

ÖFFNEN

## Nanoskalige Kupfer- und Silberdünnschicht Filmsysteme zeigen Unterschiede in den antiviralen und antibakteriellen Eigenschaften

Toni Luise Meister<sup>1,5</sup>, Jill Fortmann<sup>2,5</sup>, Marina Breisch<sup>3,5</sup>, Christina Sengstock<sup>3,4</sup>, Eike Steinmann<sup>1</sup>, Manfred Köller<sup>3</sup>, Stephanie Pfaender<sup>1,6,7</sup> & Alfred Ludwig<sup>2,6,8</sup>

Die derzeitige Pandemie der Coronavirus-Krankheit 19 (COVID-19) hat gezeigt, wie wichtig einfache und effiziente Präventionsstrategien sind, die schnell umgesetzt werden können, um das Infektionsrisiko zu verringern. Verschiedene Oberflächen haben seit langem antimikrobielle Eigenschaften und sind für die Vorbeugung von bakteriellen Infektionen gut beschrieben. Ihre Wirkung auf viele Viren ist jedoch noch nicht eingehend untersucht worden. Im Zusammenhang mit COVID-19 wurden verschiedene Oberflächen, darunter Kupfer- (Cu) und Silber- (Ag) Beschichtungen, untersucht.

als wirksame antivirale Maßnahmen beschrieben, die leicht zur Verlangsamung der viralen Übertragung eingesetzt werden können. In dieser Studie haben wir antivirale Eigenschaften gegen das Coronavirus-2 des Schweren Akuten Respiratorischen Syndroms (SARS-CoV-2) auf Oberflächen nachgewiesen, die durch Magnetronspütern mit Cu als dünne Cu-Schichten beschichtet wurden oder als ultradünne bimetallische Cu/Ag-Nanopatches. Es wurde jedoch keine Auswirkung von Ag auf den Virustiter beobachtet, was in deutlichem Gegensatz zu seinen bekannten antibakteriellen Eigenschaften steht. Weitere Verbesserung der Ag-Ionen-Freisetzung Kinetik, die auf einem elektrochemischen Opferanodenmechanismus beruht, erhöhte die antivirale Aktivität nicht. Diese Ergebnisse zeigen deutlich, dass Cu- und Ag-Dünnschichtsysteme erhebliche Unterschiede in Bezug auf antivirale und antibakterielle Eigenschaften aufweisen, die bei der Umsetzung berücksichtigt werden müssen.

Cu und Ag sind seit Jahrhunderten als antimikrobielle Wirkstoffe bekannt, doch im medizinischen Bereich haben diese Metalle in den letzten Jahren aufgrund des zunehmenden Auftretens von antibiotikaresistenten Mikroorganismen eine Renaissance erlebt. Neben der Verwendung dieser Metalle in zahlreichen Verbraucherprodukten werden sie in verschiedenen Biomaterialien oder im Gesundheitswesen eingesetzt, um die bakterielle Besiedlung von Implantaten und Geräten zu verhindern oder die Krankenhaushygiene zu unterstützen, um die Zahl der im Krankenhaus erworbenen Infektionen zu verringern. Insbesondere die pandemische Ausbreitung des Coronavirus-2 des Schweren Akuten Respiratorischen Syndroms (SARS-CoV-2), das die Coronavirus-Krankheit 19 (COVID-19) verursacht, hat gezeigt, dass wirksame Interventionsstrategien im Bereich der öffentlichen Gesundheit erforderlich sind, um die Übertragung des Virus zu kontrollieren. Die Entwicklung antiviraler Oberflächen, die in der Lage sind, anhaftende Viruspartikel zu inaktivieren und dadurch die Virusübertragung von kontaminierten Oberflächen zu verhindern, ist jedoch aufgrund der unterschiedlichen Eigenschaften von Mikroben im Vergleich zu Viren eine Herausforderung.

Sowohl Cu als auch Ag üben eine breite antimikrobielle Aktivität aus (Bakterien, Pilze und Viren) und weisen eine geringe Inzidenz der mikrobiellen Resistenz auf, da beide ein breites Spektrum an Zielen in Mikroorganismen angreifen<sup>1-3</sup>. Die antibakterielle Aktivität von Ag hängt stark mit der Freisetzung von Ag-Ionen (Ag<sup>+</sup>) zusammen, die durch oxidative Auflösung gebildet werden, während im Gegensatz dazu

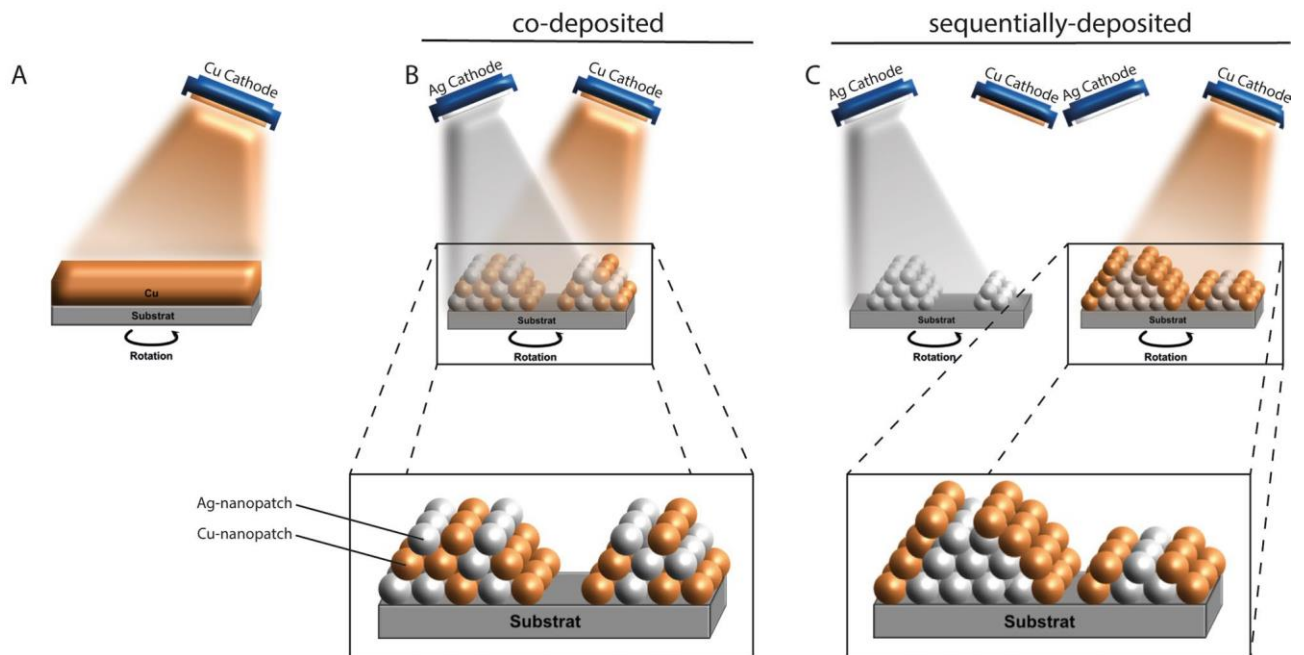
nullwertiges Ag  
(Ag<sup>0</sup>) keine  
vergleichbare  
antibakterielle  
Aktivität  
ausübt<sup>4,6</sup>. Ag<sup>+</sup>-  
Ionen  
interagieren  
mit einer  
Vielzahl von  
Biomolekülen  
innerhalb einer  
Zelle, wie z. B.

