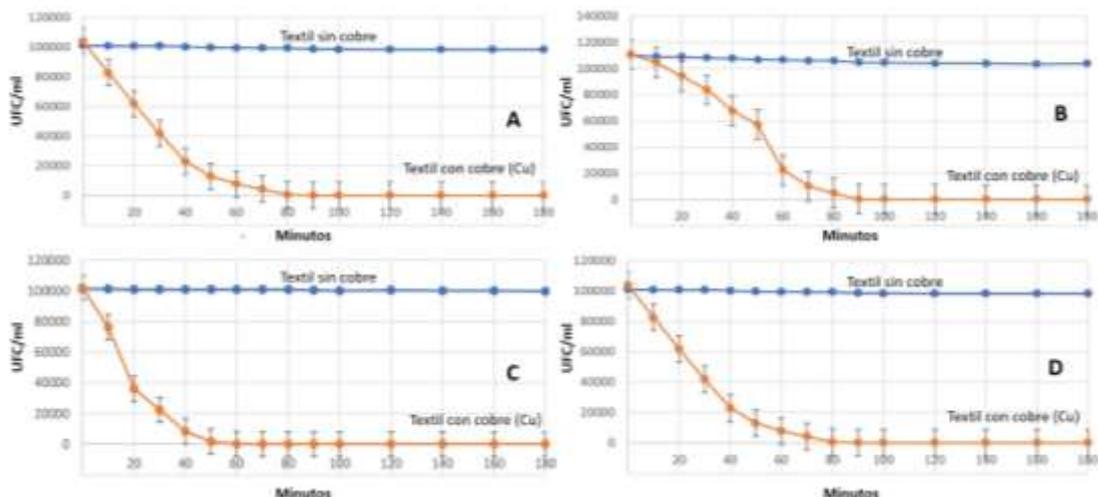


#### Actividad antibacteriana del hilo de cobre en tejido textil

Las actividades antibacterianas de las muestras de textiles con y sin hilo de cobre se estudiaron mediante pruebas antibacterianas por microgota (figura 2) <sup>(12)</sup>. Cuatro de las bacterias patógenas más comunes en ambientes hospitalarios (tabla 1, incluyen cepas con resistencia a carbapenemasas): *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* (Gram negativos) y *S. aureus* (Gram positivo) fueron seleccionadas para el estudio de la actividad antibacteriana del hilo de cobre (figura 5 y 6).

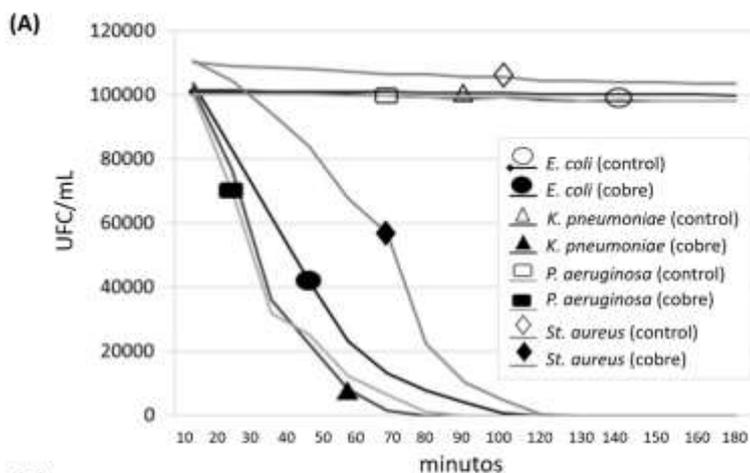
Las actividades antibacterianas de textil de algodón con hilo de cobre se examinaron mediante una comparación con los tejidos de algodón (control). En experimentos para evaluar el comportamiento antimicrobiano del textil de algodón con hilo de cobre frente a las bacterias ensayadas, se encontró que el textil sin hilo de cobre no presenta actividad antibacteriana debido a que se encontró desarrollo bacteriano hasta el minuto 180 (Figura 5 y 6, control). Las muestras de textil conteniendo hilo de cobre tuvieron una marcada actividad antibacteriana debido a la calidad, inhibición y muerte celular (figura 5 y 6). Las muestras con hilo de cobre en suspensión con *S. aureus* presentaron inhibición bacteriana total a los 140 minutos (sin bacterias viables) versus que para las bacterias con resistencia a carbapenemasas *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, experimentaron inhibición y muerte celular desde los 80, 90 y 120 min respectivamente, indicando buena actividad bactericida; por tanto el hilo de cobre tiene efecto antibacteriano frente a *S. aureus* y con más eficacia contra *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* similar a lo descrito por Neciosup y cols <sup>(12)</sup>.

