



INAOE

Incorporación de fotosensibilizadores antimicrobianos en materiales clínicos poliméricos para conferirles propiedades fotoesterilizables

por

Yailinn Yadiana Calvo De Armas
Lic. en Física

Tesis sometida como requisito parcial
para obtener el grado de

**MAESTRA EN CIENCIAS
EN LA ESPECIALIDAD DE ÓPTICA**

por el

**Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y
Electrónica**

Septiembre 2025
Tonantzintla, Puebla, México

Supervisada por:

Dra. Teresita Spezzia Mazzocco
Investigador Titular del INAOE

Dr. Ricardo Lozano Rosas
Investigador Posdoctoral del INAOE

©INAOE 2025

Derechos Reservados

La autora otorga al INAOE el permiso de reproducir y distribuir copias de esta tesis en su totalidad o en partes mencionando la fuente.



A mi madre, Iromaldy De Armas, quien aun con miedo siempre me ha dado
alas para volar tan lejos como yo quiera.
A mi padre, José Calvo, el hombre más orgulloso por el simple hecho de que
yo soy su hija.
A ustedes, que han dado todo de sí para que yo me convierta en quien soy hoy.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo, que representa mucho más que el cierre de una etapa académica, es el testimonio de un camino recorrido entre fronteras, emociones intensas, desafíos personales y aprendizajes compartidos; aunque fui yo quien lo escribí y defendió, su realización fue posible gracias a muchas personas y entidades que me acompañaron, sostuvieron y guiaron cuando más lo necesitaba.

En primer lugar, mi gratitud más profunda es para Dios y María Auxiliadora, quienes, en los días difíciles, cuando la duda, la distancia y el cansancio me hacían tambalear, fueron mi refugio y mi esperanza; a ellos dirigí mis oraciones cada día de esta maestría, confiando en su guía amorosa para seguir adelante.

A mi familia, fundamentalmente a mis padres, mis abuelos y a mi amor, Guillermo, gracias por ser mi raíz, mi motor y mi refugio incondicional, pues a pesar de la distancia su amor cruzó kilómetros, recordándome siempre quién soy y por qué comencé este camino. En los momentos más duros, cuando sentí que el peso era demasiado, que tal vez debía renunciar y volver a casa, su voz, su confianza en mí y su paciencia fueron mi aliento.

A la Dra. Teresita y al Dr. Ricardo, mis asesores, gracias por confiar en mi trabajo, por su orientación firme pero generosa y por sus enseñanzas que traspasaron lo académico. A Mayra Félix Salazar Morales, por ser mucho más que la técnico del laboratorio; gracias a ella este espacio es un lugar cálido, humano, y un refugio en el que es posible sentirse en casa incluso estando lejos.

Gracias a mis compañeros del laboratorio de TFD, por construir, sin proponérselo, un espacio donde la diferencia nunca fue un obstáculo, sino un puente hacia la amistad, el respeto y la cooperación; gracias por abrirle un lugar a esta colombiana y hacerlo con cariño.

A mis compañeros de generación de la maestría, quienes desde el propedéutico me tendieron la mano y suavizaron mi aterrizaje en este nuevo país, especialmente Jazmín, Carlos y Josué; gracias por las risas, por su complicidad, y por compartir incluso su hogar y familia conmigo. Aquí siempre tendrán una amiga.

A los doctores Félix, Rubén y Julio, quienes fueron mis profesores y ahora sinodales de este trabajo, gracias por sus enseñanzas y por contribuir con su mirada crítica y experta a la consolidación de este proyecto. Al encargado del laboratorio de Microscopía Electrónica, Netzahualcóyotl Carlos Ramírez, gracias por su apoyo con los análisis SEM y EDS, fundamentales en este estudio.

Extiendo también mi profundo agradecimiento a la Dra. Martha Lucía Molina Prado y al Dr. Néstor Alonso Arias Hernández, quienes, con su compromiso, orientación y confianza, marcaron mi formación académica durante el pregrado y me presentaron la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado. Su guía y constante apoyo, desde el momento de la aplicación hasta este punto decisivo en el que presento mi trabajo de tesis de maestría, han sido invaluable, brindándome siempre palabras de aliento, consejo y motivación, y enseñándome que los retos son oportunidades para crecer.

Gracias a su impulso y respaldo, este camino me llevó al Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica (INAOE), institución que me permitió formarme como investigadora en un país que no es el mío, por lo que le agradezco, al igual que a la Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por el respaldo económico otorgado durante mi formación.

Llegar a México no fue fácil, ya que, aunque compartimos idioma y raíces latinoamericanas, los contrastes culturales me sacudieron; hubo días en los que quise rendirme y volver a casa, pero hoy, al mirar atrás, entiendo que cada paso valió la pena. Esta tesis no es solo un logro académico, es también la prueba de que es posible adaptarse, crecer, resistir y florecer incluso lejos de casa.

A cada persona que fue parte de este camino, gracias. Llevaré este logro, y a ustedes, siempre conmigo.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS	x
LISTA DE ABREVIATURAS Y SIGLAS.....	xi
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1. Antecedentes.....	3
1.2. Planteamiento del problema.....	6
1.3. Justificación.....	7
1.4. Objetivos	9
1.4.1. Objetivo general	9
1.4.2. Objetivos específicos	9
1.5 Hipótesis	10
2. MARCO TEÓRICO	11
2.1. Polímeros biomédicos	11
2.1.1. Silicona	12
2.1.2. PVC	12
2.2. Género de hongo <i>Candida</i>	13
2.2.1. <i>Candida albicans</i>	14
2.2.2. Candidiasis invasiva	16
2.2.3. Epidemiología	17
2.2.4. Infecciones por <i>C. albicans</i> en materiales médicos	20
2.3. Terapia fotodinámica antimicrobiana (TFDa).....	21

2.3.1.	Fotosensibilizadores	23
2.3.2.	Luz.....	26
2.3.3.	Oxígeno.....	28
2.4.	Estado del arte de los MCPF	28
3.	METODOLOGÍA.....	32
3.1.	Material biológico.....	32
3.2.	Polímeros biomédicos	32
3.3.	Soluciones y medios.....	33
3.3.1.	Solución Buffer Fosfato.....	33
3.3.2.	Caldo Dextrosa Sabouraud	34
3.3.3.	Medio Agar Dextrosa Sabouraud – Agar bacteriológico ..	34
3.4.	Registro fotográfico para imágenes macroscópicas ...	35
3.5.	Fabricación de MCPF.....	35
3.5.1.	Método de Hinchamiento – Encapsulación – Contracción (HEC)	36
3.5.1.1.	Selección de la razón solvente: solución acuosa para cada polímero	36
3.5.1.2.	Preparación de stocks de AM y NPs de TiO ₂ : Rh	37
3.5.2.	Protocolo de interacción Polímero – <i>C. albicans</i>	40
3.6.	Técnicas de caracterización.....	41
3.6.1.	Cálculo de coeficiente de hinchamiento y contracción	42
3.6.2.	Medición del ángulo de contacto	43
3.6.3.	Microscopía óptica.....	46
3.6.4.	Espectroscopía visible	47
3.6.5.	Microscopía Electrónica de Barrido	48
3.6.6.	Espectroscopía por Energía Dispersada	48
3.7.	Aplicación de TFDa.....	49
3.7.1.	Dispositivo de irradiación y selección de parámetros de iluminación.....	50
3.7.2.	Evaluación de la actividad antimicrobiana	51

3.7.3.	Evaluación de la fotoestabilidad.....	53
4.	RESULTADOS	56
4.1.	Evaluación preliminar de matrices poliméricas.....	56
4.1.1.	Selección de la relación óptima solvente: solución acuosa	56
4.1.2.	Interacción entre el AM y las matrices poliméricas.....	59
4.1.3.	Comparación morfológica post HEC mediante microscopía óptica	60
4.1.4.	Evaluación inicial de viabilidad microbiana	60
4.2.	Caracterización de los MCPF basados en PVC.....	62
4.2.1.	Caracterización estructural	62
4.2.2.	Caracterización morfológica y composicional	65
4.2.4.	Evaluación de la eficacia fotodinámica	73
4.3.	Fotoestabilidad funcional de los MCPF	74
4.3.1.	En función del almacenamiento	75
4.3.2.	En función de la reutilización	77
4.3.3.	Análisis espectral por espectroscopía visible	79
5.	DISCUSIÓN	90
6.	CONCLUSIONES Y TRABAJO A FUTURO.....	98
	REFERENCIAS	100

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Casos de IAAS, notificadas en la plataforma de la Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica, durante el 01 de abril al 30 de junio de 2023 en México [1].	8
Figura 2. Morfología microscópica de las a) levaduras, b) pseudohifas e c) hifas [27] y macroscópica de las d) colonias de <i>C. albicans</i> (Imagen propia, obtenida con dispositivo móvil (ver Sección 3.4).	14
Figura 3. Etapas de la formación de biopelículas de <i>C. albicans</i> [30].	15
Figura 4. Lista de patógenos fúngicos prioritarios de la OMS [10].	16
Figura 5. Distribución de frecuencias de las especies de <i>Candida</i> causantes de candidiasis invasora en México durante el período 2005-2015 [34].	19
Figura 6. Distribución de las IAAS causadas por los diez principales microorganismos notificados en 2023 [12].	19
Figura 7. Infecciones frecuentes relacionadas con las biopelículas de <i>C. albicans</i> [39].	20
Figura 8. Ilustración esquemática de los mecanismos de acción en la TFD con a) reacciones fotodinámicas para FS moleculares, como el AM, según el diagrama de Jablonski [44] y b) reacciones fotocatalíticas basadas en el diagrama de bandas para FS inorgánicos como el TiO ₂ [77].	22
Figura 9. Espectro electromagnético [52].	26
Figura 10. Dispositivos médicos seleccionados para la elaboración de los MCPF.	33
Figura 11. Vista lateral y superior de las muestras de silicona y PVC cortadas con una longitud de 2.5 y 5 mm, comparando su tamaño con el de una moneda de \$1 MX. Imagen propia, obtenida con dispositivo móvil (ver Sección 3.4).	36
Figura 12. Arreglo experimental utilizado para la captura de imágenes y el posterior cálculo del ángulo de contacto.	45
Figura 13. Imágenes de referencia de la captura del perfil de una gota sobre una muestra polimérica a a) color, b) escala de grises y con el c) trazo realizado por ImageJ para el cálculo del ángulo de contacto.	45
Figura 14. Visualización frontal y superior de los plásticos divididos a la mitad para su observación en el microscopio y medida de su absorbancia en el lector de microplacas. Imágenes propias, obtenidas con dispositivo móvil (ver Sección 3.4).	46
Figura 15. Dispositivo LED de irradiación en rojo utilizado en el laboratorio de TFD del INAOE.	50
Figura 16. Prueba preliminar de viabilidad celular de <i>C. albicans</i> en MCPF-AM a 30 y 60 μ M, por duplicado.	59
Figura 17. Muestras de silicona y PVC: originales y con AM encapsulado a 30 μ M. a) Vistas lateral y b) superior. Imágenes propias, obtenidas con dispositivo móvil (ver Sección 3.4).	59
Figura 18. Micrografías a 40X/0.50 de silicona y PVC originales (a y c) y los HEC con AM (b y d), respectivamente.	60

Figura 19. Visualización de la cantidad de UFC/50 µl de <i>C. albicans</i> adheridas a silicona y PVC originales (a y c) y sometidos a HEC (b y d). Imágenes propias, obtenidas con dispositivo móvil (ver Sección 3.4).....	61
Figura 20. Vistas superior y lateral del PVC original y los MCPF con AM y NPs, de izquierda a derecha respectivamente. Imágenes propias, obtenidas con dispositivo móvil (ver Sección 3.4).....	62
Figura 21. Caracterización de la hidrofobicidad de los distintos grupos poliméricos en función de su ángulo de contacto. * indican diferencias estadísticamente significativas en comparación con el grupo de control (PVC) con $p < 0,05$	65
Figura 22. Micrografías superficiales a 40X/0.50 del a) PVC original, b) PVC HC y c) MCPF-AM.....	66
Figura 23. Micrografías superficiales a 40X/0.50 del a) PVC NPs y b) MCPF-NPs.....	66
Figura 24. Micrografías SEM de PVC original a escalas de 50 y 10 µm, respectivamente.....	67
Figura 25. Micrografías SEM de PVC HC (fila superior) y PVC HC sometido a curado (fila inferior).....	68
Figura 26. Micrografías SEM de PVC-NPs (fila superior) y PVC-NPs sometido a curado (fila inferior).....	69
Figura 27. Espectro EDS obtenido de la superficie del PVC original.....	70
Figura 28. Espectro EDS obtenido de la superficie del PVC HC.....	70
Figura 29. Espectro EDS obtenido de la superficie del PVC HC cur.....	71
Figura 30. Espectro EDS obtenido de la superficie del MCPF-NPs.....	71
Figura 31. Pruebas de esterilización realizadas para evaluar la reutilización de los MCPF después de la TFDa. AC indica autoclave y UV indica ultravioleta.....	72
Figura 32. Prueba inicial de la eficacia de fotoesterilización de MCPF-AM (en azul) y MCPF-NPs (en café). * indican diferencias estadísticamente significativas en comparación con los grupos de control (PVC HC y PVC HC cur.) con $p < 0,05$	73
Figura 33. Comparación de los porcentajes de viabilidad de <i>C. albicans</i> en los MCPF-AM en función de su almacenamiento. * indican diferencias estadísticamente significativas en comparación con el grupo de control (PVC HC) con $p < 0,05$	75
Figura 34. Comparación de los porcentajes de viabilidad de <i>C. albicans</i> en los MCPF-NPs en función de su almacenamiento. * indican diferencias estadísticamente significativas en comparación con el grupo de control (PVC HC cur.) con $p < 0,05$	76
Figura 35. Comparación de los porcentajes de viabilidad de <i>C. albicans</i> en los MCPF-AM tras tres tratamientos de TFDa con esterilización intermedia en autoclave. * indican diferencias estadísticamente significativas en comparación con el grupo de control (PVC HC) con $p < 0,05$	77
Figura 36. Comparación de los porcentajes de viabilidad de <i>C. albicans</i> en los MCPF-NPs tras seis tratamientos de TFDa con esterilización intermedia en autoclave. * indican diferencias estadísticamente significativas en comparación con el grupo de control (PVC HC cur.) con $p < 0,05$	78

Figura 37. Comparación de los MCPF con a) AM y b) NPs, sin irradiación (fila superior) y sometidos a una sesión de TFDa (fila intermedia) con muestras control sin FS encapsulado (fila inferior).....	79
Figura 38. Espectros de absorción del a) PVC original y las soluciones de hinchamiento utilizadas para la elaboración de las b) muestras control y los MCPF basados en c) AM y d) NPs.	80
Figura 39. Análisis de los espectros de absorción de los MCPF-AM en función de su almacenamiento.....	81
Figura 40. Análisis de los espectros de absorción de centrados en el pico de absorbancia máxima de los MCPF-AM en función de su almacenamiento.	82
Figura 41. Análisis de los espectros de absorción de los MCPF-AM en función de su almacenamiento bajo condiciones de iluminación ambiental constante.	82
Figura 42. Análisis de los espectros de absorción de centrados en el pico de absorbancia máxima de los MCPF-AM en función de su almacenamiento bajo condiciones de iluminación ambiental constante.....	83
Figura 43. Análisis de los espectros de absorción de los MCPF-NPs en función de su almacenamiento.....	84
Figura 44. Análisis de los espectros de absorción de los MCPF-NPs en función de su almacenamiento bajo condiciones de iluminación ambiental constante.	84
Figura 45. Análisis de los espectros de absorción de centrados en la longitud de onda de irradiación de los MCPF-NPs en función de su almacenamiento tanto en condiciones de oscuridad (curvas en tonos azules y verde) como de luz ambiental (curvas en tonos café, rojizos y amarillo).....	85
Figura 46. Espectros de absorción de las muestras control y de los MCPF utilizados en los análisis de fotoesterilización.	86
Figura 47. a) Espectros de absorción tras la esterilización en autoclave (AC), sin aplicación de TFDa, comparando las muestras de control (PVC HC) con los MCPF-AM. b) Muestras de PVC HC (izquierda) y MCPF-AM (derecha), con opacidad notable al someterse a la esterilización.....	86
Figura 48. Espectros de absorción tras la aplicación de TFDa, sin esterilización en autoclave, comparando las muestras de control (PVC HC) con los MCPF-AM antes y después de la irradiación a 240 J/cm ² en cuatro dosis fraccionadas de a 60 J/cm ²	87
Figura 49. Espectros de absorción tras la esterilización en autoclave (AC), sin aplicación de TFDa, comparando las muestras de control (PVC HC cur.) con los MCPF-NPs.....	87
Figura 50. Espectros de absorción tras la aplicación de TFDa, sin esterilización en autoclave, comparando las muestras de control (PVC HC cur.) con los MCPF-NPs antes y después de la irradiación a 60 J/cm ² . ..	88

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Diez principales tipos de IAAS notificadas en 2023 [12].	9
Tabla 2. Distribución por especies de <i>Candida</i> de 672 episodios de candidemia [33].	18
Tabla 3. Características de grupos poliméricos utilizados en el estudio.	40
Tabla 4. Clasificación de superficies hidrofílicas o hidrofóbicas de acuerdo con el valor de su ángulo de contacto.	44
Tabla 5. Dimensiones medidas durante el proceso HEC del PVC a diferentes proporciones solvente: solución acuosa.	57
Tabla 6. Dimensiones medidas durante el proceso HEC de la silicona a diferentes proporciones solvente: solución acuosa.	58
Tabla 7. Razón media de hinchamiento y contracción de las muestras de PVC tratadas mediante HEC, inmediatamente después de sacarlas de la solución de hinchamiento y tras la evaporación del solvente residual, así como también de las sometidas a curado térmico.	63
Tabla 8. Características comparativas de los MCPF elaborados.	89

LISTA DE ABREVIATURAS Y SIGLAS

AM	Azul de Metileno
BC	Banda de conducción
BV	Banda de valencia
DL	Dosis letal
DO	Densidad óptica
EDS	Espectroscopía por Energía Dispersada
EROs	Especies Reactivas de Oxígeno
FS	Fotosensibilizador
HCl	Ácido clorhídrico
HEC	Hinchamiento – Encapsulación Contracción
IAAS	Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud
INAOE	Instituto Nacional de Astrofísica Óptica y Electrónica
K ₂ HPO ₄	Fosfato monopotásico
KCl	Cloruro de potasio
LEDs	Diodos emisores de luz
MCPF	Materiales Clínicos Poliméricos Fotoesterilizables
MCPF-AM	Material Clínico Polimérico Fotoesterilizable con Azul de Metileno
MCPF-NPs	Material Clínico Polimérico Fotoesterilizable con nanopartículas de dióxido de titanio dopado con rodio al 2%
Na ₂ HPO ₄	Fosfato disódico
NaCl	Cloruro de sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
NPs	Nanopartículas
OMS	Organización Mundial de la Salud
PBS	Solución buffer fosfato
pH	Potencial de Hidrógeno
PVC	Policloruro de Vinilo
PVC HC	PVC hinchado y contraído
PVC HC cur.	PVC hinchado, contraído y curado
PVC-NPs	PVC hinchado con nanopartículas encapsuladas y contraído
SDA	Medio Agar Dextrosa Sabouraud
SDB	Caldo Dextrosa Sabouraud
TFD	Terapia Fotodinámica
TFDa	Terapia Fotodinámica antimicrobiana
TiO ₂ : Rh	Nanopartículas de dióxido de titanio dopadas con rodio al 2% atómico
UFC	Unidades Formadoras de colonias
UV	Ultravioleta

RESUMEN

Las infecciones asociadas a dispositivos médicos, especialmente aquellas provocadas por hongos como *Candida albicans*, representan un reto clínico creciente debido a su resistencia a los tratamientos convencionales y a su capacidad para formar biopelículas en superficies poliméricas. En este contexto, la presente tesis se enfocó en la elaboración y evaluación de materiales clínicos poliméricos fotoesterilizables (MCPF) mediante la incorporación de fotosensibilizadores (FS), como azul de metileno (AM) y nanopartículas (NPs) de TiO₂ dopadas con rodio (Rh) al 2% atómico (TiO₂: Rh).

Se evaluaron dos matrices poliméricas comerciales, Policloruro de Vinilo (PVC) y silicona, de las cuales el PVC presentó menor susceptibilidad a la adhesión microbiana. Los MCPF obtenidos se caracterizaron mediante espectroscopía visible, microscopía óptica y electrónica, medición de ángulo de contacto y Espectroscopía por Energía Dispersada (EDS), lo que confirmó la incorporación efectiva de los FS y una mejora morfológica del material sin comprometer su integridad estructural.

La eficacia antimicrobiana se evaluó mediante Terapia Fotodinámica antimicrobiana (TFDa) contra a *C. albicans*, demostrando una reducción significativa en la viabilidad celular con ambos FS. Se estudiaron condiciones realistas de almacenamiento por hasta seis meses, así como la posibilidad de reutilización de los MCPF, integrando ensayos de viabilidad con análisis espectroscópicos para correlacionar la actividad antimicrobiana con la fotoestabilidad de los FS. Los resultados revelaron que, mientras el AM fue efectivo por un solo uso y hasta seis meses de almacenamiento en condiciones de oscuridad, las NPs mostraron un desempeño más robusto a través de múltiples ciclos de reutilización, aunque con menor estabilidad tras almacenamiento prolongado.

A diferencia de otros estudios enfocados en bacterias y polímeros como la silicona, esta investigación evaluó en condiciones realistas el desempeño antimicrobiano de los MCPF durante su almacenamiento y posible reutilización, aspectos que no habían sido considerados previamente y que resultan clave para su aplicación clínica efectiva, representando un aporte original al estudiar por primera vez la eficacia y estabilidad de superficies fotoesterilizables, basadas en PVC, contra a *C. albicans*.

ABSTRACT

Medical device-associated infections, particularly those caused by *Candida albicans*, represent a growing clinical challenge due to their resistance to conventional treatments and their ability to form biofilms on polymeric surfaces. In this context, the present thesis focused on the development and evaluation of photo-sterilizable clinical polymeric materials (PCPM) through the incorporation of photosensitizers (PS), such as methylene blue (MB) and titanium dioxide nanoparticles (NPs) doped with 2 atomic % rhodium (TiO₂:Rh).

Two commercial polymer matrices, PVC and silicone, were evaluated, with PVC showing lower susceptibility to microbial adhesion. The resulting PCPM were characterized by visible spectroscopy, optical and electron microscopy, contact angle measurements, and energy-dispersive spectroscopy (EDS), confirming the effective incorporation of PS and morphological improvement of the material without compromising structural integrity.

The antimicrobial efficacy was assessed through antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) against *C. albicans*, showing significant reductions in cell viability with both PS. Realistic storage conditions were studied for up to six months, as well as the potential reuse of the PCPM, combining viability assays with spectroscopic analysis to correlate antimicrobial activity with PS photostability. The results revealed that while MB was effective for single use and up to six months of storage in darkness, the NPs exhibited more robust performance over multiple reuse cycles, although with reduced stability upon prolonged storage.

Unlike previous studies focused on bacteria and materials such as silicone, this research evaluated the antimicrobial performance of PCPM under realistic storage and reuse conditions, factors not previously considered and essential for clinical application. This thesis represents a novel contribution by being the first to investigate the efficacy and stability of photo-sterilizable surfaces based on PVC against *C. albicans*.

1. INTRODUCCIÓN

Las infecciones asociadas a dispositivos médicos representan un desafío en el ámbito hospitalario, especialmente aquellas causadas por *C. albicans*, un hongo oportunista con alta capacidad de adhesión a superficies poliméricas. El presente capítulo ofrece una visión precisa sobre el papel que desempeñan las infecciones fúngicas en la salud pública mundial, las alternativas existentes para enfrentarlas y la manera en que el desarrollo de esta tesis contribuye a su combate, ubicando el tema de investigación en la ciencia de frontera, validado a partir de los antecedentes sobre el desarrollo de superficies fotoesterilizables en las que se implementa la terapia fotodinámica (TFD) como principio fundamental. Asimismo, se presenta el planteamiento del problema y la justificación, aspectos clave que evidencian la importancia de la búsqueda de alternativas innovadoras para disminuir las infecciones nosocomiales, y finalmente se muestran los objetivos, tanto general como específicos, los cuales sirven como guía para establecer la metodología que permitirá evaluar la eficacia antimicrobiana y la estabilidad de los polímeros tratados.

1.1. Antecedentes

Las infecciones asociadas a dispositivos médicos han representado un problema significativo en el ámbito hospitalario desde hace décadas, constituyendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en pacientes hospitalizados; este tipo de infecciones puede adquirirse durante estancias cortas o prolongadas en centros de salud y se denominan Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud (IAAS), comúnmente conocidas como infecciones nosocomiales. Estas se describen como “aquellas infecciones que afectan a un paciente durante el proceso de asistencia a un hospital o centro sanitario, que no estaba presente, ni en período de incubación al momento de su ingreso y que pueden inclusive llegar a manifestarse después del alta del paciente” [1], de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS).

El reconocimiento de las IAAS y su vinculación con dispositivos médicos ha evolucionado a lo largo de la historia, con hitos clave desde el siglo XIX hasta

la actualidad. Los primeros datos que documentan el vínculo entre las prácticas hospitalarias y la transmisión de infecciones datan de 1847, cuando Ignaz Semmelweis demostró que la fiebre puerperal era transmitida por médicos que no lavaban sus manos tras manipular cadáveres [2]. Posteriormente, durante la guerra de Crimea, Florence Nightingale documentó en 1858 que la sobrepoblación y mala ventilación en hospitales aumentaban las infecciones [2].

Con el avance de la ciencia de materiales, los polímeros comenzaron a utilizarse ampliamente en dispositivos médicos, específicamente durante la Segunda Guerra Mundial, marcando un antes y un después. Dando paso a una transición que fue desde materiales tradicionales como metales, los cuales dominaron hasta el siglo XX, hasta dispositivos poliméricos, valorados por su flexibilidad, biocompatibilidad y bajo costo. Las primeras aplicaciones de polímeros en medicina incluyeron el uso de polimetilmetacrilato, usado como sustituto de córnea en casos de daño ocular, y de celofán, empleado como membrana en máquinas de diálisis por su baja permeabilidad, en las décadas de 1940 y 1960, respectivamente [3].

Sin embargo, entre las décadas de 1950 y 1980, surgieron en hospitales epidemias causadas por *Staphylococcus aureus*, las cuales fueron vinculadas a catéteres y procedimientos invasivos. Además, microorganismos Gram-negativos como *Pseudomonas*, *Klebsiella* y *Acinetobacter* emergieron como patógenos asociados a dispositivos implementados en la ventilación mecánica, específicamente en tubos endotraqueales, en catéteres urinarios, y sondas vesicales, comenzando a ser reconocidos por su capacidad para colonizar equipos médicos [4].

Desde el siglo XX, el uso frecuente y, en muchas ocasiones, no regulado de antibióticos se ha convertido en un motivo adicional de preocupación, ya que contribuye al incremento de la resistencia microbiana, razón por la cual, en los últimos años, las infecciones causadas por bacterias y hongos se han vuelto más difíciles de tratar. Por otro lado, las biopelículas microbianas desempeñan un papel fundamental en la persistencia de estas infecciones, ya que se estima que están implicadas en aproximadamente el 80% de las infecciones que afectan a

seres humanos [5]. La acumulación de estas estructuras en diversos materiales ha impulsado el desarrollo de estrategias antimicrobianas orientadas a disminuir el riesgo de infección y mejorar la seguridad en entornos clínicos.

El desarrollo de dispositivos médicos con propiedades antimicrobianas se vincula a la evolución de la teoría microbiana en la que Pasteur (1859) [4] sentó las bases para entender que algunos microorganismos pueden causar infecciones. De hecho, los primeros intentos por desarrollarlos no se basaron en la modificación de las propiedades intrínsecas del material, sino en la implementación de materiales estériles y técnicas de desinfección; por ejemplo, catéteres de PVC que se esterilizaban con formaldehído o vapores de etileno, pero que carecían de recubrimientos antimicrobianos integrados [5].

La idea de desarrollar materiales médicos fotoesterilizables mediante TFDa surgió como una extensión de los principios básicos de la fototerapia. En 1900, Oscar Raab, estudiante de Hermann von Tappeiner quien acuñó el término fotodinámico, observó que, usando acridina naranja, un colorante fotosensible, podía matar paramecios bajo luz; este hallazgo marcó el inicio del concepto de "acción fotodinámica", que requería luz y oxígeno para generar efectos tóxicos en células o microorganismos [7].

La combinación de FS de diferentes tipos (colorantes y/o NPs) con materiales comenzó en investigaciones sobre recubrimientos antimicrobianos para dispositivos médicos a inicios de los años 2000. Estos recubrimientos podían activarse por luz visible o ultravioleta (UV) para generar especies reactivas de oxígeno, eliminando patógenos adheridos; este tipo de sistemas ya se ha aplicado en algunas superficies de hospitales [8] y de transporte público [9], demostrando una reducción significativa de la carga bacteriana durante al menos algunos meses.

En las últimas dos décadas, las IAAS causadas por el crecimiento de biopelículas de *C. albicans* en dispositivos médicos han aumentado significativamente. A pesar de los avances en superficies antimicrobianas, no existen estudios enfocados en el uso de superficies poliméricas fotoesterilizables, y mucho menos MCPF, para la inhibición de este hongo. Por

ello, el presente estudio propone evaluar la inhibición in vitro del crecimiento de biopelículas de *C. albicans* en polímeros de uso médico mediante TFDa, lo cual podría contribuir al desarrollo de nuevas estrategias alternativas y efectivas contra infecciones fúngicas de alta incidencia en entornos hospitalarios y a su vez, asociadas a dispositivos médicos.

1.2. Planteamiento del problema

Las superficies fotoesterilizables, por acción de la TFDa, presentan varias ventajas frente a materiales convencionales con métodos tradicionales de desinfección. Su capacidad de fotoesterilización continua, elimina la necesidad de aplicar desinfectantes químicos con frecuencia, lo que reduce costos y minimiza el impacto ambiental. Su acción es altamente eficaz contra biopelículas, ya que la generación de especies reactivas de oxígeno (EROs) permite penetrar la matriz extracelular y eliminar microorganismos resistentes [9].

Sin embargo, en las investigaciones realizadas en dispositivos médicos basados en este tipo de superficies, no se conoce cuánto tiempo permanecen activas ni cuántos usos soportan las superficies fotoesterilizables antes de perder eficacia. Esto constituye una importante brecha de conocimiento que la presente investigación aborda. Además, los estudios respecto al uso de estos materiales fotoesterilizables en contra de *C. albicans* son muy pocos.

Esta falta de datos es particularmente preocupante, debido a las implicaciones que tiene con relación a la reducción de enfermedades principalmente causadas por IAAS, la limpieza de estos materiales y la optimización de su uso y durabilidad de estos en entornos clínicos, pues sin un conocimiento claro sobre la vida útil de los dispositivos médicos basados en estas superficies fotoesterilizables, los profesionales de la salud pueden enfrentarse a incertidumbres en cuanto a su eficacia y rendimiento a largo plazo, lo que podría comprometer la seguridad del paciente y aumentar los costos asociados con la gestión de los mismos.

De acuerdo con lo anterior, es imperativo abordar esta brecha de conocimiento mediante una investigación detallada que evalúe la fotoestabilidad en relación

al almacenamiento y reúso de materiales clínicos fotoesterilizables basados en FS variados, desde colorantes comerciales hasta NPs de TiO₂, enfocándose inicial y principalmente en la reducción de las infecciones causadas por *C. albicans*, por lo que este estudio contribuirá significativamente a la comprensión y optimización de las superficies que componen a estos materiales, estableciendo una base sólida para su implementación efectiva en entornos clínicos.

1.3. Justificación

Las infecciones fúngicas representan un desafío creciente para la salud pública mundial, especialmente en personas con enfermedades subyacentes o sistemas inmunológicos debilitados. Individuos con afecciones pulmonares crónicas, antecedentes de tuberculosis, virus de inmunodeficiencia humana, cáncer o diabetes mellitus tienen un mayor riesgo de desarrollar estas infecciones. Asimismo, los pacientes en estado crítico como aquellos ingresados en unidades de cuidados intensivos, que han sido sometidos a procedimientos médicos invasivos o reciben tratamientos con antibióticos de amplio espectro e inmunosupresores, son particularmente vulnerables a infecciones fúngicas [10].

Durante la pandemia de COVID-19, se identificaron tres tipos principales de infecciones fúngicas asociadas a la enfermedad: aspergilosis, mucormicosis y candidemia, las cuales fueron reportadas con frecuencia y, en muchos casos, tuvieron consecuencias graves para los pacientes. Estudios recientes indican que tanto la incidencia como la distribución geográfica de las infecciones fúngicas están en aumento, fenómeno que se atribuye en gran parte al cambio climático [10].

Datos de la OMS del año 2022 sugieren que, en los países de ingreso alto, 7 de cada 100 pacientes ingresados en un hospital, en unidades de cuidados intensivos, contraerán al menos una de las IAAS durante su hospitalización, cifra que asciende a 15 de cada 100 pacientes en los países de ingreso bajo o mediano; además, en promedio 1 de cada 10 pacientes afectados fallecerá por una infección nosocomial [11].

La Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica en México, publicó datos acerca del panorama epidemiológico de las IAAS reportadas en el 2023 [1]. Notificando que solo en el período de abril a junio se reportaron 13975 IAAS, con el mayor número de casos en Ciudad de México, Jalisco, México, Veracruz y Sinaloa, que concentraron el 46.6% de los casos notificados para todo el país (Figura 1).

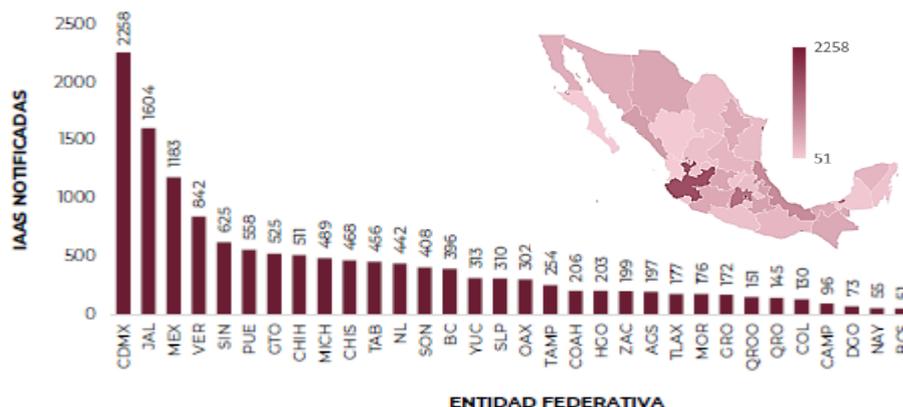


Figura 1. Casos de IAAS, notificadas en la plataforma de la Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica, durante el 01 de abril al 30 de junio de 2023 en México [1].

La atención médica moderna emplea muchos tipos de procedimientos invasivos para el tratamiento de pacientes con el fin de ayudar en su recuperación, promoviendo a su vez el aumento de infecciones nosocomiales debido al uso de dispositivos con superficies susceptibles a la adherencia de células patógenas, tales como catéteres y respiradores mecánicos. De acuerdo con el gobierno de México, de las diez principales IAAS notificadas en 2023 (Tabla 1), en los tres primeros lugares se encuentran: neumonías asociadas a uso de ventilador, infección de vías urinarias asociada a catéter urinario e infección del torrente sanguíneo relacionada a catéter [12]; resaltando la importancia del desarrollo de dispositivos médicos que tengan propiedades bactericidas y consigan la reducción de este tipo de infecciones.

Tabla 1. Diez principales tipos de IAAS notificadas en 2023 [12].

	TIPO DE INFECCIÓN	n	%
1	Neumonía asociada a ventilador	8,439	14 %
2	Infección de vías urinarias asociada a catéter urinario	7,402	13 %
3	Infección del torrente sanguíneo relacionada a catéter	4,409	8 %
4	Neumonía definida clínicamente	3,687	6 %
5	Infección incisional profunda	3,836	7 %
6	Infección del torrente sanguíneo confirmada por laboratorio	3,304	6 %
7	Infección en piel y tejidos blandos	3,226	6 %
8	Infección incisional superficial	3,140	5 %
9	Bacteriemia primaria	2,971	5 %
10	Bacteriemia no demostrada	2,562	4 %

La disponibilidad de mejores dispositivos clínicos, como catéteres, sondas u otros materiales a base de polímeros fotoesterilizables, es crucial para garantizar la eficacia y la seguridad de los pacientes intrahospitalarios y el conocimiento que se genere en estudios como el que se presenta en esta tesis puede permitir a los profesionales de la salud, tomar decisiones informadas sobre la selección, el uso y la gestión de estos dispositivos, contribuyendo finalmente a reducir las IAAS y optimizar los recursos en el sistema de atención médica. En este sentido, los resultados de esta investigación podrían aportar elementos valiosos para mejorar la calidad de la atención médica y favorecer la prevención de infecciones asociadas con la contaminación de dispositivos médicos de uso frecuente.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Evaluar la incorporación de FS antimicrobianos en materiales clínicos poliméricos comerciales, con el fin de conferirles propiedades fotoesterilizables, mediante la optimización de los procesos de integración, la caracterización fisicoquímica y la determinación de su eficacia antimicrobiana contra a *C. albicans* en condiciones controladas.