mit Zellmembran- und Zellwandkomponenten, Thiol-Liganden, z. B. Sulfhydrylgruppen von Stoffwechsellenzymen oder Nukleinsäuren, und anderen. Darüber hinaus werden durch Ag<sup>+</sup>-Ionen reaktive Sauerstoffspezies (ROS) gebildet, die zu schädlichem oxidativen Stress führen<sup>2,8</sup>. Die Folgen sind im Allgemeinen Schäden an Biomolekülen und nachfolgende zelluläre Dysfunktionen, die schließlich die bakterielle Vermehrung bis hin zu bakteriziden Wirkungen hemmen. Die antibakterielle Wirksamkeit von Ag kann durch eine Vergrößerung der Ag<sup>+</sup> freisetzenden Oberfläche, z. B. durch Verwendung von Ag-Nanopartikeln, gesteigert werden<sup>9</sup>. Darüber hinaus haben wir kürzlich ein Konzept zur Verbesserung der Ag<sup>+</sup>-Freisetzungskinetik vorgestellt, das auf einem elektrochemischen Opferanodenmechanismus beruht<sup>10-12</sup>. Durch die Kombination von Ag mit einem edleren Metall (Au, Pt,

<sup>1</sup>Abteilung für Molekulare und Medizinische Virologie, Ruhr-Universität Bochum, Universitätsstr. 150, 44780 Bochum, Deutschland. <sup>2</sup>Lehrstuhl für Materialforschung und Grenzflächen, Ruhr-Universität Bochum, Universitätsstr. 150, 44780 Bochum, Deutschland. <sup>3</sup>BG Universitätsklinikum Bergmannsheil Bochum, Chirurgische Forschung, Ruhr-Universität Bochum, Buerkle de la Camp Platz-1, 44789 Bochum, Deutschland. <sup>4</sup>Leibniz-Institut für Analytische Wissenschaften - ISAS - e.V., Bunsen-Kirchhoff-Straße 11, 44139 Dortmund, Deutschland. <sup>5</sup>Diese Autoren haben gleichermaßen beigetragen: Toni Luise Meister, Jill Fortmann und Marina Breisch. <sup>✉</sup> email: stephanie.pfaender@rub.de; alfred.ludwig@rub.de

thin films sputtered on Si/SiO<sub>2</sub> pieces

nanostructured surfaces with high surface areas - nanopatches



**Abbildung 1.** Schematische Darstellung (nicht maßstabsgetreu) der Herstellung von Cu- und Ag-Dünnschicht-Nanostrukturen durch Sputter-Deposition. **(A)** Homogen gesputtertes elementares Cu als dichter und kontinuierlicher Film mit einer Dicke von 50 nm; **(B)** 120 s lang gemeinsam gesputterte Cu- und Ag-Nanoflecken; **(C)** nacheinander gesputterte Cu- und Ag-Nanoflecken für jeweils 120 s. Nanoflecken sind inselartige Nanostrukturen mit einer Nenndicke < 5 nm.

Pd oder Ir) in einer elektrolytischen Umgebung (z. B. in biologischen Flüssigkeiten) korrodiert das weniger edle Ag zugunsten des edleren Teils (es wird "geopfert"). Wir haben gezeigt, dass solche Opferanodenoberflächen im Vergleich zu reinen Ag-Oberflächen mit viel höherem Gesamt-Ag<sup>+</sup> aufgrund der elektrochemisch bedingten verstärkten Auflösung von Ag eine viel höhere antibakterielle Wirkung haben. Obwohl die antibakterielle Wirkung von Ag gut bekannt ist, gibt es nur wenige Studien, die sich mit der antiviralen Wirkung von Ag beschäftigen, und die meisten von ihnen befassen sich mit Ag-Nanopartikeln<sup>13</sup>. Kürzlich wurde über die viruzide Wirkung eines gesputterten Ag-Nanocluster/Kieselerde-Komposits auf Gesichtsmasken berichtet<sup>14</sup>.

Im Gegensatz zu Ag-Oberflächenmaterialien wurden die viruziden Eigenschaften von Oberflächen aus Cu und Cu-Legierungen häufiger untersucht<sup>13</sup>. Die viruzide Wirkung von Cu hängt auch von der Freisetzung von Ionen ab, und beide Cu-Ionenspezies (Cu II und Cu I) tragen zur bioziden Wirkung bei<sup>15-17</sup>.

Bemerkenswerterweise gibt es keine vergleichenden Studien zu Cu und Ag, in denen ihre bakteriziden und viruziden Eigenschaften in denselben Versuchsaufbauten mit gleichen Beschichtungsparametern und gleichen Metallkonzentrationen untersucht wurden, um Abweichungen von den Testbedingungen zu vermeiden. Die Ergebnisse unserer Studie sind relevant für das Design von Cu- und Ag-haltigen Oberflächenmaterialien mit besonderem Augenmerk auf deren viruzide Aktivitäten. Daher wollten wir die antiviralen Eigenschaften von Oberflächen, die mit Cu oder Ag beschichtet sind, sowie von verschiedenen Ag-basierten Opferanodenoberflächen, einschließlich Kombinationen von Cu und Ag, auf mögliche Synergieeffekte hin analysieren und die antivirale mit der antimikrobiellen Leistung vergleichen.

## Ergebnisse

Die Ergebnisse wurden mit verschiedenen gesputterten Dünnschichtoberflächen erzielt (Einzelheiten siehe Experimentelle Methoden):

(I) kontinuierliche und dichte Dünnschichten aus Ag und Cu (Dicke 50 nm) und (II) nanostrukturierte Oberflächen mit großen Oberflächenbereichen. Die nanostrukturierten Oberflächen wurden synthetisiert durch (a) aufeinanderfolgende Abscheidung von Ag auf Pt, Cu auf Ag oder (b) durch Co-Sputtern von Ag und Pt sowie von Cu und Ag. Die resultierenden Oberflächenstrukturen nennen wir "Nanopatches", d. h. Nanoinseln, die von den beiden Metallen gebildet werden. Ein schematischer Arbeitsablauf ist in Abb. 1 dargestellt. Beim sequenziellen Sputtern (Ag auf Pt, Cu auf Ag) sind die Elemente tendenziell stärker voneinander getrennt als beim Co-Sputtern, bei dem sich die Elemente auf atomarer Ebene vermischen (Ag & Pt, Cu & Ag) und eher eine Legierung bilden (erzwungene Mischkristallbildung), als bei der Koexistenz von Elementschichten (Ag auf Pt, Cu auf Ag). Es wird erwartet, dass letztere bessere Eigenschaften als künstliche Anoden haben. Wir haben Nanopatches mit zwei verschiedenen Dicken synthetisiert, die unterschiedliche Materialvolumina (z. B. dünnes Ag/Pt vs. dickes Ag/Pt) für die Freisetzung von Metallionen bieten (Tabelle 1). Beispiele für rasterelektronenmikroskopische (SEM) und

transmissionselektronenmikroskopische (TEM) Aufnahmen der nanoskaligen Filme sind in Abb. 2 dargestellt. Die 50 nm dicken Filme sind durchgängig und zeigen unterschiedliche nanokristalline Oberflächenmikrostrukturen: Der Ag-Film ist rauer und zeigt größere Körner (Abb. 2A) als der Cu-Film (Abb. 2B). Die REM- und TEM-Aufnahmen (Abb. 2C-F) von Nanopatches (Ag, Ag & Pt, Ag & Cu) zeigen, dass diese Nanostrukturen diskontinuierlich sind. Sie können als immobilisierte Nanopartikel betrachtet werden und bieten daher eine größere Oberfläche als die kontinuierlichen Filme. Eine detaillierte TEM-Untersuchung der Nanostruktur von Ag-Pt-Nanopatches findet sich in Referenz<sup>12</sup>.