**Figura 5.** Curva de muerte para las bacterias patógenas intrahospitalarias



Curva de muerte para las bacterias patógenas intrahospitalarias *Escherichia coli* (A), *Staphylococcus aureus* (B), *Pseudomonas aeruginosa* (C) y *Klebsiella pneumoniae* (D) expuestas a textil con hilo de cobre durante 180 minutos. Recuentos de colonias crecidas en medio de cultivo sólido LB, después de ser expuestas a textil de algodón (control, línea azul) y textil con hilo de cobre (Cu, línea naranja). Los experimentos se realizaron por triplicado (barras de error) con inóculo inicial de  $1 \times 10^5$  UFC/mL.

**Figura 6.** Efecto del cobre frente a las bacterias patógenas intrahospitalarias

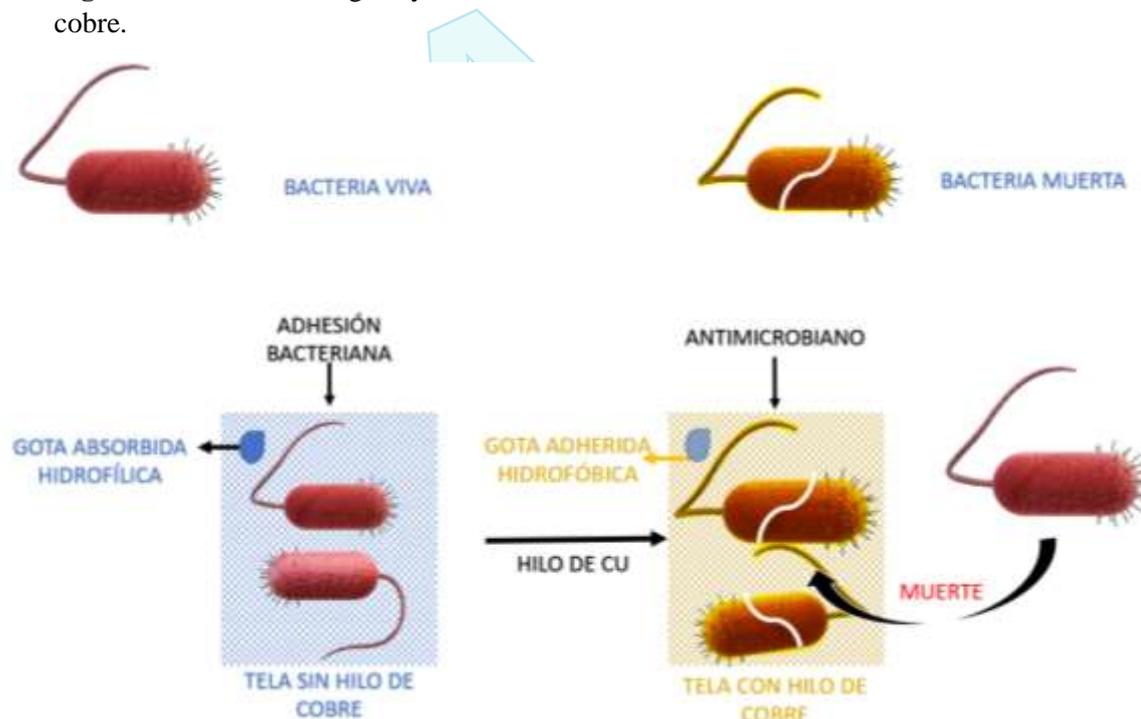


(B)