1.4.2. Objetivos específicos

- Seleccionar el material clínico polimérico (PVC y/o silicona) más adecuado para la inserción de FS.

- Optimizar los parámetros de incorporación de los FS de segunda y tercera generación, específicamente AM y NPs de TiO₂: Rh en el material clínico polimérico seleccionado.
- Analizar la capacidad de fotoesterilización de los MCPF elaborados, a través de pruebas de viabilidad celular en función de la inhibición del crecimiento de biopelículas de *C. albicans*.
- Caracterizar los MCPF producidos, evaluando las variaciones en sus propiedades ópticas, mediante espectroscopía visible, y en sus propiedades fisicoquímicas, como morfología superficial, ángulo de contacto y EDS, antes y después de la incorporación de los FS.
- Determinar el tiempo óptimo de almacenamiento y cantidad de reúsos posibles de los MCPF.

1.5 Hipótesis

Los dispositivos médicos fotoesterilizables que incorporan FS basados en AM y/o NPs de TiO₂: Rh, presentan una capacidad de inhibición del crecimiento de *C. albicans*.

2. MARCO TEÓRICO

El desarrollo de MCPF mediante TFDa requiere una comprensión profunda de los principios fundamentales que rigen la interacción de los materiales y los microorganismos involucrados. En este capítulo, se abordan las propiedades de los polímeros utilizados en dispositivos médicos y su capacidad para ser modificados con la incorporación de FS. Además, se describe el género de hongo *Candida*, su relevancia clínica y su resistencia en superficies inertes. Posteriormente, se explican los fundamentos de la TFDa, su mecanismo de acción y su aplicación en la eliminación de microorganismos. Finalmente, se analiza el concepto de MCPF, destacando su importancia en la prevención de IAAS.

2.1. Polímeros biomédicos

Los polímeros biomédicos son materiales ampliamente utilizados en la fabricación de dispositivos médicos debido a su versatilidad, biocompatibilidad y propiedades mecánicas ajustables. Su aplicación en catéteres, prótesis, válvulas cardíacas y membranas para diálisis ha sido clave en la evolución de la medicina moderna, permitiendo soluciones eficaces para el tratamiento de diversas condiciones clínicas. En el ámbito biomédico, estos polímeros pueden clasificarse en sintéticos, naturales y materiales compuestos, cada uno con características específicas que determinan su uso en dispositivos médicos esenciales, de acuerdo con las múltiples áreas de la medicina [13, 14].

Los dispositivos médicos fabricados con silicona y PVC desempeñan un papel esencial en la medicina moderna. En términos generales, ambos polímeros siguen evolucionando para mejorar su rendimiento, seguridad y sostenibilidad en aplicaciones médicas; mientras que la silicona destaca en dispositivos de implantación prolongada, el PVC sigue siendo el material de elección para dispositivos desechables. A continuación, se desglosan más detalladamente las características de estos dos tipos de materiales.

2.1.1. Silicona

Uno de los polímeros más utilizados en dispositivos implantables es la silicona, debido a su flexibilidad, biocompatibilidad y resistencia química. Este polímero es ampliamente utilizado en implantes y dispositivos de uso prolongado, como prótesis mamarias, válvulas cardíacas, lentes de contacto terapéuticos y catéteres urinarios [15, 16].

A nivel de propiedades, la silicona se distingue por su biocompatibilidad inerte, lo que la hace ideal para implantes de larga duración; su resistencia mecánica es moderada [17], pudiendo presentar baja resistencia al desgarro, por lo que se han desarrollado combinaciones con poliuretano para mejorar su durabilidad [18]. También posee una alta estabilidad química, soportando temperaturas extremas desde -55 hasta 300°C, siendo además resistente a la radiación [16]; una de sus principales ventajas es su superficie hidrofóbica, que reduce la adhesión bacteriana en dispositivos médicos [19], pero aun así puede ser susceptible a la formación de biopelículas en catéteres [20].

2.1.2. PVC

El PVC es el material dominante en dispositivos desechables y de bajo costo, incluyendo bolsas de sangre, tubos intravenosos, catéteres vasculares y mangueras para diálisis, gracias a su resistencia química, facilidad de procesamiento y estabilidad frente a fluidos corporales [19]. Es biocompatible y su resistencia mecánica es alta en formato rígido, mientras que en su forma flexible se ajusta a distintas aplicaciones médicas; sin embargo, para lograr su flexibilidad depende de aditivos como los plastificantes que pueden llegar a ser tóxicos, mutagénicos y cancerígenos [19].

La principal ventaja en comparación con otros polímeros es su bajo costo, siendo entre 70% y 80% más económico que alternativas como el polipropileno. Una de sus limitaciones es su difícil reciclaje, aunque ya existen programas que buscan mejorar su sostenibilidad. En términos de contexto clínico, el PVC sigue siendo el material predominante en México para dispositivos médicos desechables, debido a su bajo costo y facilidad de fabricación.

La combinación de las propiedades superficiales del PVC y su uso predominante en el ámbito clínico subraya la necesidad de innovar tanto en materiales y como en los protocolos médicos, con el fin de reducir infecciones asociadas a dispositivos fabricados con este polímero en entornos hospitalarios.

2.2. Género de hongo *Candida*

El género *Candida*, perteneciente al orden *Saccharomycetales*, es un hongo levaduriforme reconocido como una de las principales causas de infecciones fúngicas a nivel mundial; estas levaduras pueden desarrollarse en un rango de temperatura de ~20 a 40°C y se reproducen por gemación. Macroscópicamente, la mayoría de las especies de este género presentan características morfológicas similares cuando crecen entre 28 y 32°C, en un periodo de 24 a 48 horas; sus colonias suelen ser blancas, cremosas, planas o elevadas, con una textura lisa o plegada, aunque estas propiedades pueden verse influenciadas por las condiciones del medio. A nivel microscópico, su tamaño oscila entre 2 y 8 µm, y pueden presentarse en forma levaduriforme o micelial; la forma levaduriforme, conocida como blastoconidio, puede tener una morfología ovalada, alargada, cilíndrica o esférica, y en algunos casos, alargarse y formar cadenas cortas con constricciones denominadas pseudohifas [21].

Este género comprende cerca de 200 especies, las cuales se encuentran en plantas, la flora gastrointestinal de mamíferos, la piel y las mucosas superficiales humanas, como también en los genitales, el tracto digestivo y la cavidad oral. La mayoría de estas especies son oportunistas, es decir, en condiciones normales permanecen como residentes inofensivos, sin embargo, cuando las barreras epiteliales se ven alteradas o el sistema inmunológico está debilitado debido a enfermedades inmunosupresoras, pueden proliferar descontroladamente e invadir tejidos, provocando infecciones como la candidiasis [22], superficial o invasiva.

En la actualidad, se han identificado quince especies con capacidad patogénica en humanos, aunque solo cinco de ellas son responsables de aproximadamente el 90% de los casos de candidiasis invasiva: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C.*

parapsilosis, *C. krusei* y *C. tropicalis*. Otras especies, como *C. dubliniensis*, *C. guilliermondii*, *C. inconspicua*, *C. lusitaniae*, *C. norvegensis*, *C. kefyr*, *C. famata* y *C. rugosa*, han sido reportadas con menor frecuencia, presentándose únicamente en casos aislados [6]. No obstante, destaca el caso de *C. auris*, una especie que, durante la pandemia por COVID-19, fue asociada a brotes hospitalarios con tasas elevadas de mortalidad. Dentro de este grupo, *C. albicans* es la especie más estudiada en términos de patogenicidad, siendo el principal agente causal de candidiasis tanto superficiales (orofaríngea, esofágica, vulvovaginal y cutánea [10]) como invasivas [23, 24, 25].

2.2.1. *Candida albicans*

C. albicans es un hongo oportunista patógeno que se presenta como una levadura de forma redonda u ovalada, con dimensiones que varían entre 3-8 μm de largo, y 2-7 μm de ancho; su capacidad para adoptar diferentes formas morfológicas está estrechamente relacionada con la transición entre sus estados comensal y patógeno, pues dependiendo de factores como la temperatura, el pH y la disponibilidad de nutrientes, puede desarrollarse en forma de levaduras, pseudohifas o hifas [26, 27], como se observa en las figuras 2a), 2b) y 2c), respectivamente. A nivel macroscópico, las colonias suelen presentar un color blanco, textura cremosa y apariencia brillante, además, pueden ser planas o sobresalientes, con bordes bien definidos (Figura 2d) y un olor característico [28].

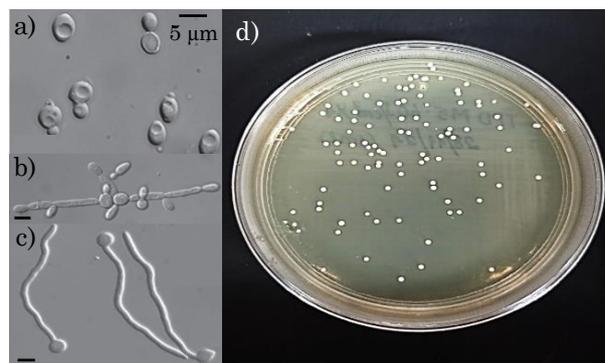


Figura 2. Morfología microscópica de las a) levaduras, b) pseudohifas e c) hifas [27] y macroscópica de las d) colonias de *C. albicans* (Imagen propia, obtenida con dispositivo móvil (ver Sección 3.4). Se ha sugerido que la transformación de levadura a hifas favorece la adhesión celular, la invasión de tejidos, la evasión del sistema inmune y la formación de biopelículas [29], uno de los principales factores de virulencia. Esta

estructuración altamente organizada le confiere resistencia y persistencia en el huésped.

El proceso de formación de las biopelículas ocurre de manera compleja y secuencial, como se observa en la figura 3, iniciando con la adhesión de las células fúngicas a las mucosas o superficies; posteriormente, se produce la proliferación celular y la formación de estructuras similares a hifas en la parte superior de la biopelícula. A medida que la biopelícula madura, se acumula una matriz extracelular compuesta principalmente de polisacáridos, que rodea y protege la estructura, y finalmente, ocurre la dispersión celular, permitiendo que nuevas células se liberen y propaguen la infección [30].

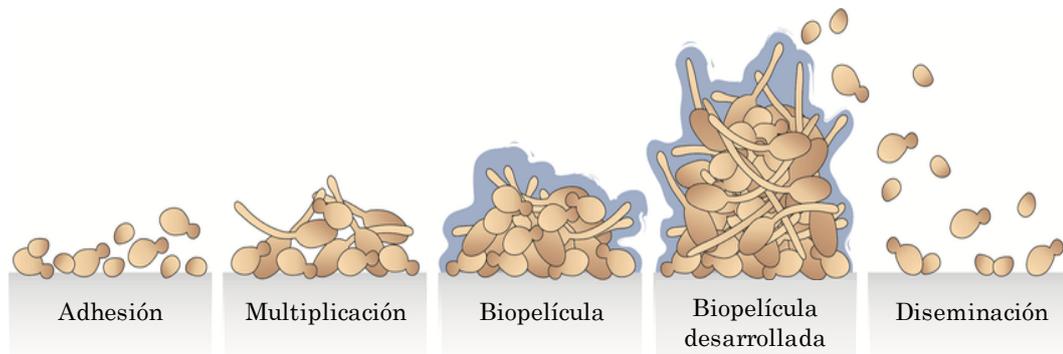


Figura 3. Etapas de la formación de biopelículas de *C. albicans* [30].

Las biopelículas de *C. albicans* presentan una arquitectura compleja que les confiere una notable resistencia a tratamientos antifúngicos y a la respuesta inmune del huésped, actuando en sí misma como protección al estar mediada principalmente por una matriz extracelular densa, rica en β -1,3-glucano, proteínas, ácidos nucleicos y lípidos, siendo una barrera física y química, que dificulta la penetración de antimicóticos como azoles y polienos; además, se ha identificado que factores de regulación transcripcional, como Zap1 y Rlm1, modulan la producción de dicha matriz. En entornos hospitalarios, esta capacidad de adhesión y persistencia convierte a *C. albicans* en un riesgo crítico cuando coloniza superficies inertes, como catéteres, válvulas o prótesis, ya que puede originar infecciones sistémicas graves, cuya resolución muchas veces exige la remoción del dispositivo infectado.

En 2022, la OMS publicó la lista de patógenos fúngicos prioritarios [10], estableciendo una clasificación sistemática de estos microorganismos, en función de aspectos como brechas en la investigación y desarrollo, así como en

su relevancia para la salud pública. La lista incluye 19 patógenos fúngicos, organizados en tres categorías de prioridad según criterios como resistencia a antifúngicos, mortalidad asociada, disponibilidad de tratamientos basados en evidencia, acceso a diagnóstico, incidencia anual y complicaciones derivadas, entre otros factores. De acuerdo con esta lista, presentada en la figura 4, la OMS expone que *C. albicans* se sitúa en la primera categoría por su carga para la salud pública, justo entre los microorganismos del grupo crítico, confirmando la importancia de la investigación constante de este microorganismo como patógeno.

Grupo crítico	Grupo alto	Grupo medio
 <i>Cryptococcus neoformans</i>	 <i>Nakaseomyces glabrata</i> (<i>Candida glabrata</i>)	 <i>Scedosporium</i> spp.
 <i>Candida auris</i>	 <i>Histoplasma</i> spp.	 <i>Lomentospora prolificans</i>
 <i>Aspergillus fumigatus</i>	 Eumycetoma causative agents	 <i>Coccidioides</i> spp.
 <i>Candida albicans</i>	 Mucorales	 <i>Pichia kudriavzevii</i> (<i>Candida krusei</i>)
	 <i>Fusarium</i> spp.	 <i>Cryptococcus gattii</i>
	 <i>Candida tropicalis</i>	 <i>Talaromyces marneffeii</i>
	 <i>Candida parapsilosis</i>	 <i>Pneumocystis jirovecii</i>
		 <i>Paracoccidioides</i> spp.

Figura 4. Lista de patógenos fúngicos prioritarios de la OMS [10].

2.2.2. Candidiasis invasiva

Las especies del género *Candida*, incluyendo *C. albicans*, pueden infectar a su huésped mediante dos mecanismos distintos; el primero corresponde a infecciones endógenas, donde se rompe el equilibrio natural entre el microorganismo y el huésped, permitiendo que la levadura prolifere desde la flora gastrointestinal o desde colonizaciones previas en la piel y mucosas del propio paciente. El segundo mecanismo involucra infecciones exógenas, adquiridas por contacto con fuentes externas contaminadas, como dispositivos médicos, soluciones intravenosas o las manos del personal de salud [31].

La candidiasis invasiva representa una de las formas más graves de infección por *Candida*, y ocurre cuando las levaduras ingresan al torrente sanguíneo, propagándose hacia diversos órganos y tejidos. Entre las manifestaciones clínicas más comunes se incluyen la candidemia [31], las infecciones hematógenas diseminadas, la candidiasis hepatoesplénica y la afección de órganos internos como el corazón, sistema nervioso central, ojos, huesos, peritoneo (peritonitis), cavidad abdominal (abscesos) y el sistema osteoarticular (osteomielitis) [23, 32], provocando altas tasas de mortalidad, especialmente en pacientes inmunocomprometidos o con estancias prolongadas en unidades de cuidados intensivos [10].

A pesar de la existencia de tratamientos antifúngicos, esta infección continúa asociada a una alta mortalidad, que oscila entre el 20 y el 50%, y puede requerir hospitalizaciones prolongadas de hasta dos meses, dependiendo del estado del paciente y la agresividad del cuadro clínico. Asimismo, se estima que aproximadamente un 4% de los casos pueden derivar en infecciones secundarias, lo que complica aún más su manejo clínico [10].

Actualmente, no existe una vacuna disponible contra la candidiasis invasiva, por lo que las estrategias preventivas se basan en la vigilancia estrecha de pacientes en riesgo y en la mejora de prácticas clínicas que eviten la colonización y diseminación del hongo. Aunque el acceso a métodos diagnósticos ha mejorado, persisten limitaciones en cuanto a la disponibilidad y eficacia de los tratamientos antifúngicos, especialmente en regiones con acceso restringido a medicamentos [31].

2.2.3. Epidemiología

Investigaciones han evidenciado que la distribución de las especies de *Candida* en aislamientos clínicos varía según la región geográfica y el tiempo. En Estados Unidos y el noroeste de Europa, *C. glabrata* es la segunda especie más frecuente, especialmente en personas mayores de 60 años y receptores de trasplante de órganos. En contraste, en el sur de Europa, India y Pakistán, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* son más predominantes que *C. glabrata* [23].

La candidiasis invasiva representa un problema de salud en constante aumento en Latinoamérica, con una incidencia que varía entre 0.3 y 6.0 casos por cada 1000 hospitalizaciones y tasas de mortalidad que oscilan entre el 30 y el 76%, dependiendo del país y la región estudiada [33]. Factores como la prolongada estancia en unidades de cuidados intensivos, el uso de nutrición parenteral, la presencia de catéter venoso central y el tratamiento con antibióticos de amplio espectro de manera frecuente o prolongada contribuyen a estas elevadas tasas de mortalidad [32].

La Red Latinoamericana de Micosis Invasoras es una organización conformada por expertos en infecciones fúngicas, cuyo propósito es establecer prioridades de investigación y educación en la región. En 2013 llevaron a cabo el primer estudio epidemiológico prospectivo multicéntrico, enfocado en analizar la candidemia, en distintos países de América Latina; esta investigación confirmó que *C. albicans* es la principal causa de candidemia en la región (Tabla 2), representando el 37.6% de los casos.

Tabla 2. Distribución por especies de *Candida* de 672 episodios de candidemia [33].

	Argentina	Brazil	Chile	Colombia	Ecuador	Honduras	Venezuela	General
<i>C. albicans</i>	48 (42.5)	77 (40.5)	16 (42.1)	40 (36.7)	24 (52.2)	37 (27.4)	11 (26.8)	253 (37.6)
<i>C. parapsilosis</i>	27 (23.9)	49 (25.8)	11 (28.9)	42 (38.5)	14 (30.4)	19 (14.1)	16 (39.0)	178 (26.5)
<i>C. tropicalis</i>	19 (16.8)	25 (13.2)	4 (10.5)	19 (17.4)	5 (10.9)	36 (26.7)	10 (24.4)	118 (17.6)
<i>C. guilliermondii</i>	7 (6.2)	3 (1.6)	1 (2.6)	2 (1.8)	1 (2.2)	28 (20.7)	2 (4.9)	44 (6.5)
<i>C. glabrata</i>	7 (6.2)	19 (10.0)	3 (7.9)	5 (4.6)	2 (4.3)	5 (3.7)	1 (2.4)	42 (6.3)
<i>C. krusei</i>	2 (1.8)	9 (4.7)	3 (7.9)	–	–	4 (3.0)	–	18 (2.7)
Otras*	3	8	–	1	–	6	1	19 (2.8)
Total	113	190	38	109	46	135	41	672

Otras* – Argentina: *C. lusitanae* (2), *C. pelliculosa* (1); Brazil: *C. intermedia* (3), *C. haemulonii* (2), *C. lusitanae*, *C. famata*, *C. norvegiensis* (1 each); Colombia: *C. lusitanae* (1); Honduras: *C. lusitanae* (3), *C. pelliculosa*, *C. haemulonii*, *C. albicans*+*C. glabrata* (1 each); Venezuela: *C. pelliculosa* (1).

Este hallazgo refuerza la relevancia de *C. albicans* como el patógeno fúngico más prevalente en infecciones invasivas. Su incidencia fue particularmente alta en Ecuador, donde se reportó en 52.2% de los episodios, mientras que en Honduras y Venezuela las cifras fueron más bajas (27.4% y 26.8%, respectivamente). Si bien otras especies como *C. parapsilosis* (26.5%), *C. tropicalis* (17.6%) y *C. guilliermondii* (6.5%) también estuvieron presentes, ninguna alcanzó la misma relevancia epidemiológica que *C. albicans* [33].

Además, una revisión sistemática de estudios realizados en México entre 2005 y 2015 permitió analizar la prevalencia de la candidiasis superficial e invasiva

[34]; los resultados (Figura 5) indicaron que *C. albicans* es la especie más frecuentemente aislada, tanto en infecciones superficiales como invasivas, lo que la mantiene como el principal agente etiológico en el país. Este panorama epidemiológico se ha estudiado en diversos estados del país, incluyendo Ciudad de México, Puebla, Yucatán, San Luis Potosí, Nuevo León y Veracruz.

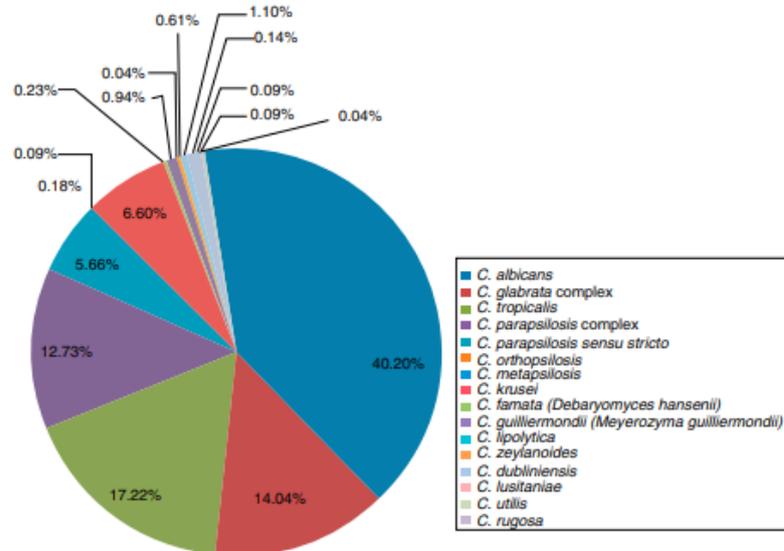


Figura 5. Distribución de frecuencias de las especies de *Candida* causantes de candidiasis invasora en México durante el período 2005-2015 [34].

Ahora bien, de los diez principales microorganismos causantes de IAAS en 2023 en México, reportados en el boletín publicado por la Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica [12], la única especie de *Candida* que aparece en el listado es *C. albicans* con 1639 casos (Figura 6), resaltando la importancia de complementar los estudios realizados sobre superficies fotoesterilizables en contra de este microorganismo en particular.

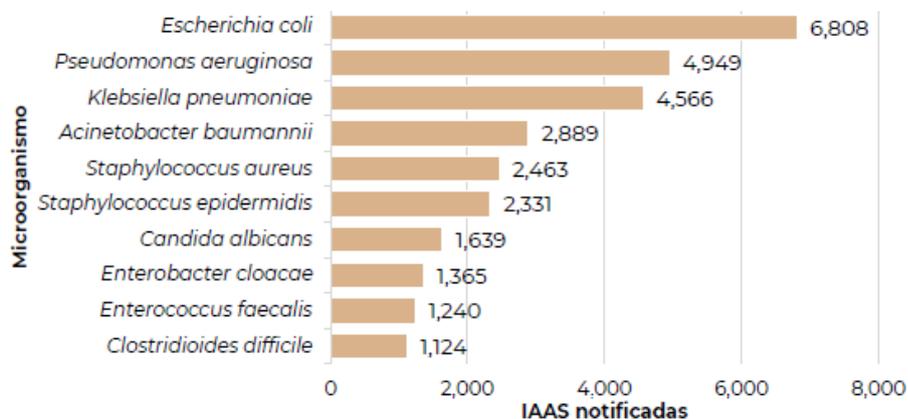


Figura 6. Distribución de las IAAS causadas por los diez principales microorganismos notificados en 2023 [12].

2.2.4. Infecciones por *C. albicans* en materiales médicos

La interacción entre *C. albicans* y dispositivos médicos implantables ha sido ampliamente documentada, confirmando que en su mayoría las fuentes de infecciones son exógenas [35]. Entre los factores de virulencia que determinan la relación de *Candida* spp. con el huésped, destaca la capacidad de adherirse a los tejidos y a las superficies de catéteres o prótesis, lo que les permite colonizar y formar una biopelícula que limita la acción de los antifúngicos, al reducir el metabolismo y por ende disminuir sus sitios de acción, promoviendo así el crecimiento del hongo [36].

Un diagrama que resalta las áreas del cuerpo vulnerables a infecciones por *C. albicans* puede observarse en la figura 7. Estas zonas están propensas tanto a la colonización de un dispositivo médico con biopelícula (indicada en azul), como a infecciones localizadas o diseminadas, derivadas de una biopelícula preexistente (indicada en naranja) [39].

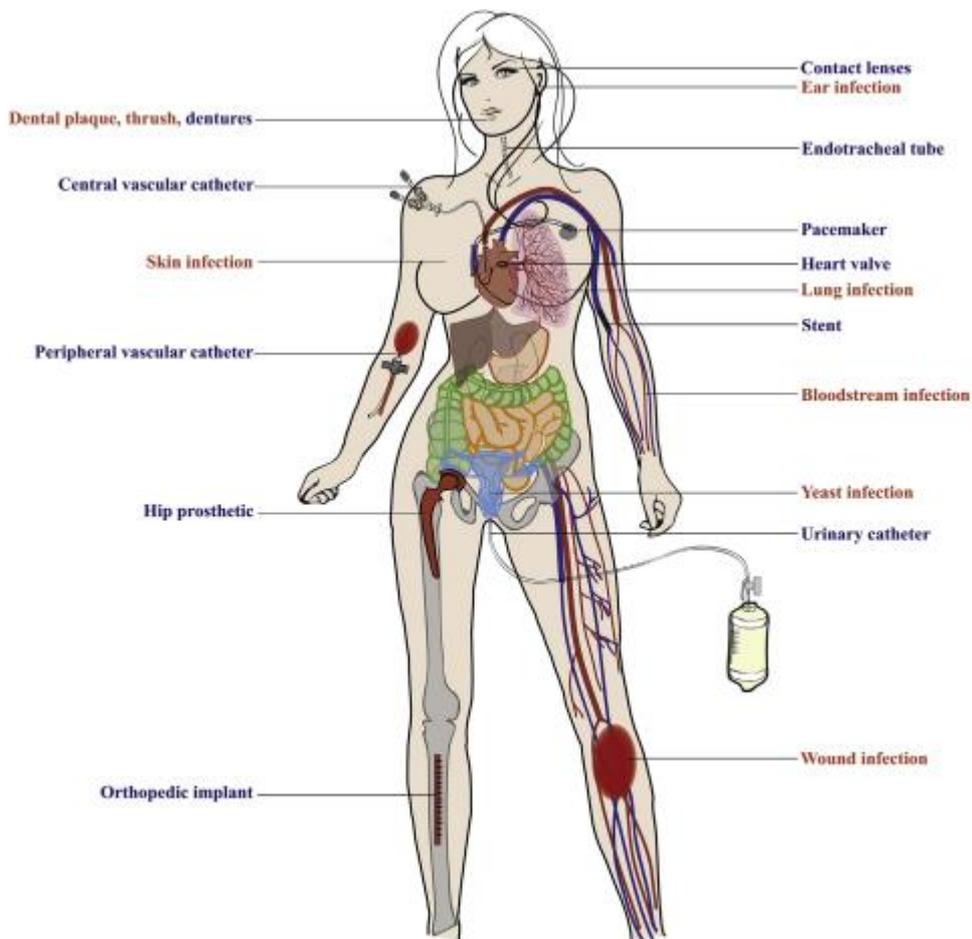


Figura 7. Infecciones frecuentes relacionadas con las biopelículas de *C. albicans* [39].

En particular, las infecciones causadas por *C. albicans* se presentan con mayor frecuencia en neonatos, niños y pacientes en unidades de cuidados intensivos, donde *C. albicans* ha sido identificado como el principal agente de candidemia relacionada con implantes hospitalarios [37]; de hecho en México, el Instituto Mexicano del Seguro Social, ha reportado que hasta el 50% de las infecciones sistémicas por *Candida* están asociadas a catéteres venosos centrales [38], los cuales pueden contaminarse a través de la piel del paciente o del contacto durante la manipulación por parte del personal sanitario [24].

Este tipo de infecciones está ligada a la expresión de proteínas de adhesión como Als1, que facilitan el anclaje del hongo a materiales como PVC, poliuretano y silicona [37] y, además de los catéteres, otros dispositivos como válvulas cardíacas y prótesis articulares también son susceptibles a colonización. En sondas urinarias, el hongo puede activar genes como EFG1, promoviendo biopelículas que incrementan la carga fúngica en la vejiga [40].

Para reducir el riesgo de infecciones, se han desarrollado estrategias preventivas como la modificación superficial con recubrimientos de poliuretano hidrófilo o silicona, capaces de reducir la adhesión fúngica hasta en un 70% [37], el uso de soluciones desinfectantes como hipoclorito de sodio (>0.39%) o peróxido de hidrógeno (1.4%) [38, 40], así como protocolos de manejo hospitalario, en los que las guías clínicas internacionales recomiendan el reforzamiento en la higiene del personal de salud y la rotación de catéteres, particularmente en pacientes con candidemia, en los que la retirada temprana del catéter venoso central es un aspecto crucial, ya que su permanencia puede prolongar la infección y aumentar el riesgo de complicaciones [41, 42].

2.3. Terapia fotodinámica antimicrobiana (TFDa)

La TFD es un método innovador y poco invasivo que combina tres elementos clave en su mecanismo de acción: un FS, luz y la presencia de oxígeno molecular. Dentro de esta técnica, una variante especializada es la TFDa, diseñada específicamente para la eliminación de microorganismos patógenos, como bacterias y hongos, y asimismo virus.

Tanto la TFD como la TFDa comparten el mismo principio de acción, ilustrado en la figura 8a), diferenciándose únicamente en su aplicación clínica y en los objetivos terapéuticos que se busquen alcanzar. La inducción de la muerte celular localizada y el daño tisular radica en la generación de EROs por parte de un FS molecular una vez es excitado por luz de una longitud de onda específica. En la mayoría de los casos, el estado excitado singlete inicial del FS experimenta un cruce intersistema que lo transforma en un estado excitado triplete; generalmente, aunque no en todos los casos, es este estado triplete el que desencadena las reacciones químicas responsables del daño celular [43], las cuales pueden clasificarse en dos tipos, según su interacción con el entorno biológico.

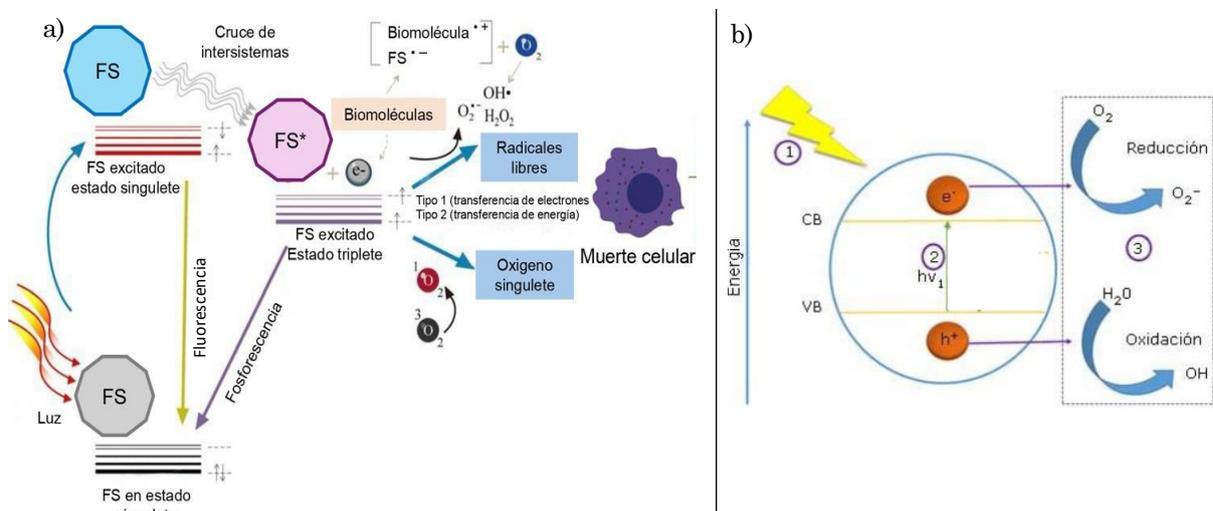


Figura 8. Ilustración esquemática de los mecanismos de acción en la TFD con a) reacciones fotodinámicas para FS moleculares, como el AM, según el diagrama de Jablonski [44] y b) reacciones fotocatalíticas basadas en el diagrama de bandas para FS inorgánicos como el TiO₂ [77].

En la reacción de tipo I (Figura 8a), el FS excitado reacciona directamente con un sustrato biológico, como lípidos insaturados, proteínas o ácidos nucleicos, mediante transferencia de protones o electrones; este proceso genera radicales inestables, que en presencia de oxígeno dan lugar a diversas EROs, tales como el radical anión superóxido (O₂•⁻), el radical hidroxilo (OH•) y el peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Por otro lado, en la reacción de tipo II, el FS excitado transfiere energía directamente al oxígeno molecular (O₂), generando oxígeno singlete (¹O₂), una citotoxina altamente reactiva y clave en la eficacia de la TFDa; esta molécula juega un papel crucial en la destrucción celular, especialmente en condiciones de alta disponibilidad de oxígeno [8, 44].

En el caso de FS inorgánicos como el TiO_2 (Figura 8b), su mecanismo de acción se describe a través de su estructura de bandas energéticas; el TiO_2 es un semiconductor cuya fotocatalisis se basa en la transición de electrones desde la banda de valencia (VB) hacia la banda de conducción (CB) al absorber fotones con una energía igual o mayor a su band gap (3.0–3.2 eV). Este proceso genera pares electrón-hueco (e^-/h^+) que, al migrar a la superficie del material, pueden iniciar reacciones de oxidación-reducción que generan EROs. Los electrones (e^-) en la banda de conducción pueden reducir oxígeno molecular (O_2) a radical superóxido ($\text{O}_2 \cdot^-$), mientras que los huecos (h^+) en la banda de valencia pueden oxidar agua (H_2O) o iones hidroxilo (OH^-) generando radicales hidroxilo ($\text{OH} \cdot$) [77].

En condiciones ideales, estos portadores de carga se separan y reaccionan antes de recombinarse, facilitando la producción eficiente de especies reactivas. Además, el dopaje del TiO_2 (como en este estudio con Rh) puede introducir niveles energéticos intermedios entre la banda de valencia y la de conducción, lo cual disminuye el band gap y permite la activación del material con luz visible. Esto mejora la separación de cargas, reduce su recombinación y extiende su respuesta fotoactiva, haciéndolo adecuado para aplicaciones clínicas bajo fuentes de luz más seguras.

En el contexto de este estudio, la TFDa se posiciona como una estrategia innovadora para la fotodesinfección de superficies, permitiendo la inactivación eficiente y continua de patógenos sin generar resistencia [45]. En este tipo de superficies, conocidas como fotodesinfectantes, los FS pueden ser incorporados o aplicados como recubrimientos sobre el material, permitiendo que, al ser expuestos a la luz, se activen, produzcan EROs y así desinfecten la superficie [8, 46]. Este enfoque representa una estrategia prometedora para la desinfección continua, ya que contribuye a la reducción del riesgo de contaminación microbiana e infecciones [46].

2.3.1. Fotosensibilizadores

La fotosensibilización es un proceso en el que un compuesto, conocido como sustrato, experimenta una transformación química como consecuencia de la

absorción de radiación electromagnética UV-visible por parte de otro compuesto denominado FS [43]. En el ámbito de la TFDa, los FS son compuestos químicos que, al absorber fotones, se excitan y desencadenan reacciones fotoquímicas que culminan en la producción de EROs y radicales libres, provocando la muerte celular.

Los FS se han desarrollado en tres generaciones, cada una con mejoras en términos de selectividad, estabilidad y eficiencia en la producción de EROs, lo que ha permitido ampliar su aplicación en el ámbito clínico. Los de primera generación fueron los primeros compuestos utilizados en la TFD y están basados en derivados de porfirinas y estructuras tetrapirrólicas. El porfímero sódico (Photofrin®), un derivado de hematoporfirina, fue el primer FS aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos, marcando un hito por ser pionero en la validación regulatoria de la TFD al ser el primer FS sistémico aprobado para oncología [47]. Al ser el primer FS era de esperar que Photofrin® presentara algunas limitaciones, pero su desarrollo sentó las bases para la elaboración de agentes más seguros, presentes en generaciones posteriores. Si bien los FS de esta generación presentaron alta eficacia fotodinámica, su principal limitación radicó en la prolongada fotosensibilidad que podían inducir en los pacientes, dada su baja selectividad, lo que provocaba acumulación en tejidos sanos y requería largos periodos de fotoprotección tras el tratamiento, con efectos que podían durar de 4 a 6 semanas [48].