Um die antimikrobiellen und antiviralen Eigenschaften von gesputterten Ag- und Cu-Oberflächen qualitativ zu vergleichen, haben wir zunächst die antibakteriellen Eigenschaften von dünnen Ag/Pt- und Ag/Cu-Opferanoden-Nanopatches untersucht. Bakterielle

Element(e)	Art der Ablagerung	Leistung(en) [W]	Zeit [s]	Nominale Dicke [nm]
Cu		30	630	50
Ag		30	240	50
Cu & Ag	mitabgeschieden	Cu: 12; Ag: 5	60	Cu: 2,4; Ag: 2,4
Cu & Ag	mitabgeschieden	Cu: 12; Ag: 5	120	Cu: 4,8; Ag: 4,8
Ag & Pt	mitabgeschieden	Ag: 5; Pt: 5	60	Ag: 2,4; Pt: 1,02
Ag & Pt	mitabgeschieden	Ag: 5; Pt: 5	120	Ag: 4,8; Pt: 2,04
Cu auf Ag	sequenziell	Cu: 12; Ag: 5	60	Cu: 2,4; Ag: 2,4
Cu auf Ag	sequenziell	Cu: 12; Ag: 5	120	Cu: 4,8; Ag: 4,8
Ag auf Pt	sequenziell	Ag: 5; Pt: 5	60	Ag: 2,4; Pt: 1,02
Ag auf Pt	sequenziell	Ag: 5; Pt: 5	120	Ag: 4,8; Pt: 2,04
Cu		12	60	2,4
Cu		12	120	4,8
Ag		5	60	2,4
Ag		5	120	4,8

**Tabelle 1.** Durch Magnetronspütern hergestellte Dünnschichtoberflächen.

Die Tests wurden mit *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) durchgeführt, wobei ein tropfenbasierter Versuchsaufbau verwendet wurde, der die Analyse von planktonischen und anhaftenden Bakterien ermöglichte. Planktonische Bakterien innerhalb des Tropfens wurden durch Ausplattieren auf Blutagarplatten quantifiziert, während anhaftende Bakterien auf der Probenoberfläche durch Fluoreszenzmikroskopie sichtbar gemacht wurden.

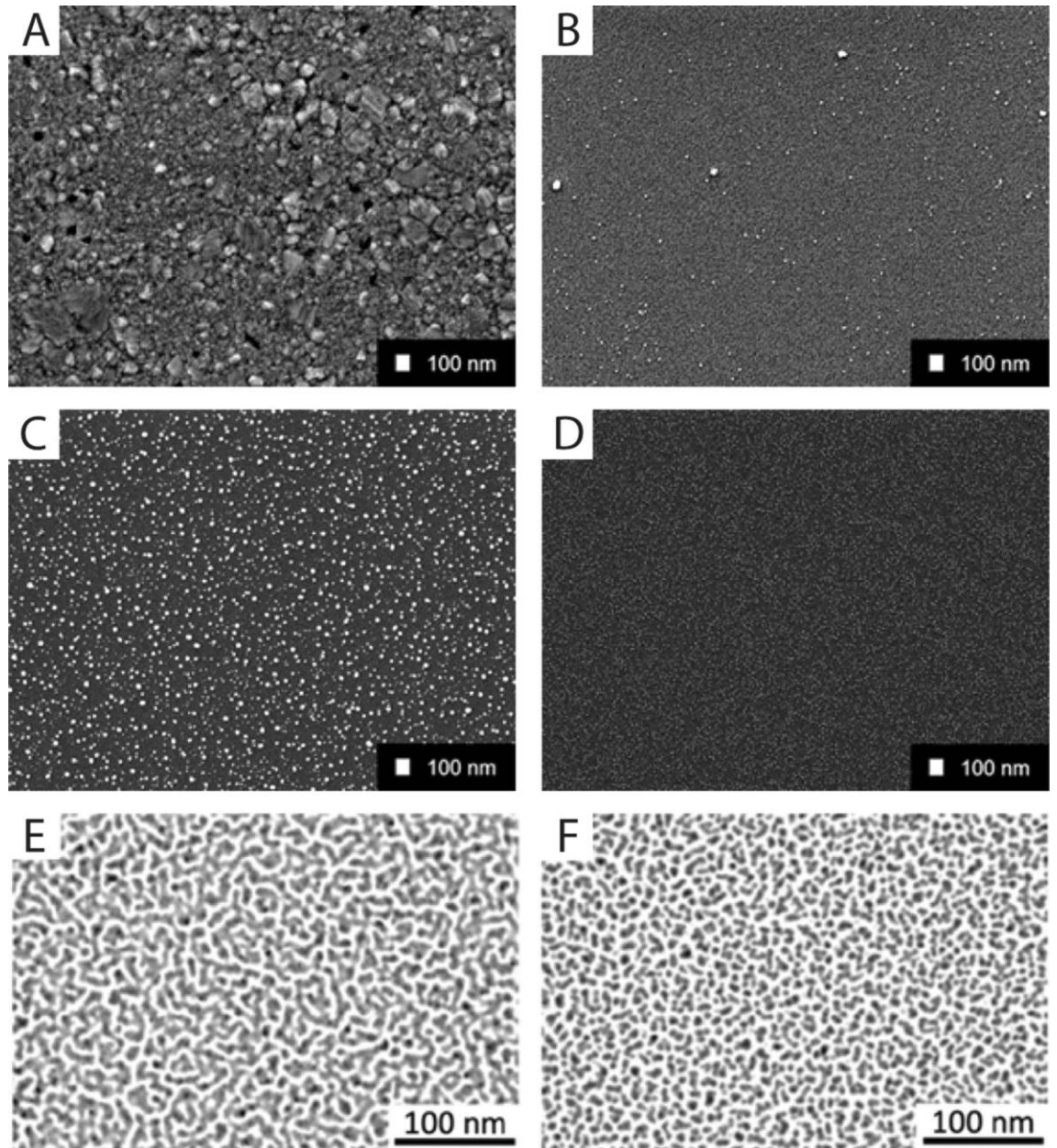
Reine Ti-Dünnschichten sowie dünne Nanopatches aus reinem Pt, Ag und Cu dienten als Kontrollen und wiesen keine signifikante antibakterielle Aktivität gegen *S. aureus* auf (Abb. 3A). Ebenso wurde das Bakterienwachstum durch gemeinsam abgeschiedene dünne Ag/Pt-Nanopatches nicht beeinträchtigt, was auf das Fehlen eines Opferanodeneffekts hinweist (Abb. 3B). Im Gegensatz dazu verminderten sequenziell abgeschiedene dünne Ag/Pt-Nanopatches sowie dünne Ag/Cu-Nanopatches, die sowohl gemeinsam als auch sequenziell abgeschieden wurden, das Bakterienwachstum nach 24 Stunden Inkubation (Abb. 3B).

Da allgemein angenommen wird, dass die antibakterielle Aktivität von Ag und Cu stark mit der Freisetzung von Ionen und deren Interaktion mit zellulären Komponenten und Prozessen zusammenhängt, wurden Lösungen von Silberacetat (AgAc) und Kupfersulfat ( $\text{CuSO}_4$ ) als ionische Kontrollen für die antibakterielle Aktivität von Ag und Cu gegenüber dem grampositiven Bakterium *S. aureus* verwendet<sup>13,14</sup>. Signifikante antibakterielle Effekte wurden für AgAc bei Konzentrationen  $\geq 1,0 \mu\text{g}/\text{mL}$  festgestellt, während  $\text{CuSO}_4$  signifikante Effekte ab Konzentrationen  $\geq 5,0 \mu\text{g}/\text{mL}$  hervorrief (Abb. 4).

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die fehlende antibakterielle Wirkung von reinen Ag- und Cu-Nanopatches auf eine unzureichende Ionenfreisetzung aus diesen Strukturen zurückzuführen ist, während die Kombination von Ag und Pt sowie von Ag und Cu zu einer verstärkten antibakteriellen Aktivität führt, die auf einer elektrochemisch bedingten verstärkten Auflösung von Ag bzw. Cu beruht (Abb. 3). In der Vergangenheit haben wir solche Opferanodeneffekte für nanopartikuläre und nanostrukturierte Ag/Pt-Systeme nachgewiesen<sup>11,12,15</sup>. Im Hinblick auf das Ag/Cu-System könnte neben einem möglichen Opferanodeneffekt von Ag auf Cu auch ein Kombinationseffekt der beiden antibakteriellen Metalle in Betracht gezogen werden<sup>10,12</sup>.