Bacteria patógena intrahospitalaria	Textil control	Textil hilo de cobre	p>0.05
<i>E. coli</i>	7.081 <sub>a</sub>	0.026 <sub>a</sub>	Significancia estadística
<i>K. pneumoniae</i> *	3.068 <sub>a</sub>	0.074 <sub>a</sub>	
<i>P. aeruginosa</i>	1.19 <sub>a</sub>	0.048 <sub>a</sub>	
<i>St. aureus</i>	1.854 <sub>a</sub>	0.006 <sub>a</sub>	
IC	Intervalo de confianza del 95%		

Efecto del cobre frente a las bacterias patógenas intrahospitalarias (A) *Escherichia coli* (círculo negro), *Staphylococcus aureus* (rombo negro), *Pseudomonas aeruginosa* (rectángulo negro) y *Klebsiella pneumoniae* (triángulo negro) expuestas a textil con hilo de cobre durante 180 minutos. Los experimentos se realizaron por triplicado (control sin cobre) con inóculo inicial de  $1 \times 10^5$  UFC/mL. (B) Análisis estadístico con  $p < 0.05$  del efecto antibacteriano del textil control vs textil hilo de cobre frente a todas las cepas bacterianas. \**K. pneumoniae* presentó significancia estadística  $p = 0.074$ , las demás cepas con  $p < 0.05$ .

**Figura 7.** Modelo biológico y secuencia de eventos de actividad bactericida del hilo de cobre.



El hilo de cobre penetra a la célula bacteriana causando daño a la membrana citoplasmática, produciendo ruptura de la membrana citoplasmática. Esto conduce a disfunción de la membrana y aumento del estrés oxidativo. A nivel de citoplasma se produce alteración de la síntesis proteica y daño funcional de enzimas esenciales, produciendo muerte celular y degradación del ADN bacteriano.

## DISCUSIÓN

Las propiedades antibacterianas del cobre, las aleaciones de cobre y varios compuestos de cobre se han estudiado y comprobado en diversos trabajos <sup>(22)</sup>. La infraestructura hospitalaria constituye una causa importante de infecciones nosocomiales <sup>(23,24)</sup>.

*S. aureus* se encuentra naturalmente en la nasofaringe, la nariz y la piel y puede propagarse por contacto; los portadores sanos o las personas enfermas pueden transmitir estafilococos a otras personas a través de gotitas en el aire, así como a través de manos contaminadas. *E. coli* es habitante común del tracto intestinal humano y tiene la capacidad de crecer con y sin oxígeno <sup>(23)</sup>. *P. aeruginosa*, es una bacteria con amplia resistencia a

los antibióticos y es causante de infecciones de piel, es una de las principales causas de infecciones nosocomiales, y las cepas resistentes a los carbapenémicos son una gran amenaza para la seguridad del paciente<sup>(25)</sup>. *K. pneumoniae* es la responsable de la mayoría de las infecciones asociadas a las vías respiratorias en los hospitales varias cepas adquieren genes asociados a la hipervirulencia y son productoras de carbapenemasas<sup>(26)</sup>. Es importante destacar que las del textil con hilo de cobre (figuras 5 y 6) puede matar bacterias gramnegativas (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*) y bacterias grampositivas (*S. aureus*) y puede usarse para tratar heridas quirúrgicas, quemaduras e infecciones del pie diabético<sup>(27)</sup>.