En respuesta a las desventajas de los FS de primera generación, surgieron los de segunda generación, diseñados con mayor selectividad hacia células tumorales o microorganismos patógenos, lo que permitió reducir los tiempos de fotosensibilidad, pasando de semanas a días o incluso horas, mejorando significativamente la seguridad del tratamiento; dentro de esta generación se han incorporado FS naturales, como la hipericina (derivada de *Hypericum perforatum*) y la curcumina, que han demostrado ser eficaces contra bacterias y hongos, con un perfil de baja toxicidad en células humanas. Estos compuestos también pueden activarse con luz visible, lo que representa una ventaja significativa al reducir los efectos secundarios sistémicos y permitir su

formulación en presentaciones tópicas, como cremas o geles, facilitando así su aplicación en el entorno clínico [49].

En la actualidad, los más estudiados son los FS de tercera generación; estos han sido diseñados para mejorar la selectividad y eficacia de la TFDA alcanzadas por la generación precedente. Una de sus principales características es su nano estructuración, lo que permite su combinación con vehículos transportadores para optimizar su biodisponibilidad; además, una innovación clave ha sido el desarrollo de FS conjugados con polímeros o anticuerpos, lo que permite una mayor orientación hacia receptores específicos en células patógenas o cancerosas [50].

Dentro de esta generación, se han desarrollado principalmente dos tipos de sistemas basados en el uso de NPs; el primero consiste en sistemas híbridos donde el FS es transportado o inmovilizado en matrices como NPs de oro, favoreciendo su liberación controlada; y el segundo involucra NPs que actúan como FS por sí mismas, como es el caso de las de TiO_2 y óxido de zinc. Ambos sistemas potencian su efecto mediante mecanismos combinados, generando un efecto antimicrobiano sinérgico, ya que las NPs, además de actuar como soporte, pueden contribuir directamente a la inactivación microbiana, como ocurre en el caso de la plata, cuyos efectos antimicrobianos no dependen de la generación de EROs, sino de interacciones fisicoquímicas con la membrana celular [51]. Estas modificaciones han proporcionado beneficios notables, como la reducción de la dosis requerida, lo que minimiza los efectos adversos, y una mayor especificidad, disminuyendo el daño a tejidos sanos.

En este trabajo son de interés dos tipos de FS representativos de generaciones distintas: el AM, un colorante de segunda generación, y las NPs de TiO_2 : Rh, correspondientes a la tercera generación. El AM actúa como FS molecular, se activa eficientemente con luz roja visible (~ 660 nm) y genera EROs principalmente por la reacción de tipo II (Figura 8a). En cambio, el TiO_2 es un semiconductor de estado sólido cuya fotoactivación convencional requiere luz UV debido a su amplio band gap (3.2 eV en fase anatasa); sin embargo, mediante el dopaje con metales como el Rh, es posible su activación con luz

visible, ampliando su aplicabilidad en contextos clínicos al mejorar su eficiencia en la generación de EROs bajo condiciones más seguras.

2.3.2. Luz

La luz es una forma de radiación electromagnética que puede ser percibida por el ojo humano, sin embargo, esta es solo una pequeña fracción dentro del espectro electromagnético, un rango continuo de radiaciones que no posee límites estrictos en sus extremos.

Para su estudio, el espectro electromagnético se ha dividido en diferentes regiones, con transiciones entre ellas graduales y sin fronteras rígidas (Figura 9) y para referirse a alguna específicamente, se utilizan dos parámetros fundamentales: frecuencia y longitud de onda; dentro de este contexto, la luz visible corresponde a un intervalo de longitudes de onda entre 380 y 780 nm, aproximadamente, abarcando los colores que el ojo humano puede percibir, desde el violeta hasta el rojo [52].

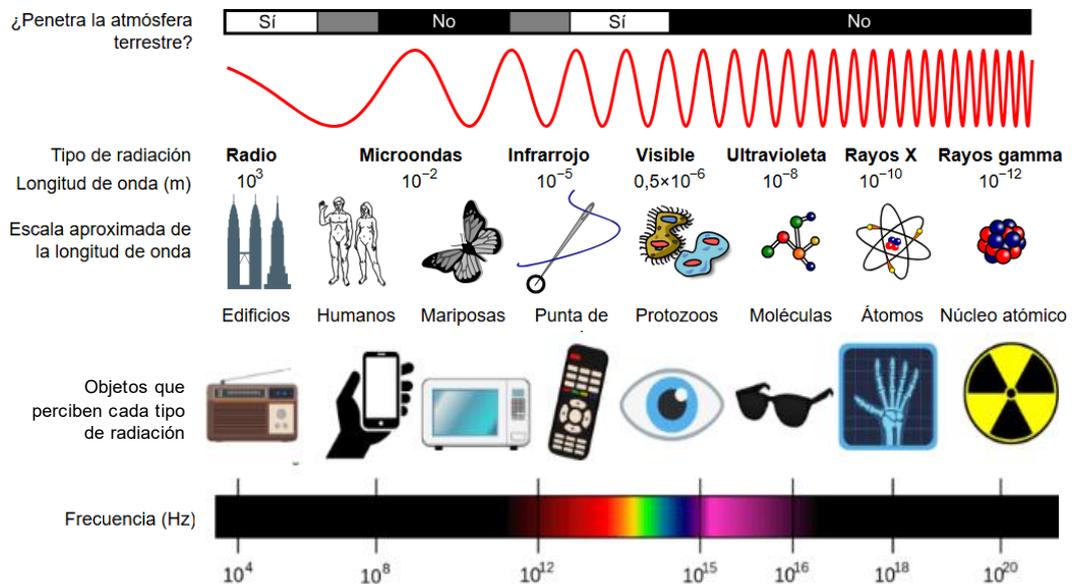


Figura 9. Espectro electromagnético [52].

Dentro del espectro electromagnético, la radiación UV, la luz visible y el infrarrojo conforman la denominada región óptica; en particular, el espectro visible representa una fracción muy pequeña dentro de todo el espectro electromagnético, pero es fundamental para la percepción visual, pues cualquier radiación que se encuentre dentro de esta estrecha banda tiene la

capacidad de estimular el ojo humano, generando la sensación de color [52], siendo importante mencionar nuevamente que la transición entre los distintos colores dentro del espectro visible tampoco es abrupta, sino que ocurre de manera gradual.

En el contexto de la TFDa, la luz juega un papel esencial, ya que, como se ha mencionado anteriormente, es la encargada de activar al FS, promoviendo la generación de EROs y, con ello, la inactivación microbiana [54].

Cada una de las fuentes lumínicas existentes presentan ventajas y limitaciones que deben considerarse al momento de seleccionar la más adecuada para la activación de los FS en la TFDa; factores como la intensidad lumínica, la estabilidad de la fuente, la penetración en el tejido y extensión del área a tratar, además de la compatibilidad con el FS empleado, en relación con su espectro de absorción, juegan un papel determinante en la efectividad del tratamiento.

La luz solar es una opción sostenible y de bajo costo, ideal para aplicaciones en exteriores debido a su capacidad de iluminar grandes áreas de manera uniforme, sin embargo, su intensidad y composición espectral pueden variar según factores ambientales, lo que puede afectar la eficacia del tratamiento. Las lámparas de amplio espectro, como las incandescentes y las de descarga de gases (Hg, Na, Xe), generan radiación en distintas regiones del espectro electromagnético, aunque su uso en TFDa está limitado por su baja eficiencia o espectro poco selectivo. Los láseres (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation, LASER) destacan por su alta direccionalidad y emisión en longitudes de onda específicas, lo que optimiza la absorción del FS y maximiza la producción de EROs, permitiendo ajustar la potencia y penetración en los tejidos según la aplicación. Finalmente, los diodos emisores de luz (LED, por sus siglas en inglés) ofrecen una alternativa eficiente y versátil, con la capacidad de emitir en un espectro estrecho, bajo consumo energético y larga vida útil [52], lo que los convierte en una de las fuentes más utilizadas en TFDa.

2.3.3. Oxígeno

En la TFDa, el oxígeno es fundamental, ya que su interacción con los microorganismos, tras la activación de los FS con luz, genera las EROs responsables del efecto antimicrobiano [8]. El oxígeno molecular (O_2) es el elemento más abundante en la corteza terrestre y constituye aproximadamente el 21% del aire seco en su forma diatómica gaseosa. Su presencia es esencial en procesos biológicos, ya que participa en reacciones que generan la energía necesaria para el metabolismo de los organismos superiores. Sin embargo, concentraciones elevadas de oxígeno, superiores a este 21%, pueden ser tóxicas para los organismos aeróbicos, causando daños en plantas, animales y microorganismos. Esta toxicidad se debe a la capacidad del oxígeno para formar EROs, compuestos altamente oxidantes que pueden alterar estructuras celulares [55].

2.4. Estado del arte de los MCPF

En las últimas décadas, el desarrollo de superficies poliméricas denominadas fotodesinfectantes ha cobrado gran relevancia debido al aumento de infecciones asociadas a biopelículas y la creciente resistencia antimicrobiana. En respuesta a este problema, se han diseñado materiales capaces de generar EROs bajo irradiación luminosa logrando una acción antimicrobiana efectiva, al incorporar FS en su diseño. Estas superficies eliminan microorganismos sin necesidad de contacto directo, ya que la generación de oxígeno singulete (1O_2) cerca de la membrana externa del patógeno permite su difusión al interior celular, causando daño irreversible a estructuras vitales [56, 57].

Desde los primeros estudios en la década del 2000, se han explorado múltiples enfoques para combinar polímeros con FS, con el objetivo de desarrollar superficies antimicrobianas. Un grupo de investigadores japoneses fue el primero en utilizar TiO_2 para el desarrollo de catéteres hospitalarios fotodesinfectantes, emprendiendo estudios pioneros en la aplicación de materiales con propiedades fotocatalíticas en dispositivos médicos, siendo Ohko et al. (2000) [58] de los primeros en recubrir catéteres de silicona con dicho compuesto inorgánico, logrando una fotoesterilización efectiva bajo luz UV y

demostrando que el recubrimiento era estable frente a tensiones mecánicas. Más adelante, Sekiguchi (2007) [59] y Yao (2008) [60] validaron clínicamente estos catéteres modificados, evidenciando una reducción significativa de infecciones urinarias en pacientes, lo que consolidó la importancia de este enfoque en el ámbito hospitalario.

Otro enfoque clave surgió en la University College London, donde se exploraron técnicas de encapsulación de FS, que iban desde colorantes hasta otros materiales inorgánicos como NPs, en polímeros. Los primeros estudios en este campo fueron realizados por Perni et al. (2008) [61], quienes utilizaron AM y NPs de oro en polisiloxano, logrando una reducción de $3.5 \log_{10}$ en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* bajo luz roja (660 nm); este estudio estableció el método de Hinchamiento – Encapsulación – Contracción (HEC) con acetona/agua para la integración de FS en matrices poliméricas. Posteriormente, Naik et al. (2011) [62] incorporaron AM y azul de toluidina en poliuretano, observando que el segundo mostraba mayor eficacia en la inactivación microbiana bajo luz blanca; y luego Ozkan et al. (2014) [63] funcionalizaron polidimetilsiloxano con cristal violeta utilizando cloroformo como solvente, demostrando actividad antimicrobiana contra *E. coli* y *S. aureus* en condiciones de luz ambiental.

Entre 2012 y 2016, el desarrollo de superficies poliméricas fotodesinfectantes se fortaleció en la integración de NPs metálicas, con el objetivo de potenciar la actividad antimicrobiana. Estos avances fueron impulsados por distintos autores que poco a poco se unieron al grupo de la University College of London, quienes trabajaron en estrecha colaboración para optimizar los materiales antes mencionados. Noimark et al. (2012) [64] optimizaron la integración de NPs de oro en catéteres de PVC, resaltando su estabilidad y la ausencia de lixiviación; luego en el 2013 [65] estos autores integraron cristal violeta y NPs de oro en silicona médica, logrando reducciones superiores a $4 \log_{10}$ en bacterias patógenas bajo luz blanca, y posteriormente realizaron trabajos similares, pero ahora con superficies de poliuretano y silicona para entornos hospitalarios en 2014 y 2015 [66, 67]. En este mismo año, Bovis et al. (2015) [68] evaluaron elastómeros de silicona dopados con AM y NPs de oro, demostrando que estas últimas mejoraban la generación de EROs bajo

irradiación en el rango de 633–670 nm, y en una línea similar, McDonald et al. (2016) [69] desarrollaron matrices de poliuretano funcionalizadas con NPs de oro recubiertas de tiol, evidenciando actividad bactericida incluso en ausencia de luz.

En años posteriores, siguiendo la misma línea de su primer estudio en 2014, Ozkan et al. (2018) [70] combinaron cristal violeta y NPs de óxido de zinc en polidimetilsiloxano, demostrando que las NPs actuaban como co-catalizadores para potenciar la actividad bajo la luz visible, y con este mismo enfoque, Patir et al. (2018) [71] emplearon una combinación de cristal violeta, AM y NPs de plata en silicona, alcanzando una reducción de $6.8 \log_{10}$ en *S. aureus* y *E. coli*.

Los estudios de Inomata et al. (2019), Aydin et al. (2020) y Hwang et al. (2016–2023), todos en colaboración con la University College of London, aportaron al conocimiento sobre el uso de la TFDa en aplicaciones biomédicas y hospitalarias. Inomata et al. en 2019 [72] analizaron el impacto de la TFDa en materiales hospitalarios como polipropileno, aluminio y acero inoxidable AISI 304, evidenciando alteraciones en las propiedades mecánicas del polipropileno y el acero, aunque sin generar subproductos tóxicos, validando así la seguridad de esta técnica en entornos clínicos. En el caso de Aydin et al. en 2020 [73] se demostró que la combinación de azul de toluidina con NPs de plata mejora la eficacia de la TFDa en la desinfección de conductos radiculares infectados con *Enterococcus faecalis*, con una reducción bacteriana superior a la obtenida con azul de toluidina solo, y finalmente en cuanto a Hwang et al., su trabajo desde 2016 hasta 2023 se centró en el desarrollo de recubrimientos antimicrobianos basados en CV y NPs, ya sea en aplicaciones en pinturas activadas por luz blanca y en recubrimientos con óxido de zinc/cristal violeta para superficies hospitalarias [74, 75].

La referencia más reciente sobre esta línea de investigación es de finales del 2023; en este año se publicó el "Handbook of Self-Cleaning Surfaces and Materials: From Fundamentals to Applications" [76], un libro que ofrece una visión integral sobre las superficies y materiales fotodesinfectantes, abarcando desde los fundamentos hasta las aplicaciones prácticas.

Ahora bien, respecto a las propiedades del TiO_2 dopado, se encontró que el dopaje con metales como cobre, plata y óxido de zinc ha sido explorado con el propósito de mejorar su actividad bajo la luz visible [77], al reducir su banda de energía prohibida y facilitar la separación de cargas electrónicas, lo que aumenta la producción de EROs [77, 78].

La presente investigación busca, ampliar el conocimiento y experiencia en el uso, almacenamiento y vida media de MCPF evaluando su efectividad antimicrobiana y su potencial para la reducción de patógenos nosocomiales oportunistas, específicamente contra *C. albicans*, encapsulando NPs de TiO_2 : Rh, las cuales no se han empleado aún en este tipo de materiales y el colorante AM.

3. METODOLOGÍA

En el presente capítulo se describen los materiales utilizados y procedimientos realizados en cada una de las fases necesarias para cumplir los objetivos planteados para el desarrollo de este trabajo de maestría. Para evaluar la eficacia de los MCPF en la eliminación de *C. albicans* mediante TFDa, se diseñó un protocolo experimental estructurado por lo que los métodos que se describirán a continuación incluyen la selección de polímeros médicos a modificar con la encapsulación de FS en ellos, la descripción del material biológico utilizado y la preparación de soluciones y medios de cultivo óptimos para su crecimiento; también se describen las diversas técnicas de caracterización para determinar los cambios estructurales y funcionales en los polímeros tratados y finalmente, con la aplicación de la TFDa, el proceso empleado para la optimización de los parámetros de iluminación y la evaluación de la fotoestabilidad del sistema en almacenamiento y el número de usos posibles para cada tipo de MCPF, estableciendo su viabilidad para aplicaciones médicas.

3.1. Material biológico

Para la contaminación de los polímeros se escogió *C. albicans*, la especie del género *Candida* más común y patógena de este hongo. La cepa específica que se utilizó fue *C. albicans* tipo ATCC CAF2, inicialmente donada por el Laboratorio de Micología del Centro de Investigaciones de Ciencias Microbiológicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y ahora obtenida del laboratorio de TFD del INAOE, lugar en el que se llevó a cabo esta investigación.

3.2. Polímeros biomédicos

Uno de los criterios fundamentales para la selección de los materiales poliméricos empleados en este estudio fue su transparencia, ya que esta propiedad resulta esencial para garantizar una adecuada transmisión de la luz durante los procesos de activación fotodinámica de los FS. Por lo anteriormente mencionado, se seleccionaron dos polímeros de uso médico común, silicona y

PVC, ambos disponibles comercialmente en presentaciones transparentes (Figura 10); las muestras de silicona fueron obtenidas a partir de sondas Foley de silicón de 2 vías con globo de 5 ml, calibre 22Fr (SensiMedical), mientras que las de PVC provinieron de tubos de suministro de oxígeno tipo Star Lumen (Hudson RCI, Medline).

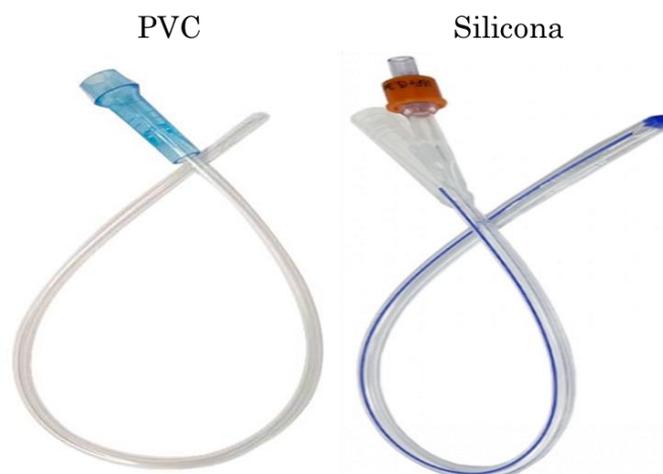


Figura 10. Dispositivos médicos seleccionados para la elaboración de los MCPF.

3.3. Soluciones y medios

El principal objetivo de las soluciones, específicamente la solución buffer fosfato (PBS, por sus siglas en inglés), y los medios de cultivo es proporcionar un ambiente adecuado para mantener la homeostasis celular, promoviendo el crecimiento y/o desarrollo de microorganismos al simular condiciones similares a su entorno natural. De este modo, se busca crear un ambiente experimental que minimice el estrés fisiológico y, con ello, evitar la muerte celular durante el proceso.

3.3.1. Solución Buffer Fosfato

La solución PBS constituye una solución amortiguadora de pH comúnmente empleada para procedimientos bioquímicos; es isotónica y no-tóxica para las células de los mamíferos y se emplea como vehículo neutro para células, ya que no modifica el perfil de expresión y funcionamiento celular normal.

Su preparación se realizó según las indicaciones del fabricante, a partir de cloruro de sodio (NaCl; Omnicem Cristal), cloruro de potasio (KCl; Gran),

fosfato disódico (Na_2HPO_4 ; Gran) y fosfato monopotásico (K_2HPO_4 ; Omnicem Cristal), implementando 2015, 55, 287.5 y 50 mg, respectivamente, de cada sustancia por cada 250 ml de solución requerida, los cuales fueron pesados en una balanza (OHAUS, PA214) y disueltos en agua destilada. Se midió el pH con un potenciómetro (Conductronic, PH25) y se ajustó hasta 7.4 ± 0.2 con ácido clorhídrico (HCl; HYCEL – Reactivos químicos), en caso de que el valor superara un pH 7.4, o hidróxido de sodio (NaOH; HYCEL – Reactivos químicos), para subir el potencial de hidrógeno si es que estuviera por debajo de pH 7.4. Finalmente se aforó el PBS con agua destilada y esterilizó en autoclave (AES A, CV250) a 121°C durante 15 minutos.

3.3.2. Caldo Dextrosa Sabouraud

El SDB (por sus siglas en inglés) usualmente se utiliza para hidratar cultivos micóticos, especialmente cuando se desea evitar la inducción de cambios morfológicos por efecto del medio. De acuerdo con las indicaciones del fabricante, la cantidad correcta a preparar debe corresponder a 30 g de SDB (MCD LAB) por cada litro requerido, por lo que se utilizó la balanza para pesar la cantidad requerida de polvo, el cual se disolvió en agua desionizada en un frasco con tapa, midiendo luego el pH con el potenciómetro; el potencial hidrógeno se ajustó hasta 5.6 ± 0.2 con HCl o NaOH, según se requiriera. Finalmente, el caldo se esterilizó a 121°C en autoclave durante 15 minutos.

3.3.3. Medio Agar Dextrosa Sabouraud – Agar bacteriológico

El SDA (por sus siglas en inglés) es un medio diseñado por Sabouraud para cultivar dermatofitos. Está conformado por un pH bajo (5.6 aproximadamente) y favorece el crecimiento de hongos, en especial los dermatofitos, con efecto inhibitorio para las bacterias contaminantes. Por otra parte, el agar bacteriológico se obtiene de algas marinas y es un polisacárido que no es nutriente para la mayoría de los microorganismos; su principal uso es como un agente gelificante que se utiliza para preparar medios de cultivo sólidos o semisólidos.

Para este trabajo, el medio utilizado para el cultivo de *C. albicans*, fue una mezcla de SDA (MCD LAB) con agar bacteriológico (MCD LAB); según las instrucciones del fabricante, el medio SDA ya incluye agar en su composición; sin embargo, en este protocolo se añadieron 10 g/L adicionales de agar bacteriológico con el propósito de mejorar la consistencia del medio sólido. La preparación se realizó pesando 65 g de SDA y 10 g de agar bacteriológico, por cada litro de medio que se necesitara, estas cantidades se disolvieron en un matraz con agua desionizada; la mezcla fue aforada y ajustada a un pH de 5.6 \pm 0.2, esterilizada en autoclave a 121°C. Una vez tibio, el medio se distribuyó en placas Petri (SYM Laboratorios, 65 x 15 mm), vertiendo aproximadamente 10 ml por placa.

3.4. Registro fotográfico para imágenes macroscópicas

Las imágenes macroscópicas incluidas en esta tesis, correspondientes a colonias de *C. albicans* y a las muestras poliméricas, fueron obtenidas con la cámara trasera de un dispositivo móvil Xiaomi, empleando sus configuraciones predeterminadas de captura. El sistema fotográfico de este dispositivo está compuesto por cuatro cámaras: principal de 48 MP (f/1.79, 1.6 μ m), gran angular de 8 MP (f/2.2, 118°), macro de 2 MP y de profundidad de 2 MP. Las fotografías fueron tomadas bajo condiciones de iluminación ambiental en el laboratorio, sin procesamiento digital posterior, más allá de ajustes mínimos de recorte y contraste con fines de claridad visual.

3.5. Fabricación de MCPF

Para elaborar los MCPF, se implementó el método de HEC, permitiendo la incorporación de AM y NPs de TiO₂:Rh en la matriz de silicona y PVC; este proceso aseguró la estabilidad de los FS dentro del polímero sin afectar significativamente sus propiedades físicas. Posteriormente, se estableció un protocolo de interacción polímero – *C. albicans* para evaluar la adhesión y crecimiento del hongo sobre las superficies funcionalizadas, diseñando condiciones controladas de infección, incubación y viabilidad celular, con el fin de determinar la eficacia antimicrobiana de los polímeros modificados tras la irradiación con luz en condiciones de TFDa.

3.5.1. Método de Hinchamiento – Encapsulación – Contracción (HEC)

El método HEC, conocido en inglés como Swell–Encapsulation–Shrink [61], es una técnica utilizada para incorporar moléculas activas (como fármacos, FS, NPs o agentes terapéuticos) dentro de polímeros de grado médico. Se basa en la capacidad de ciertos polímeros para hincharse al absorber un solvente, encapsulando en su matriz polimérica las moléculas activas de alguna sustancia que se requiera, para finalmente, al contraerse, recuperar su forma original tras la evaporación del solvente (contracción) [79].

3.5.1.1. Selección de la razón solvente: solución acuosa para cada polímero

Se realizaron pruebas para seleccionar las proporciones adecuadas del solvente y de la solución acuosa para cada tipo de polímero en particular, debido a que, tras aplicar el método HEC, los materiales poliméricos debían conservar las características físicas lo más similares posibles a las originales.

Las muestras de silicona y PVC se cortaron de una longitud aproximada de 2.5 y 5 mm, respectivamente (Figura 11), preparando, para cada tipo de polímero, 27 muestras, las cuales incluyeron tres correspondientes al control (polímeros sin tratamiento) y 24 tratadas con ocho diferentes proporciones de solvente: solución acuosa, que fueron: 0:10, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 y 9:1, cada una por triplicado.



Figura 11. Vista lateral y superior de las muestras de silicona y PVC cortadas con una longitud de 2.5 y 5 mm, respectivamente, comparando su tamaño con el de una moneda de \$1 MX. Imágenes propias, obtenidas con dispositivo móvil (ver Sección 3.4).

Las secciones de polímero permanecieron en las soluciones de hinchamiento durante 24 horas, y una vez extraídas se midieron sus dimensiones considerando el diámetro externo, diámetro interno y grosor de la pared; luego,

las 54 muestras se colocaron sobre toallas absorbentes y, transcurridas 24 horas adicionales, tras asegurar la completa evaporación del solvente, se repitieron las mediciones. Este procedimiento permitió identificar la proporción de solvente: solución acuosa más adecuada, buscando que el mayor grado de hinchamiento y que, tras la contracción, las dimensiones físicas finales se aproximaran lo máximo posible a las del control original (polímero sin someterse al proceso HEC). Los resultados permitieron seleccionar las proporciones 9:1 y 7:3 para silicona y PVC, respectivamente.

A partir de las mediciones obtenidas para cada dimensión, y tomando como referencia las proporciones de solvente: solución acuosa seleccionadas para PVC (7:3) y silicona (9:1), se calculó el coeficiente de hinchamiento y contracción con base en la relación entre las dimensiones medidas tras el hinchamiento y la contracción respecto a las dimensiones originales; estos resultados se presentan y analizan en la sección 4.2.1.

Se resalta que en esta prueba únicamente se evaluó el hinchamiento y la contracción de las muestras sin encapsular ningún FS, por lo que solo se utilizó acetona como solvente y agua desionizada como solución acuosa.

3.5.1.2. Preparación de stocks de AM y NPs de TiO₂: Rh

Con las proporciones de solvente: solución acuosa para ambos polímeros, el siguiente paso fue preparar las soluciones stock de los FS, las cuales serían posteriormente requeridas para el HEC de las muestras de los polímeros con FS encapsulado.

Para el caso del stock del colorante AM (I.C. 52015, Reactivos y Químicos Meyer, México), se decidió preparar una solución con una concentración de $600 \mu M = 600 \times 10^{-6} \frac{mol}{l}$ en un volumen de $5 ml = 5 \times 10^{-3} l$; así, sabiendo que el peso molecular del AM es $373.90 \frac{g}{mol}$, fue posible calcular la masa del colorante en gramos que debía pesarse, siguiendo la siguiente ecuación:

$$\mathbf{Masa = Concentración \cdot Peso Molecular \cdot Volumen = C \cdot PM \cdot Vol} \quad (1)$$

$$m = \left(600 \times 10^{-6} \frac{mol}{l}\right) \left(373.90 \frac{g}{mol}\right) (5 \times 10^{-3} l) = 1.122 \times 10^{-3} g = \boxed{1.122 mg}$$

Con respecto a la solución con NPs de TiO₂: Rh, las cuales obtuvieron como donación de parte del laboratorio de materiales y aplicaciones del posgrado en dispositivos semiconductores de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, de acuerdo con pruebas realizadas en estudios anteriores [80] se decidió preparar soluciones en las que la masa de este FS correspondiera a $1\text{ mg} = 1 \times 10^{-3}\text{ g}$ por cada mililitro de solución acuosa, de forma que la concentración sería de $1\frac{\text{mg}}{\text{ml}}$.

3.5.1.3. Encapsulación de AM y NPs de TiO₂: Rh en los polímeros

Para encapsular el AM y las NPs de TiO₂: Rh en los polímeros, fue utilizado el método HEC, en el que se preparó una solución de hinchamiento, diluida a la concentración deseada de encapsulación del FS, con las proporciones de solvente: solución acuosa, es decir, acetona: agua desionizada-FS especificadas en 3.5.1.1.

La solución de hinchamiento con AM se preparó con siete partes de acetona como solvente y tres partes de agua desionizada-AM como solución acuosa para el PVC, y con nueve partes de acetona con una parte de agua desionizada-AM para la silicona, del volumen final que se deseaba, de acuerdo con la cantidad de muestras que se necesitaran y la concentración de AM requerida, que para este estudio fue de 30 μM , luego de hacer pruebas a 30 y 60 μM , buscando evaluar si una mayor concentración del FS favorecía la eficiencia de fotoesterilización contra biopelículas de *C. albicans*. En el caso de la solución de hinchamiento con NPs de TiO₂: Rh, se emplearon estas mismas proporciones, teniendo en cuenta que la solución acuosa en este caso correspondía a la mezcla de $1\frac{\text{mg}}{\text{ml}}$ de NPs en agua desionizada, la cual recibió tratamiento en baño ultrasónico (ZZLINKER, LK-D32), durante 32 minutos, y de agitación con vórtex (SCIENTIFIC, VTX5) a 2800 rpm en tres ciclos de 15 segundos cada uno, garantizando mayor dispersión de las NPs.

Con las soluciones de hinchamiento preparadas, se sumergieron las muestras de polímero, cerciorándose de que quedarán totalmente cubiertas por el líquido y de que tuviesen el espacio suficiente para hincharse sin limitaciones; allí permanecieron durante 24 horas en recipientes cerrados y en total oscuridad,

evitando así la fotodegradación de los FS. En el caso de la solución con NPs, esta se mantuvo en continuo movimiento, garantizando la interacción constante de los plásticos con las NPs, dado que estas tienden a precipitarse en el fondo del recipiente, por lo tanto, para el hinchamiento de los polímeros, el frasco con las muestras en esta solución fue colocado en la incubadora de agitación (LUZEREN, THZ-100) a 150 rpm a 37°C.

Cumplido el período de hinchamiento, las muestras se extrajeron de la solución y se colocaron sobre toallas absorbentes en recipientes oscuros y estériles, para luego ser cubiertos con papel filtro (WHATMAN) y así asegurar la completa evaporación de la acetona y la esterilidad de los polímeros. Fue en este paso en el que ocurrió la contracción de la silicona y el PVC, procediendo a esperar 24 horas más, después de la extracción, para poder utilizar las muestras en las distintas pruebas posteriores.

Después de las 48 horas necesarias para el método HEC, se obtuvieron muestras de polímero con FS encapsulado. En el caso específico de las muestras con NPs, se aplicó un proceso de curado adicional en autoclave durante 15 minutos, buscando favorecer la eliminación de NPs no embebidas en la matriz, ya que su permanencia superficial podría incrementar la rugosidad y, con ello, la adhesión del microorganismo evaluado; la elección del curado en autoclave se basó en pruebas preliminares (no incluidas en esta tesis), en las que se comparó su efecto con el de un tratamiento en baño ultrasónico. Ambos MCPF se dividieron en dos grupos de almacenamiento: uno en condiciones de oscuridad total, para evaluar la estabilidad del FS en función del almacenamiento y el reuso; y otro expuesto a iluminación ambiental, con el fin de estudiar posibles procesos de fotodegradación durante el almacenamiento.

Para facilitar la comprensión de los tratamientos aplicados a cada grupo experimental a lo largo de este estudio, a continuación (Tabla 3), se resumen las características de los distintos grupos poliméricos utilizados.

Tabla 3. Características de grupos poliméricos utilizados en el estudio.

Grupo polimérico	Método HEC	Curado térmico	FS encapsulado	Observaciones
PVC	×	×	×	Polímero original sin modificación
PVC HC	✓	×	×	Control para MCPF-AM
PVC HC cur.	✓	✓	×	Control para MCPF-NPs
PVC-NPs	✓	×	TiO ₂ : Rh (1 mg/ml)	Versión preliminar del MCPF-NPs
MCPF-AM	✓	×	AM (30 μM)	Evaluado para TFDa, almacenamiento y reutilización
MCPF-NPs	✓	✓	TiO ₂ : Rh (1 mg/ml)	

3.5.2. Protocolo de interacción Polímero – *C. albicans*

La infección con *C. albicans* fue un paso clave para evaluar la eficacia del tratamiento antimicrobiano en los MCPF, de modo que posteriormente fuese posible determinar la capacidad fotoesterilizable de los materiales al inhibir el crecimiento del hongo, analizando la viabilidad celular tras la exposición a la TFDa.

De una placa Petri con *C. albicans*, sembrada el día anterior en medio agar SDA e incubada a 30°C durante 24 horas, se tomó, con ayuda de un asa bacteriológica con mango de aluminio, extremo color rojo y dimensiones totales de 260 × 2.3 mm, una asada del crecimiento celular, que se depositó en 10 ml de PBS previamente vertidos en un tubo falcón de 15 ml; esta solución fue vortexada y denominada “solución madre”. De aquí se tomaron 20 μl que se colocaron en una cámara Neubauer (ISO LAB) para determinar la cantidad de células por ml, la cual usualmente se encontraba entre 1.5×10^6 y 3.5×10^6 , dependiendo de la cantidad tomada con el asa.

Para este estudio en particular, se estableció una concentración inicial de 1×10^3 células/ml, ya que, de acuerdo con ensayos de estandarización, este valor permite simular condiciones tempranas de colonización fúngica sobre dispositivos médicos, facilitando tanto la formación controlada de biopelículas como la posterior evaluación cuantitativa de la eficacia antimicrobiana de los MCPF al ser sometidos a TFDa. De acuerdo con lo anterior, fue necesario realizar diluciones de la solución madre en PBS para obtener dicha concentración celular.

Al tener la solución con $1 \times 10^3 \text{ cel/ml}$, en recipientes de vidrio con tapa hermética, cuyo volumen se seleccionó de modo que permitiera contener holgadamente tanto las muestras de polímero como el medio de cultivo, evitando el hacinamiento y garantizando una adecuada agitación, se vertieron ocho partes de caldo SDB y dos partes de la solución con la concentración celular ya mencionada; estos recipientes se colocaron durante 48 horas en la incubadora de agitación. Cabe señalar que los frascos que contenían muestras con FS encapsulado fueron cubiertos completamente con papel aluminio para prevenir el fotoblanqueamiento o la generación prematura de EROs antes del tratamiento con TFDa.

3.6. Técnicas de caracterización

La evaluación de los cambios fisicoquímicos de los MCPF resultó importante debido a los procesos de hinchamiento del polímero, encapsulación del FS y posterior contracción de la matriz polimérica modificada, además del curado térmico posterior para los MCPF-NPs, ya que pueden resultar en cambios, que van desde la forma física del polímero hasta alteraciones químicas, que pudieran favorecer o inhibir la adhesión microbiana en la superficie y, del mismo modo, promover la muerte celular de los mismos al tener encapsulados FS.

Se emplearon diversas técnicas de caracterización, iniciando con la determinación de la estabilidad estructural física mediante el cálculo del coeficiente de hinchamiento y contracción, seguido de la interacción con fluidos a través de la medida del ángulo de contacto, y luego los cambios en la

morfología superficial mediante microscopía óptica y SEM. Además, la espectroscopía visible permitió monitorear la absorción del FS, mientras que la evaluación de la actividad antimicrobiana permitió determinar la eficacia de la TFDa en la reducción de *C. albicans*.

Se resalta que las técnicas descritas a continuación se realizaron a todos los grupos poliméricos descritos en la Tabla 3, teniendo en cuenta que esta clasificación fue clave para establecer los grupos de comparación en los análisis estructurales, morfológicos y antimicrobianos posteriores.

3.6.1. Cálculo de coeficiente de hinchamiento y contracción

El coeficiente de hinchamiento y contracción fue un parámetro utilizado para evaluar los cambios dimensionales en los polímeros sometidos al ciclo de HEC, durante el proceso de encapsulación de los FS. Los valores de estos coeficientes se calcularon para las muestras control y para los MCPF, considerando como valores de referencia las medidas de las dimensiones físicas de los polímeros originales.

Como se mencionó en la sección 3.1., en la presente investigación, se emplearon sondas Foley de silicón de 2 vías con globo de 5 ml, calibre 22Fr y tubos de suministro de oxígeno tipo Star Lumen. Para el primer material clínico, de acuerdo con la conversión estándar del sistema French (Fr), el diámetro externo de 22Fr equivale a aproximadamente 7.3 mm, mientras que el diámetro interno fue de 4.5 mm, con un grosor de pared de 1.4 mm. En el caso del dispositivo de PVC, las dimensiones exactas no están disponibles en fuentes públicas, pero según mediciones preliminares realizadas con calibrador digital, el diámetro externo fue de aproximadamente 4.5 mm, el interno de 3.2 mm, y el grosor de la pared de 0.65 mm.