Nachdem wir die antibakterielle Wirkung von gesputterten Ag- und Cu-Oberflächen sowie von ionischen Ag- und Cu-Lösungen in Übereinstimmung mit früheren Ergebnissen nachgewiesen hatten, wollten wir in einem nächsten Schritt die potenzielle antivirale Wirkung dieser Oberflächen gegen SARS-CoV-2 analysieren. Die virale Kontamination wurde durch Inokulation von SARS-CoV-2 auf den Oberflächen für 1 h oder 24 h nachgeahmt, bevor die Virustiter als TCID<sub>50</sub> /mL bestimmt wurden (Abb. 5). Eine ausgeprägte antivirale Wirksamkeit wurde bei dünnen Cu-Filmen, die auf Si/SiO<sub>2</sub> gesputtert wurden, nach 1 h und 24 h Inkubation beobachtet, wobei die Virustiter um 3 log<sub>10</sub> bzw. 4,5 log<sub>10</sub> reduziert wurden, während Ag-Filme die Virustiter nicht reduzierten (Abb. 5A). Im Gegensatz dazu beeinflussten gesputterte Ag-Oberflächen die Virustiter nach 24-stündiger Exposition nur geringfügig und nicht signifikant. ICP-MS-Analysen ergaben, dass von diesen Filmen während 24 Stunden Cu-Ionen im Bereich von 10.000–14.200 μmol/L freigesetzt werden, was darauf hindeutet, dass diese Menge für eine effiziente Inaktivierung von SARS-CoV-2 ausreicht (ergänzende Abb. 1). Während Ag-Nanopatches die virale Infektiosität nicht beeinflussten, verringerten Nanopatches mit einer dicken Cu-Schicht den Virustiter um 1 log<sub>10</sub>, wenn sie zusammen mit SARS-CoV-2 24 Stunden lang inkubiert wurden (Abb. 5B), was zu einer Ionenfreisetzung von etwa 720 μmol/L führte (ergänzende Abb. 1). Interessanterweise verstärkten Cu & Ag und Cu auf Ag-Nanopatches die antiviralen Eigenschaften von reinem Cu, mit einer signifikanten antiviralen Wirkung nach 24 Stunden, obwohl ähnliche Mengen an Cu freigesetzt wurden (870 μmol/L, ergänzende Abb. 1). Dies könnte mit dem verbesserten elektrochemischen Cu-Ionen-Freisetzungsmechanismus in der Opferanodenstruktur zusammenhängen, bei dem Cu leicht oxidiert und an das Medium abgegeben werden kann, da die Cu-Ionen aufgrund der Anwesenheit von Ag den Reduktionsprozess unterstützen. Dünne Schichten reduzierten den Virustiter um 2,2 log<sub>10</sub>, während dicke Schichten die Virusinaktivierung erhöhten, was zu Reduktionsfaktoren von 3,9 log<sub>10</sub> führte (Abb. 5C). Es wurde kein Unterschied in der antiviralen Wirkung zwischen co- und sequenziell aufgetragenen Nanopatches

festgestellt. Dies zeigt, dass reine Cu-Filme die höchste antivirale Wirkung aufweisen (Abb. 5A), was mit der höchsten Ionenfreisetzung korreliert (13.000  $\mu\text{mol/L}$ , ergänzende Abb. 1). Im Gegensatz dazu verringerten co- und sequentiell abgeschiedene Ag-Pt-Nanopatches die virale Infektiosität innerhalb von 1 Stunde Inkubation nicht. Ein leichter, aber nicht signifikanter antiviraler Effekt (1  $\log_{10}$  Reduktion der viralen Titer) wurde nach 24 Stunden Inkubation mit dünnen Ag & Pt und dünnen Ag auf Pt Nanopatches beobachtet (Abb. 5D). Um die Beobachtung, dass Ag-beschichtete Oberflächen die virale Infektiosität nicht beeinflussen, weiter zu untersuchen, haben wir Silberacetatlösungen (AgAc) als Referenz verwendet, um die antiviralen Eigenschaften von Ag bei höheren Ionenkonzentrationen zu testen, verglichen mit dem, was von einer dünnen Filmoberfläche oder einer Nanopatch-Struktur freigesetzt werden kann. Wir haben Konzentrationen von 1  $\mu\text{g/mL}$  bis zu 50  $\mu\text{g/mL}$  Ag verwendet und die Lösung mit SARS-CoV-2-haltigem Überstand für 1 h oder 24 h beimpft, bevor wir die virale Infektiosität als  $\text{TCID}_{50}$  /mL bestimmt haben. Nur Konzentrationen gleich oder höher als 25  $\mu\text{g/mL}$  zeigten antivirale Eigenschaften.



**Abbildung 2.** Beispielhafte elektronenmikroskopische Aufnahmen von kontinuierlichen nanoskaligen Filmen (A, B) und Nanopatches (C-F).

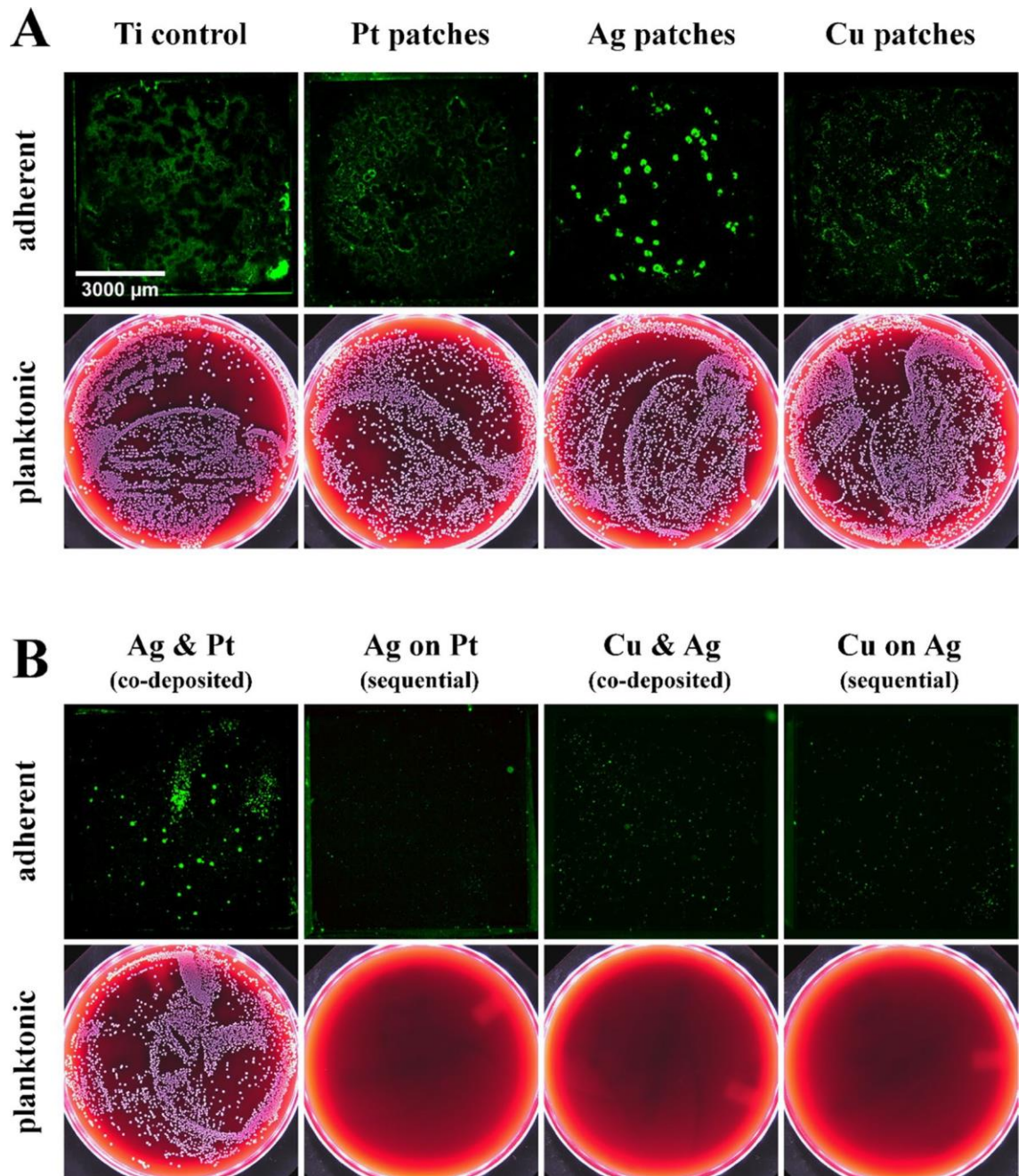
(A) REM-Dachansicht von 50 nm Ag, (B) REM-Dachansicht von 50 nm Cu, (C) REM-Dachansicht von 60 s lang gesputterten Ag-Nanoflecken, (D) 60 s lang gemeinsam gesputterte Ag- und Pt-Nanoflecken, (E) TEM-Bild von 60 s lang gemeinsam gesputterten Ag- und Cu-Nanoflecken auf einem TEM-Gitter, (F) 60 s lang nacheinander gesputterte Cu- auf Ag-Nanoflecken auf einem TEM-Gitter. (E, F) entnommen aus Referenz<sup>18</sup>.