La indumentaria médica de algodón se emplea por su bajo costo, fácil lavado, y su característica hipoalérgica; a pesar de ello, en esta y otras investigaciones, se demuestra que las bacterias causantes de IIIH, se mantienen en la superficie por tiempos prolongados<sup>(20)</sup>; siendo un riesgo potencial para transmitir diversos patógenos<sup>(28,29,30)</sup>; como son *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*<sup>(31)</sup>. En cuanto a otras investigaciones, señalan que el efecto de cobre tiene una supervivencia menor: de 30 a 60 min en *E. coli*<sup>(24)</sup>, 180 min para *P. aeruginosa*<sup>(32)</sup> y 60 a 180 min en *S. aureus*<sup>(33)</sup>. Por el contrario, los resultados obtenidos en esta investigación indican que la cepa de *E. coli* posee supervivencia menor de 10 a 20 min, con muerte celular completa a los 100 min (Figura 5 y 6). La cepa de *P. aeruginosa*, en cambio, fue eliminada completamente a los 70 min, presentando un comportamiento similar (Figura 6). La rápida destrucción de ambas bacterias Gram negativas se debe a la interacción directa de la membrana celular externa con el hilo de cobre. Sin embargo, para *S. aureus*, el tiempo de eliminación es más lento y progresivo, con muertes celular completa a los 120 min. Un hallazgo relevante de nuestro trabajo fue que la cepa de *S. aureus*, presenta mayor tiempo de supervivencia comparado con *E. coli* y *P. aeruginosa*, frente al hilo de cobre; lo que contradice los reportes mostrados por otros autores<sup>(32,34,35)</sup>. Una explicación se debe posiblemente a que la pared celular bacteriana evitaría tempranamente el daño oxidativo de su membrana celular. Se sugiere que la estructura de la pared bacteriana no es un buen indicador de daño provocado por contacto con la superficie de cobre, puesto que las bacterias Gram positivas y negativas responden de la misma forma<sup>(36)</sup>. En esta investigación demostramos que existe efecto diferenciado del hilo de cobre frente a las bacterias estudiadas, ciertamente debido a la estructura de la pared bacteriana.

En ambientes hospitalarios, la carga bacteriana es aproximadamente  $\sim 6 \times 10^3$  UFC/cm<sup>2</sup><sup>(12)</sup>, esta carga microbiana es dos órdenes de magnitud menor a la aplicada en nuestra investigación ( $\sim 1 \times 10^5$  UFC/cm<sup>2</sup>), condición que nos permitió evidenciar *in vitro* el mecanismo bactericida del hilo de cobre en condiciones ambientales con mayor carga celular bacteriana, de forma similar a lo que ocurre en áreas altamente contaminadas por patógenos en un hospital o, simulando a una carga de bacterias patógenas durante una infección de herida. Futuras investigaciones pueden abordar de forma más específica la carga bacteriana del personal médico y evaluar su efecto en el hilo de cobre. Actualmente ninguna bacteria resistente al cobre ha sido descrita en ambientes hospitalarios. Por lo cual no ha causado resistencia a este metal<sup>(2)</sup>; incluso bacterias sensibles y resistentes a antibióticos con reparación rápida de ADN fueron eliminadas más rápidamente que otras bacterias que carecen de dicha capacidad<sup>(32,35,37)</sup>. Posiblemente estos mecanismos independientes o en conjunto sustentan la sensibilidad de las bacterias empleadas en este trabajo (figuras 5,6 y 7); y en consecuencia el cobre surge como un metal óptimo para ser

implementado en ambientes hospitalarios e indumentaria textil biomédica en lugar del solo matriz textil de algodón, poliéster o drill carentes de cobre, indumentaria textil las cuales siguen siendo un reservorio de patógenos.

El efecto bactericida del hilo de cobre se sustenta en la liberación de partículas de cobre adsorbidas físicamente en las muestras de algodón. Una mayor capacidad de adsorción de  $\text{Cu}^{2+}$  iones en algodón en comparación con otros cationes fue observado por Monier et al. <sup>(38)</sup>. Debido a la hinchazón del algodón, un gran flujo de  $\text{Cu}^{2+}$  los iones podrían ser adsorbidos no sólo en la superficie, sino también en todo el volumen del tejido de algodón. En consecuencia, se formaron más partículas de cobre en las muestras de algodón abarcando una mayor superficie modificada.