Las muestras de polímero original fueron cortadas con una longitud aproximada de 5 mm (Figura 11) y a partir de la siguiente ecuación fue posible realizar el cálculo de los coeficientes de hinchamiento y contracción:

$$\text{Coeficiente} = \frac{\text{Valor de la dimensión H/C}}{\text{Valor de la dimensión original}} \quad (2)$$

Donde:

- Valor de la dimensión H/C fue la dimensión del polímero después del hinchamiento o la contracción.
- Valor de la dimensión original es la dimensión inicial del polímero antes del proceso HEC.

Las mediciones se realizaron sobre los grupos poliméricos modificados con el protocolo HEC (PVC HC, MCPF-AM, PVC-NPs), además, debido al proceso de curado para la elaboración de los MCPF-NPs, también se realizaron las mediciones pre y post curado de estos materiales y de las muestras control para este grupo (PVC HC cur.). A partir de esto fue posible comparar los valores con los medidos del PVC original para luego calcular los coeficientes de hinchamiento y contracción de acuerdo con la ecuación (2). Para cada grupo se midieron por triplicado el diámetro externo, diámetro interno y grosor de la pared de tres muestras, antes y después del proceso de HEC y del curado.

Al calcular este coeficiente como una razón matemática, los resultados obtenidos se pudieron interpretar a partir de si el coeficiente de hinchamiento y contracción era menor, igual o mayor a la unidad, teniendo los siguientes significados:

- *Coficiente* < 1: Contracción, la dimensión se redujo respecto al valor original.
- *Coficiente* = 1: Sin cambios dimensionales; el polímero recuperó su tamaño original.
- *Coficiente* > 1: Hinchamiento, la dimensión aumentó respecto al valor original.

Este análisis permitió determinar si el polímero se mantuvo estructuralmente estable tras el ciclo de HEC y el curado térmico, para las muestras con NPs, de modo que no fuese afectada su integridad física.

3.6.2. Medición del ángulo de contacto

El ángulo de contacto es el ángulo formado en el vértice donde una gota de líquido (generalmente agua) toca una superficie plana, definiéndose entre la

superficie y la línea tangente trazada a la gota en dicho punto de contacto. Este es una medida clave para caracterizar la hidrofobicidad o hidrofiliidad de una superficie, lo cual influye directamente en su interacción con líquidos, adhesión celular y, en el caso de materiales clínicos, en la formación de biopelículas.

La medición de θ fue una técnica utilizada para determinar la afinidad de la superficie de los polímeros con el agua antes y después del método HEC y del curado, lo que permitió clasificarlos como hidrofílicos (atraen el agua) o hidrofóbicos (repelen el agua), categorizándolos a partir de la tabla 4:

Tabla 4. Clasificación de superficies hidrofílicas o hidrofóbicas de acuerdo con el valor de su ángulo de contacto.

Ángulo de Contacto (θ)	Clasificación	Propiedad
$\theta < 10^\circ$	Superhidrofílica	Afinidad superior por el agua
$\theta < 90^\circ$	Hidrofílica	Alta afinidad por el agua
$\theta > 90^\circ$	Hidrofóbica	Baja afinidad por el agua
$\theta > 150^\circ$	Superhidrofóbica	Efecto de "autolimpieza"

Para determinar si los procesos aplicados durante la elaboración de los MCPF alteraban la afinidad superficial del polímero con el agua, las muestras fueron fraccionadas en secciones correspondientes a aproximadamente 1/5 de su circunferencia, que presentarían superficies con curvatura suave, las cuales posteriormente fueron limpiadas con agua destilada y etanol al 70%. Una vez secas, se colocaron sobre un portaobjetos horizontal y estable para registrar imágenes mediante un montaje experimental (Figura 12), que consistió en una cámara digital (SHENZHEN HAYEAR ELECTRONICS) montada horizontalmente, acoplada a una lente objetivo de vídeo (NAVITAR ZOOM 7000) y un polarizador (THORLABS), el cual permitió regular la intensidad de la luz captada por la cámara; este arreglo se dispuso a una distancia fija de 20 cm respecto al portaobjetos.



Figura 12. Arreglo experimental utilizado para la captura de imágenes y el posterior cálculo del ángulo de contacto.

Para determinar θ , se utilizó una micropipeta (ONILAB, 0.1–2.5 μL) para depositar una gota de 2 μL de agua destilada sobre la superficie del polímero, capturando de inmediato la imagen del perfil de la gota. Las imágenes se registraron tanto a color como en escala de grises (Figuras 13a y 13b), y el análisis se llevó a cabo en el software ImageJ mediante el complemento “Contact Angle”. Tras importar la imagen en escala de grises, se marcaron dos puntos de referencia en la base de la gota (uno a cada extremo) y cinco puntos adicionales sobre su contorno superior. Con base en estos siete puntos, el software calculó automáticamente el ángulo de contacto y su desviación estándar, a partir del trazado gráfico del perfil de la gota (Figura 13c).

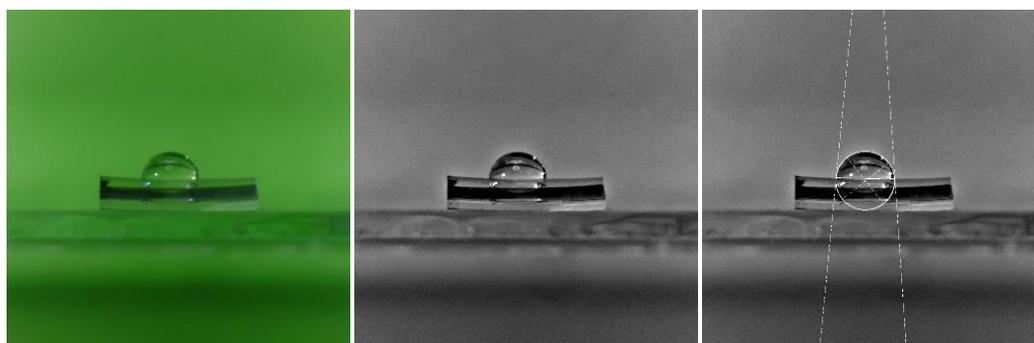


Figura 13. Imágenes de referencia de la captura del perfil de una gota sobre una muestra polimérica a a) color, b) escala de grises y con el c) trazo realizado por ImageJ para el cálculo del ángulo de contacto.

Los valores de θ se determinaron como el promedio de las mediciones realizadas en tres fragmentos por cada uno de los seis grupos poliméricos evaluados: PVC, PVC HC, PVC HC cur., PVC-NPs, MCPF-AM y MCPF-NPs, recordando que este último estuvo sometido a curado térmico.

3.6.3. Microscopía óptica

La microscopía óptica fue una técnica fundamental para la caracterización morfológica de los materiales, ya que permitió la observación de cambios superficiales en la pared de los polímeros tras las modificaciones fisicoquímicas inducidas por el proceso HEC aplicado a la silicona y al PVC, así como también por el curado, durante la elaboración de los MCPF.

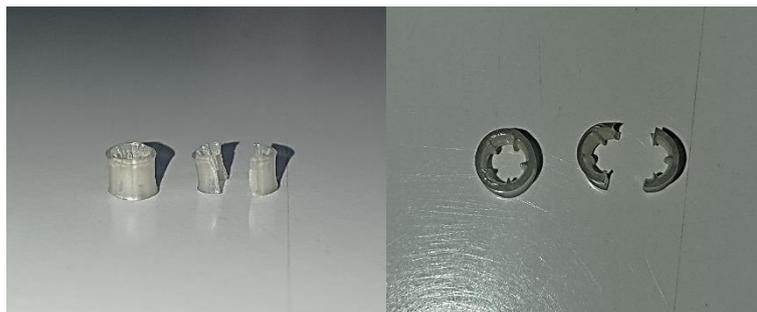


Figura 14. Visualización frontal y superior de los plásticos divididos a la mitad para su observación en el microscopio y medida de su absorbancia en el lector de microplacas. Imágenes propias, obtenidas con dispositivo móvil (ver Sección 3.4).

Las muestras originales de silicona y PVC, al igual que las modificadas, se cortaron verticalmente a la mitad (imagen de referencia en la figura 14) para la observación transversal de la pared del polímero con un microscopio invertido de contraste de fase (LEICA, DMI3000B). Estas observaciones se hicieron con ampliificaciones de 40X, enfocándose en los cambios superficiales generados tras el tratamiento HC, particularmente al seleccionar la proporción de solvente: solución acuosa más adecuada para cada tipo de polímero (Sección 3.5.1.1.), ya que en pruebas preliminares de evaluación de la actividad antimicrobiana se observó que dicho proceso favorecía el crecimiento de *C. albicans* en la silicona, mientras que lo inhibía en el PVC (Sección 4.1.4.); estas diferencias morfológicas sugirieron que el PVC era el polímero más adecuado para esta investigación.

Por otra parte, para visualizar la dispersión de los agregados de NPs en la matriz polimérica de PVC, se realizaron observaciones adicionales con esta misma ampliificación, empleando la microscopía óptica como herramienta para la posterior optimización del método de elaboración de los MCPF-NPs, al evaluar el proceso de curado, valorando así la distribución del FS.

3.6.4. Espectroscopía visible

La espectroscopía visible es una técnica analítica que permite medir la cantidad de luz absorbida por una muestra en función de las longitudes de onda, específicamente en el rango visible; esta absorbancia se relaciona directamente con la concentración de las sustancias presentes, siguiendo la ley de Lambert-Beer, de forma que los espectros de absorción muestran cómo varía la absorbancia de una sustancia en función de la longitud de onda.

Haciendo uso de un lector de microplacas (BIORAD, iMark), se midió la absorbancia de las soluciones líquidas implementadas para el hinchamiento de las muestras de PVC (Sol. acetona: agua desionizada, acetona: agua desionizada-AM y acetona: agua desionizada-NPs, denominándose a estas dos últimas Sol. AM y Sol. NPs, respectivamente, para la evaluación de sus espectros en la sección de resultados) así como también la absorbancia de los controles (PVC HC y PVC HC cur.) y de los MCPF con ambos FS. Tanto para el caso de los líquidos como para el de las muestras sólidas se emplearon microplacas de 96 pozos (COSTAR) en las que se colocaron las soluciones de hinchamiento y las muestras, por quintuplicado, haciendo lecturas de la absorbancia con todas las longitudes de onda con las que cuenta el lector (415, 450, 490, 595, 655 y 750 nm).

Los valores de absorbancia obtenidos por cada solución y tipo de polímero, respecto a longitudes de onda determinadas, se promediaron, graficaron e interpolaron en Excel (Sección 4.3.3), software que automáticamente realiza un ajuste de la curva generada a partir de los datos medidos, creando nuevos puntos dentro de este conjunto para aquellas longitudes de onda con las que no cuenta el dispositivo.

Este procedimiento se hizo durante la primera semana después de preparadas las soluciones y encapsulados los FS en el PVC, tomando nuevas mediciones para los MCPF al primer, tercer y sexto mes de almacenamiento, pudiendo identificar las posibles variaciones en la absorbancia de los MCPF debido a su almacenamiento prolongado al realizar mediciones sobre las muestras

almacenadas tanto en oscuridad como bajo exposición continua a luz ambiental.

Del mismo modo se caracterizó la curva de absorción en las muestras esterilizadas post-TFDa, pudiendo así establecer la disminución de los valores de absorbancia como efecto del tratamiento y, además, conocer si el proceso de esterilizado degradaba el FS.

3.6.5. Microscopía Electrónica de Barrido

SEM (por sus siglas en inglés) es una técnica de caracterización morfológica que permite examinar con alta resolución la topografía superficial de los materiales mediante el barrido de un haz de electrones. En este estudio, SEM fue utilizada para caracterizar las modificaciones morfológicas inducidas por el protocolo HEC sobre la superficie del PVC, así como para evaluar la distribución y encapsulación de las NPs de TiO₂: Rh, incorporadas al polímero; las muestras poliméricas analizadas fueron: PVC, PVC HC, PVC HC cur., PVC-NPs y MCPF-NPs, realizando una caracterización que permitió correlacionar las propiedades estructurales de los MCPF y el encapsulamiento de los FS, con su posible relación con la eficacia de fotoesterilización.

Las micrografías fueron obtenidas en el Laboratorio de Microscopía Electrónica del INAOE, utilizando un microscopio SEM de una sola columna, de filamento de tungsteno (HITACHI, SU3500), el cual cuenta con una resolución máxima de tres nanómetros. Para llevar a cabo la caracterización, las muestras poliméricas se dividieron cuidadosamente en cinco partes, seleccionando secciones considerablemente planas que facilitaran la visualización superficial. Estas fracciones se le entregaron al técnico del laboratorio quien las colocó sobre el portamuestras del microscopio, fijándolas en sus extremos mediante la aplicación de una capa delgada de pintura de plata.

3.6.6. Espectroscopía por Energía Dispersada

EDS (por sus siglas en inglés) es una técnica de análisis elemental que se acopla al SEM y permite determinar la composición química superficial de las muestras a través de la detección de rayos X emitidos por los elementos al

interactuar con el haz de electrones. En el contexto de esta investigación, EDS se utilizó para confirmar la presencia de las NPs de TiO_2 : Rh en las matrices de PVC modificadas mediante el método HEC, permitiendo validar la incorporación efectiva de este FS en el polímero y asimismo evaluar cuantitativamente la composición superficial de las muestras evaluadas.

La caracterización EDS también fue realizada en el INAOE, utilizando el mismo equipo para SEM, el cual cuenta con un sistema de espectroscopía de rayos X por dispersión de energía (BRUKER), lo que permite la ejecución de análisis químicos en paralelo al estudio morfológico. La preparación de las muestras fue la misma que se realizó para el análisis SEM.

Este análisis se aplicó a muestras de PVC, PVC HC, PVC HC cur., y MCPF-NPs. En el caso de los MCPF-AM, se optó por no realizar EDS debido a que la técnica no es la más apropiada, dado que la señal espectral de este FS puede ser sutil y difícil de distinguir de otros compuestos orgánicos presentes en la muestra. Sin embargo, en el caso de los MCPF-NPs, esta herramienta resulta adecuada para identificar los elementos metálicos presentes, en particular Ti y Rh, confirmando su incorporación en el polímero.

3.7. Aplicación de TFDa

La TFDa es el mecanismo central en la evaluación de la capacidad de fotoesterilización del PVC modificado con AM y con NPs de TiO_2 : Rh (MCPF-AM y MCPF-NPs). Se realizó la selección de los parámetros de iluminación, determinando la longitud de onda y la dosis de irradiación más adecuadas para maximizar la generación de EROs sin inducir muerte celular por calentamiento; adicionalmente, se llevó a cabo la evaluación de la fotoestabilidad, analizando la eficiencia de fotoesterilización de los MCPF mediante pruebas de almacenamiento y de reutilización, como se describe posteriormente en las secciones 3.7.3.1 y 3.7.3.2., respectivamente.

3.7.1. Dispositivo de irradiación y selección de parámetros de iluminación

Con los resultados de la prueba de espectroscopía visible (Sección 4.3.3.), donde el AM encapsulado en el PVC presentó un pico de absorción pronunciado a 655 nm y las NPs absorbieron en toda la región visible, fue necesario hacer pruebas de irradiación para determinar la dosis óptima de energía lumínica, que permitiera a la TFDa inducir una reducción celular equivalente a una dosis letal que reduce el 80% de la viabilidad (DL_{80}), o superior, sobre las biopelículas de *C. albicans*.

Se utilizó un dispositivo diseñado específicamente para la irradiación con luz roja de placas de 96 pozos, fabricado en el Centro de Ingenierías del INAOE, el cual cuenta con una plataforma metálica para la disipación térmica y una matriz de doce LEDs (VOLLONG ELECTRONICS) estratégicamente ubicados para alinearse con doce de los pozos totales de las microplacas; la potencia promedio del dispositivo es de 21.63 mW, proporcionando una intensidad de aproximadamente 65,54 mW/cm² y su espectro de emisión máximo está centrado en una longitud de onda de 630 nm, de acuerdo con mediciones realizadas en el laboratorio de TFD del INAOE [5].

Para disminuir la muerte celular por el calentamiento de los MCPF, estos se colocaron en las microplacas, justo en los pozos determinados en que el dispositivo de irradiación tiene los LED's (Figura 15), y se sumergieron en un componente acuoso (200 μ l de PBS) al momento de ser irradiados, así fue posible garantizar que la disminución en las UFC de *C. albicans* se debía principalmente a la TFDa y no a la energía térmica.



Figura 15. Dispositivo LED de irradiación en rojo utilizado en el laboratorio de TFD del INAOE.

Para el MCPF-AM, se inició con 60 J/cm² pero la muerte celular no fue significativa en relación con el control; de este modo la dosis se fue aumentando progresivamente hasta encontrar que la más adecuada fue la de 240 J/cm² pero de manera fraccionada, es decir, dosis de 60 J/cm² suministrada en cuatro sesiones, con períodos intermedios entre ellas de 15 mín. y siempre cubriendo el dispositivo y la placa en una toalla húmeda. La razón del cubrimiento con la toalla húmeda y de que la irradiación fuese por fracciones es que al medir la temperatura de los pozos se pudo encontrar que al superar los 150 J/cm² la temperatura sobrepasaba los 40°C, por lo que la toalla húmeda permitió mantener la temperatura por debajo de este valor, promoviendo de este modo el mayor porcentaje de muerte celular solo por el efecto de la TFDa.

Para el MCPF-NPs se utilizó el mismo dispositivo, de forma que, durante la prueba inicial, la irradiación con una dosis única de 60 J/cm² logró una reducción notable en la viabilidad de *C. albicans*, en contraste con el MCPF-AM, que requirió cuatro exposiciones a la misma dosis para alcanzar un efecto comparable de muerte celular. Por esta razón, la dosis de 60 J/cm² fue seleccionada como condición de tratamiento para las muestras con NPs encapsuladas.

3.7.2. Evaluación de la actividad antimicrobiana

La viabilidad celular se refiere a la capacidad de las células para mantenerse vivas y metabólicamente activas después de la exposición a condiciones adversas, como la TFDa. En este caso, la viabilidad de *C. albicans* en el PVC se evaluó con un ensayo de UFC/ml, contando las colonias visibles tras la interacción del PVC con el hongo bajo diferentes condiciones experimentales dado que este puede formar biopelículas que se adhieren a la superficie, las cuales protegen a las células frente a tratamientos antimicrobianos, dificultando su erradicación.

Inicialmente se evaluaron tres métodos para obtener la mejor muestra y medir la viabilidad celular: cultivo después de usar isopos tallados en las superficies del polímero, cultivo después del tallado del plástico directamente en el medio, y cultivo de la solución líquida obtenida de la agitación con vórtex y la

sonicación de las muestras para desprender la mayor cantidad de células de la superficie; al evaluar el crecimiento de UFC en la placas, el método que ofreció resultados más confiables, al permitir la liberación de la mayor cantidad de células viables de la biopelícula sin dañarlas, fue el tercero, al que se le denominó “Método de Baño Ultrasónico + Vórtex X2”, el cual luego fue aplicado a los siguientes cuatro grupos de interés:

- Control: Muestras de PVC HC o PVC HC cur., sin exposición a luz, utilizadas para establecer el 100% de viabilidad celular.
- Control FS: MCPF sin irradiación, con el objetivo de evaluar la toxicidad de los FS en ausencia de activación luminosa.
- Control Luz: Muestras de PVC HC o PVC HC cur. expuesto a luz roja para observar posibles efectos de muerte celular atribuibles a la radiación por sí sola.
- TFDa: MCPF sometidos a irradiación con luz roja, constituyendo el grupo de tratamiento activo.

El Método de Baño Ultrasónico + Vórtex X2 inició con la recolección de las muestras, de cada grupo, del medio con *C. albicans* para luego colocarlas en toallas estériles de forma que el líquido que rodeaba el plástico fuese absorbido en gran proporción y únicamente quedaran adheridas a este las biopelículas sobre la superficie. Seguidamente se realizó un enjuague en 500 µl de PBS, sumergiendo cada plástico varias veces para nuevamente ser colocados en toallas absorbentes, quitando entonces las células que no estuvieran bien sujetas a las paredes de la muestra.

Las secciones de polímero se colocaron luego en tubos eppendorf de 1.5 ml, cada uno con 1 ml de PBS, y fueron sometidas a baño ultrasónico durante ocho minutos, tiempo correspondiente al máximo establecido por ciclo de funcionamiento del dispositivo; posteriormente, las muestras se agitaron en vórtex durante quince segundos Este procedimiento de sonicación y vortexado se repitió, acumulando un tiempo total de sonicación de 16 minutos y de agitación en vórtex de 30 segundos, de manera que la solución líquida resultante, que contenía las células recuperadas y fragmentos de biopelícula de

C. albicans desprendidos de las secciones poliméricas, fue denominada “solución de recuperación celular” para su posterior análisis.

Las muestras se extrajeron de la solución de recuperación celular, la cual después fue diluida con PBS en una proporción 1:5, formando entonces una última solución de la cual se tomaron 50 µl que fueron sembrados masivamente en placas Petri con medio SDA, permitiendo evaluar la viabilidad celular de las cinco muestras de cada uno de los cuatro grupos analizados. Estas placas se llevaron a la incubadora (RIOSSA, E-41) a 30°C durante 24 horas, finalizado este tiempo se contaron las UFC en cada una, considerando que cada colonia observada correspondía a una célula viable capaz de proliferar.

3.7.3. Evaluación de la fotoestabilidad

La fotoestabilidad de los MCPF-AM y los MCPF-NPs, fue un factor clave para determinar su eficacia en la aplicación de una o de múltiples dosis de TFDa. Para evaluar la estabilidad del FS y la capacidad de fotoesterilización de los MCPF a lo largo del tiempo, se realizaron pruebas de almacenamiento, en las que se analizaron los cambios en sus propiedades fotoesterilizables tras periodos de almacenamiento de una semana, un mes, tres y seis meses en condiciones de oscuridad y luz ambiental, además de pruebas de reutilización, en las que las muestras fueron sometidas a TFDa con dosis repetidas y ciclos de esterilización. En ambos experimentos, se monitoreó la disminución del espectro de absorbancia de los FS en los MCPF, y la viabilidad de *C. albicans* tras la TFDa.

3.7.3.1. Pruebas de almacenamiento

Se elaboraron lotes con al menos 100 muestras de MCPF con ambos FS, para realizar las pruebas descritas en las secciones anteriores durante las semanas uno, cuatro, doce y veinticuatro, posteriores a su elaboración. Con la aplicación del procedimiento descrito en la sección 3.7.2. en cada uno de estos intervalos, fue posible analizar la estabilidad de los FS encapsulados en los MCPF y estimar su pérdida de eficiencia con el tiempo, lo que permitió establecer un valor aproximado de su vida útil bajo las condiciones de oscuridad y luz ambiental.

3.7.3.2. Pruebas de reutilización

Con el propósito de caracterizar la cantidad de usos que podrían dárseles a los MCPF, se probaron dos distintas técnicas de esterilización (esterilización mediante exposición a luz UV y esterilización con autoclave), pudiendo luego escoger la que sería más efectiva para reuso y repetido tratamiento de TFDa. Después de que las muestras interactuaran con *C. albicans* durante 48 horas, se extrajeron y lavaron con agua desionizada estéril; cinco de estas fueron esterilizadas con la caja de luz UV mientras que otras cinco se llevaron al autoclave; ambas pruebas en tiempos totales de media hora. Los plásticos “ya estériles” se colocaron cada uno en 1 ml de caldo SDB y se llevaron a la incubadora de agitación durante 24 horas, en compañía de un eppendorf que únicamente tenía caldo (sin polímero) el cual serviría como valor blanco o de referencia. Cumplido el tiempo de incubación, los once eppendorf fueron sacados y de cada uno de ellos se vertieron, por quintuplicado, 100 μ l del caldo en microplacas de 96 pozos.

La densidad óptica a 595 nm (DO_{595nm} , también referida como absorbancia en el área de la óptica), longitud de onda a la que principalmente absorbe *C. albicans*, fue medida con el lector de microplacas pudiendo establecer cuál sería el método de esterilización más acertado, ya que este debería presentar valores de absorbancia bastante aproximados a los del blanco. Los resultados sugirieron que el mejor método para la esterilización post-TFDa fue el del autoclave (Sección 4.2.3.).

Habiendo determinado lo anterior, se realizó la prueba de reuso iniciando con muestras con FS que tenían una semana de elaboración; luego de darles un primer tratamiento con TFDa, estas muestras se esterilizaron durante 30 mín. en el autoclave, se agregaron en agua desionizada estéril y se vortexearon durante 15 segundos para eliminar cualquier residuo. Una semana después se aplicó un segundo tratamiento de TFDa, seguido de esterilización, repitiendo el proceso semanalmente hasta el punto en que, ya el tratamiento no tuviera ningún efecto o diferencia significativa con la cantidad de UFC/ml de las muestras de control a las que nunca se les dio TFDa. Los tratamientos fotodinámicos se aplicaron a una dosis total acumulada de 240 J/cm²,

fraccionada en sesiones de 60 J/cm², para los MCPF-AM, y a 60 J/cm² para los MCPF-NPs.

Durante la prueba de reuso, se seleccionaron muestras de control y de MCPF, con una semana de elaboración, que no estuvieron en contacto con *C. albicans*, con el fin de evaluar la fotoestabilidad de los FS encapsulados sin la influencia de la interacción biológica. A estas muestras se les midió la curva de absorción, evaluando la exposición individual tanto al tratamiento como a la esterilización, pudiendo comparar sus espectros de absorción con los del PVC sin FS usado como control en cada caso y así caracterizar el efecto que la irradiación y la esterilización térmica ejercen sobre la degradación fotoquímica de los FS encapsulados en el PVC.

Todos los experimentos anteriormente descritos se realizaron por quintuplicado, y los resultados obtenidos se expresaron como media \pm desviación estándar, aplicándoseles un análisis estadístico mediante ANOVA de una vía, seguido de una prueba post hoc de Tukey para comparar las diferencias entre los grupos; se consideró estadísticamente significativa toda diferencia con un valor de $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

Este capítulo presenta los resultados obtenidos durante la elaboración y caracterización de MCPF basados en FS de segunda y tercera generación, orientados a la inhibición de *C. albicans*. Se inicia con los resultados obtenidos para pruebas preliminares realizadas en silicona y PVC para optimizar el proceso HEC, evaluando parámetros como la proporción de solvente: solución acuosa, la encapsulación del AM, los cambios morfológicos observados por microscopía y la adhesión fúngica a los MCPF. Posteriormente, se profundiza en el desarrollo de los MCPF-AM y los MCPF-NPs, detallando sus propiedades fisicoquímicas (coeficiente de hinchamiento y contracción, ángulo de contacto y EDS), su estructura superficial (microscopía óptica y SEM), su eficacia de esterilización (viabilidad celular) y estabilidad fotoquímica (espectroscopía visible), considerando la reutilización y el almacenamiento durante seis meses en condiciones de luz y oscuridad.

4.1. Evaluación preliminar de matrices poliméricas

Esta sección describe los resultados obtenidos durante la fase preliminar del estudio, en la que se evaluaron las condiciones necesarias para modificar matrices poliméricas clínicas de silicona y PVC mediante el método HEC. Se probaron diferentes proporciones de solvente: solución acuosa y se realizó la encapsulación del FS AM, para luego analizar las primeras modificaciones visuales y estructurales en los materiales. Además, se llevó a cabo una prueba inicial de viabilidad microbiana para explorar la efectividad de los materiales modificados contra a *C. albicans*.

4.1.1. Selección de la relación óptima solvente: solución acuosa

En esta sección se presentan los cambios dimensionales provocados por el método HEC sobre muestras de silicona y PVC, en función de diferentes proporciones de acetona: agua desionizada. La selección de los rangos evaluados se basó en estudios previos realizados por Noimark et al. [64, 65], quienes aplicaron este mismo método sobre los mismos polímeros, utilizando el protocolo propuesto por Perni et al. [61]. A partir de ello, en este trabajo se

exploraron proporciones similares, con el fin de identificar la relación óptima de solvente: solución acuosa para lograr un hinchamiento adecuado de las matrices y facilitar la posterior encapsulación de los FS.

Los resultados obtenidos no solo permitieron observar diferencias clave entre ambos polímeros en su respuesta al proceso de hinchamiento y contracción, sino que también corroboraron la viabilidad de las proporciones propuestas por Noimark, específicamente 7:3 para PVC y 9:1 para silicona. En las Tablas 5 y 6 se presentan los valores promedio obtenidos para el diámetro externo, el diámetro interno y el grosor de la pared, después de cada etapa del tratamiento, comparados con el polímero original.

Los resultados mostraron que para el PVC la relación 7:3, de acetona: agua desionizada, fue la más adecuada, pues generó un hinchamiento significativo, aproximado al 6% en el diámetro externo y al 2% en el diámetro interno, permitiendo el ingreso del FS, mientras que, tras la contracción el material recuperó en gran medida su tamaño original con valores comparables, en las tres dimensiones, al valor inicial del control sin tratamiento (Tabla 5), preservando la forma del material. Además, se observó que otras proporciones como 8:2 o 9:1, si bien también generaron hinchamiento, presentaron un comportamiento menos predecible durante la contracción, con reducciones más marcadas del grosor de pared, lo cual podría comprometer la integridad y por ende el funcionamiento del material.

Tabla 5. Dimensiones medidas durante el proceso HEC del PVC a diferentes proporciones solvente: solución acuosa.

Razón solvente: solución acuosa	Dimensiones del PVC post hinchamiento ± 0.03 (mm)			Dimensiones del PVC post contracción ± 0.03 (mm)		
	Diámetro externo	Diámetro interno	Grosor de pared	Diámetro externo	Diámetro interno	Grosor de pared
0:0	4.50	3.20	0.65	4.50	3.20	0.65
0:10	4.51	3.27	0.65	4.47	3.31	0.58

3:7	4.68	3.32	0.68	4.60	3.31	0.64
4:6	4.59	3.32	0.64	4.49	3.25	0.62
5:5	4.68	3.40	0.64	4.54	3.35	0.59
6:4	4.75	3.25	0.75	4.59	3.30	0.64
7:3	4.77	3.27	0.75	4.54	3.29	0.63
8:2	4.90	3.55	0.68	4.59	3.36	0.61
9:1	5.16	3.67	0.75	4.61	3.36	0.62

En el caso de la silicona (Tabla 6), la proporción 9:1 de acetona: agua desionizada fue la más adecuada, ya que permitió una expansión más pronunciada tras el proceso de hinchamiento, en comparación con todas las proporciones menores, y una contracción posterior, con valores que retornaron a niveles muy similares a los del control, indicando que, a pesar del aumento dimensional inicial, el polímero fue capaz de recuperar su forma casi por completo. Este comportamiento sugirió una buena estabilidad estructural bajo el protocolo HEC, sin alterar significativamente la forma original del material.

Tabla 6. Dimensiones medidas durante el proceso HEC de la silicona a diferentes proporciones solvente: solución acuosa.

Razón solvente: solución acuosa	Dimensiones de la silicona post hinchamiento ± 0.03 (mm)			Dimensiones de la silicona post contracción ± 0.03 (mm)		
	Diámetro externo	Diámetro interno	Grosor de pared	Diámetro externo	Diámetro interno	Grosor de pared
0:0	7.30	4.50	1.40	7.30	4.50	1.40
0:10	7.35	4.63	1.36	7.33	4.57	1.38
3:7	7.29	4.66	1.32	7.25	4.50	1.38

4:6	7.33	4.62	1.36	7.22	4.56	1.33
5:5	7.27	4.68	1.30	7.21	4.57	1.32
6:4	7.42	4.64	1.39	7.21	4.50	1.36
7:3	7.38	4.59	1.40	7.22	4.49	1.37
8:2	7.47	4.67	1.40	7.20	4.54	1.33
9:1	7.54	4.70	1.42	7.22	4.57	1.33

4.1.2. Interacción entre el AM y las matrices poliméricas

Una vez determinadas las proporciones óptimas de solvente: solución acuosa para el método HEC, se procedió a la encapsulación del AM en ambas matrices poliméricas (silicona y PVC).

Visualmente, se confirmó que las concentraciones 30 y 60 μM de AM lograron teñir las muestras de manera homogénea, pero en pruebas iniciales de viabilidad celular, realizadas cuando el PVC ya había sido escogido como polímero predilecto para este estudio, no se evidenciaron variaciones relevantes entre los recuentos de UFC obtenidos con ambas concentraciones (Figura 16), por lo que se optó por emplear la menor concentración de AM. Posteriormente, al comparar la intensidad de coloración a 30 μM entre las dos matrices, el PVC mostró una tonalidad ligeramente más intensa que la silicona, lo cual sugirió una mayor retención superficial del colorante en esta matriz (Figura 17).

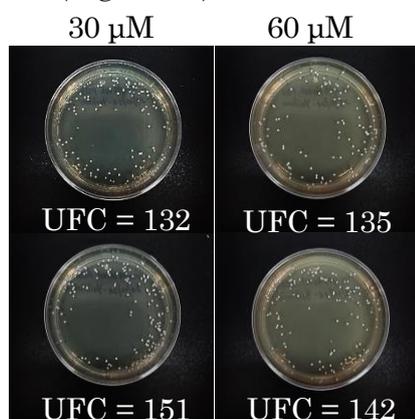


Figura 16. Prueba preliminar de viabilidad celular de *C. albicans* en MCPF-AM a 30 y 60 μM , por duplicado.

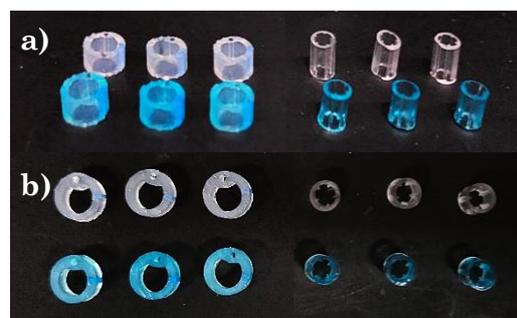


Figura 17. Muestras de silicona y PVC: originales y con AM encapsulado a 30 μM . a) Vistas lateral y b) superior. Imágenes propias, obtenidas con dispositivo móvil (ver Sección 3.4).

4.1.3. Comparación morfológica post HEC mediante microscopía óptica

Las imágenes obtenidas mediante microscopía óptica permitieron comparar las modificaciones superficiales inducidas por el protocolo HEC en las matrices poliméricas evaluadas. A continuación, se presentan las micrografías correspondientes a las muestras de silicona y PVC, tanto originales como tras la incorporación de AM, evidenciando diferencias notables en la morfología de cada material.

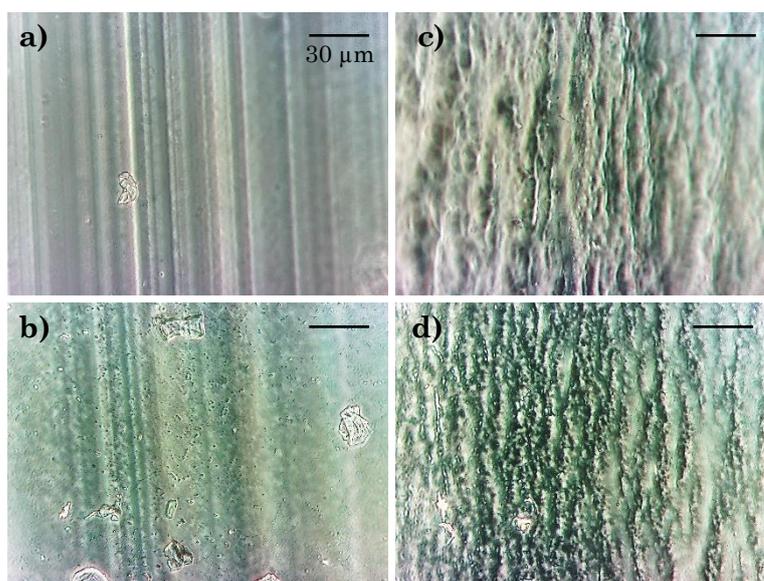


Figura 18. Micrografías a 40X/0.50 de silicona y PVC originales (a y c) y los HEC con AM (b y d), respectivamente.

Las imágenes mostraron una coloración homogénea en las secciones con AM, además, en el caso de la silicona, el material original (Figura 18a) presentó una superficie lisa y continua, mientras que tras el método HEC con AM (Figura 18b) se evidenciaron irregularidades en la superficie. Por otro lado, el PVC original (Figura 18c) mostró una superficie con surcos evidentes, mientras que, tras el proceso de hinchamiento, encapsulación de AM y posterior contracción (Figura 18d), dichos surcos menos profundos.

4.1.4. Evaluación inicial de viabilidad microbiana

Los resultados obtenidos tras la evaluación de la viabilidad celular de *C. albicans* sobre los polímeros modificados con AM permitieron determinar la eficacia antimicrobiana inicial del proceso de incorporación del FS, así como

comparar la respuesta del microorganismo en función del tipo de polímero utilizado. La figura 19 muestra los resultados obtenidos tras la siembra, evidenciando diferencias marcadas entre los dos tipos de polímeros y los efectos del método HEC.