und hob die Infektiosität von SARS-CoV-2 vollständig auf, allerdings nur bei längerer Inkubation von 24 Stunden (Abb. 5E). Im Gegensatz dazu hatte die Exposition des Virus gegenüber einer CuSO<sub>4</sub> Lösung in einem ähnlichen Versuchsaufbau keinen Einfluss auf die Virustiter (Abb. 5F). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass wir eine klare antivirale Wirkung von Cu-beschichteten Oberflächen gegen SARS-CoV-2 innerhalb von 1 Stunde nachweisen konnten, während Ag-beschichtete Oberflächen keinen Einfluss auf die virale Infektiosität hatten.

### Diskussion

Zur Bekämpfung von mikrobiellen und viralen Krankheiten sind schnelle und wirksame Präventionsmaßnahmen dringend erforderlich. Die fomite Übertragung über kontaminierte Oberflächen wurde für eine Vielzahl von Mikroben, einschließlich mehrerer Viren, beschrieben und im Zusammenhang mit COVID-19 diskutiert. Obwohl man davon ausgeht, dass Oberflächen bei der Ausbreitung von SARS-CoV-2 eine untergeordnete Rolle spielen, stützen sich die Interventionsstrategien des öffentlichen Gesundheitswesens nach wie vor auf Desinfektionsverfahren, um die Virusübertragung zu verringern. Es wurden verschiedene Oberflächenbeschichtungen vorgeschlagen, die eine topografisch und/oder chemisch

induzierte antimikrobielle Aktivität aufweisen, darunter nanostrukturierte Materialien sowie Materialien, die antimikrobielle Wirkstoffe (z. B. Antibiotika, antivirale Medikamente, Nanopartikel) enthalten, wie z. B. handelsübliche antibakterielle/



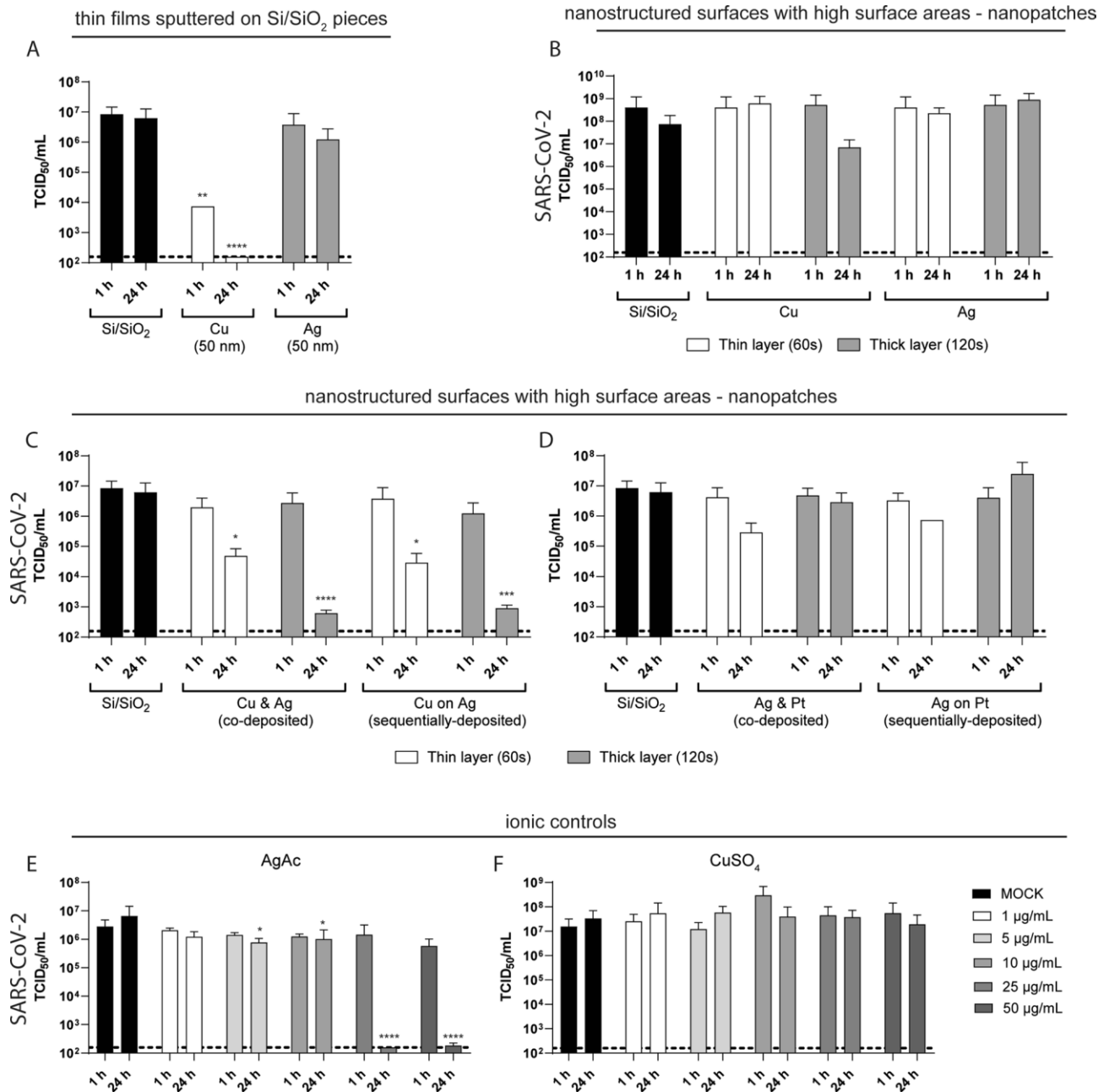
**Abbildung 3.** Antibakterielle Aktivität gegenüber *S. aureus* ( $10^4$  CFU/mL) von **(A)** einer kontinuierlichen Ti-Dünnschicht (Ti-Kontrolle) sowie von dünnen Pt-, Ag- und Cu-Nanopatches, die auf eine Ti-Dünnschicht gesputtert wurden, im Vergleich zu **(B)** dünnen Ag/Pt- und dünnen Ag/Cu-Nanopatches, die gleichzeitig (d. h. gemeinsam) oder nacheinander (erst Pt, dann Ag oder erst Ag, dann Cu) gesputtert wurden. Sputterzeit für alle Proben 60 s. Obere Abbildungen: repräsentative Fluoreszenzbilder von anhaftenden Bakterien auf den Probenoberflächen nach 24-stündiger Inkubation und Färbung mit SYTO-9 (grüne Fluoreszenz); untere Bilder: repräsentative Blutagarplatten von plattierten planktonischen Bakterien in der Tropfenflüssigkeit nach 24-stündiger Inkubation auf den verschiedenen Proben (weiße Bakterienkolonien zeigen lebensfähige Zellen an).