El hilo de cobre (60  $\mu\text{m}$  de diámetro) presente en textil biomédico (algodón 77.7%, cobre 6.7%, nylon 14.8%, 0.8 elastano) tiene capacidad antimicrobiana frente a bacterias patógenas *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*, que causan infecciones intrahospitalarias (IIH) y surge como modelo de desarrollo de aplicaciones en bioseguridad para contener infecciones polimicrobianas al aplicarlo en indumentaria médica y en sistema antimicrobiales hospitalarios; esta aplicación es importante para el control de los patógenos productores de carbapenemasas con resistencia a los antibióticos y disminuir las IIH.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Peleg A, Hooper M.D. Infecciones intrahospitalarias por bacterias gram-negativas, N Engl J Med 2010, DOI: 10.1056/NEJMra0904124 Disponible en: <https://www.intramed.net/65629/Infecciones-intrahospitalarias-por-bacterias-gram-negativas>
2. Cabrera CE, Gómez RF, Zúñiga AE. La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. Colombia Médica [Internet]. 2007 [citado el 25 de junio de 2023];38(2):149-58. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1657-95342007000200008](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95342007000200008)
3. Butlera DL, Majorb Y, Bearmana G, Edmond MB. Transmission of nosocomial pathogens by white coats: an in-vitro mode. Journal of Hospital Infection. 2010; 75 (2010) 136–147. DOI: 10.1016/j.jhin.2009.11.024
4. Karlström AR, Levine RL. Copper inhibits the protease from human immunodeficiency virus 1 by both cysteine-dependent and cysteine-independent mechanisms. Proc Natl Acad Sci USA. 1991;88(13):5552-6. doi.org/10.1073/pnas.88.13.5552
5. Sagripanti JL, Routson LB, and Lytle D. Virus inactivation by copper or iron ions alone and in the presence of peroxide. Applied and Environmental Microbiology [Internet]. 1993 [citado el 25 de junio de 2023];59(12):4374-4376 <https://journals.asm.org/doi/epdf/10.1128/aem.59.12.4374-4376.1993>

6. Miyamoto D, Kusagaya Y, Endo N, Sometani A, Takeo S, Suzuki T, et al. Thujaplicin–copper chelates inhibit replication of human influenza viruses. *Antiviral Research*. 1998;39(2):89-100. doi.org/10.1016/s0166-3542(98)00034-5
7. Borkow G, Gabbay J. Putting copper into action: copper-impregnated products with potent biocidal activities. *The FASEB Journal*. 2004;18(14):1728-30. <https://doi.org/10.1096/fj.04-2029fje>
8. Lin Y, Yan X, Cao W, Wang C, Feng J, Duan J, et al. Probing the structure of the SARS coronavirus using scanning electron microscopy. *Antivir Ther*. [Internet] 2004 [citado el 30 de junio del 2023];9(2):287-9. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15134191/>
9. Gabbay J, Borkow G, Mishal J, Magen E, Zatzoff R, Shemer-Avni Y. Copper oxide impregnated textiles with potent biocidal activities. *Journal of Industrial Textiles*. 2006;35(4):323-35. doi.org/10.1177/1528083706060785
10. Borkow G, Zhou SS, Page T, Gabbay J. A Novel Anti-Influenza copper oxide containing respiratory face mask. *PLOS ONE*. 2010;5(6):11295. doi.org/10.1371/journal.pone.0011295
11. Borkow G, Gabbay J. Copper, An ancient remedy returning to fight microbial, fungal and viral infections. *Current Chemical Biology*. 2009;3(3):272-278. Doi: 10.2174/2212796810903030272
12. Neciosup E, Vergara M, Pairazamán O, Apablaza M, Esparza M. Cobre antimicrobiano contra patógenos intrahospitalarios en Perú. *An Fac med*. 2015;76(1):9-14. <https://doi.org/10.15381/anales.v76i1.11069>
13. Warnes SL, Summersgill EN, Keevil CW. Inactivation of murine norovirus on a range of copper alloy surfaces is accompanied by loss of capsid integrity. *Applied and Environmental Microbiology*. 2015;81(3):1085-1091. doi.org/10.1128/AEM.03280-14
14. Prado J V, Vidal A R, Durán T C. Aplicación de la capacidad bactericida del cobre en la práctica médica. *Revista médica de Chile*. 2012;140(10):1325-32. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872012001000014>
15. Sunada K, Minoshima M, Hashimoto K. Highly efficient antiviral and antibacterial activities of solid-state cuprous compounds. *Journal of Hazardous Materials*. 2012;235-236:265-70. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.07.052>
16. Albarqouni L, Byambasuren O, Clark J, Scott AM, Looke D, Glasziou P. Does copper treatment of commonly touched surfaces reduce healthcare-acquired infections? A systematic review and meta-analysis. *J Hosp Infect*. 2020;106(4):765-73. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2020.09.005>
17. Warnes SL, Caves V, Keevil CW. Mechanism of copper surface toxicity in escherichia coli O157:H7 and salmonella involves immediate membrane depolarization followed by slower rate of DNA destruction which differs from that observed for Gram-positive bacteria. *Environmental Microbiology*. 2012;14(7):1730-1743. doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02677.x