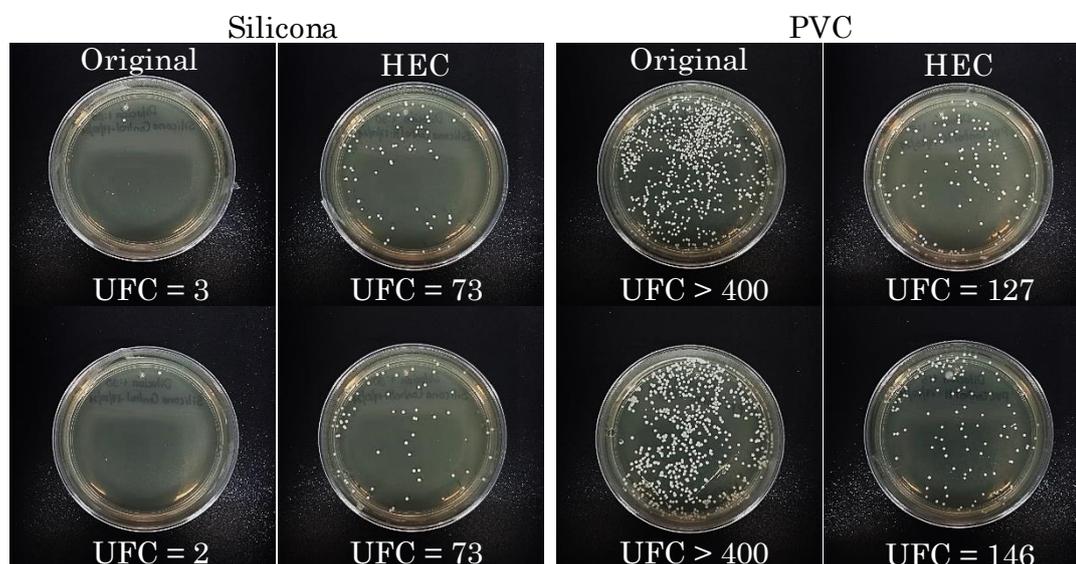


Figura 19. Visualización de la cantidad de UFC/50 μ l de *C. albicans* adheridas a silicona y PVC originales (a y c) y sometidos a HEC (b y d). Imágenes propias, obtenidas con dispositivo móvil (ver Sección 3.4).

En el caso de la silicona original (Figura 19a), se observó una proliferación de *C. albicans*, con aproximadamente de 2 a 3 UFC/50 μ l, cifra inferior a la registrada en la silicona sometida al método HEC (Figura 19b), la cual mostró un crecimiento con hasta 73 UFC/50 μ l. En contraste, los resultados del PVC mostraron una tendencia opuesta a la descrita anteriormente con la silicona; el material original (Figura 19c) presentó un crecimiento elevado con una cantidad de UFC/50 μ l superior a 400, indicando una alta capacidad de adhesión de *C. albicans*; sin embargo, en el PVC tratado con HEC (Figura 19d), se observó una reducción notable en la formación de colonias, con un conteo aproximado de 136 UFC/50 μ l que, representando una disminución con respecto al material original. Al ser esta una evaluación preliminar, las muestras evaluadas por cada grupo fueron dos y sus resultados corresponden a las imágenes de la Figura 19.

Estos hallazgos concuerdan con los resultados morfológicos previos, donde se observó un alisamiento parcial de la superficie del PVC tras el tratamiento (Figura 18d), lo cual puede haber reducido los sitios de anclaje para la formación de biopelículas.

4.2. Caracterización de los MCPF basados en PVC

Tras la selección del PVC como material clínico polimérico óptimo para la incorporación de FS, se desarrollaron y caracterizaron secciones del polímero modificadas con AM y NPs de TiO_2 : Rh. Esta sección presenta los resultados detallados relacionados con las propiedades fisicoquímicas de los MCPF y su capacidad antimicrobiana inicial, análisis importantes para establecer la eficacia del sistema contra a biopelículas de *C. albicans*.

Al elaborar los MCPF, fueron notables las diferencias en el aspecto de estos respecto al material clínico original, siendo evidente que el PVC original presenta una transparencia sin ninguna tonalidad en particular, mientras que los MCPF con ambos FS cambiaron de coloración, siendo azules los MCPF-AM y beige los MCPF-NPs (Figura 20).

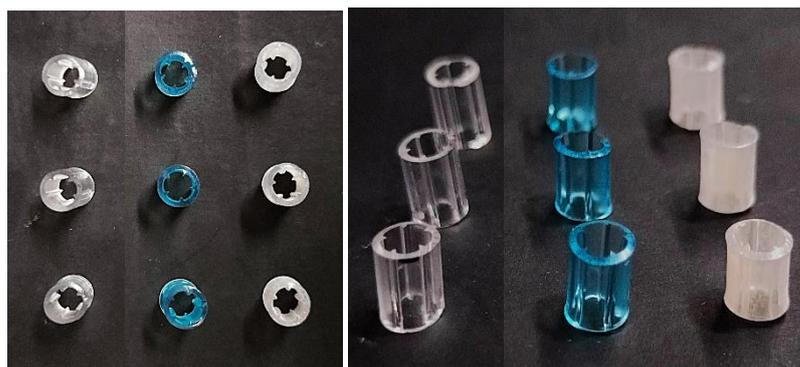


Figura 20. Vistas superior y lateral del PVC original y los MCPF con AM y NPs, de izquierda a derecha respectivamente. Imágenes propias, obtenidas con dispositivo móvil (ver Sección 3.4).

4.2.1. Caracterización estructural

En esta sección se presentan los resultados relacionados con el comportamiento dimensional del PVC tras la aplicación del protocolo HEC y del proceso de curado, expresado en términos del coeficiente de hinchamiento y contracción; además, se muestran los resultados obtenidos de la medición del ángulo de contacto sobre las distintas superficies poliméricas evaluadas. Estas evaluaciones permitieron identificar los cambios estructurales generados por los procesos aplicados para la elaboración de los MCPF.

Respecto al coeficiente de hinchamiento y contracción se recuerda que, al ser calculado como un cociente basado en una razón matemática, valores mayores

a 1 indican hinchamiento, menores a 1 reflejan contracción, y valores cercanos a 1 representan estabilidad dimensional.

Durante la etapa de hinchamiento, todos los tratamientos mostraron coeficientes HC mayores a 1 en las tres dimensiones evaluadas, lo cual indica que el protocolo HEC generó un aumento efectivo en el volumen del PVC con respecto a su estado original; este comportamiento fue especialmente evidente en el tratamiento con NPs de TiO₂:Rh, que presentó los mayores valores tanto en el diámetro externo como interno (Tabla 7).

Tabla 7. Razón media de hinchamiento y contracción de las muestras de PVC tratadas mediante HEC, inmediatamente después de sacarlas de la solución de hinchamiento y tras la evaporación del solvente residual, así como también de las sometidas a curado térmico.

	Coeficiente HC del PVC post hinchamiento ± 0.03 (mm)			Coeficiente HC del PVC post contracción ± 0.03 (mm)		
	Diámetro externo	Diámetro interno	Grosor de pared	Diámetro externo	Diámetro interno	Grosor de pared
HEC a 7:3						
PVC HC	1.06	1.02	1.15	1.01	1.03	0.97
MCPF-AM	1.09	1.05	1.18	1.02	1.04	0.97
PVC-NPs	1.14	1.15	1.14	1.01	1.00	1.03
	Coeficiente HC del PVC pre curado térmico ± 0.03 (mm)			Coeficiente HC del PVC post curado térmico ± 0.03 (mm)		
PVC HC cur.	1.01	1.03	0.97	1.01	1.04	0.94
MCPF-NPs	1.01	1.00	1.03	1.00	1.01	0.96

Por su parte, el MCPF-AM también presentó un hinchamiento efectivo, aunque en menor magnitud, con coeficientes de 1.09 en el diámetro externo, 1.05 en el interno y un grosor de pared de 1.18. Incluso en el grupo sin FS (PVC HC), se observaron incrementos moderados en las dimensiones (1.06 en el diámetro

externo, 1.02 en el interno y 1.15 en el grosor de pared), atribuibles únicamente al efecto físico del solvente sobre el polímero, por lo que el proceso de hinchamiento por sí solo logró inducir cierta expansión, independiente del tipo de FS incorporado.

Tras el proceso de contracción, los coeficientes de hinchamiento y contracción en todos los grupos se aproximaron nuevamente a la unidad, reflejando una recuperación parcial o casi completa de las dimensiones iniciales; en particular, el diámetro externo se mantuvo prácticamente constante para todos los tratamientos y se observaron contracciones en el grosor de pared, especialmente en el PVC-HC y MCPF-AM; por su parte el MCPF-NPs mantuvo este primer parámetro ligeramente por encima de 1, además al comparar los coeficientes antes y después del curado, no hubo diferencia visible respecto a la morfología original del material.

Al comparar los grupos sin FS (PVC HC y PVC HC cur.) y aquellos con capacidad fotoesterilizable (MCPF-AM, PVC-NPs y MCPF-NPs), se concluye que, si bien existen variaciones leves en los valores de hinchamiento y contracción, especialmente con el PVC-NPs, todos los coeficientes se mantuvieron dentro de un rango cercano a la unidad, de modo que no se afectó de manera considerable la estabilidad dimensional del PVC debido al protocolo HEC ni al posterior curado.

Ahora bien, respecto al análisis del ángulo de contacto, este permitió determinar cómo las modificaciones estructurales inducidas por el protocolo HEC y el curado térmico afectaron las propiedades superficiales del PVC, en particular su comportamiento hidrofílico o hidrofóbico.

Los resultados mostraron que el PVC presentó un ángulo de contacto de aproximadamente 90° , encontrándose en el límite entre superficies hidrofílicas e hidrofóbicas, además, en comparación con el material original todos los grupos tratados mostraron un incremento en los valores del ángulo, indicando una tendencia hacia una mayor hidrofobicidad (Figura 21).

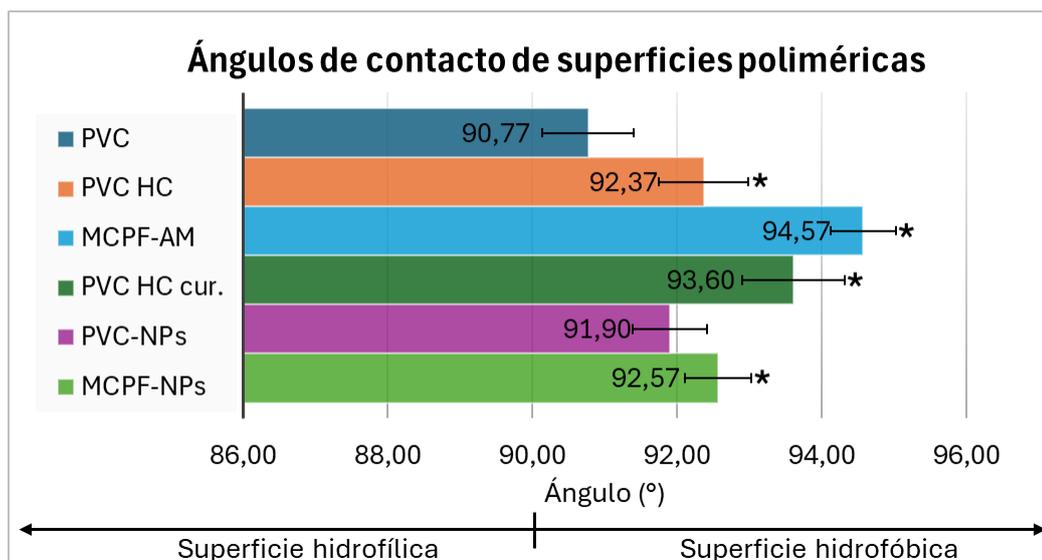


Figura 21. Caracterización de la hidrofobicidad de los distintos grupos poliméricos en función de su ángulo de contacto. * indican diferencias estadísticamente significativas en comparación con el grupo de control (PVC) con $p < 0,05$.

Al comparar los MCPF, el aumento en θ fue más evidente en el MCPF-AM, con $\sim 4^\circ$ más que el material original, que en el MCPF-NPs, con $\sim 2^\circ$ más que el PVC. El grupo PVC-NPs presentó el menor aumento en θ , con un ángulo de $91,90^\circ$, siendo el único grupo de todos los evaluados en no presentar diferencias estadísticamente significativas respecto al control (PVC).

4.2.2. Caracterización morfológica y composicional

En esta sección se presentan los resultados relacionados con los cambios en la morfología y composición elemental de los MCPF en comparación con los grupos controles.

El análisis microscópico permitió identificar de manera preliminar la distribución de los FS y las posibles alteraciones de textura asociadas a los procesos de elaboración, aspectos cruciales para el desempeño funcional de los MCPF. Las micrografías demostraron que el PVC original presentó una superficie relativamente homogénea, con surcos marcados y una coloración neutra (figura 22a); por su parte, el PVC HC (Figura 22b) conservó esta uniformidad, aunque se observaron surcos más finos y atenuados, lo cual concuerda con los resultados descritos en la sección 4.1.3, donde el tratamiento

de HC ya había mostrado una menor profundidad de estos patrones morfológicos.

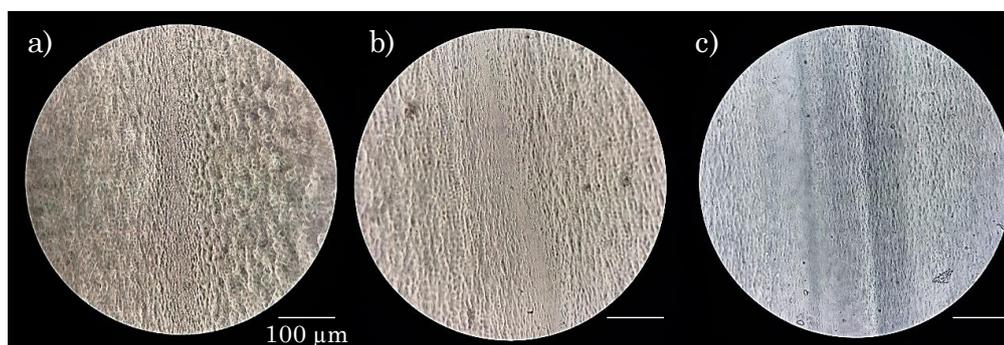


Figura 22. Micrografías superficiales a 40X/0.50 del a) PVC original, b) PVC HC y c) MCPF-AM.

Por otra parte, el MCPF-AM (Figura 22c) exhibió una coloración azulada continua y uniforme, indicando una integración efectiva del FS en toda la superficie y una distribución homogénea sin acumulaciones ni zonas sin teñir; este tipo de absorción superficial es relevante, ya que la uniformidad del AM puede influir directamente en la eficacia de la fotoesterilización, asegurando una respuesta homogénea ante la iluminación.

En cuanto a los materiales de PVC con NPs de TiO_2 : Rh, el PVC-NPs presentó una superficie con una tonalidad similar al material original, aunque con la aparición de cúmulos oscuros dispersos, que se asumen como agregados de NPs (Figura 23a); sin embargo, tras el curado térmico en autoclave, el MCPF-NPs (Figura 23b), mostró una superficie más limpia y regular, con los cúmulos anteriormente visibles más dispersos.

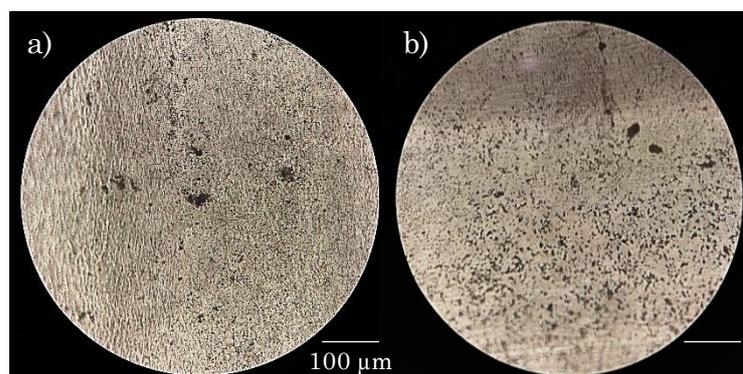


Figura 23. Micrografías superficiales a 40X/0.50 del a) PVC NPs y b) MCPF-NPs.

Las micrografías obtenidas por SEM permitieron comparar la topografía superficial entre el PVC, los controles (PVC HC y PVC HC cur.) y los materiales

con NPs (PVC-NPs y MCPF-NPs), evidenciando la influencia de cada tratamiento sobre la organización estructural del polímero y la posible localización de los FS en la superficie; estas imágenes fueron obtenidas a escalas de $50\ \mu\text{m}$ y $10\ \mu\text{m}$, alineadas a la izquierda y a la derecha, respectivamente, en las figuras 24 a 26.

En la imagen correspondiente al PVC original (Figura 24), se observó una superficie con textura marcada y surcos amplios, distribuidos irregularmente a lo largo del campo visual; estas estructuras son consistentes con los patrones observados previamente mediante microscopía óptica (Figura 22a), donde también se evidenció una superficie rugosa, además a $10\ \mu\text{m}$, las imágenes SEM mostraron relieve superficial.

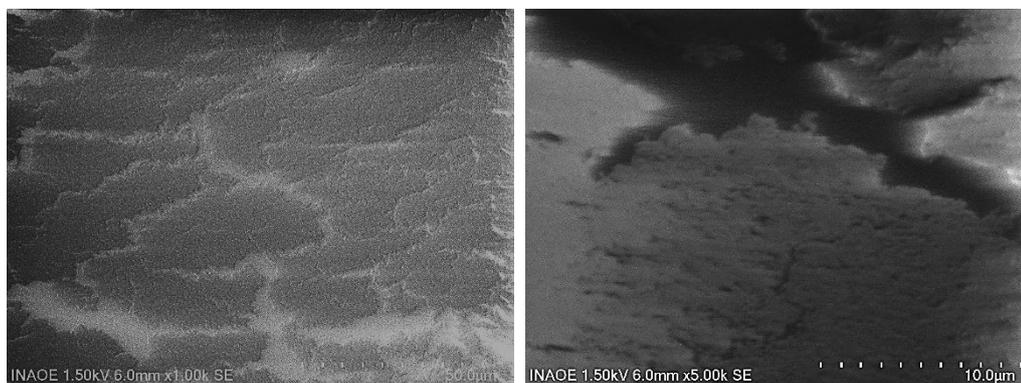


Figura 24. Micrografías SEM de PVC original a escalas de 50 y $10\ \mu\text{m}$, respectivamente.

Tras la aplicación del protocolo HEC, la superficie del PVC HC (Figura 25, fila superior), mostró una transformación evidente, pues las micrografías indicaron una reducción de los surcos y homogeneidad en la textura, reflejando una superficie más lisa y con menor relieve en comparación al polímero original (Figura 24), fenómeno que también fue observado por microscopía óptica (Figura 22b). En el caso del PVC HC sometido a curado (Figura 25, fila inferior), las micrografías revelaron una textura aún más uniforme, con inconsistencias superficiales menos marcadas, comparadas con los polímeros antes mencionados (PVC y PVC HC).

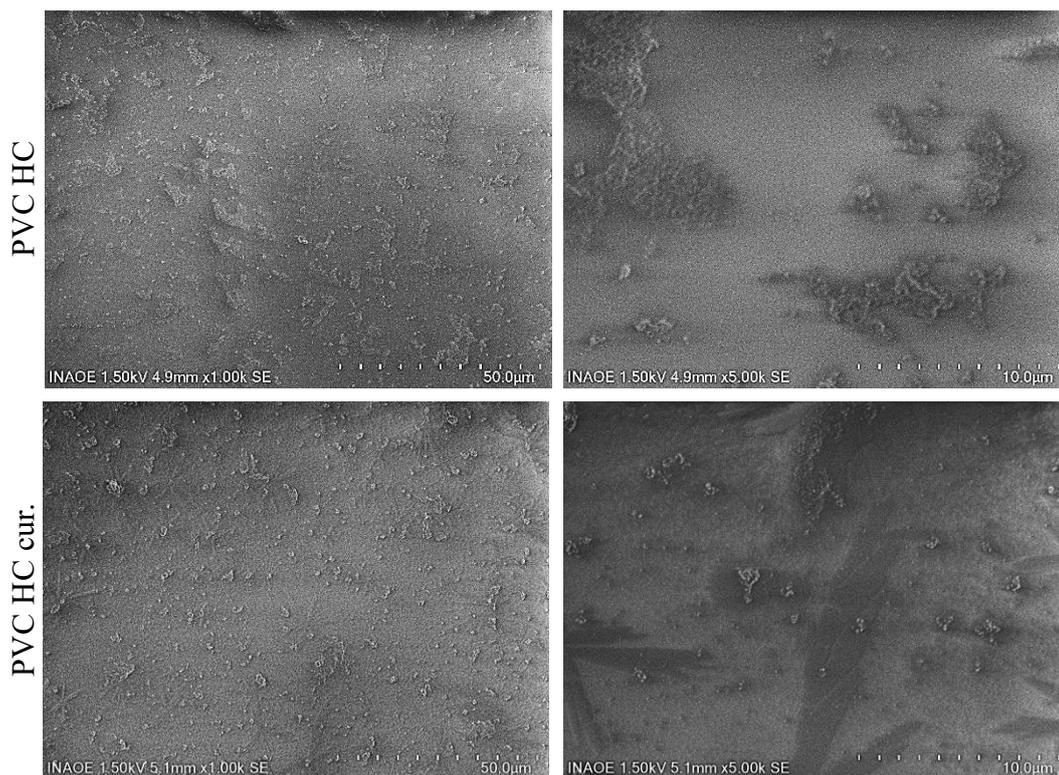


Figura 25. Micrografías SEM de PVC HC (fila superior) y PVC HC sometido a curado (fila inferior).

Tras el curado térmico en el autoclave (Figura 26, fila inferior), la superficie adquirió un aspecto organizado, con una distribución de NPs más homogénea y dispersa comparada con la del PVC-NPs, congruente con lo observado en la figura 23b. Una observación adicional relevante, aportada por el técnico responsable del análisis SEM, fue que las muestras con NPs sometidas al curado presentaron menor carga durante la observación, es decir, fueron menos resistivas al paso del haz de electrones, lo cual facilitó una mejor visualización.

En cuanto a las muestras con NPs de TiO_2 : Rh (Figura 26), las imágenes del PVC-NPs (fila superior) mostraron una superficie recubierta con agregados irregulares, los cuales se interpretaron como cúmulos de NPs; a escala de $10\ \mu\text{m}$, estos montículos aparecen más definidos, con zonas de acumulación más densas, lo que confirmó visualmente la integración de las NPs en la matriz polimérica.

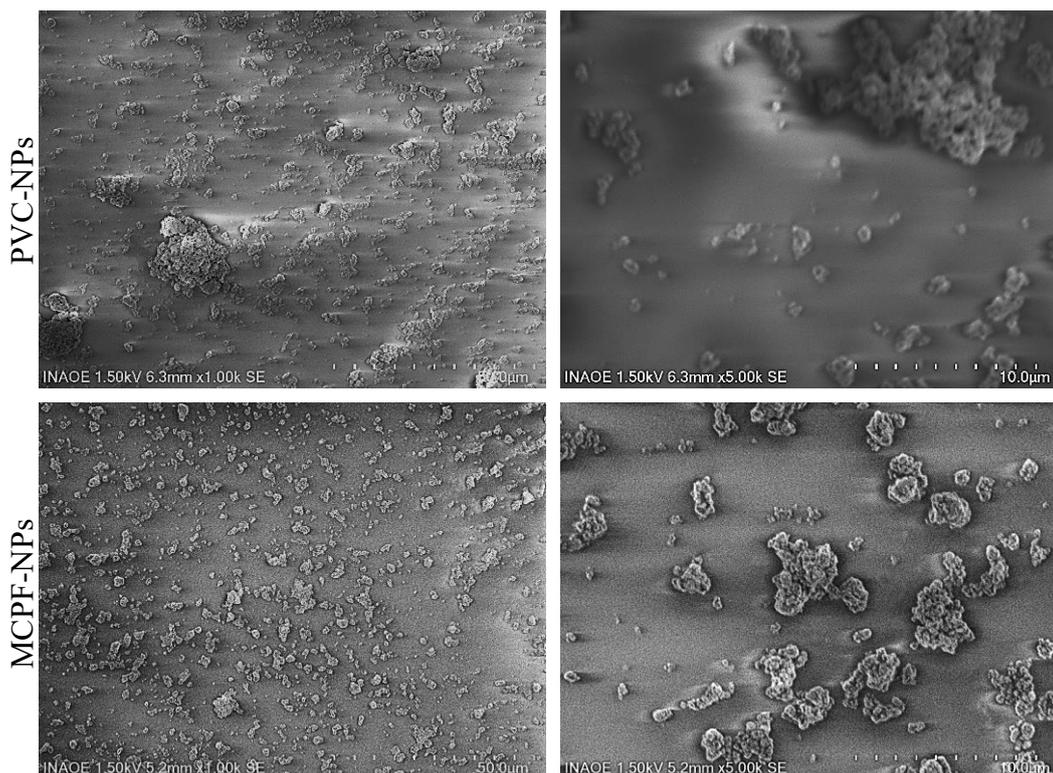


Figura 26. Micrografías SEM de PVC-NPs (fila superior) y PVC-NPs sometido a curado (fila inferior).

Con el fin de complementar el análisis morfológico obtenido mediante SEM, EDS permitió identificar la presencia de los elementos constitutivos de los FS incorporados, en particular del titanio, confirmando su integración superficial en las muestras tratadas con NPs de TiO_2 : Rh, así como analizar posibles diferencias de composición entre los materiales curados y no curados.

Es necesario aclarar que, en los siguientes resultados, aunque la escala del eje vertical (intensidad en cps/eV) varía entre los espectros, este valor no afecta la comparación cualitativa ni la identificación de elementos, ya que lo relevante es la posición de los picos en el eje de energía y la presencia o ausencia de señales características; como explicó el técnico responsable, estas diferencias de escala responden al tiempo de exposición del detector para cada barrido y no reflejan diferencias reales en la concentración elemental.

En la muestra de PVC original (Figura 27), se observaron los picos característicos de carbono, oxígeno y cloro, con un predominio de C (83.13% en porcentaje en masa normalizada) y una proporción importante de Cl (14.10%),

como es esperable por la presencia del grupo cloruro en la cadena del PVC; finalmente el oxígeno apareció en menor proporción (13.28%).

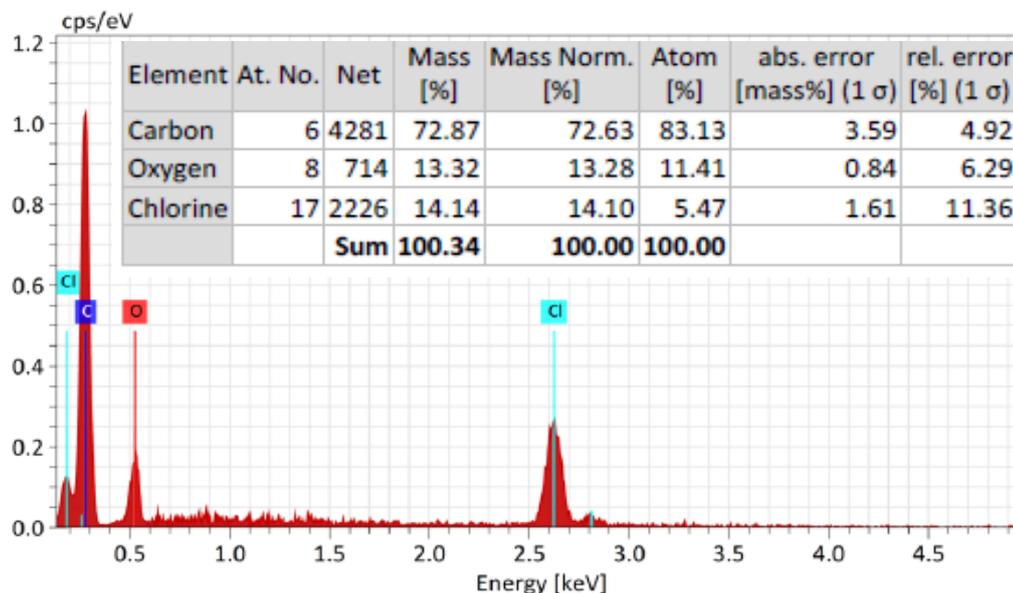


Figura 27. Espectro EDS obtenido de la superficie del PVC original.

En la muestra de PVC HC (Figura 28), se observó una proporción similar de elementos, aunque con un ligero aumento en el contenido de C y O (84.88% y 14.80%, respectivamente) y disminución del Cl (3.33%).

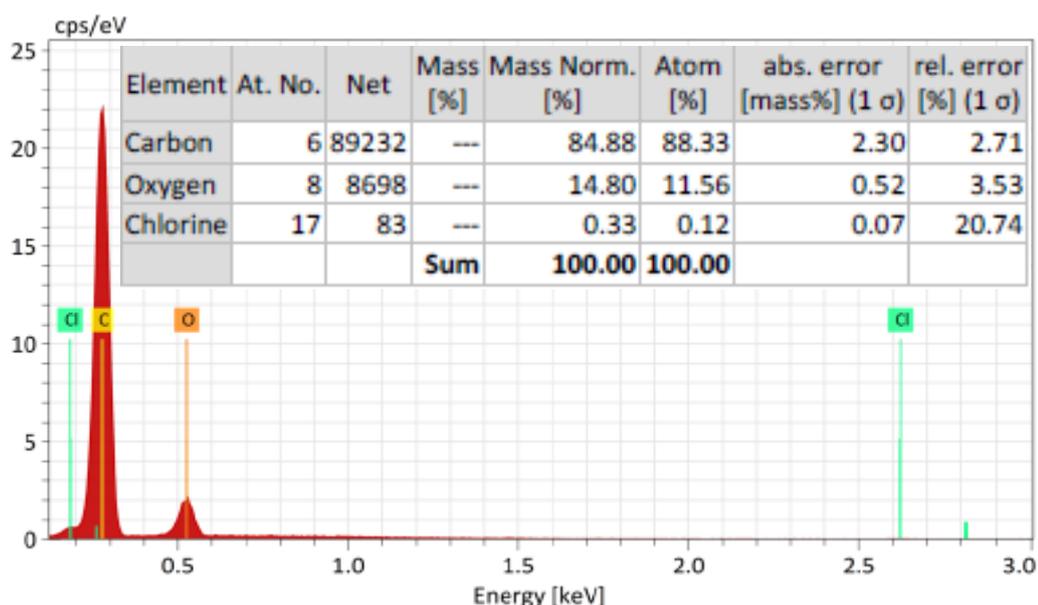


Figura 28. Espectro EDS obtenido de la superficie del PVC HC.

Tras el curado térmico del PVC HC, la composición elemental, visualizada en la figura 29, mostró valores comparables, con 88.03% de C, 11.86% de O y solo 0.11% de Cl.

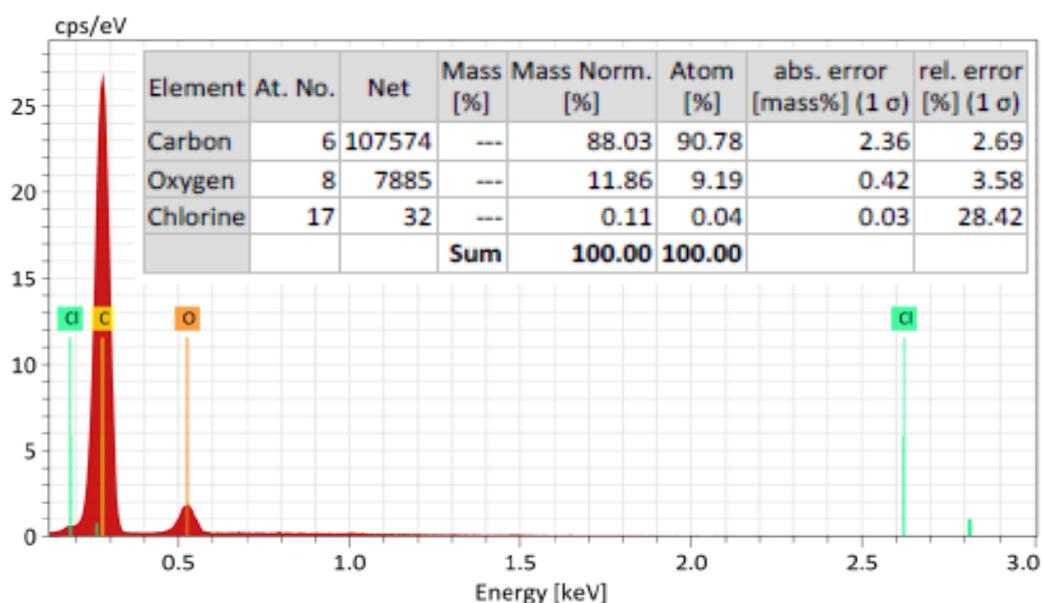


Figura 29. Espectro EDS obtenido de la superficie del PVC HC cur.

Finalmente, en la muestra de MCPF-NPs (Figura 30), el análisis EDS permitió confirmar la incorporación de las NPs a través de la presencia de titanio, identificado con un valor de 21.50%, y un aumento notable en el contenido de oxígeno (17.65%), coherente con la composición del TiO_2 .

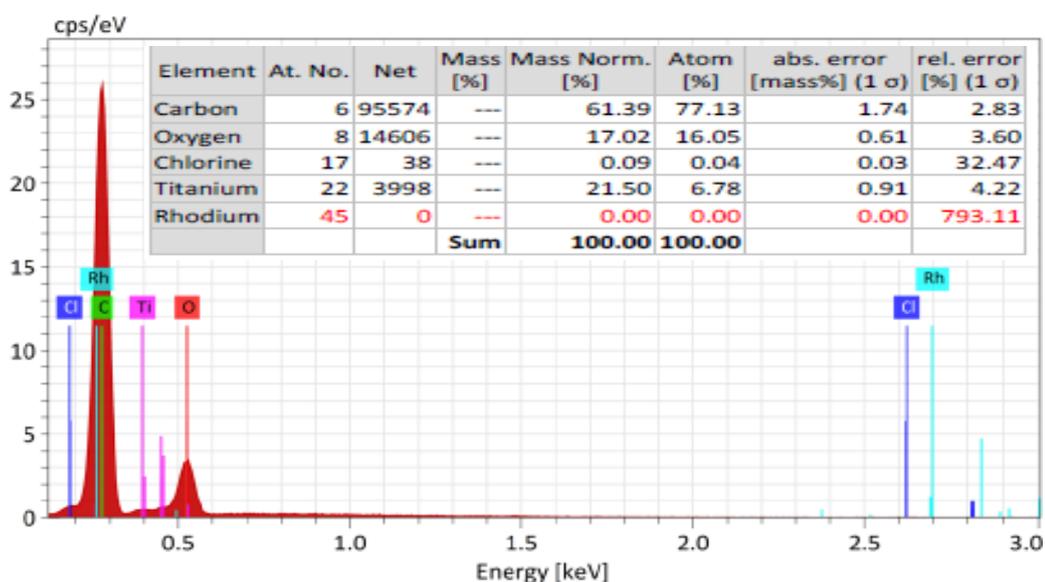


Figura 30. Espectro EDS obtenido de la superficie del MCPF-NPs.

Aunque el Rh no fue cuantificado (0.00%), si fue detectado en el espectro, lo cual sugiere su presencia en concentraciones muy bajas, por debajo del umbral de cuantificación de la técnica; esta observación es coherente con la formulación empleada, ya que el dopaje al 2% indica que el Rh representa únicamente el 2% respecto al contenido total de titanio, por lo que su valor puede quedar

enmascarado por la proximidad del pico de Rh con el del C, que en este análisis fue el dominante.

4.2.3. Evaluación de las técnicas de esterilización

Pensando en el reúso de los MCPF, a continuación, se presentan los resultados de las dos técnicas de esterilización evaluadas. En la figura 31, es notable que las cinco muestras poliméricas, esterilizadas en el autoclave, presentaron niveles de DO_{595nm} cercanos al blanco, indicando una inhibición efectiva del crecimiento microbiano, permitiendo así confirmar la eficiencia de este método para la esterilización completa del MCPF.

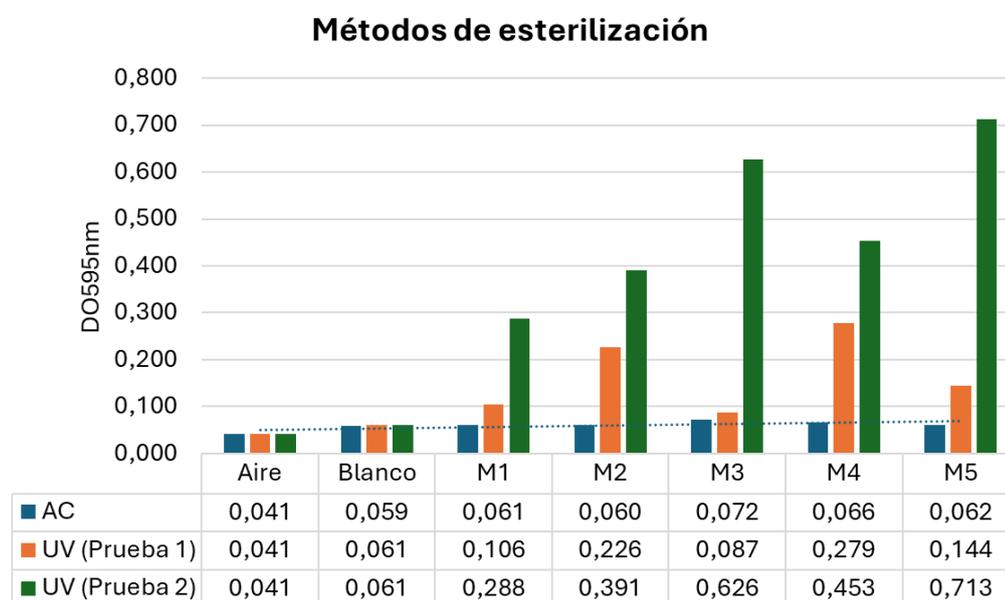


Figura 31. Pruebas de esterilización realizadas para evaluar la reutilización de los MCPF después de la TFDa. AC indica autoclave y UV indica ultravioleta.