antivirale Folien, Textilien, Farben und vieles mehr<sup>19,20</sup>. Obwohl die Desinfektion zur Verhinderung der Ausbreitung von Infektionen wirksam sein kann, können die biologisch aktiven Wirkstoffe vieler weit verbreiteter Flächen- und Händedesinfektionsmittel auch gefährlich für Mensch und Umwelt sein, insbesondere bei längerer Anwendung oder Missbrauch. Insbesondere kann es zu Haut- und Augenreizungen sowie zu Verätzungen der Atemwege kommen. Die Störung der normalen Hautflora, die normalerweise eine Schutzbarriere gegen Schadstoffe darstellt, kann sogar das Infektionsrisiko erhöhen<sup>21</sup>. In Übereinstimmung mit van Doremalen et al. war SARS-CoV-2 auf gesputterten Cu-Oberflächen weniger stabil als auf allen anderen dünnen Schichten dieser Studie<sup>18</sup>. Ein dickerer Film führte zu einer ausgeprägteren antiviralen

Wirkung. Cu-Nanostrukturen hingegen verringerten die antivirale Wirkung, was auf die geringere Menge freigesetzter Cu-Ionen zurückgeführt werden kann. Interessanterweise verstärkte die Kombination von Cu mit Ag, entweder durch Co-Sputtern oder durch sequentielle Abscheidung von Cu auf Ag, die antivirale Wirkung.



Ag-Ionen erforderlich als für eine effiziente antibakterielle Wirkung. Der Grund dafür könnte in der unterschiedlichen Natur von Viren und Bakterien liegen. Als lebende Organismen bieten Bakterien im Vergleich zu einem Viruspartikel wesentlich Ag-empfindlichere Stoffwechselprozesse wie Energiegewinnung oder Zellvermehrung. Darüber hinaus weisen einige Bakterien wie *S. aureus* eine erhebliche inhärente Toleranz gegenüber dem Wachstum bei hohen Kupferkonzentrationen auf<sup>24</sup>. Eine Kupfersulfatlösung von bis zu 50 µg/ml inaktivierte SARS-CoV-2 jedoch nicht (Abb. 5F). In unserer Studie hatten die ionischen Ag- und Cu-Lösungen ähnliche Konzentrationen bis zu 50 µg Metall/mL, um



**Abbildung 5.** Ergebnisse der antiviralen Aktivität für (A) Cu- und Ag-Dünnschichten, die auf Si/SiO<sub>2</sub> gesputtert wurden, oder (B-D) Nanopatches, die auf Si/SiO<sub>2</sub> gesputtert wurden und die mit SARS-CoV-2 für die angegebenen Zeiträume inkubiert wurden. (E-F) Silberacetat- (AgAc) und Kupfersulfat- (CuSO<sub>4</sub>) Lösungen, die als ionische Kontrollen dienten, wurden mit SARS-CoV-2 versetzt und für ähnliche Zeiträume inkubiert. Das verbleibende infektiöse Virus wurde durch Berechnung der TCID<sub>50</sub> quantifiziert. Die gepunktete Linie zeigt die untere Grenze der Quantifizierung an. Die Daten sind als Mittelwert ± SD von drei unabhängigen Experimenten angegeben. Sternchen (\*) zeigen signifikante Unterschiede (\*p < 0,05; \*\*p < 0,01; und \*\*\*p < 0,001) im Vergleich zu MOCK (unbehandelte Kontrolle) oder Si/SiO<sub>2</sub> an.

direkter Vergleich. Während ionisches Ag bei Konzentrationen von ≥ 1 µg/ml antibakteriell wirkt, sind für ionisches Cu viel höhere Konzentrationen erforderlich, um das Bakterienwachstum zu hemmen (z. B. 10 mM CuSO<sub>4</sub>). Mehrere Gruppen beobachteten ähnliche Unterschiede in der antibakteriellen Wirksamkeit zwischen Ag- und Cu-Ionen<sup>24-26</sup>, allerdings bei niedrigeren Gesamtionenkonzentrationen aufgrund des Wassertestmediums<sup>26</sup>. Bei äquimolaren Konzentrationen zeigen Ag-Ionen also eine bessere antibakterielle Wirkung als Cu-Ionen. Die Virushemmung durch lösliche Cu-Ionen erfordert möglicherweise höhere Konzentrationen als die in unseren Experimenten verwendeten Maximalwerte (50 µg/ml).

Im Gegensatz zu den ionischen Spezies haben die antibakteriellen und antiviralen Aktivitäten von festen, gesputterten Ag- und Cu-Oberflächen zu unterschiedlichen Ergebnissen geführt. Nanopatches aus reinem Ag weisen weder antibakterielle noch antivirale Aktivitäten auf. Offensichtlich ist die Freisetzung von Ag-Ionen

unter diesen experimentellen Bedingungen unzureichend. Um diese begrenzte Freisetzung von Ag-Ionen zu überwinden, können die aktiveren, Ionen freisetzenden Opferanodenoberflächen verwendet werden, da sie eine viel bessere antibakterielle Wirkung aufweisen.

Effizienz auch bei einem geringeren Gesamt-Ag-Gehalt<sup>11,12</sup>, wie auch hier bei den Ag/Pt-Proben beobachtet wurde (Abb. 3). Allerdings konnten auch diese antibakteriellen Ag/Pt-Proben keine antivirale Wirkung entfalten, was wiederum darauf hinweist, dass höhere Ag-Ionenkonzentrationen erforderlich sind, um eine antivirale Aktivität zu erreichen.

Bemerkenswerterweise zeigt unsere Studie, dass festes Cu entweder als dichter Film oder als Nanopatches antivirale Aktivität induzieren kann, nicht aber festes Ag. Die antivirale Wirkung ist abhängig von der Gesamtmenge an Cu (Dicke des gesputterten Cu und Ionenfreisetzung) und von der Dauer der Probenexposition.

Es wurde berichtet, dass Kupferverbindungen im festen Zustand eine wirksame antivirale Aktivität aufweisen, während die von Ag im festen Zustand deutlich geringer ist<sup>27</sup>. Insbesondere die Inaktivierung von HA- und NA-Oberflächenproteinen des Influenzavirus wird durch den Kontakt mit Ag und Cu beeinflusst<sup>28</sup>. Ag im festen Zustand ist unter den Versuchsbedingungen weniger anfällig für die Oberflächenoxidation zur Freisetzung ionischer Spezies als Cu im festen Zustand<sup>29</sup>. Es ist bekannt, dass mehrere Stoffwechselprodukte von Cu wie Kupferoxid ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ), Sulfid ( $\text{Cu}_2\text{S}$ ) oder Chlorid ( $\text{CuCl}$ ) hohe antivirale Aktivitäten aufweisen und Cu-Oberflächen ihre antiinfektösen Eigenschaften auch nach der Oxidbildung beibehalten<sup>27,30</sup>.

Obwohl es zahlreiche Berichte über antibakterielle und antivirale Wirkungen von Ag oder Cu und ihren verwandten Verbindungen gibt, ist ein direkter Vergleich von Ag und Cu, wie er in unserer Studie durchgeführt wurde und der sowohl bakterielle als auch virale Daten umfasst, nur selten zu finden, und die große Variabilität der berichteten Studienmethoden erschwert einen solchen direkten Vergleich<sup>31</sup>.

Kürzlich wurde über die schnelle Hemmung von SARS-CoV-2 auf Kupfer-Silber (Cu-Ag)-Nanohybrid-Oberflächen berichtet, und die Autoren schrieben die Rolle der primären SARS-CoV-2-Hemmung dem Cu-Gehalt zu<sup>32</sup>. Unsere Ergebnisse zeigten, dass die Kombination von Cu und Ag (Cu & Ag-Nanopatches) eine deutlich höhere antivirale Aktivität aufweist als ähnliche Nanopatches, die nur aus Cu oder Ag bestehen. Dieser Effekt lässt sich auf die verstärkte Freisetzung von Cu-Ionen bei Cu & Ag-Nanopatches zurückführen, während gleichzeitig die Freisetzung von Ag-Ionen im Vergleich zu Ag-Nanopatches stark abnimmt. Offenbar ist das Vorhandensein von Silber dennoch notwendig, um antivirale Wirkungen durch Nanopatches zu ermöglichen. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass elektrochemische Prozesse wie der Effekt einer Opferanode eine wichtige Rolle spielen könnten. Die genauen Mechanismen dafür müssen jedoch noch in weiteren Studien geklärt werden.