18. Butler, DL, Major Y, Bearman G, & Edmond, M. B. Transmission of nosocomial pathogens by white coats: an in-vitro model. *The Journal of hospital infection.* (2010); 75(2), 137–138. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2009.11.024>
19. Das I, Lambert P, Hill D, Noy M, Bion J, Elliott T. Carbapenem-resistant *Acinetobacter* and role of curtains in an outbreak in intensive care units. *Journal of Hospital Infection.* 2002; 50(2):110\_114 DOI: 10.1053/jhin.2001.1127.
20. Ohl M, Schweizer M, Graham M, Heilmann K, Boyken L, Diekema D. Hospital privacy curtains are frequently and rapidly contaminated with potentially pathogenic bacteria. *American Journal of Infection Control.* 2012; 40(10):904\_906 DOI: 10.1016/j.ajic.2011.12.017.
21. Aillón-García P, Parga-Landa B, Guillén-Grima F. Effectiveness of copper as a preventive tool in health care facilities. A systematic review. *Am J Infect Control.*2023;S0196-6553(23)1-11. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2023.02.010>
22. Ivanauskas R, Bronusiene A, Ivanauskas A, Šarkinas A, Ancutiene I. Antibacterial activity of copper particles embedded in knitted fabrics. *Materials.* 2022;15(20):7147. [doi.org/10.3390/ma15207147](https://doi.org/10.3390/ma15207147)
23. Obaid MA, Hellal KH, Abd AN. Study the effect of antibacterial on the chemically prepared copper oxide. *Materials Today: Proceedings.* 2021; 47:6006-10. [doi.org/10.1016/j.matpr.2021.04.554](https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.04.554)
24. Cuevas O, Cercenado E, Vindel A, Guinea J, Sánchez-Conde M, Sánchez-Somolinos M, et al. Evolution of the antimicrobial resistance of *Staphylococcus* spp. in Spain: five nationwide prevalence studies, 1986 to 2002. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004; 48 (11): 4240 - 5. [doi.org/10.1128/AAC.48.11.4240-4245.2004](https://doi.org/10.1128/AAC.48.11.4240-4245.2004)
25. Shi Q, Huang C, Xiao T, Wu Z, Xiao Y. A retrospective analysis of pseudomonas aeruginosa bloodstream infections: prevalence, risk factors, and outcome in carbapenem-susceptible and -non-susceptible infections. *Antimicrobial Resistance & Infection Control.* 2019;8(1):68. [doi.org/10.1186/s13756-019-0520-8](https://doi.org/10.1186/s13756-019-0520-8)
26. Rödel J, Pfeifer Y, Fischer MA, Edel B, Stoll S, Pfister W, et al. Screening of *Klebsiella pneumoniae* isolates for carbapenemase and hypervirulence-associated genes by combining the eazyplex superbug CRE and hvKp assays. *antibiotics.* 2023;12(6):959. [doi.org/10.3390/antibiotics12060959](https://doi.org/10.3390/antibiotics12060959)
27. Marković D, Deeks C, Nunney T, Radovanović Ž, Radoičić M, Šaponjić Z, et al. Antibacterial activity of Cu-based nanoparticles synthesized on the cotton fabrics modified with polycarboxylic acids. *Carbohydrate Polymers.* 2018; 200:173-82. [doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.08.001](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.08.001)
28. Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infectious Diseases.* 2006;6(1):130. [doi.org/10.1186/1471-2334-6-130](https://doi.org/10.1186/1471-2334-6-130)
29. Bhalla A, Pultz NJ, Gries DM, Ray AJ, Eckstein EC, Aron DC, et al. Acquisition of nosocomial pathogens on hands after contact with environmental surfaces near hospitalized patients. *Infect Control Hosp Epidemiol.*2004;25:164-167. [doi.org/10.1086/502369](https://doi.org/10.1086/502369)
30. Espírito Santo C, Lam EW, Elowsky CG, Quaranta D, Domaille DW, Chang CJ, et al. Bacterial killing by dry metallic copper surfaces. *Appl Environ Microbiol.* 2011;77(3):794-802. [doi:10.1128/AEM.01599-10](https://doi.org/10.1128/AEM.01599-10)
31. Schneider G, Vieira LG, Carvalho HEF de, Sousa ÁFL de, Watanabe E, Andrade D de, et al. Textiles impregnated with antimicrobial substances in healthcare services:

- systematic review. *Frontiers in Public Health*[Internet]. 2023 [citado el 25 de junio de 2023];11(6):1-24 <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpubh.2023.1130829>
32. Mehtar S, Wiid I, Todorov SD. The antimicrobial activity of copper and copper alloys against nosocomial pathogens and *Mycobacterium tuberculosis* isolated from healthcare facilities in the Western Cape: an *in-vitro* study. *Journal of Hospital Infection*. 2008;68(1):45-51. doi.org/10.1016/j.jhin.2007.10.009
  33. Cuevas O, Cercenado E, Vindel A, Guinea J, Sánchez-Conde M, Sánchez-Somolinos M, et al. Evolution of the antimicrobial resistance of *Staphylococcus* spp. in Spain: five nationwide prevalence studies, 1986 to 2002. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004; 48 (11): 4240 - 5. doi.org/10.1128/AAC.48.11.4240-4245.2004
  34. Noyce JO, Michels H, Keevil CW. Potential use of copper surfaces to reduce survival of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the healthcare environment. *Journal of Hospital Infection*. 2006;63(3):289-97. doi.org/10.1016/j.jhin.2005.12.008
  35. Casey AL, Adams D, Karpanen TJ, Lambert PA, Cookson BD, et al. Role of copper in reducing hospital environment contamination. *Journal of Hospital Infection*. 2010;74 (1): 72. doi.org/10.1016/j.jhin.2009.08.018
  36. Oie S, Hosokawa I, Kamiya A. Contamination of room door handles by methicillin-sensitive/methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Hospital Infection*. 2002;51(2):140-3. doi.org/10.1053/jhin.2002.1221
  37. Hota B, Weinstein RA. Contamination, disinfection, and cross-colonization: are hospital surfaces reservoirs for nosocomial infection? *Clin Infect Dis*. 2004;39(8):1182-9. doi.org/10.1086/424667
  38. Monier M, Ayad DM, Sarhan AA. Adsorption of Cu(II), Hg(II), and Ni(II) ions by modified natural wool chelating fibers. *Journal of Hazardous Materials*. 2010;176(1):348-55. doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.11.034