Por otro lado, las muestras expuestas a la luz UV mostraron un comportamiento muy diferente; en una primera prueba, aunque se observó una ligera reducción del crecimiento en algunas muestras (M1 y M3), los valores de DO_{595nm} fueron significativamente más altos que los del blanco o autoclave, especialmente en M2, M4 y M5.

Para confirmar estos últimos resultados, se realizó una segunda prueba de esterilización UV la cual reveló un crecimiento aún más pronunciado, con valores aún más altos que los anteriores, incluso en las cinco muestras. Este hallazgo indicó que el método UV no fue suficiente para eliminar

completamente las células viables de *C. albicans* adheridas a las superficies del PVC en las condiciones actuales de las lámparas UV con que se contaba en el laboratorio, por lo que se seleccionó el método de esterilización por autoclave para tratar a los MCPF contaminados con *C. albicans*.

4.2.4. Evaluación de la eficacia fotodinámica

Para verificar la capacidad fotoesterilizable de los materiales elaborados, se comparó el efecto de la TFDa sobre las biopelículas de *C. albicans*, utilizando MCPF-AM y MCPF-NPs, ambos con una semana de elaboración (Figura 32), de forma que fuese posible establecer una línea base de eficacia para ambos sistemas, la cual fue luego utilizada como referencia para los ensayos posteriores de reutilización y almacenamiento, analizando los cuatro grupos experimentales de interés (Control, Control FS, Control Luz y TFDa) mencionados y descritos en la sección 3.7.2.

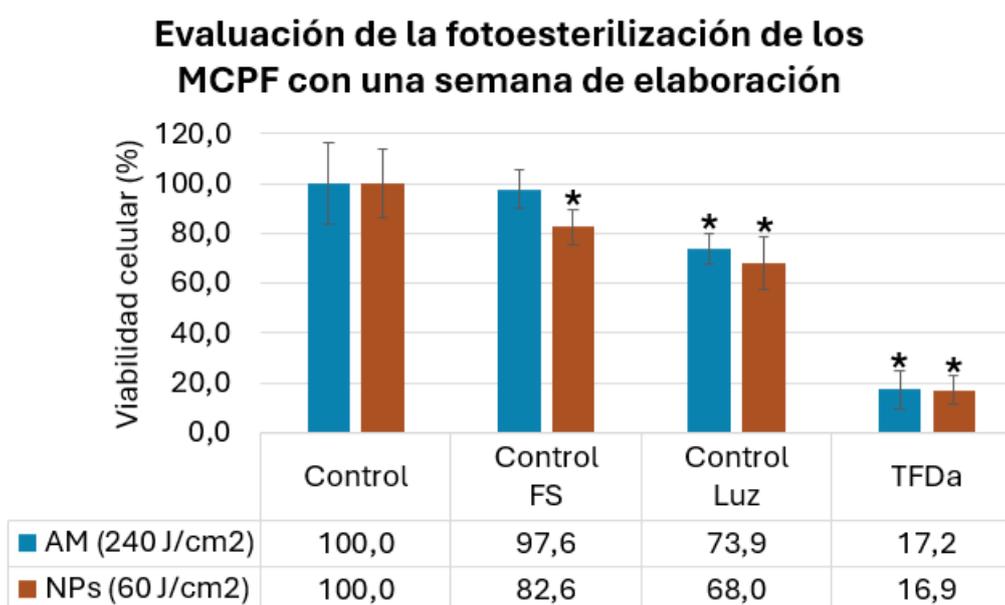


Figura 32. Prueba inicial de la eficacia de fotoesterilización de MCPF-AM (en azul) y MCPF-NPs (en café). * indican diferencias estadísticamente significativas en comparación con los grupos de control (PVC HC y PVC HC cur.) con $p < 0,05$.

Los resultados indicaron que ambos tipos de MCPF mostraron efectividad significativa en la reducción de la viabilidad celular del patógeno cuando se activaron mediante TFDa, con la diferencia de que para el caso del MCPF-AM, fue necesario aplicar una dosis acumulada de 240 J/cm² (dividida en cuatro ciclos de 60 J/cm²) para lograr una disminución de la viabilidad hasta 17.2%, mientras que para el MCPF-NPs, bastó una única exposición a 60 J/cm² para

reducir la viabilidad a 16.9%, evidenciando una mayor eficiencia en la fotoesterilización del material (Figura 32).

Respecto a los grupos control, en los que se incluyeron dos condiciones específicas para aislar los posibles efectos individuales del FS y de la luz, el Control FS (MCPF sin irradiación) no se observaron efectos tóxicos relevantes atribuibles a los FS encapsulados, lo que indica que, en ausencia de luz, estos no afectan significativamente la viabilidad celular, aunque, en el caso del MCPF-NPs, se registró una disminución superior en la viabilidad, hasta 82.6%, comparada con la del MCPF-AM que fue del 97.6%. En cuanto al Control Luz, en el que se expusieron los grupos PVC HC y PVC HC cur. a luz roja para evaluar el efecto citotóxico inducido únicamente por la irradiación, en ambos casos se observó una reducción de la viabilidad celular, cercana al 26% y 32%, respectivamente, lo que evidencia que la luz, por sí sola, induce un efecto inhibitorio moderado

Estos resultados iniciales confirmaron la capacidad fotoesterilizable de ambos sistemas, particularmente en el caso del MCPF-NPs, que mostró un desempeño más eficiente frente a *C. albicans*. Asimismo, los controles incluidos permitieron atribuir la inhibición observada principalmente a la acción sinérgica entre el FS y la luz, ya que ni la irradiación por sí sola ni los FS encapsulados sin activación fotónica lograron inducir reducciones comparables en la viabilidad celular. En conjunto, estos hallazgos no solo validan el efecto fotodinámico de los materiales desarrollados, sino que también proporcionan la base comparativa para los ensayos posteriores de almacenamiento (sección 4.3.1), reutilización (4.3.2) y evaluación espectroscópica visible (4.3.3).

4.3. Fotoestabilidad funcional de los MCPF

Después de la evaluación de todos los procesos anteriormente descritos y la obtención de sus resultados, fue posible finalmente evaluar la estabilidad de los MCPF frente a condiciones de uso repetido y almacenamiento prolongado, siendo estos aspectos fundamentales para determinar su viabilidad práctica en contextos reales de aplicación médica.

4.3.1. En función del almacenamiento

La fotoestabilidad de los MCPF fue evaluada a lo largo del tiempo con el propósito de determinar si su capacidad de fotoesterilización se mantenía tras períodos prolongados de almacenamiento, describiendo los cambios observados en la capacidad antimicrobiana de los materiales por TFDa, tras diferentes periodos de conservación, tomando como referencia la primera evaluación realizada tras una semana de elaboración de los MCPF (Sección 4.2.4., Figura 32). Este análisis permitió establecer el tiempo máximo de almacenamiento durante el cual los MCPF conservaron su potencial antimicrobiano mayor al 50%.

Las muestras de MCPF-AM almacenadas durante seis meses evidenciaron seguir siendo eficientes en la eliminación de *C. albicans*, aunque, se observó una pérdida gradual de eficacia en el tiempo. En la primera semana, el sistema alcanzó una viabilidad celular de solo ~17%, este resultado se mantuvo durante el primer mes (~16%) y comenzó a aumentar hacia el tercero (~25%), indicando una degradación parcial del AM encapsulado, hasta que al sexto mes la viabilidad celular se incrementó notablemente hasta ~42% (Figura 33).

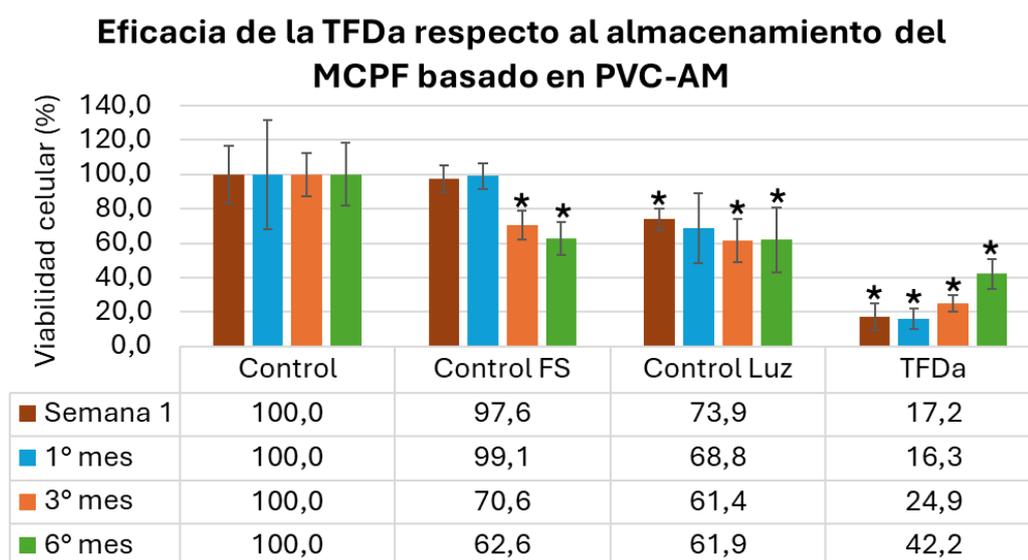


Figura 33. Comparación de los porcentajes de viabilidad de *C. albicans* en los MCPF-AM en función de su almacenamiento. * indican diferencias estadísticamente significativas en comparación con el grupo de control (PVC HC) con $p < 0,05$.

Por otro lado, el comportamiento de los tres grupos control también reflejó tendencias importantes, donde el Control FS mostró una disminución

progresiva en la viabilidad celular con el paso del tiempo (de ~98% a ~63%); el Control Luz, por su parte, mantuvo valores relativamente constantes (~74% a 62%) durante todo el período de almacenamiento, confirmando lo observado en la figura 32 en donde la exposición a la irradiación, en ausencia de FS, también tuvo un efecto en la viabilidad celular.

En cuanto al MCPF-NPs (Figura 34), los resultados obtenidos desde el primer mes mostraron una pérdida de eficacia, incluso aún más pronunciada que la del MCPF-AM; en este ensayo la viabilidad celular del grupo TFDa fue ~17% en la semana 1 y fue creciendo progresivamente en cada período de tiempo, aumentando a más del doble a las cuatro semanas y hasta ~52% y ~59% al tercer y sexto mes respectivamente, en donde, de acuerdo a los resultados anteriores, esta última reducción en la viabilidad es consecuencia únicamente del efecto de la propia luz y no de la acción de EROs en el sistema.

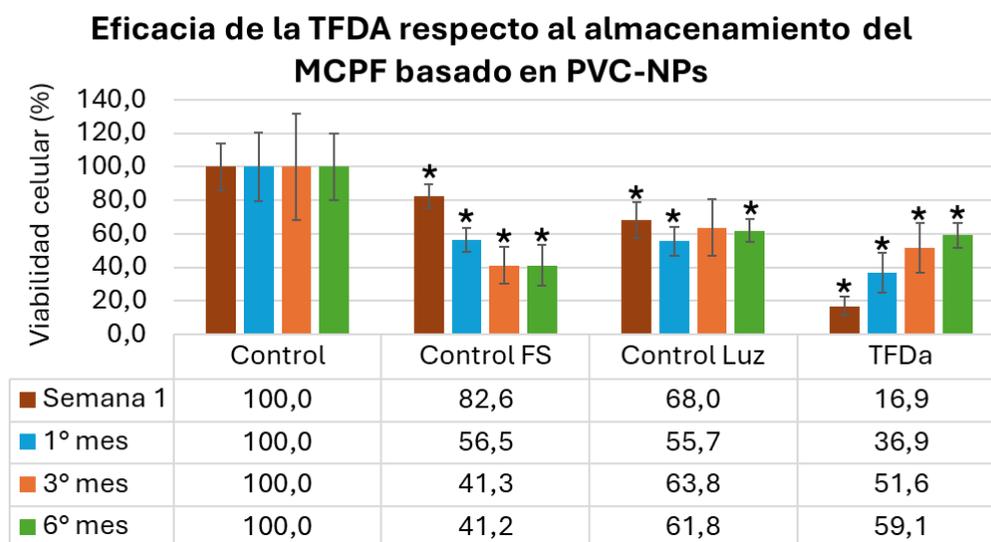


Figura 34. Comparación de los porcentajes de viabilidad de *C. albicans* en los MCPF-NPs en función de su almacenamiento. * indican diferencias estadísticamente significativas en comparación con el grupo de control (PVC HC cur.) con $p < 0,05$.

En los grupos control, el Control FS presentó una disminución progresiva en la viabilidad celular a lo largo del almacenamiento, reduciéndose de ~83% (semana 1) a ~57% en un mes, disminuyendo luego hasta ~41% en el tercer y sexto mes; por otra parte, el grupo Control Luz mantuvo una viabilidad relativamente constante entre 60% y 70% durante todo el período evaluado, lo que confirma que la exposición a luz roja por sí sola no produce una inactivación

sustancial en ausencia de fotosensibilizadores activos, en contraste con los efectos observados bajo condiciones de TFDa.

4.3.2. En función de la reutilización

Al evaluar la eficacia de los MCPF tras ciclos consecutivos de TFDa, incluyendo procesos de esterilización térmica intermedia, a continuación, se presentan los resultados de viabilidad celular obtenidos tras aplicaciones semanales del tratamiento, con el fin de establecer la durabilidad funcional de los FS incorporados y el límite práctico de uso de los MCPF desarrollados.

En el comportamiento del MCPF-AM, tras tres ciclos de reutilización, fue notable que como resultado del primer tratamiento con TFDa, se registró una inhibición significativa de la viabilidad celular de *C. albicans*, reduciéndose hasta un 17.2 %, valor que fue estadísticamente significativo contra al grupo Control; sin embargo, a partir del segundo ciclo, la eficacia fotodinámica se redujo drásticamente, registrando viabilidades de 70.3 % y 61.2 % para el segundo y tercer uso, respectivamente (Figura 35), por lo que probablemente la reducción observada se debe principalmente al efecto de la irradiación y no a la generación de EROs, siendo esto acorde con los resultados presentados en las figuras 32, 33 y 34.

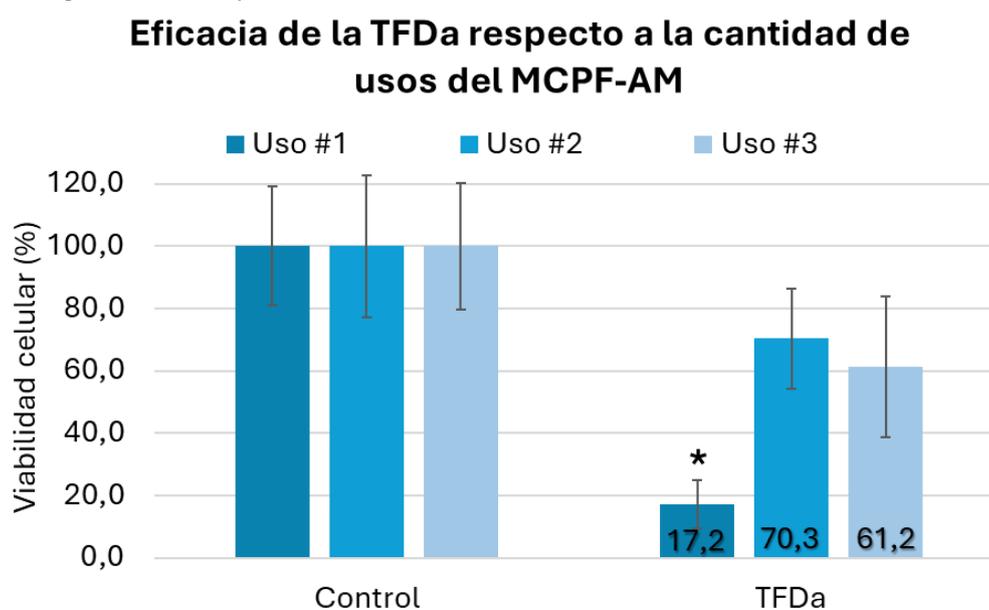


Figura 35. Comparación de los porcentajes de viabilidad de *C. albicans* en los MCPF-AM tras tres tratamientos de TFDa con esterilización intermedia en autoclave. * indican diferencias estadísticamente significativas en comparación con el grupo de control (PVC HC) con $p < 0,05$.

En contraste, para los MCPF-NPs, evaluados a lo largo de seis ciclos consecutivos de tratamiento, se observó una eficacia sostenida durante al menos los tres primeros usos, donde en el primer ciclo la viabilidad celular se redujo hasta 22.2%, en el segundo a 24.3%, y en el tercero a 37.1%, manteniéndose todos significativamente por debajo del grupo Control (Figura 36).

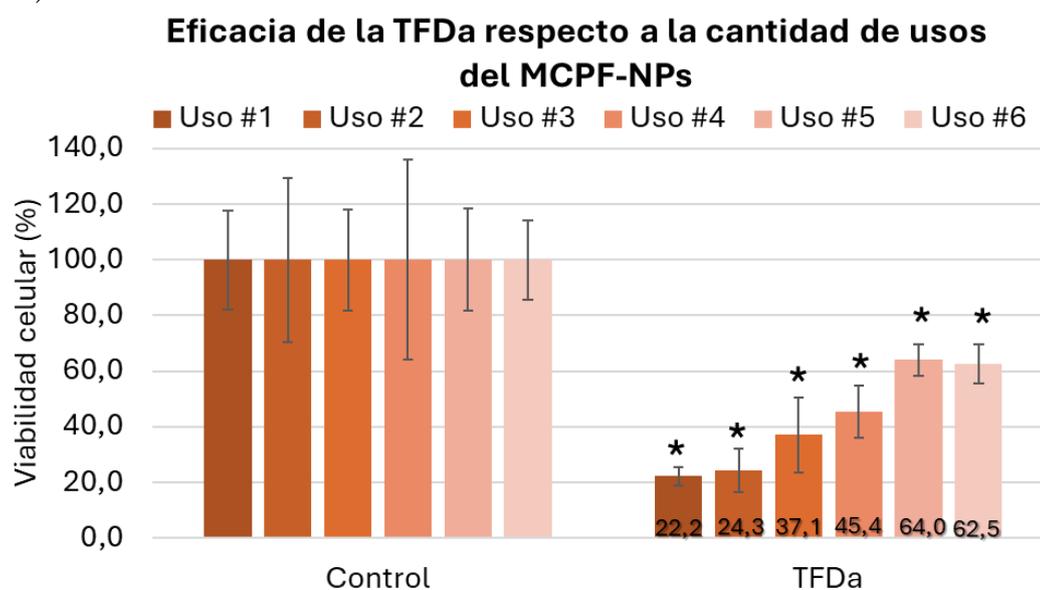


Figura 36. Comparación de los porcentajes de viabilidad de *C. albicans* en los MCPF-NPs tras seis tratamientos de TFDa con esterilización intermedia en autoclave. * indican diferencias estadísticamente significativas en comparación con el grupo de control (PVC HC cur.) con $p < 0,05$

Incluso en el cuarto uso, la viabilidad fue de 45.4%, mostrando aún un efecto antimicrobiano persistente, aunque ya con una tendencia a la pérdida de eficacia en los ciclos quinto y sexto con 64.0% y 62.5%, respectivamente. De hecho, estos resultados concuerdan con caracterizaciones visuales en las que se evidenciaron cambios en la tonalidad de los MCPF, específicamente los MCPF-AM, sometidos al tratamiento con TFDa al compararlos con muestras del mismo tipo pero que no fueron irradiadas y con muestras Control, es decir PVC HC y PVC HC cur. para los MCPF-AM y MCPF-NPs, respectivamente (Figura 37).

Al comparar los MCPF que no fueron sometidos a TFDa (fila superior) con aquellos sometidos a una sesión (fila intermedia), fue evidente que el MCPF-AM perdió su tonalidad azul, adquiriendo una coloración grisácea, característica de los materiales sin FS encapsulado (fila inferior), indicando

que efectivamente el AM encapsulado se degradó casi totalmente después de un primer uso.

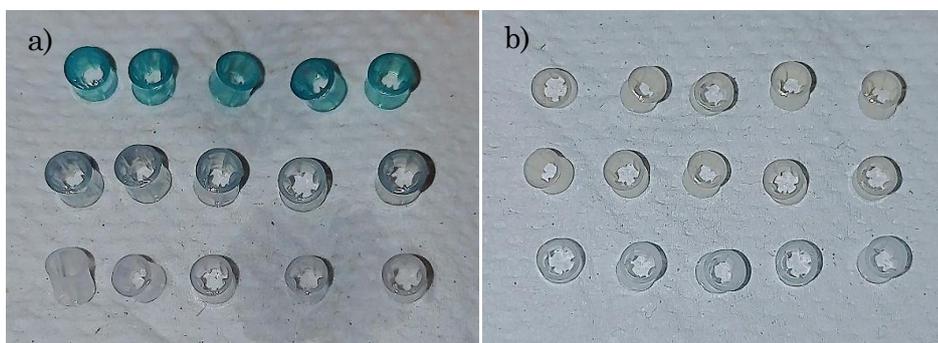


Figura 37. Comparación de los MCPF con a) AM y b) NPs, sin irradiación (fila superior) y sometidos a una sesión de TFDa (fila intermedia) con muestras control sin FS encapsulado (fila inferior).

Para el caso de los MCPF-NPs es notable que la coloración beige se mantiene al comparar las muestras sin irradiación (fila superior) con aquellas que se sometieron a la TFDa (fila intermedia), lo que dio indicio de que el material posiblemente seguiría siendo fotoestable al menos después de un primer uso, siendo esto congruente con los resultados de viabilidad celular mostrados en la figura 36.

4.3.3. Análisis espectral por espectroscopía visible

A continuación, se presentan los espectros de absorbancia obtenidos por espectroscopía visible para las distintas soluciones de hinchamiento (acetona: agua desionizada, solución de AM y solución de NPs), así como para los materiales poliméricos antes y después de la elaboración de los MCPF y sus respectivos controles (Figura 38).

El espectro del PVC original no presentó picos definidos en el rango de 400–750 nm, lo que permitió atribuir posteriormente cualquier señal espectral a los procesos de elaboración de los MCPF como a los FS encapsulados. En contraste, las soluciones con FS presentaron perfiles característicos de cada FS, pues la solución de AM mostró un pico prominente en 655 nm, mientras que la solución con NPs de TiO_2 : Rh presentó una curva continua en todo el rango visible, sin picos definidos (Figura 38a).

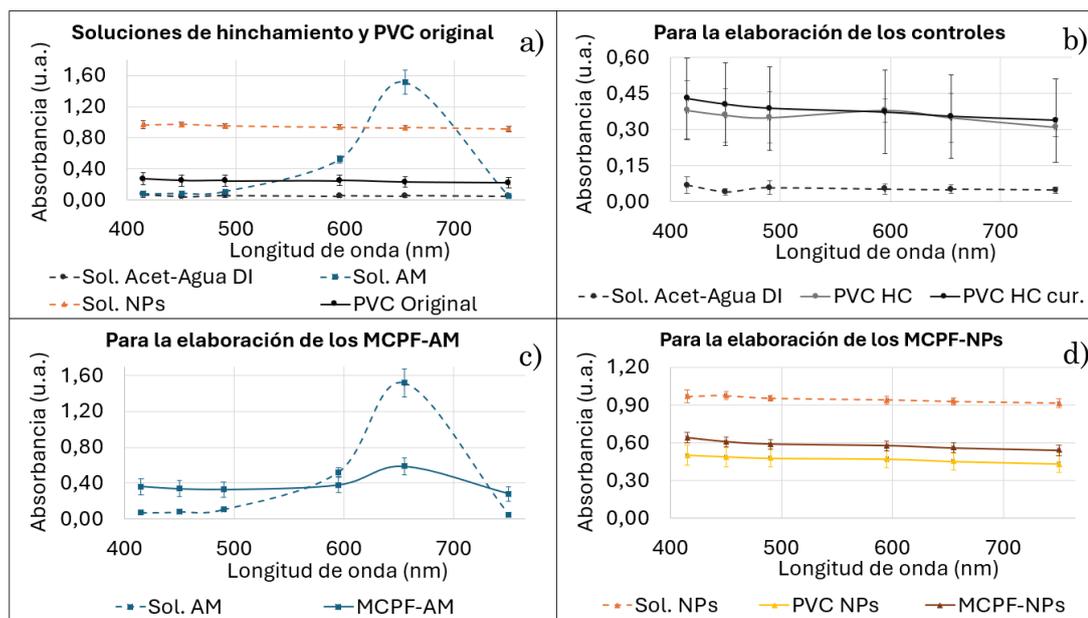


Figura 38. Espectros de absorción de la a) PVC original y las soluciones de hinchamiento utilizadas para la elaboración de las b) muestras control y los MCPF basados en c) AM y d) NPs.

Al comparar la solución sin FS (acetona: agua desionizada) con las muestras poliméricas utilizadas como controles (PVC HC y PVC HC cur.) (Figura 38b), se observó una mayor absorbancia en los polímeros respecto a la solución, pero con un comportamiento similar al observado en la Figura 38a, sin picos característicos y con valores similares a los del PVC original, lo cual indicó que tanto el tratamiento HEC como el curado no alteraron las señales ópticas originales, facilitando la identificación de las contribuciones espectrales de los FS.

Además, los espectros del MCPF-AM y su correspondiente solución de hinchamiento (Figura 38c) mostraron un pico definido en el rango de 650–660 nm, característico del AM, evidenciando la encapsulación efectiva del FS a la matriz polimérica. Además, el MCPF-AM presentó un aumento en la absorbancia entre 400 y 550 nm respecto a la solución, atribuible a la respuesta propia del polímero, con valores cercanos a 0.4 u.a.

Finalmente, los espectros relacionados a la elaboración de los materiales basados en NPs (Figura 38d) mostraron un patrón espectral más amplio, tanto para la solución de hinchamiento como para las muestras de PVC-NPs y del MCPF-NPs, con altos valores de absorbancia en todo el rango visible, lo cual es consistente con la dispersión óptica atribuida a las NPs de TiO_2 : Rh,

especialmente por sus propiedades de absorción extendida debido al dopaje; en este último caso, aunque no se presentó un pico definido como el AM, el nivel de absorbancia constante reveló una presencia homogénea de NPs en la superficie.

Analizando ahora los espectros de los MCPF que fueron almacenados durante seis meses, a continuación, se presentan los resultados espectroscópicos en el intervalo antes analizado (400-750 nm), dando especial atención al rango de 620–700 nm, correspondiente a la región que incluye a la longitud de onda de emisión del dispositivo de irradiación utilizado (630 nm).

Los espectros de absorción del MCPF-AM almacenado en condiciones de oscuridad durante una semana, un mes, tres y seis meses se presentan en la Figura 39. Todas las curvas conservaron el perfil espectral característico del azul de metileno, con un primer pico leve entre 400–450 nm y un segundo, más definido, en torno a 655 nm, lo cual indica que el FS se mantuvo presente en la superficie polimérica durante el período evaluado; sin embargo, se observó una disminución paulatina en la intensidad de absorbancia en ambos picos conforme aumentó el tiempo de almacenamiento, lo que sugiere una pérdida gradual del FS activo. Esta reducción no fue estadísticamente significativa en ninguno de los tiempos evaluados bajo condiciones de oscuridad.

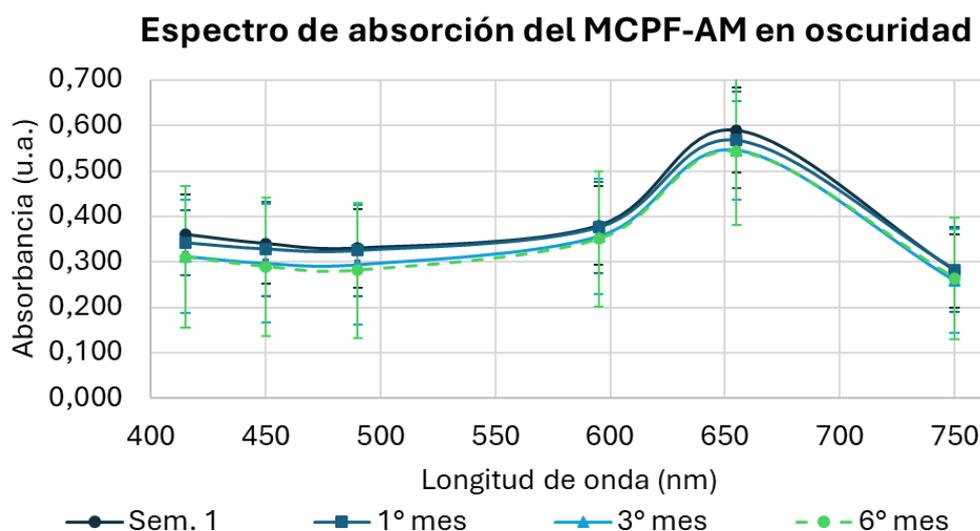


Figura 39. Análisis de los espectros de absorción de los MCPF-AM en función de su almacenamiento.

Este fenómeno fue más evidente al realizar un acercamiento a la región de interés (620–700 nm), evidenciando que la absorbancia en el pico principal pasó de 0.59 u.a. en la primera semana a ~0.54 u.a. al sexto mes (figura 40).

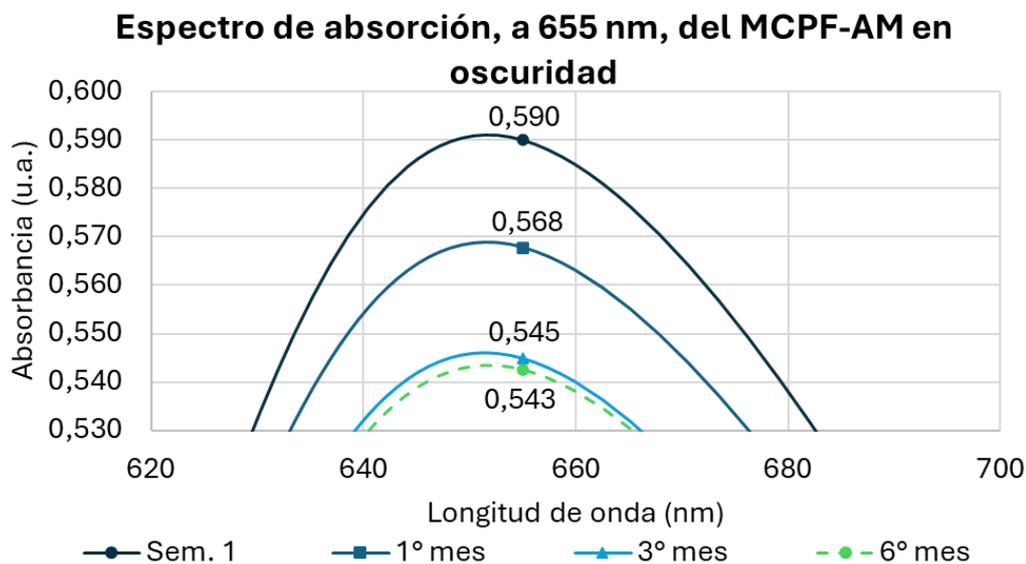


Figura 40. Análisis de los espectros de absorción de centrados en el pico de absorbancia máxima de los MCPF-AM en función de su almacenamiento.

De hecho, este comportamiento es congruente con lo observado en los ensayos de viabilidad celular (Figura 33, Sección 4.3.1), donde se evidenció un aumento de aproximadamente 25% en la viabilidad de *C. albicans* entre la primera semana y el sexto mes de almacenamiento, a pesar de que las muestras fueron conservadas en oscuridad.

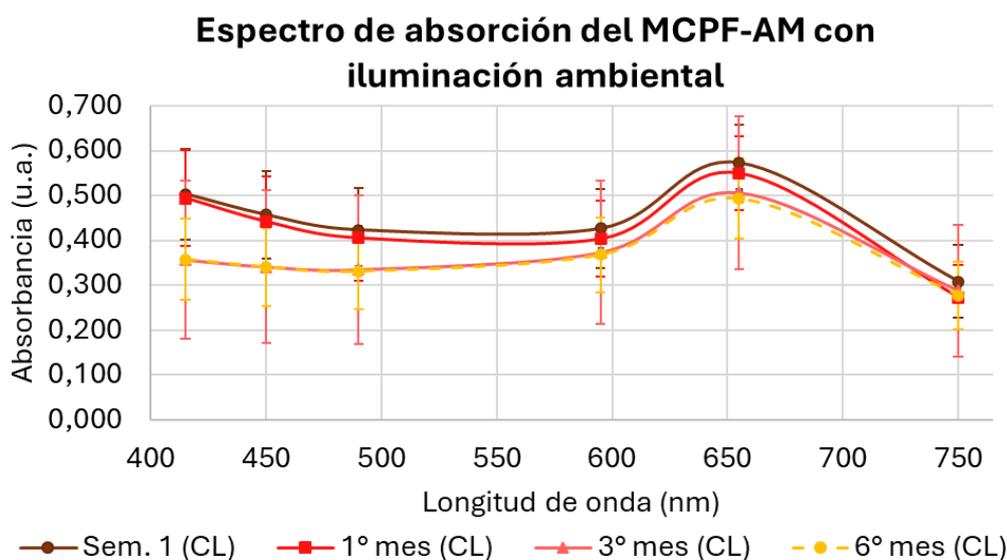


Figura 41. Análisis de los espectros de absorción de los MCPF-AM en función de su almacenamiento bajo condiciones de iluminación ambiental constante.

La exposición continua a iluminación ambiental durante el almacenamiento tuvo un efecto marcado sobre la estabilidad espectral del MCPF-AM, como se muestra en las figuras 41 y 42, en las que se evidenció una disminución progresiva de la absorbancia a lo largo del espectro visible con el paso del tiempo, de modo que, aunque el perfil espectral se mantuvo reconocible y no hubo diferencias significativas, si hubo reducciones en la intensidad de absorbancia (Figura 41).

Al ampliar la región espectral de interés entre 620 y 700 nm, se observa una tendencia de disminución en la absorbancia del pico característico del AM, pasando de aproximadamente ~ 0.57 u.a. en la primera semana a ~ 0.49 u.a. al sexto mes, lo que representa una pérdida del 14% del valor original bajo estas condiciones. Aunque esta diferencia indica la fotodegradación del AM encapsulado, no se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre los tiempos evaluados, no obstante, la reducción fue más pronunciada que la observada en condiciones de oscuridad (Figura 40), revelando que el AM encapsulado en el PVC es susceptible a la fotodegradación incluso en ausencia de irradiación directa con luz roja.

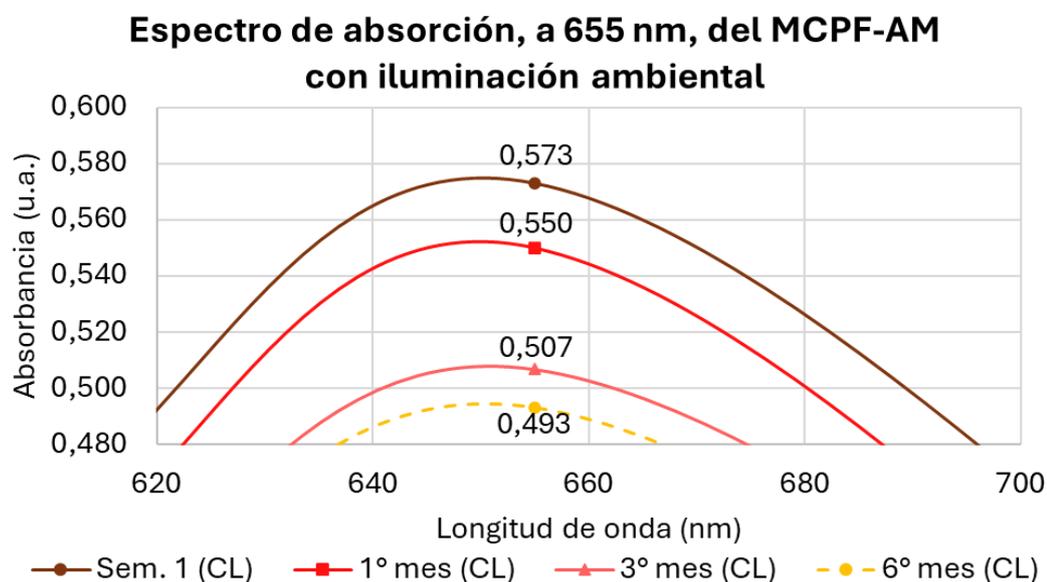


Figura 42. Análisis de los espectros de absorción de centrados en el pico de absorbancia máxima de los MCPF-AM en función de su almacenamiento bajo condiciones de iluminación ambiental constante.