Zusammengenommen könnten biozide Oberflächen eine konstante antivirale und antibakterielle Wirksamkeit gegen wiederkehrende Kontaminationen bieten und so die Verbreitung bestimmter Krankheitserreger eindämmen, da die Oberfläche sauber bleibt und nicht verbraucht wird, während die Oberflächendesinfektion bei jeder Kontamination neu aufgetragen werden muss<sup>33</sup>. Die antimikrobielle Aktivität von Materialien und Oberflächen auf Cu-Basis wurde gegen verschiedene Krankheitserreger nachgewiesen, darunter SARS-CoV-2, MRSA (Meticillin-resistenter *S. aureus*), VRE (Vancomycin-resistente Enterokokken) und andere nosokomiale Erreger, während Techniken wie die Kaltbeschichtung oder die Cu-Imprägnierung einen vollständigen Austausch der vorhandenen Oberflächen überflüssig machen würden<sup>34-36</sup>. Allerdings sind Inkubationszeiten von mehr als 1 Stunde für viele Verabreichungen nicht anwendbar, und Präventionsmaßnahmen sollten daher im Hinblick auf den anvisierten Erreger kritisch bewertet werden.

## Methoden

**Sputterabscheidung von Dünnschichten.** Die Dünnschichtproben wurden durch Gleichstrom-Magnetron-Sputtern in Ar-Atmosphäre (0,5 Pa) bei Raumtemperatur auf thermisch oxidierten Si-Substraten ( $\text{Si}/\text{SiO}_2$ , 4,4 mm × 4,4 mm) hergestellt, die auf einer rotierenden Substratplatte platziert waren. Es wurden Sputtertargets mit einem Durchmesser von 2 Zoll aus Cu (Reinheit 99,99 %, Evo-Chem), Ag (99,99 %, Evo-Chem) und Pt (99,99 %, ESG Edelmetall Services) verwendet. Die Daten zu allen Schichten sind in Tabelle 1 aufgeführt. Die Nenndicke der Schichten wurde aus den vorgegebenen Sputterraten der verwendeten Elemente und den angegebenen Leistungsstufen berechnet. Beispiele für rasterelektronenmikroskopische (SEM) und transmissionselektronenmikroskopische (TEM) Aufnahmen sind in Abb. 1 dargestellt.

**Antibakterielle Tests.** Die bakteriellen Tests wurden mit *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, DSMZ 1104) aus der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (Braunschweig, Deutschland) durchgeführt. Die *S. aureus*-Kulturen wurden über Nacht in Hirn-Herz-Infusionsbrühe (BHI-Bouillon, bioMérieux, Lyon, Frankreich) bei 37 °C in einem Schüttelwasserbad (JULABO GmbH, Seelbach, Deutschland) gezüchtet und die Bakterienkonzentrationen durch Trübungsmessungen (Densitometer-Trübungsphotometer, bioMérieux) bestimmt. Die Adhäsion und Pro-liferation von *S. aureus* auf den verschiedenen Nanopatch-Mustern wurde mit einem tropfenbasierten Versuchsaufbau analysiert, wie bereits berichtet<sup>10,11</sup>. Kurz gesagt wurden 30 µL einer Bakterienlösung in BHI-Bouillon mit  $10^4$  Zellen pro ml (CFU/ml) in die Mitte jeder Testprobe gegeben und anschließend 24 Stunden lang in einer feuchten Kammer (wassergesättigte Atmosphäre) unter Zellkulturbedingungen (37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ ) bebrütet. Anschließend wurden die Tropfen abgesaugt, seriell verdünnt ( $1:10^4$ ) und zur quantitativen Analyse der planktonischen Bakterien auf Columbia-Blutagarplatten (bioMérieux) ausgeplattet. Die qualitative Analyse der anhaftenden Bakterien erfolgte durch SYTO-9-Färbung (Molecular Probes, Invitrogen, Karlsruhe, Deutschland) und wurde durch Fluoreszenzmikroskopie (Mikroskop BX61, Olympus, Hamburg, Deutschland) nachgewiesen.

Silberacetat- ( $\text{AgC}_2\text{H}_3\text{O}_2$ , AgAc) und Kupfersulfat- ( $\text{CuSO}_4$ ) Lösungen wurden als ionische Kontrollen für die antimikrobielle Aktivität von Ag bzw. Cu verwendet. Jede Lösung wurde in sterilem Reinstwasser hergestellt und auf den Gesamtmetallgehalt normiert (d. h. 100 µg/ml AgAc enthält beispielsweise 100 µg/ml Ag). Verschiedene Bakterienkonzentrationen ( $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$  CFU/ml) von *S. aureus* wurden 24 Stunden lang in BHI mit verschiedenen Konzentrationen von AgAc- und  $\text{CuSO}_4$ -Lösungen (0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 10, 25, 50 µg/ml) in 96-Well-Mikroplatten mit einem Gesamtvolumen von 200 µL unter Zellkulturbedingungen

inkubiert. Anschließend wurde die Quantifizierung der lebensfähigen Zellen mit dem AlamarBlue-Assay durchgeführt. Dazu wurden die Bakteriensuspensionen mit 20  $\mu$ L des AlamarBlue-Reagenzes (Invitrogen) bis zum sichtbaren Farbumschlag inkubiert und die Fluoreszenzintensität bei 590 nm mit einem Mikroplattenlesegerät (FLUOstar Optima, BMG LABTECH GmbH, Ortenberg, Deutschland) ausgewertet. Die Daten der behandelten Kulturen (Mittelwert  $\pm$  SD) sind als Prozentsatz der unbehandelten Kontrollen (Bakterien, die ohne AgAc oder CuSO kultiviert wurden<sup>4</sup>) angegeben.

**Antivirale Tests.** Zur Bewertung der Inaktivierungskapazität von auf Si/SiO<sub>2</sub> gesputterten Dünnschichten (siehe Sputterdeposition von Dünnschichten) wurden 25  $\mu$ L SARS-CoV-2 (hCoV-19/Germany/BY-Bochum-1/2020; GISAID accession ID: EPI\_ISL\_1118929;  $8,8 \times 10^6$  TCID<sub>50</sub> /mL) wurden in die Mitte jeder Testprobe getupft und 1 h lang inkubiert.

und 24 h bei Raumtemperatur ( $22 \pm 1$  °C) und  $32 \pm 1$  % Luftfeuchtigkeit. Das Virus wurde durch Zugabe von 225 µL Dul-becco's modified Eagle's medium (DMEM, ergänzt mit 10 % (v/v) fetalem Kälberserum (FCS), 1 % (v/v) nicht-essentiellen Aminosäuren, 100 IU/mL Penicillin, 100 µg/mL Streptomycin und 2 mM L-Glutamin) gewonnen. Anschließend wurden die Virustiter durch einen Endpunktverdünnungstest an VeroE6-Zellen (freundlicherweise von C. Drosten und M. Müller zur Verfügung gestellt) bestimmt, die einen Tag vor der Titration mit  $5 \times 10^4$  Zellen/ml in DMEM ausgesät wurden. Die verbleibenden TCID<sub>50</sub> wurden nach Spearman und Kärber berechnet.

Für die antimikrobiellen Tests wurden Silberacetat- und Kupfersulfatlösungen als ionische Kontrollen verwendet. Daher wurde SARS-CoV-2 mit verschiedenen Konzentrationen von AgAc- und CuSO<sub>4</sub>-Lösungen (1,0, 2,5, 5,0, 10, 25, 50 µg/mL) versetzt und für 1 h und 24 h bei Raumtemperatur bebrütet. Die verbleibenden Virustiter wurden wiederum durch einen Endpunkt-Verdünnungstest mit anschließender TCID-Berechnung quantifiziert<sub>50</sub>.