A diferencia de lo obtenido para el AM, los espectros correspondientes a los MCPF-NPs, almacenados en oscuridad, describen una curva continua a lo largo del espectro visible, como ya había sido notado en la figura 38 y es evidente la

reducción progresiva entre ellos al aumentar el tiempo de almacenamiento (Figura 43), aunque sin diferencias significativas.

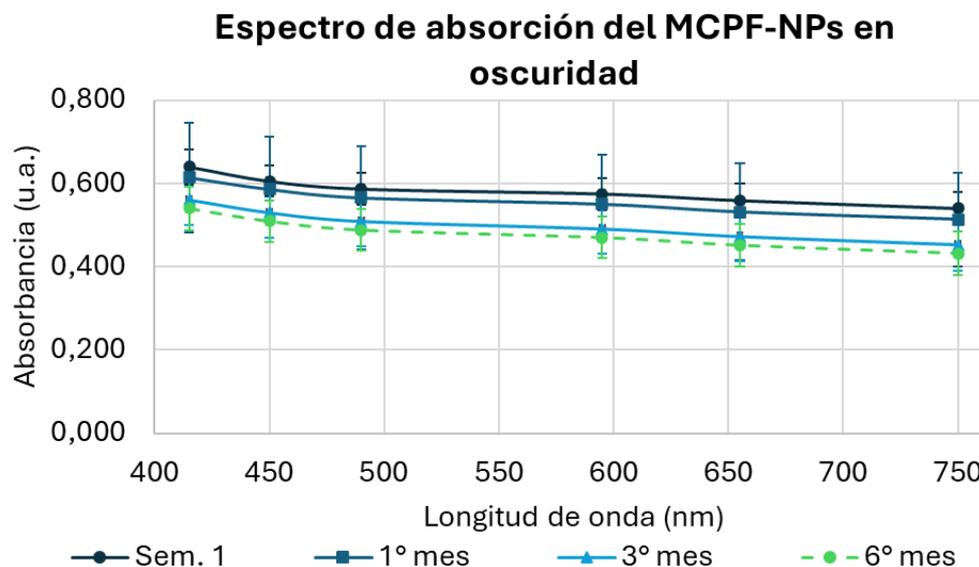


Figura 43. Análisis de los espectros de absorción de los MCPF-NPs en función de su almacenamiento.

Ahora bien, en condiciones de iluminación ambiental, no hubo una degradación estadísticamente significativa del FS (Figura 44), incluso respecto a los mismos períodos de tiempo de las muestras que fueron almacenadas en total oscuridad (Figura 43).

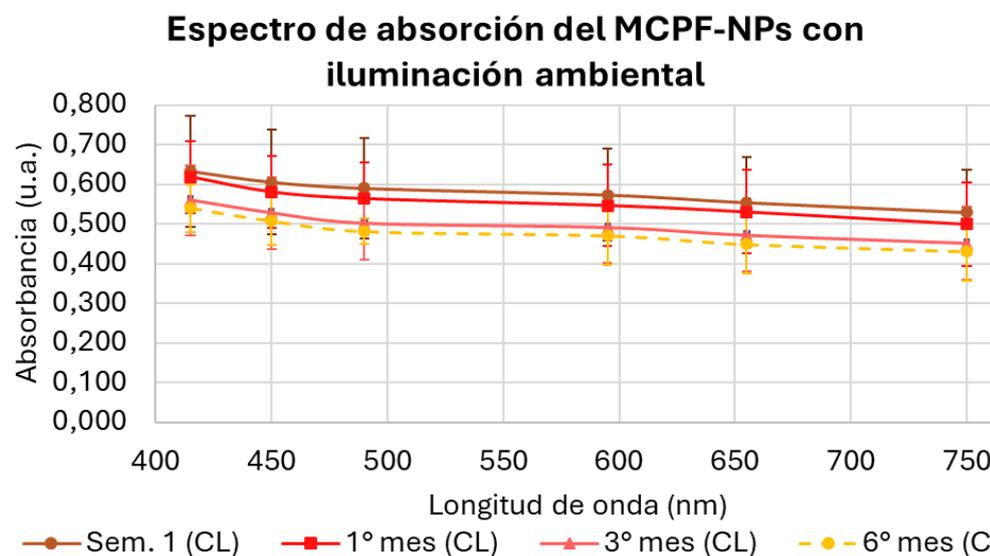


Figura 44. Análisis de los espectros de absorción de los MCPF-NPs en función de su almacenamiento bajo condiciones de iluminación ambiental constante.

Al analizar en conjunto las curvas de ambas condiciones, lo notado fue que ocurrió una disminución progresiva y moderada de la absorbancia general a medida que aumentó el tiempo de almacenamiento; estos hallazgos se

refuerzan en la figura 46, en la que es evidente que las curvas correspondientes a las muestras almacenadas durante seis meses revelaron que la absorbancia a 655 nm disminuyó de 0.559 u.a. (semana 1) a 0.452 u.a. (6° mes), mientras que, para las muestras expuestas a luz ambiental, pasó de 0.554 u.a. a 0.449 u.a., lo cual representa una pérdida aproximada del 19% en ambas condiciones.

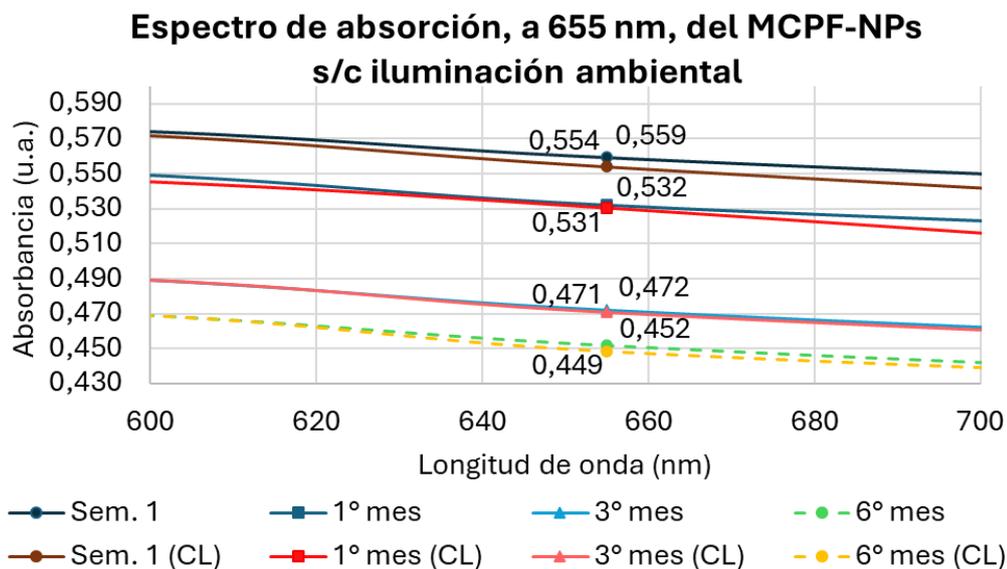


Figura 45. Análisis de los espectros de absorción de centrados en la longitud de onda de irradiación de los MCPF-NPs en función de su almacenamiento tanto en condiciones de oscuridad (curvas en tonos azules y verde) como de luz ambiental (curvas en tonos café, rojizos y amarillo).

Esta reducción, observada tanto en muestras almacenadas en oscuridad como bajo luz ambiental, fue superior a la pérdida registrada en los MCPF-AM, incluso desde el tercer mes, sin evidenciarse diferencias marcadas entre ambas condiciones de almacenamiento. Esta estabilidad relativa entre luz y oscuridad indica que otros factores distintos a la fotodegradación podrían estar afectando la funcionalidad del sistema y, de hecho, el MCPF-NPs mostró una menor eficacia biológica a lo largo del tiempo, como lo evidencian los resultados de viabilidad celular obtenidos bajo almacenamiento en oscuridad (Figura 34, Sección 4.3.1), donde la inhibición fue menor al 49% a partir del tercer mes.

Otro aspecto crítico para determinar la funcionalidad de los MCPF fue su comportamiento tras un primer uso, teniendo en cuenta la fotoestabilidad del FS ante los procesos de TFDa y esterilización térmica mediante autoclave. En la figura 46 se aprecia que, para todos los casos, los espectros son los que anteriormente se mostraron al inicio de esta sección (Figura 38) y se confirma

el hecho de que los espectros planos y de baja absorbancia, sin estructuras espectrales relevantes de los controles, validan su idoneidad como referencia para estimar la degradación o retención de los FS tras tratamientos posteriores.

Absorbancia de muestras control y de los MCPF

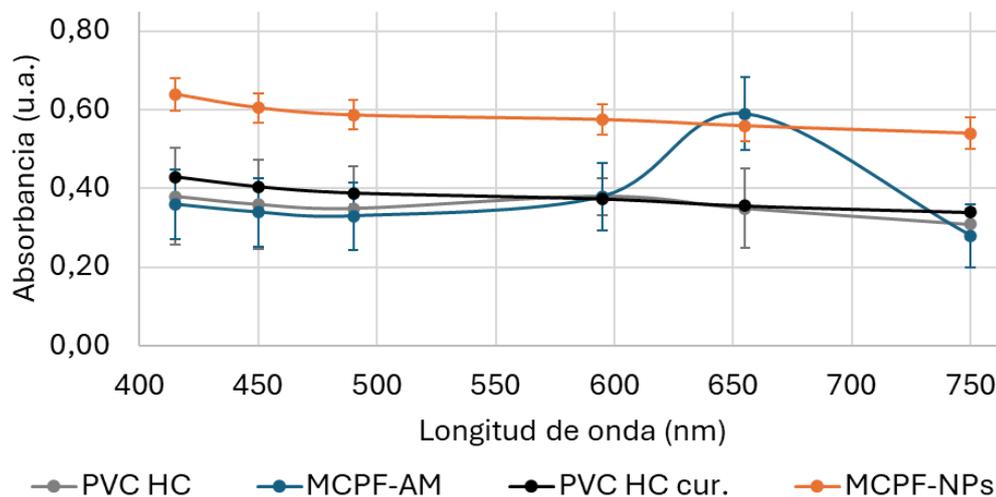


Figura 46. Espectros de absorción de las muestras control y de los MCPF utilizados en los análisis de fotoesterilización.

Teniendo los espectros anteriores como referencia, se observó que el proceso de esterilización con autoclave produjo un aumento en la absorbancia en las muestras tanto de PVC-HC como del MCPF-AM, lo cual también fue evidente a nivel visual, ya que las secciones poliméricas adquirieron una apariencia más opaca y dejaron de ser transparentes (Figura 47).

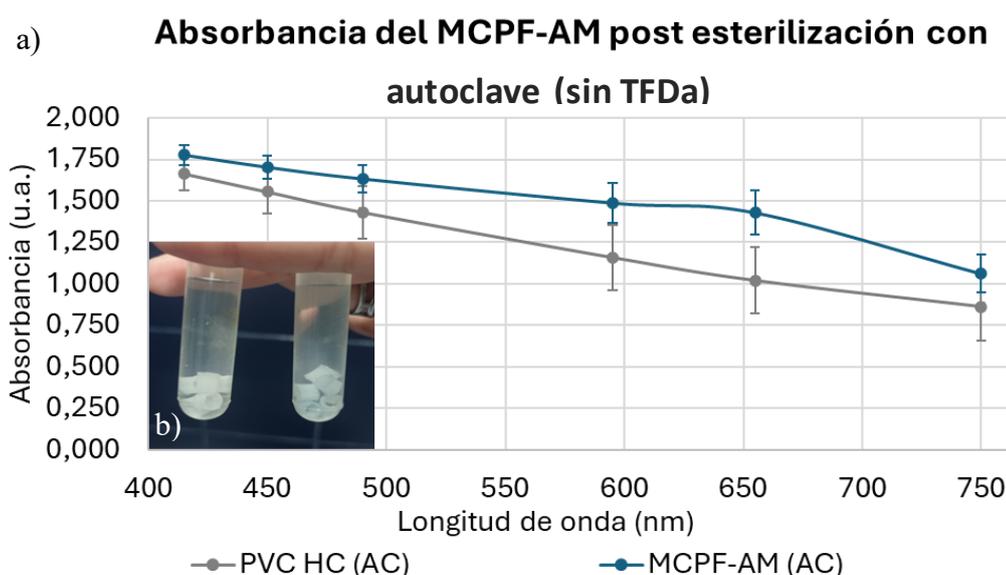


Figura 47. a) Espectros de absorción tras la esterilización en autoclave (AC), sin aplicación de TFDA, comparando las muestras de control (PVC HC) con los MCPF-AM. b) Muestras de PVC HC (izquierda) y MCPF-AM (derecha), con opacidad notable al someterse a la esterilización.

En contraste, tras el efecto de la TFDa sin esterilización térmica (MCPF-AM antes y después de TFDa), se observa una reducción localizada de la absorbancia, centrada en torno al pico principal del AM (~650–660 nm), con una caída de ~0.59 a ~0.34 u.a., y un perfil espectral que ya no se mantiene y que incluso es más parecido al del PVC HC (Figura 48), evidenciando entonces que el AM se fotoblanqueó en su totalidad, respaldando el comportamiento observado experimentalmente de que los MCPF-AM, si bien efectivos en el primer uso y hasta después 6 meses de almacenamiento, están limitados a un solo uso (Figura 35, sección 4.3.2.).

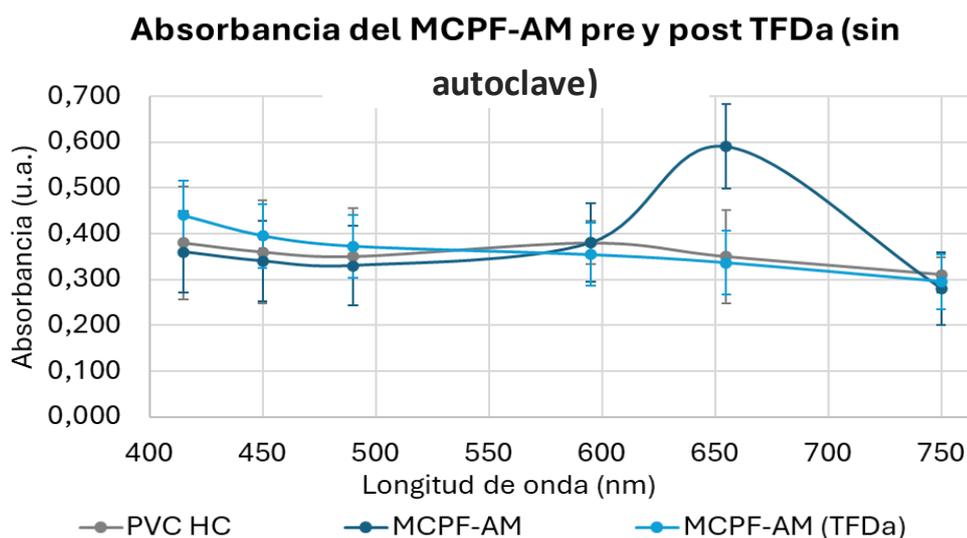


Figura 48. Espectros de absorción tras la aplicación de TFDa, sin esterilización en autoclave, comparando las muestras de control (PVC HC) con los MCPF-AM antes y después de la irradiación a 240 J/cm^2 en cuatro dosis fraccionadas de a 60 J/cm^2 .

Ahora, respecto a los MCPF-NPs, se observó que, tras la esterilización en el autoclave, las muestras con NPs encapsuladas presentaron un incremento general en la absorbancia (Figura 49).

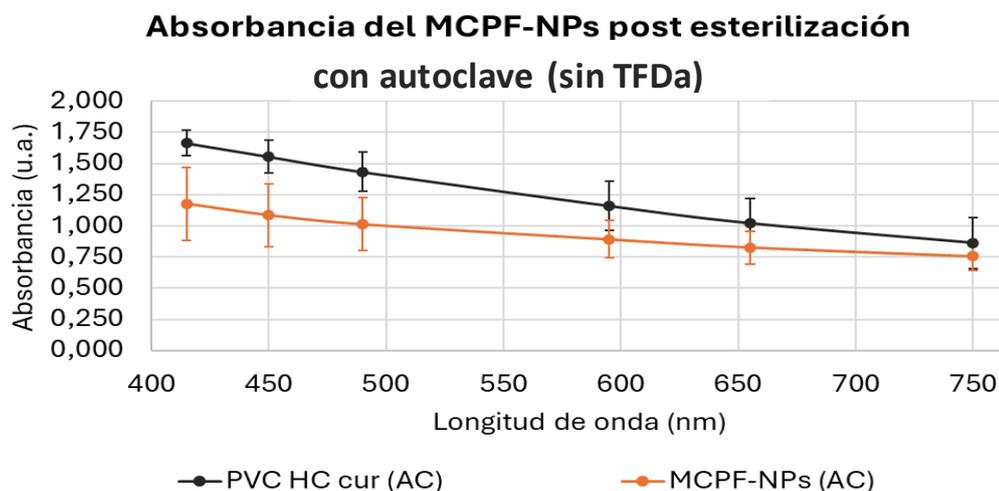


Figura 49. Espectros de absorción tras la esterilización en autoclave (AC), sin aplicación de TFDa, comparando las muestras de control (PVC HC cur.) con los MCPF-NPs.

Este comportamiento ya había sido observado en el análisis de los MCPF-AM (Figura 47) y atribuido a una mayor opacidad inducida por el esterilizado, lo cual redujo la transmisión de luz y provocó una elevación global en los valores de absorbancia. En contraste, el efecto de la TFDa sin esterilización térmica (Figura 50), mostró un comportamiento notablemente diferente al de los MCPF-AM (Figura 48); en este caso, la absorbancia se mantuvo estable en todo el espectro tras el tratamiento con luz roja, sin un cambio significativo en el rango analizado (415 a 750 nm), evidenciando que, a diferencia del AM, las NPs de TiO₂: Rh no sufrieron fotodegradación visible tras un primer uso, manteniendo su capacidad de absorción y, por lo tanto, posiblemente su potencial para seguir generando EROs en ciclos posteriores.

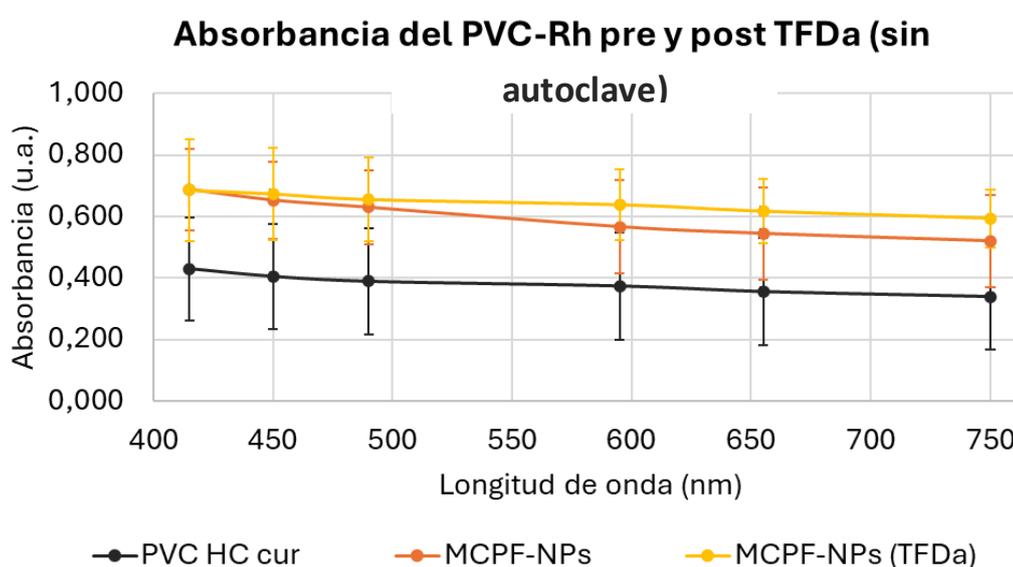


Figura 50. Espectros de absorción tras la aplicación de TFDa, sin esterilización en autoclave, comparando las muestras de control (PVC HC cur.) con los MCPF-NPs antes y después de la irradiación a 60 J/cm².

Este comportamiento es congruente con la capacidad fotoesterilizable de estos materiales de ser reutilizados en múltiples ciclos sin perder eficacia (Figura 36), sugiriendo que el sistema aún no ha alcanzado su punto de degradación funcional.

Como cierre del capítulo de resultados, se presenta la Tabla 8 comparativa con las principales características estructurales, fotoactivas y funcionales de los MCPF desarrollados en esta investigación, evidenciando las diferencias clave entre el MCPF-AM y el MCPF-NPs en cuanto a su comportamiento bajo condiciones controladas de almacenamiento y reúso.

Tabla 8. Características comparativas de los MCPF elaborados.

Característica	MCPF-AM	MCPF-NPs
Hidrofobicidad superficial	↑↑↑	↑↑
	94,57°	92,57°
Dosis de TFDa aplicada para inducir una DL ₈₀	240 J/cm ²	60 J/cm ²
	(4 x 60 J/cm ²)	(única aplicación)
Efectividad antimicrobiana inicial	82.8%	83.1%
Tiempo de almacenamiento útil (DL ₅₀)	Hasta 6 meses	Hasta 3 meses
Número de reúsos posibles (DL ₅₀)	1	4

↑↑↑ indica mayor hidrofobicidad

5. DISCUSIÓN

Evidenciando la necesidad de la búsqueda de estrategias alternativas que permitan controlar la proliferación fúngica en entornos hospitalarios, en esta investigación se llevó a cabo la implementación y evaluación de materiales clínicos poliméricos modificados con FS antimicrobianos, con el fin de conferirles propiedades fotoesterilizables a través de TFDa en contra de *C. albicans*, ya que aunque la expansión de infecciones en ambientes clínicos ha sido abordado en múltiples estudios, la mayoría se ha enfocado en bacterias [61,73,76]. El enfoque hacia patógenos fúngicos ha sido limitado, a pesar de su demostrada afinidad por las superficies médicas poliméricas [37].

La elección de los FS empleados respondió a criterios tanto comparativos como de innovación, seleccionando en primer lugar AM, como FS de segunda generación, debido a su amplio uso en estudios previos relacionados con TFDa [61, 62, 64, 68], lo que permitió establecer comparaciones directas entre los resultados obtenidos en este trabajo y aquellos reportados en la literatura. Por otro lado, se incorporaron NPs de TiO₂ dopadas con Rh, como FS de tercera generación, considerando su alto potencial fotodinámico y la necesidad de explorar su aplicación bajo condiciones de uso médico más realistas, pues aunque este tipo de NPs han sido evaluadas principalmente contra bacterias como *E. coli* y *S. aureus* [83], no se ha documentado su implementación en superficies clínicas poliméricas modificadas mediante el método HEC ni su combinación con un proceso posterior de curado térmico y tampoco su aplicación para combatir hongos como *C. albicans*. Adicionalmente, es importante señalar que las concentraciones empleadas en trabajos previos ($\geq 8\%$ de porcentaje atómico de dopado) superan los márgenes seguros para uso clínico [84], lo cual subraya la pertinencia de explorar formulaciones a concentraciones más bajas y, si bien existen antecedentes del uso de NPs de otros metales como el oro o zinc como FS [64, 65, 67 68], el empleo de TiO₂: Rh encapsulado mediante HEC representa una propuesta novedosa para el desarrollo de superficies antimicrobianas orientadas a prevenir IAAS.

Se realizaron pruebas comparativas entre silicona y PVC, en las que se encontró que el AM, un colorante hidrofílico y polar, mostró una mayor afinidad

por el PVC; esta preferencia fue evidenciada por una tinción un poco más intensa posterior al método HEC, lo que concuerda con lo reportado en estudios donde se ha demostrado que este FS tiende a adsorberse preferentemente en materiales con grupos funcionales polares y estructuras porosas, debido a interacciones electrostáticas y de superficie [81]; en este caso, la presencia de átomos de cloro en la estructura del PVC, como se evidenció en la figura 27, confiere a este polímero una naturaleza polar que favorece dichas interacciones [82].

Por otra parte, los análisis microscópicos y de viabilidad celular (Secciones 4.1.3. y 4.1.4.) revelaron que el método de HEC aplicado a la silicona favoreció una mayor retención de células viables de *C. albicans* en comparación con el polímero original, sugiriendo un aumento en la adhesión del microorganismo, posiblemente asociado a las irregularidades superficiales generadas por el tratamiento. En contraste, en el caso del PVC, el tratamiento HEC pareció reducir la colonización fúngica, sin impedir completamente la adhesión, pero sí disminuyéndola, lo que podría estar relacionado con una aparente nivelación o suavizado de su superficie; esta interpretación se encuentra respaldada por los resultados de viabilidad celular obtenidos posteriormente (Sección 4.1.4), en los que se evidenció una menor retención de *C. albicans* en las muestras tratadas de PVC respecto al polímero sin tratamiento. Estos hallazgos se alinean con lo reportado por González y Cuellar [37], quienes demostraron que *C. albicans* se adhiere con mayor facilidad al PVC que a otros polímeros como el poliuretano o la silicona, debido a su superficie hidrofílica y rugosa y a su composición fisicoquímica, validando la decisión metodológica de enfocar el desarrollo de MCPF sobre un sustrato más susceptible como el PVC, lo que permitiría potenciar la aplicación clínica de esta tecnología.

Trabajos previos han centrado sus esfuerzos en la modificación de superficies de silicona [19, 20, 65, 67, 68, 71] y otros polímeros [62, 63, 69] con el fin de reducir la adhesión microbiana y conferir propiedades antimicrobianas activables con luz. En esta tesis se propone una estrategia alternativa al aplicar exitosamente el protocolo HEC y el curado térmico en PVC, un material comúnmente utilizado en dispositivos médicos clínicos [19], pero que representa un mayor desafío por su alta susceptibilidad a la colonización

microbiana [37]; estas características lo convierten en una opción adecuada para el desarrollo de MCPF eficaces contra *C. albicans* y potencialmente contra otros patógenos de interés clínico.

La selección del PVC como matriz polimérica ideal para el desarrollo de MCPF fue respaldada por los resultados del coeficiente de hinchamiento y contracción, los cuales coincidieron con lo reportado por Noimark et al. (2012) [64], confirmando la estabilidad dimensional tras el protocolo HEC y el curado, lo cual es crítico para garantizar su compatibilidad estructural con dispositivos médicos reales. Particularmente, el tratamiento con NPs de TiO_2 : Rh mostró los mayores coeficientes de hinchamiento, lo que sugiere una mayor interacción entre el solvente y la matriz de PVC, posiblemente favorecida por la naturaleza coloidal de las NPs y su dispersión en el medio [85, 86] que facilitaron una penetración más uniforme durante la fase de hinchamiento.

Según el estudio de Noimark et al. (2012), la implementación del método HEC en superficies poliméricas reduce su hidrofiliidad, incrementando la hidrofobicidad superficial [64] y esto se pudo comprobar en este estudio con el análisis del ángulo de contacto (Figura 21), donde se evidenció que tanto el método HEC como el curado aumentaron la hidrofobicidad del PVC, cambio que resulta favorable en términos clínicos, ya que superficies más hidrofóbicas suelen presentar una menor afinidad para la adhesión de microorganismos, lo cual puede reducir el riesgo de formación de biopelículas. Esta variación en la topografía superficial se correlacionó con las observaciones microscópicas (Figuras 18 y 22), donde se documentó una reducción de los surcos superficiales y una mayor uniformidad del material, posiblemente atribuida a la acción de la acetona, la cual, según Mi et al. (2023), puede inducir cambios en las propiedades mecánicas del polímero [87]. Adicionalmente, en los MCPF-NPs, el proceso de curado favoreció una distribución más homogénea del FS en la superficie (Figura 23), lo cual podría haber facilitado una mayor interacción con la luz durante el proceso de fotoactivación, contribuyendo así a mejorar su desempeño antimicrobiano.

A nivel morfológico, las micrografías SEM evidenciaron transformaciones relevantes en la superficie del PVC tras la aplicación del protocolo HEC y la

incorporación de NPs de TiO_2 : Rh, pues mientras que el PVC original mostró una superficie con relieve y surcos profundos, el método HEC indujo un alisamiento progresivo, reduciendo notoriamente estas irregularidades superficiales, sugiriendo una reorganización superficial de la matriz polimérica inducida por el proceso de hinchamiento y posterior contracción, la cual puede deberse a la redistribución de cadenas poliméricas al absorber el solvente y perderlo gradualmente durante la evaporación [87]; estos hallazgos contrastan con lo reportado por Noimark et al. (2013) [64], quienes observaron la aparición de grietas tras aplicar el método HEC en catéteres Foley de PVC. Esta diferencia puede atribuirse a la distinta formulación y grado de rigidez de los dispositivos empleados, ya que en este estudio se utilizaron tubos para oxigenación (Hudson RCI, Medline), también empleados clínicamente, y por tanto igualmente susceptibles a la colonización por patógenos y la generación de IAAS.

El efecto de alisamiento antes mencionado fue aún más evidente tras el curado térmico para la elaboración de los MCPF-NPs, lo que sugiere una reorganización estructural inducida por la contracción del polímero y la redistribución del FS, además de que se observó que los cúmulos superficiales de NPs, aún más presentes en el PVC-NPs (sin curado), se correlacionaron con una mayor adhesión fúngica, observada durante algunas de las pruebas microbiológicas, lo que refuerza la importancia del curado térmico como etapa crítica para garantizar una dispersión homogénea del FS y prevenir zonas susceptibles a la colonización debido a defectos superficiales que pudieran servir de anclaje para el patógeno.

El análisis con EDS corroboró la incorporación exitosa de las NPs en la matriz polimérica, detectando la presencia de titanio como elemento característico en la superficie del PVC modificado y, aunque no se identificó de manera cuantificable el dopante Rh, esto es consistente con su bajo porcentaje de inclusión (2%) y con el hecho de que su señal puede superponerse al pico de carbono dominante en la muestra ya que, como se ha documentado en otros estudios, el EDS presenta dificultades para detectar metales pesados en concentraciones traza cuando se encuentran sobre una matriz rica en carbono [84].

La sección 4.3., dedicada a la evaluación de la fotoestabilidad, constituye uno de los aportes más significativos del presente estudio, al combinar análisis microbiológicos con caracterización espectral en el visible para examinar el desempeño funcional de los MCPF durante el almacenamiento y la reutilización.

Los resultados de viabilidad celular obtenidos tras una semana de la elaboración de los MCPF evidenciaron la eficacia inicial de ambos sistemas contra a biopelículas de *C. albicans*. En particular, el MCPF-AM logró una inhibición significativa (~83%) tras cuatro ciclos de irradiación que sumaron una dosis acumuladas de 240 J/cm², mientras que el MCPF-NPs alcanzó una reducción comparable con un solo tratamiento de 60 J/cm². Este comportamiento es comparable al de otros estudios previos que emplearon AM y otras NPs sobre distintos polímeros, en los que evaluaron la reducción de bacterias como *E. coli*, *S. aureus* o *S. epidermidis* [64-68, 72] mediante combinaciones de AM, cristal violeta o NPs de oro encapsuladas en PVC, silicona, polisiloxano, poliuretano y otros materiales hospitalarios.

Por otra parte, en el caso específico de los MCPF-NPs, aunque existe literatura sobre el uso de TiO₂ como FS, la mayoría de los estudios disponibles se han enfocado en su aplicación frente a bacterias como *E. coli*, *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, MRSA y *Acinetobacter baumannii* [58–60], usando comúnmente TiO₂ sin dopar o dopado con Ag, y con irradiación en el rango UV, lo cual representa una limitación importante para la aplicación clínica debido al riesgo asociado con esta radiación. En contraste, en el grupo de investigación donde se desarrolló esta tesis se han realizado contribuciones importantes en la adaptación de TiO₂ para su activación con luz visible, específicamente en el contexto de la TFDa contra *C. albicans*, de modo que, en trabajos previos, se demostró la eficacia del TiO₂ dopado con Ag, Fe y Cu, así como en su forma co-dopada Cu:Fe, utilizando luz azul (450 nm), con la que se alcanzó un porcentaje de erradicación de *C. albicans* superior al 90% [80].

Complementando este enfoque, los resultados obtenidos en el presente estudio, junto con trabajos preliminares por el mismo grupo de investigación, evidencian por primera vez que las NPs de TiO₂: Rh pueden activarse de

manera eficiente mediante luz roja visible (630 nm), induciendo una reducción significativa de la viabilidad de *C. albicans*, lo que representa un avance relevante en términos de seguridad y aplicabilidad clínica. El hallazgo de que este tipo de dopaje puede funcionar con longitudes de onda más seguras para el entorno clínico refuerza la línea innovadora del grupo de trabajo en la modificación estratégica de TiO₂ mediante diferentes metales dopantes para extender su espectro de acción fotodinámica, especialmente contra hongos patógenos como *C. albicans*, donde aún existe un vacío considerable en la literatura.

Respecto al almacenamiento, los resultados indicaron que los MCPF-AM conservaron su eficacia hasta por seis meses, aunque con una pérdida funcional hacia el final del periodo, especialmente evidente en el sexto mes cuando la viabilidad celular aumentó, aunque sin superar el 50%; este comportamiento fue consistente con la reducción en la absorbancia espectral en la región de activación del FS (~655 nm). La correlación entre esta pérdida espectral y el aumento en la viabilidad sugiere que el AM es susceptible a fenómenos de degradación oxidativa o liberación del FS desde la matriz polimérica como se ha descrito previamente para colorantes similares [88, 89], los cuales han sido reportados como causas frecuentes de pérdida de eficacia en sistemas similares. En particular, se ha observado que la disminución de la intensidad en el pico característico del AM, acompañada por un aumento de la absorbancia en la región de 400–600 nm tras la exposición prolongada o la iluminación puede deberse a alteraciones estructurales tanto en el FS como en el sustrato polimérico, en un fenómeno conocido como fotoblanqueo [90, 91]. Además, se ha reportado que el AM adsorbido sobre algunos materiales puede experimentar degradación espontánea durante procesos de secado y almacenamiento, conduciendo a la formación de subproductos oxidativos [92], lo cual puede comprometer su funcionalidad fotodinámica con el tiempo.

En contraste, los MCPF-NPs presentaron una reducción más temprana de la eficacia, evidenciada por una viabilidad celular superior al 50% desde el tercer mes de almacenamiento con disminuciones en la absorbancia más progresivas tanto en ausencia como en presencia de luz, siendo este un comportamiento que sugiere que factores adicionales podrían estar comprometiendo la

funcionalidad del sistema, entre ellos: la oxidación lenta de la matriz de PVC que incluye procesos como la deshidrocloración y la degradación fotoquímica bajo irradiación, afectando la integridad superficial del material [93]; la migración interna de las NPs que puede reducir su disponibilidad en la superficie activa del polímero [94]; y la desactivación del dopante de Rh la cual puede deberse a la migración del metal o cambios en su estado de oxidación durante los ciclos redox [95]; en conjunto, estos mecanismos podrían explicar la pérdida gradual de eficacia fotodinámica observada durante el almacenamiento.

Es importante mencionar que, en estos experimentos, en el grupo de Control Luz se evidenció que la exposición a luz visible por sí sola produjo una inhibición en la viabilidad celular de entre el 30-40%; este comportamiento podría estar relacionados con la presencia de cromóforos endógenos en las células de *C. albicans*, tales como flavinas y porfirinas, compuestos que absorben luz visible y que pueden generar EROs, desencadenando respuestas celulares perjudiciales [96, 97]. Además, respecto al grupo de Control FS para ambos MCPF, estos presentaron una inhibición progresiva en la viabilidad celular, a partir del tercer mes para los materiales con AM y desde el primero para los basados en NPs, lo cual puede implicar un grado de toxicidad intrínseca de ambos FS independiente de la iluminación; en el caso del AM, esta toxicidad puede deberse a su capacidad para interactuar directamente con estructuras celulares, generando estrés oxidativo basal [98], mientras que en el caso de las NPs de TiO₂: Rh, podría deberse a la liberación espontánea de EROs en medios acuosos, o a la interacción física con la membrana celular [99].

En cuanto a la reutilización, los MCPF-AM demostraron ser eficaces únicamente tras el primer uso, donde redujeron la viabilidad de *C. albicans* un porcentaje superior al 80%; no obstante, en los siguientes dos ciclos, esta eficacia decayó de forma considerable. Este comportamiento fue congruente con los resultados espectroscópicos, en los que se observó una reducción abrupta en la absorbancia característica del AM tras la primera irradiación, lo cual refleja un fenómeno de fotoblanqueamiento completo del FS, proceso que implica la degradación estructural irreversible del AM debido a la generación masiva de EROs durante la activación, lo que impide su reutilización efectiva. En

contraste, los MCPF-NPs mantuvieron niveles aceptables de eficacia antimicrobiana durante al menos tres ciclos consecutivos, con valores de viabilidad inferiores al 40%, mostrando un perfil más robusto ante el uso repetido, lo cual se validó con la estabilidad espectral observada de estos materiales, en la que no hubo reducción en la absorbancia tras la TFDa, respaldando la hipótesis de que las NPs de TiO₂ no sufren una degradación inmediata como la observada en colorantes orgánicos, lo que permite su activación continua durante múltiples ciclos.

Este hallazgo tiene implicaciones relevantes para el desarrollo de dispositivos clínicos reutilizables con propiedades antimicrobianas activadas por luz ya que los materiales basados en NPs podrían ofrecer una mayor vida útil funcional y menor necesidad de reemplazo. A pesar de que la reutilización de sistemas clínicos fotodinámicos ha sido escasamente abordada en la literatura, en esta tesis se inicia formalmente su estudio, evaluando por primera vez el desempeño antimicrobiano de MCPF tras múltiples ciclos de activación frente a *C. albicans*, resaltando el potencial de estos materiales para aplicaciones prolongadas en entornos clínicos donde la persistencia de infecciones representa un reto constante.

Cabe destacar que este estudio constituye una contribución al campo al ser de los pocos en aplicar técnicas como la EDS, como una herramienta de validación composicional que aportó evidencia complementaria a la caracterización morfológica de los MCPF elaborados [100, 101], además de la forma sistemática de utilizar la espectroscopía visible no solo como técnica de caracterización inicial, sino como una herramienta de monitoreo de la estabilidad funcional de FS en MCPF sometidos a almacenamiento y reutilización, correlacionando los cambios con la eficacia antimicrobiana contra un patógeno clínicamente relevante como *C. albicans*. Este enfoque representa un avance significativo, ya que permite anticipar el comportamiento de los MCPF en contextos de uso prolongado, mejora la predicción de su desempeño en condiciones hospitalarias y aporta criterios objetivos para definir su vida útil, lo cual resulta crucial para su eventual implementación en dispositivos médicos reutilizables, seguros y eficaces.

6. CONCLUSIONES Y TRABAJO A FUTURO

Como aporte metodológico, esta tesis implementó por primera vez un análisis longitudinal del desempeño funcional de MCPF en condiciones realistas de almacenamiento y reutilización clínica, integrando ensayos microbiológicos con espectroscopía visible como herramienta de monitoreo. Esta aproximación permitió establecer una correlación directa entre la estabilidad espectral y la eficacia antimicrobiana, constituyendo una contribución original al diseño de superficies médicas fotoesterilizables con enfoque en la durabilidad funcional de los FS incorporados, pudiendo concluir que:

- El PVC fue seleccionado como material más adecuado debido a su modificación superficial favorable tras el método de HEC, que redujo la susceptibilidad a la adhesión de *C. albicans*, convirtiéndolo en el polímero ideal para evaluar la eficacia antimicrobiana de los MCPF.
- Se optimizó el proceso de incorporación de los FS en PVC, logrando una integración estable tanto del AM como de las NPs de TiO₂: Rh. Las caracterizaciones óptica (espectroscopía visible y SEM), morfológica (ángulo de contacto y coeficiente de hinchamiento y contracción) y química (EDS) confirmaron la retención de los FS en la matriz y evidenciaron mejoras en la estructura superficial del PVC, aspectos importantes compatibles con el mecanismo de acción de la TFDa.
- Se comprobó, mediante el coeficiente de hinchamiento y contracción, que los MCPF presentaron un comportamiento dimensional estable, confirmando que ni el protocolo HEC ni el curado térmico comprometieron la integridad estructural del material, lo que respalda su posible implementación en dispositivos médicos.
- Se evidenció una inhibición significativa de biopelículas de *C. albicans* tras la exposición a TFDa con luz roja en los MCPF, con una fluencia de 240 J/cm² en cuatro dosis fraccionadas para AM y 60 J/cm², y en una única dosis para los que tenían NPs, validando su capacidad de fotoesterilización en condiciones in vitro.
- Se determinó que los MCPF-AM conservaron su actividad antimicrobiana hasta por seis meses de almacenamiento en condiciones

de oscuridad; sin embargo, los ensayos de reutilización indicaron una pérdida progresiva de eficacia tras múltiples ciclos, lo que limita su empleo a aplicaciones de un solo uso.

- Para los MCPF-NPs si bien se confirmó que su capacidad fotoesterilizable se mantiene por hasta al menos cuatro usos, con reducciones en la viabilidad superiores al 70%, su funcionalidad fotodinámica decae notoriamente desde el tercer mes de almacenado.
- Mediante espectroscopía visible se verificó la degradación fotoinducida del AM, en los MCPF-AM, en presencia de luz ambiental, mientras que en los MCPF-NPs no se observaron diferencias relevantes entre las muestras almacenadas en condiciones de luz y oscuridad.

Finalmente, se abordan las fortalezas y limitaciones del enfoque propuesto, planteando proyecciones para próximas investigaciones, por lo que se plantea como trabajo a futuro:

- Evaluar la eficacia de los MCPF contra a otros microorganismos patógenos, tanto bacterianos como fúngicos, dada la necesidad clínica de desarrollar superficies antimicrobianas de amplio espectro.
- Investigar la incorporación de diferentes tipos de FS, tanto colorantes como nanoparticulados, que permitan mejorar la eficiencia fotodinámica y ampliar el rango espectral de activación.
- Potencializar la eficacia de los MCPF a partir del diseño de sistemas fotoactivables que combinen distintos tipos de FS, como colorantes y NPs activadas por luz visible, capaces de actuar de forma sinérgica.
- Ampliar la aplicación de la metodología a otros polímeros de uso clínico, especialmente aquellos con alta susceptibilidad a la colonización microbiana, como el poliuretano, con el fin de desarrollar superficies activas específicas según el tipo de dispositivo médico.

REFERENCIAS

- [1] Secretaría de salud. Gobierno de México, “Boletín Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud (IAAS) Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHOVE)”, México, julio de 2023. Accedido el 17 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/878689/BOLETINRHO_VETERCERTRIMESTRE2023.pdf
- [2] A. A. Forder, “A brief history of infection control - past and present: original article”, *South Afr. Med. J.*, vol. 97, n.º 11, 2007. Accedido el 25 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible: <https://journals.co.za/doi/abs/10.10520/EJC68889>
- [3] J. Robinson, P. M. Saint Louis y A. Padmaraju. “Polymer in Medecine”. Polymer in Medicine. Accedido el 30 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible: https://wwwcourses.sens.buffalo.edu/ce435/2001ZGu/Polymers_in_medicine/PolymersInMedicineReport.htm
- [4] G. Bordenave, “Louis Pasteur (1822–1895)”, *Microbes Infect.*, vol. 5, n.º 6, pp. 553–560, mayo de 2003. Accedido el 15 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: [https://doi.org/10.1016/s1286-4579\(03\)00075-3](https://doi.org/10.1016/s1286-4579(03)00075-3)
- [5] R. E. Dixon, “Control of Health-Care–Associated Infections, 1961–2011”, *Morbidity Mortality Weekly Rep. (MMWR)*, Supplement 60, n.º 04, 2011. Accedido el 25 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible: <https://www.cdc.gov/mmWr/pdf/other/su6004.pdf#page=60>
- [6] D. A. Sen Salinas, “Efecto de la inactivación fotodinámica en la inhibición de biopelículas formadas por *Candida spp.*”, Tesis de Maestría, Inst. Nac. Astrofísica, Opt. Electron., Puebla, México, 2021.
- [7] D. Aebisher *et al.*, “Photodynamic Therapy: Past, Current, and Future”, *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 25, n.º 20, p. 11325, octubre de 2024. Accedido el 25 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.3390/ijms252011325>
- [8] E. Dube, “Antimicrobial Photodynamic Therapy: Self-Disinfecting Surfaces for Controlling Microbial Infections”, *Microorganisms*, vol. 12, n.º 8, p. 1573, agosto de 2024. Accedido el 8 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.3390/microorganisms12081573>
- [9] A. Eichner *et al.*, “Novel photodynamic coating reduces the bioburden on near-patient surfaces thereby reducing the risk for onward pathogen transmission: a field study in two hospitals”, *J. Hospital Infection*, vol. 104, n.º 1, pp. 85–91, enero de 2020. Accedido el 8 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2019.07.016>
- [10] World Health Organization (WHO), “WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action”, Ginebra, 2022. Accedido el 30 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/363682/9789240060241-eng.pdf?sequence=1>
- [11] Organización Mundial de la Salud (OMS). “La OMS publica el primer informe mundial sobre prevención y control de infecciones (PCI)”. World

-
- Health Organization (WHO). Accedido el 18 de marzo de 2023. [En línea]. Disponible: <https://www.who.int/es/news/item/06-05-2022-who-launches-first-ever-global-report-on-infection-prevention-and-control>
- [12] Secretaría de salud. Gobierno de México, “Boletín de Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud”, México, julio de 2024. Accedido el 17 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/926669/BoletinI AAScierre2023.pdf>
- [13] B. Fernández Nicolás, “Materiales Poliméricos en aplicaciones biomédicas”, Trabajo de grado, Univ. Politec. Cartagena, Cartagena, Colombia, 2023. Accedido el 30 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible: <https://repositorio.upct.es/server/api/core/bitstreams/7ea8dff7-b9d3-4ba9-871e-62bf98abd3a2/content>
- [14] M. A. Osorio-Delgado *et al.*, “Aplicaciones biomédicas de biomateriales poliméricos”, *DYNA*, vol. 84, n.º 201, p. 241, junio de 2017. Accedido el 30 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.15446/dyna.v84n201.60466>
- [15] C. Cox. “Silicone valley: a biomaterial for med-tech - Medical Device Developments”. Medical Device Developments. Accedido el 30 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible: <https://www.medicaldevice-developments.com/analysis/silicone-valley-biomaterial-med-tech/>
- [16] R. M. Taylor. “Silicone: Expanding the Horizon for Today’s Medical Devices”. Medical Design Briefs. Accedido el 30 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible: <https://www.medicaldesignbriefs.com/component/content/article/22066-silicone-expanding-the-horizon-for-today-s-medical-devices>
- [17] A. C. Marmo y M. A. Grunlan, “Biomedical Silicones: Leveraging Additive Strategies to Propel Modern Utility”, *ACS Macro Lett.*, pp. 172–182, enero de 2023. Accedido el 8 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1021/acsmacrolett.2c00701>
- [18] B. Liu *et al.*, “Performance characterization and biocompatibility assessment of silicone polyurethanes for polymer heart valve applications”, *RSC Adv.*, vol. 14, n.º 16, pp. 10858–10873, 2024. Accedido el 8 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1039/d4ra00183d>
- [19] M. Zare, E. R. Ghomi, P. D. Venkatraman y S. Ramakrishna, “Silicone-based biomaterials for biomedical applications: Antimicrobial strategies and 3D printing technologies”, *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 138, n.º 38, p. 50969, mayo de 2021. Accedido el 8 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1002/app.50969>
- [20] Z. Cheng *et al.*, “The surface stress of biomedical silicones is a stimulant of cellular response”, *Sci. Advances*, vol. 6, n.º 15, abril de 2020, art. n.º eaay0076. Accedido el 8 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1126/sciadv.aay0076>
- [21] D. S. Thompson, P. L. Carlisle y D. Kadosh, “Coevolution of Morphology and Virulence in *Candida* Species”, *Eukaryot. Cell*, vol. 10, n.º 9, pp. 1173–1182, julio de 2011. Accedido el 8 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1128/ec.05085-11>

-
- [22] D. Carranza Zuñiga, “Efecto de la terapia fotodinámica antimicrobiana en las propiedades viscoelásticas de *Candida tropicalis*”, Tesis de Maestría, Inst. Nac. Astrofísica, Opt. Electron., Puebla, México, 2023.
- [23] P. G. Pappas, M. S. Lionakis, M. C. Arendrup, L. Ostrosky-Zeichner y B. J. Kullberg, “Invasive candidiasis”, *Nature Rev. Disease Primers*, vol. 4, n.º 1, mayo de 2018. Accedido el 8 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.26>
- [24] S. Silva, C. Rodrigues, D. Araújo, M. Rodrigues y M. Henriques, “*Candida* Species Biofilms’ Antifungal Resistance”, *J. Fungi*, vol. 3, n.º 1, p. 8, febrero de 2017. Accedido el 8 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.3390/jof3010008>
- [25] N. Yapar, “Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis”, *Therapeutics Clin. Risk Manage.*, p. 95, febrero de 2014. Accedido el 8 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.2147/term.s40160>
- [26] C. Stokes, G. P. Moran, M. J. Spiering, G. T. Cole, D. C. Coleman y D. J. Sullivan, “Lower filamentation rates of *Candida dubliniensis* contribute to its lower virulence in comparison with *Candida albicans*”, *Fungal Genetics Biol.*, vol. 44, n.º 9, pp. 920–931, septiembre de 2007. Accedido el 8 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2006.11.014>
- [27] P. E. Sudbery, “Growth of *Candida albicans* hyphae”, *Nature Rev. Microbiol.*, vol. 9, n.º 10, pp. 737–748, agosto de 2011. Accedido el 5 de agosto de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1038/nrmicro2636>
- [28] J. E. Camacho Proo, “Identificación y caracterización fenotípica de levaduras del género *candida* aisladas de pacientes”, Tesis de Maestría, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México, 2017.
- [29] J. Verma-Gaur y A. Traven, “Post-transcriptional gene regulation in the biology and virulence of *Candida albicans*”, *Cellular Microbiol.*, vol. 18, n.º 6, pp. 800–806, abril de 2016. Accedido el 8 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1111/cmi.12593>
- [30] P. Faria-Gonçalves, J. Rolo, C. Gaspar, R. Palmeira-de-Oliveira, J. Martinez-de-Oliveira y A. Palmeira-de-Oliveira, “Virulence Factors as Promoters of Chronic Vulvovaginal Candidosis: A Review”, *Mycopathologia*, vol. 186, n.º 6, pp. 755–773, octubre de 2021. Accedido el 16 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1007/s11046-021-00592-8>
- [31] J. A. Cortés, J. F. Ruiz, L. N. Melgarejo-Moreno y E. V. Lemos, “Candidemia en Colombia”, *Biomédica*, vol. 40, n.º 1, pp. 195–207, marzo de 2020. Accedido el 16 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.7705/biomedica.4400>
- [32] L. M. Sanmartín Sagbay, C. d. R. Espinoza Loja y C. F. Prieto Fuenmayor, “Fármacorresistencia en Especies de *Candida* sp. Causantes de Infecciones Fúngicas Invasivas en Latinoamérica Revisión Sistemática”, *Cienc. Lat. Rev. Cient. Multidiscip.*, vol. 8, n.º 1, pp. 1163–1198, febrero de 2024. Accedido el 16 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i1.9499

-
- [33] M. Nucci *et al.*, “Epidemiology of Candidemia in Latin America: A Laboratory-Based Survey”, *PLoS ONE*, vol. 8, n.º 3, marzo de 2013, art. n.º e59373. Accedido el 16 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059373>
- [34] M. d. R. Reyes-Montes, E. Duarte-Escalante, E. Martínez-Herrera, G. Acosta-Altamirano y M. G. Frías-De León, “Current status of the etiology of candidiasis in Mexico”, *Rev. Iberoam. Micol.*, vol. 34, n.º 4, pp. 203–210, octubre de 2017. Accedido el 16 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.riam.2017.05.001>
- [35] C. d. Bedout y B. L. Gómez, “Candida y candidiasis invasora: un reto continuo para su diagnóstico temprano”, *Infectio*, vol. 14, pp. 159–171, diciembre de 2010. Accedido el 16 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible: [https://doi.org/10.1016/s0123-9392\(10\)70133-8](https://doi.org/10.1016/s0123-9392(10)70133-8)
- [36] P. Eggimann, J. Garbino y D. Pittet, “Management of candidiasis Management of Candida species infections in critically ill patients”, *Lancet Infect. Dis.*, vol. 3, n.º 12, pp. 772–785, diciembre de 2003. Accedido el 16 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible: [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(03\)00831-4](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(03)00831-4)
- [37] H. I. González Prado y M. Cuéllar Cruz, “Adherencia de candida a dispositivos médicos de uso rutinario en pacientes hospitalizados”, *Jóvenes en la ciencia*, vol. 2, n.º 1, noviembre de 2017. Accedido el 16 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible: <https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/1058>
- [38] Instituto Mexicano del Seguro Social, “Guía de referencia rápida: Diagnóstico y tratamiento de candidiasis invasiva en el adulto”, México, IMSS-562-12, octubre de 2012. Accedido el 16 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible: <https://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/562GRR.pdf>
- [39] M. Gulati y C. J. Nobile, “Candida albicans biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms”, *Microbes Infect.*, vol. 18, n.º 5, pp. 310–321, mayo de 2016. Accedido el 16 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2016.01.002>
- [40] Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST). “Candida albicans - Hongo - Agentes biológicos - Portal INSST - INSST”. Portal INSST. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/hongos/candida-albicans>
- [41] P. G. Pappas *et al.*, “Clinical Practice Guidelines for the Management of Candidiasis: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America”, *Clin. Infectious Diseases*, vol. 48, n.º 5, pp. 503–535, marzo de 2009. Accedido el 8 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1086/596757>
- [42] J. M. Aguado *et al.*, “Recomendaciones sobre el tratamiento de la candidiasis invasiva y otras infecciones por levaduras de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Actualización 2011”, *Enfermedades Infecc. Microbiol. Clin.*, vol. 29, n.º 5, pp. 345–361, mayo

-
- de 2011. Accedido el 8 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.01.008>
- [43] M. J. Sosa, “Nuevos fotosensibilizadores lipofílicos: síntesis, caracterización y estudio de sus propiedades fotoquímicas y fotosensibilización de membranas lipídicas”, Tesis Doctoral, Universidad Nacional de la Plata, Argentina, 2023.
- [44] D. L. Sai, J. Lee, D. L. Nguyen y Y.-P. Kim, “Tailoring photosensitive ROS for advanced photodynamic therapy”, *Exp. & Mol. Medicine*, vol. 53, n.º 4, pp. 495–504, abril de 2021. Accedido el 8 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1038/s12276-021-00599-7>
- [45] M. Saccucci *et al.*, “Surface Disinfections: Present and Future”, *J. Nanomaterials*, vol. 2018, pp. 1–9, 2018. Accedido el 8 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1155/2018/8950143>
- [46] S. Ali, M. Muzslay, M. Bruce, A. Jeanes, G. Moore y A. P. R. Wilson, “Efficacy of two hydrogen peroxide vapour aerial decontamination systems for enhanced disinfection of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* and *Clostridium difficile* in single isolation rooms”, *J. Hospital Infection*, vol. 93, n.º 1, pp. 70–77, mayo de 2016. Accedido el 8 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2016.01.016>
- [47] Sociedad Americana Contra El Cáncer. “Terapia Fotodinámica”. American Cancer Society. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://www.cancer.org/es/cancer/como-sobrellevar-el-cancer/tipos-de-tratamiento/radioterapia/terapia-fotodinamica.html>
- [48] Y. Gilaberte *et al.*, “Terapia fotodinámica en dermatología”, *Actas Dermo-Sifiliograficas*, vol. 97, n.º 2, pp. 83–102, marzo de 2006. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: [https://doi.org/10.1016/s0001-7310\(06\)73359-2](https://doi.org/10.1016/s0001-7310(06)73359-2)
- [49] S. Mordon, P. A. Martínez-Carpio, M. Vélez, R. Alves y M. A. Trelles, “Terapia fotodinámica (PDT) en piel y estética: procedimiento, materiales y método en base a nuestra experiencia”, *Cirugía Plast. Ibero-Latinoamericana*, vol. 38, n.º 3, pp. 287–295, septiembre de 2012. Accedido el 23 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.4321/s0376-78922012000300012>
- [50] L. Comini y S. Nuñez Montoya, “Fotosensibilizadores naturales activos en terapia fotodinámica”, *Bitácora digit.*, vol. 3, n.º 7, 2016. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/Bitacora/article/view/16316>
- [51] P. J. Tapia y S. M. Pérez, “Terapia fotodinámica y sus aplicaciones. Revisión del estado del arte”, *INDEXIA*, vol. 6, 2022. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://revistaindexia.com/wp-content/uploads/2022/12/Terapia-fotodinamica-y-sus-aplicaciones.pdf>
- [52] B. Fontal, *El Espectro Electromagnético y sus Aplicaciones*. Venezuela: Esc. Venez. Para Enseñanza Química, 2005. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: https://www.researchgate.net/publication/228871821_El_Espectro_Electromagnetico_y_sus_Aplicaciones
-

-
- [53] P. J. Mohr, B. N. Taylor y D. B. Newell, “CODATA recommended values of the fundamental physical constants: 2006”, *Rev. Modern Phys.*, vol. 80, n.º 2, pp. 633–730, junio de 2008. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1103/revmodphys.80.633>
- [54] E. Bore y S. Langsrud, “Characterization of micro-organisms isolated from dairy industry after cleaning and fogging disinfection with alkyl amine and peracetic acid”, *J. Appl. Microbiol.*, vol. 98, n.º 1, pp. 96–105, enero de 2005. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02436.x>
- [55] F. M. Cabrerizo, “Propiedades Fotofísicas y Fotoquímicas de Pterinas en Solución Acuosa: Fluorescencia, Producción de Especies Reactivas de Oxígeno y Oxidación”, Tesis Doctoral, Universidad Nacional de la Plata, Argentina, 2005.
- [56] S. Rajendran y V. Sriranjini, “Plant products as fumigants for stored-product insect control”, *J. Stored Products Res.*, vol. 44, n.º 2, pp. 126–135, enero de 2008. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2007.08.003>
- [57] S. B. Bhatwalkar, P. Shukla, R. K. Srivastava, R. Mondal y R. Anupam, “Validation of environmental disinfection efficiency of traditional Ayurvedic fumigation practices”, *J. Ayurveda Integrative Medicine*, vol. 10, n.º 3, pp. 203–206, julio de 2019. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.jaim.2019.05.002>
- [58] Y. Ohko *et al.*, “Self-sterilizing and self-cleaning of silicone catheters coated with TiO₂ photocatalyst thin films: A preclinical work”, *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 58, n.º 1, pp. 97–101, 2001. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: [https://doi.org/10.1002/1097-4636\(2001\)58:1%3C97::aid-jbm140%3E3.0.co;2-8](https://doi.org/10.1002/1097-4636(2001)58:1%3C97::aid-jbm140%3E3.0.co;2-8)
- [59] Y. Sekiguchi *et al.*, “Self-sterilizing catheters with titanium dioxide photocatalyst thin films for clean intermittent catheterization: Basis and study of clinical use”, *Int. J. Urol.*, vol. 14, n.º 5, pp. 426–430, mayo de 2007. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1111/j.1442-2042.2007.01743.x>
- [60] Y. Yao, Y. Ohko, Y. Sekiguchi, A. Fujishima y Y. Kubota, “Self-sterilization using silicone catheters coated with Ag and TiO₂ nanocomposite thin film”, *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.*, vol. 85B, n.º 2, pp. 453–460, 2008. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30965>
- [61] S. Perni *et al.*, “The antimicrobial properties of light-activated polymers containing methylene blue and gold nanoparticles”, *Biomaterials*, vol. 30, n.º 1, pp. 89–93, enero de 2009. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.09.020>
- [62] A. J. T. Naik, S. Ismail, C. Kay, M. Wilson y I. P. Parkin, “Antimicrobial activity of polyurethane embedded with methylene blue, toluidene blue and gold nanoparticles against *Staphylococcus aureus*; illuminated with white light”, *Mater. Chemistry Phys.*, vol. 129, n.º 1-2, pp. 446–450, septiembre de

-
2011. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2011.04.040>
- [63] E. Ozkan, E. Allan y I. P. Parkin, "The antibacterial properties of light-activated polydimethylsiloxane containing crystal violet", *RSC Adv.*, vol. 4, n.º 93, pp. 51711–51715, 2014. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1039/c4ra08503e>
- [64] S. Noimark *et al.*, "Incorporation of methylene blue and nanogold into polyvinyl chloride catheters; a new approach for light-activated disinfection of surfaces", *J. Mater. Chemistry*, vol. 22, n.º 30, p. 15388, 2012. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1039/c2jm31987j>
- [65] S. Noimark *et al.*, "Photobactericidal polymers; the incorporation of crystal violet and nanogold into medical grade silicone", *RSC Adv.*, vol. 3, n.º 40, p. 18383, 2013. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1039/c3ra42629g>
- [66] S. Noimark *et al.*, "Functionalised gold and titania nanoparticles and surfaces for use as antimicrobial coatings", *Faraday Discuss.*, vol. 175, pp. 273–287, 2014. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1039/c4fd00113c>
- [67] S. Noimark *et al.*, "Dual-Mechanism Antimicrobial Polymer-ZnO Nanoparticle and Crystal Violet-Encapsulated Silicone", *Adv. Functional Mater.*, vol. 25, n.º 9, pp. 1367–1373, enero de 2015. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1002/adfm.201402980>
- [68] M. J. Bovis *et al.*, "Photosensitisation studies of silicone polymer doped with methylene blue and nanogold for antimicrobial applications", *RSC Adv.*, vol. 5, n.º 68, pp. 54830–54842, 2015. Accedido el 9 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1039/c5ra09045h>
- [69] T. J. Macdonald *et al.*, "Thiol-Capped Gold Nanoparticles Swell-Encapsulated into Polyurethane as Powerful Antibacterial Surfaces Under Dark and Light Conditions", *Scientific Rep.*, vol. 6, n.º 1, diciembre de 2016. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1038/srep39272>
- [70] E. Ozkan, E. Allan y I. P. Parkin, "White-Light-Activated Antibacterial Surfaces Generated by Synergy between Zinc Oxide Nanoparticles and Crystal Violet", *ACS Omega*, vol. 3, n.º 3, pp. 3190–3199, marzo de 2018. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1021/acsomega.7b01473>
- [71] A. Patir, G. B. Hwang, S. P. Nair, E. Allan y I. P. Parkin, "Photobactericidal Activity of Dual Dyes Encapsulated in Silicone Enhanced by Silver Nanoparticles", *ACS Omega*, vol. 3, n.º 6, pp. 6779–6786, junio de 2018. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b00552>
- [72] K. C. A. Inomata, A. Rodrigues dos Santos, I. T. K. Prates, L. F. G. Setz y P. A. Ana, "Effects of photodynamic therapy on materials used in hospitals," *2019 SBFoton International Optics and Photonics Conference (SBFoton IOPC)*, pp. 1-5, Sao Paulo, Brazil, 2019. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1109/SBFoton-IOPC.2019.8910253>

-
- [73] H. Aydın *et al.*, “Antibacterial activity of silver nanoparticles activated by photodynamic therapy in infected root canals”, *Dental Med. Problems*, vol. 57, n.º 4, pp. 393–400, diciembre de 2020. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.17219/dmp/123615>
- [74] G. B. Hwang *et al.*, “White light-activated antimicrobial surfaces: effect of nanoparticles type on activity”, *J. Mater. Chemistry B*, vol. 4, n.º 12, pp. 2199–2207, 2016. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1039/c6tb00189k>
- [75] G. B. Hwang *et al.*, “White light-activated bactericidal coating using acrylic latex, crystal violet, and zinc oxide nanoparticles”, *Mater. Advances*, 2023. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1039/d3ma00509g>
- [76] H. Irie, X. Zhang, A. Fujishima y D. A. Tryk, *Handbook of Self-Cleaning Surfaces and Materials: From Fundamentals to Applications*. Wiley Sons, Inc., John, 2023. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9783527690688>
- [77] C. P. Betancur Henao, V. Hernández Montes y R. Buitrago Sierra, “Nanopartículas para materiales antibacterianos y aplicaciones del dióxido de titanio”, *Rev. Cuba. Investig. Biomed.*, vol. 35, n.º 4, 2016. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=70522>
- [78] S. Navarrete López, A. Rodríguez y A. Pataquiva-Mateus, “Actividad antimicrobiana de nanopartículas de TiO₂ en *Serratia Marcescens* y *Escherichia Coli*”, Universidad Jorge Tadeo Lozano, Colombia, 2019.
- [79] E. G. A. Owusu, E. Yaghini, I. Naasani, I. P. Parkin, E. Allan y A. J. MacRobert, “Synergistic interactions of cadmium-free quantum dots embedded in a photosensitised polymer surface: efficient killing of multidrug-resistant strains at low ambient light levels”, *Nanoscale*, vol. 12, n.º 19, pp. 10609–10622, 2020. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1039/c9nr10421f>
- [80] R. Lozano-Rosas, R. Ramos-García, M. F. Salazar-Morales, M. J. Robles-Águila y T. Spezzia-Mazzocco, “Evaluation of antifungal activity of visible light-activated doped TiO₂ nanoparticles”, *Photochem. & Photobiol. Sci.*, abril de 2024. Accedido el 7 de julio de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1007/s43630-024-00557-y>
- [81] T. Mahmood, F. Anwer, I. Mahmood, F. Kishwar y A. Wahab, “Solvatochromic effect of Methylene Blue in different solvents with different polarity”, *Eur. Academic Res.*, vol. 1, n.º 6, septiembre de 2013. Accedido el 17 de junio de 2025. [En línea]. Disponible: https://www.researchgate.net/profile/Talat-Mahmood-5/publication/280598400_Solvatochromic_effect_of_Methylene_Blue_in_different_solvents_with_different_polarity/links/55e355d908aeb1a7cc9ca92/Solvatochromic-effect-of-Methylene-Blue-in-different-solvents-with-different-polarity.pdfJ. Torres Limiñana, “Evaluación antimicrobiana de Ag-TiO₂ obtenido a partir de biosíntesis acoplada a microondas”, Tesis de grado, Universidad Autónoma de Querétaro, México, 2022.

-
- [82] The European Council of Vinyl Manufacturers. "PVC's physical properties". ECVM. Accedido el 17 de junio de 2025. [En línea]. Disponible: <https://pvc.org/about-pvc/pvcs-physical-properties/>
- [83] D. M. Álvarez-Constante y C. R. Rosero-Erao, "Potencial bactericida de nanopartículas de óxido de bismuto y dióxido de titanio", *Dominio Cienc.*, vol. 7, n.º 3, 2021. Accedido el 2 de abril de 2025. [En línea]. Disponible: <https://www.dominiodelasciencias.com/ojs/index.php/es/article/view/2026>
- [84] M. Ávalos Borja y A. Vázquez Pelayo, "La técnica de espectroscopía de dispersión de energía como auxiliar para conocer mejor los materiales", *Cienc. En Front.*, n.º 29, pp. 36–39, junio de 2022. Accedido el 21 de junio de 2025. [En línea]. Disponible: <https://publicaciones.anahuac.mx/index.php/masciencia/article/view/1343/1265>
- [85] M. G. Villamizar Sarmiento, "Diseño, desarrollo y caracterización de nanopartículas basadas en interacciones π - π fármaco-polímero para la formulación de nanomedicamentos", Tesis doctoral, Univ. Chile, Santiago de Chile, 2020. Accedido el 7 de julio de 2025. [En línea]. Disponible: <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/185648/Diseno-desarrollo-y-caracterizacion-de-nanoparticulas-basadas-en-interacciones.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- [86] M. V. G. Trejo Merla, "Modificación superficial por plasma de nanotubos de carbón y nanofibras utilizadas en la preparación de nanocompuestos poliméricos", Caso de estudio de Especialización, CENT. INVESTIG. EN QUIMICA APL., Saltillo, Coahuila, 2006. Accedido el 7 de julio de 2025. [En línea]. Disponible: <https://ciqa.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1025/393/1/Maria%20Victoria%20Guadalupe%20Trejo%20Merla.pdf>
- [87] H. Mi, X. Huang y P.-Y. B. Jar, "Influence of Acetone and Primer on Strength and Ductility of Chlorinated Poly(vinyl chloride)", *Polymers*, vol. 15, n.º 3, p. 489, enero de 2023. Accedido el 7 de julio de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.3390/polym15030489>
- [88] I. MZ, N. A y P. SC, "Photobleaching and Its Kinetics of Fluorescein Dyes in PVA Polymer Matrices: A Review", *Austin J. Analytical Pharmaceutical Chemistry*, vol. 4, n.º 3, diciembre de 2017. Accedido el 7 de julio de 2025. [En línea]. Disponible: https://www.researchgate.net/profile/Muhammad-Zakarul-Islam/publication/322063657_Photobleaching_and_Its_Kinetics_of_Fluorescein_in_Dyes_in_PVA_Polymer_Matrices_A_Review/links/5a6ca4e50f7e9bd4ca6b7786/Photobleaching-and-Its-Kinetics-of-Fluorescein-Dyes-in-PVA-Polymer-Matrices-A-Review.pdf
- [89] E. Yousif y R. Haddad, "Photodegradation and photostabilization of polymers, especially polystyrene: review", *SpringerPlus*, vol. 2, n.º 1, agosto de 2013. Accedido el 22 de julio de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-398>
- [90] D. V. Pominova, A. V. Ryabova, I. D. Romanishkin, I. V. Markova, E. V. Akhlustina y A. S. Skobeltsin, "Spectroscopic study of methylene blue

-
- photophysical properties in biological media”, *Biomed. Photon.*, vol. 12, n.º 2, pp. 34–47, agosto de 2023. Accedido el 22 de julio de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.24931/2413-9432-2023-12-2-34-47>
- [91] W. MAHMOOD MAT YUNUS, K. S. CHAN y W. M. ZIN WAN YUNUS, “STUDY ON PHOTOBLEACHING OF METHYLENE BLUE DOPED IN PMMA, PVA AND GELATIN USING PHOTOACOUSTIC TECHNIQUE”, *J. Nonlinear Opt. Phys. & Mater.*, vol. 12, n.º 01, pp. 91–100, marzo de 2003. Accedido el 22 de julio de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1142/s0218863503001237>
- [92] A. Zubrik, D. Jáger, E. Mačingová, M. Matik y S. Hredzák, “Spontaneous degradation of methylene blue adsorbed on magnetic biochars”, *Scientific Rep.*, vol. 13, n.º 1, septiembre de 2023. Accedido el 22 de julio de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-39976-9>
- [93] J. Cabrera, C. Paredes, E. Urday y J. Santiago, “PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS DE ALCOHOL POLIVINÍLICO CONTENIENDO NANOPARTÍCULAS DE TiO₂”, *Rev. Iberoam. Polim.*, vol. 8, n.º 4, septiembre de 2007. Accedido el 7 de julio de 2025. [En línea]. Disponible: <https://reviberpol.org/wp-content/uploads/2019/08/2007-cabrera.pdf>
- [94] R. López González, “Efectos morfológicos y estructurales de nanopartículas de óxidos semiconductores en la fotooxidación de biopolímeros”, Tesis doctoral, Univ. Auton. Nuevo Leon, SAN NICOLÁS DE LOS GARZA, 2021. Accedido el 7 de julio de 2025. [En línea]. Disponible: <http://eprints.uanl.mx/27206/1/1080312884.pdf>
- [95] A. Rodolfo Jr. y L. H. I. Mei, “Mecanismos de degradação e estabilização térmica do PVC: A review”, *Polímeros*, vol. 17, n.º 3, pp. 263–275, septiembre de 2007. Accedido el 8 de julio de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1590/s0104-14282007000300018>
- [96] E. Bornstein, W. Hermans, S. Gridley y J. Manni, “Near-infrared Photoinactivation of Bacteria and Fungi at Physiologic Temperatures”, *Photochemistry Photobiol.*, vol. 85, n.º 6, pp. 1364–1374, noviembre de 2009. Accedido el 7 de julio de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2009.00615.x>
- [97] N. Farah *et al.*, “Riboflavin as a promising antimicrobial agent? A multi-perspective review”, *Current Res. Microbial Sci.*, vol. 3, p. 100111, 2022. Accedido el 22 de julio de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2022.100111>
- [98] I. Maliszewska, E. Wanarska, A. C. Thompson, I. D. W. Samuel y K. Matczyszyn, “Biogenic Gold Nanoparticles Decrease Methylene Blue Photobleaching and Enhance Antimicrobial Photodynamic Therapy”, *Molecules*, vol. 26, n.º 3, p. 623, enero de 2021. Accedido el 9 de julio de 2025. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.3390/molecules26030623>
- [99] J. Jeevanandam, A. Barhoum, Y. S. Chan, A. Dufresne y M. K. Danquah, “Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations”, *Beilstein J. Nanotechnol.*, vol. 9, pp. 1050–1074,

-
- abril de 2018. Accedido el 9 de julio de 2025. [En línea].
Disponible: <https://doi.org/10.3762/bjnano.9.98>
- [100] M. A. Aboamer *et al.*, “Radiant Reinforcement: Enhancing Composite Polymer Magnet Materials Mechanical Properties with UVC Medical Disinfection”, *Polymers*, vol. 15, n.º 23, p. 4551, noviembre de 2023. Accedido el 16 de julio de 2025. [En línea].
Disponible: <https://doi.org/10.3390/polym15234551>
- [101] H. Wang, Q. Zhou, J. Sun, W. Ye, Y. Fan y J. Zhao, “Solar-induced self-healing superhydrophobic masks with photo-sterilization and reusability”, *Colloid Interface Sci. Commun.*, vol. 57, p. 100760, noviembre de 2023. Accedido el 16 de julio de 2025. [En línea].
Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.colcom.2023.100760>