**Induktiv gekoppelte Plasma-Massenspektrometrie (ICP-MS).** Mit ICP-MS wurde die Menge der Ionen bestimmt, die bei Kontakt mit der zu untersuchenden Oberfläche in das virushaltige Medium freigesetzt werden. Die Verdünnungen wurden auf einen Kalibrierungsbereich zwischen 1 und 100 ppb eingestellt, was dem höheren Konzentrationsteil der linearen Kalibrierungskurve entspricht. In Übereinstimmung mit den Kalibrierungsmessungen wurden die Proben mit 2% HNO<sub>3</sub> angesäuert. Um Mehrfachmessungen zu ermöglichen oder die Verdünnung derselben Probe weiter anzupassen, wurden 10 mL Probenlösung durch Zugabe von 300 µL einer ultrareinen 69%igen HNO<sub>3</sub> (Roth, Supra-Qualität), gründliches Mischen und Auffüllen auf 10 mL zur Einstellung einer Säurekonzentration von 2% gewonnen. Die Proben wurden mit einem iCAP RQ-System von Thermo Fisher Scientific im KED-Modus analysiert.

**Statistik.** Die statistische Analyse der antibakteriellen Wirkungen wurde mittels einseitiger ANOVA mit Bonferroni-Post-hoc-Test durchgeführt. Die statistische Analyse der antiviralen Wirkungen erfolgte durch eine Zwei-Wege-ANOVA in einer Mixed-Effects-Analyse mit Dunnet-Mehrfachvergleich. p-Werte  $\leq 0,05$  wurden als statistisch signifikant angesehen.

## Verfügbarkeit von Daten

Alle im Rahmen dieser Studie gewonnenen oder analysierten Daten sind in diesem veröffentlichten Artikel enthalten.

Eingegangen: 29. Oktober 2021; Angenommen: 12. April 2022

Published online: 03 May 2022

## Referenzen

1. Goodman, S. B., Yao, Z., Keeney, M. & Yang, F. The future of biologic coatings for orthopaedic implants. *Biomaterials* **34**, 3174–3183. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.01.074> (2013).
2. Chernousova, S. & Epple, M. Silber als antibakterielles Mittel: Ion, Nanopartikel und Metall. *Angew. Chem. Int. Ed.* **52**, 1636–1653. <https://doi.org/10.1002/anie.201205923> (2013).
3. Grass, G., Rensing, C. & Solioz, M. Metallisches Kupfer als antimikrobielle Oberfläche. *Appl. Environ. Microbiol.* **77**, 1541–1547. <https://doi.org/10.1128/AEM.02766-10> (2011).
4. Cameron, S. J., Hosseinian, F. & Willmore, W. G. A current overview of the biological and cellular effects of nanosilver. *Int. J. Mol. Sci.* <https://doi.org/10.3390/ijms19072030> (2018).
5. Loza, K. *et al.* The dissolution and biological effects of silver nanoparticles in biological media. *J. Mater. Chem. B.* **2**, 1634–1643. <https://doi.org/10.1039/c3tb21569e> (2014).
6. Lok, C. N. *et al.* Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. *J. Biol. Inorg. Chem.* **12**, 527–534. <https://doi.org/10.1007/s00775-007-0208-z> (2007).
7. Liu, J. & Hurt, R. H. Ion release kinetics and particle persistence in aqueous nano-silver colloids. *Environ. Sci. Technol.* **44**, 2169–2175. <https://doi.org/10.1021/es9035557> (2010).
8. Sadoon, A. A. *et al.* Silver ions caused faster diffusive dynamics of histone-like nucleoid-structuring proteins in live bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* <https://doi.org/10.1128/AEM> (2020).
9. Akter, M. *et al.* A systematic review on silver nanoparticles-induced cytotoxicity: physicochemical properties and perspectives. *J. Adv. Res.* **9**, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2017.10.008> (2018).
10. Köller, M. *et al.* Antibakterielle Aktivität von mikrostrukturierten Ag/Au-Opferanodenschichten. *Mater. Sci. Eng. C* **46**, 276–280. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.10.058> (2015).
11. Köller, M. *et al.* Antibakterielle Aktivität von mikrostrukturierten dünnen Opferanodenschichten durch Kombination von Silber mit Elementen der Platingruppe (Platin, Palladium, Iridium). *Mater. Sci. Eng. C* **74**, 536–541. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.12.075> (2017).
12. Abuayyash, A. *et al.* Verbesserte antibakterielle Leistung von ultradünnen Silber/Platin-Nanopatches durch einen Opferanodenmechanismus. *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.* **24**, 102126. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2019.102126> (2020).
13. Rakowska, P. D. *et al.* Antivirale Oberflächen und Beschichtungen und ihre Wirkmechanismen. *Commun. Mater.* **2**, 53. <https://doi.org/10.1038/s43246-021-00153-y> (2021).
14. Balagna, C., Perero, S., Percivalle, E., Nepita, E. V. & Ferraris, M. Viruzidal effect against coronavirus SARS-CoV-2 of a silver nanocluster/silica composite sputtered coating. *Open Ceram.* **1**, 100006. <https://doi.org/10.1016/j.oceram.2020.100006> (2020).
15. Scully, J. R., Hutchison, M. & Santucci, R. J. The COVID-19 pandemic, part 2: understanding the efficacy of oxidized copper compounds in suppressing infectious aerosol-based virus transmission. *Corrosion* **77**, 370–375. <https://doi.org/10.5006/3827> (2021).
16. Scully, J. R. The COVID-19 pandemic, part 1: can antimicrobial copper-based alloys help suppress infectious transmission of viruses originating from human contact with high-touch surfaces? *Corrosion* **76**, 523–527. <https://doi.org/10.5006/3568> (2020).
17. Govind, V. *et al.* Antiviral properties of copper and its alloys to inactivate covid-19 virus: a review. *BioMetals* **34**, 1217–1235. <https://doi.org/10.1007/s10534-021-00339-4> (2021).
18. Ziegler, N. S. Herstellung und Charakterisierung von antibakteriellen, nanostrukturierten Oberflächen für Implantat-Werkstoffe, Bochum, (2020).

19. Balasubramaniam, B. *et al.* Gupta, antibakterielle und antivirale Funktionsmaterialien: Chemie und biologische Aktivität zur Bekämpfung von COVID-19-ähnlichen Pandemien. *ACS Pharmacol. Transl. Sci.* **4**, 8-54. <https://doi.org/10.1021/acspsci.0c00174> (2021).
20. Erkoc, P. & Ulucan-Karnak, F. Nanotechnology-based antimicrobial and antiviral surface coating strategies. *Prosthesis* **3**, 25-52. <https://doi.org/10.3390/prosthesis3010005> (2021).
21. Samara, F., Badran, R. & Dalibalta, S. Sind Desinfektionsmittel zur Prävention und Bekämpfung von COVID-19 sicher? *Health Secur.* **18**, 496-498. <https://doi.org/10.1089/hs.2020.0104> (2020).

22. Pilaquinga, F., Morey, J., Torres, M., Seqqat, R. & de las Nieves Piña, M. Silver nanoparticles as a potential treatment against SARS-CoV-2: a review. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* <https://doi.org/10.1002/wnan.1707> (2021).
23. Galdiero, S. *et al.* Silver nanoparticles as potential antiviral agents. *Molecules* **16**, 8894–8918. <https://doi.org/10.3390/molecules16108894> (2011).
24. Tarrant, E. *et al.* Copper stress in *Staphylococcus aureus* leads to adaptive changes in central carbon metabolism. *Metallomics* **11**, 183–200. <https://doi.org/10.1039/c8mt00239h> (2019).
25. Greulich, C. *et al.* Die toxische Wirkung von Silberionen und Silbernanopartikeln gegenüber Bakterien und menschlichen Zellen liegt im gleichen Konzentrationsbereich. *RSC Adv.* **2**, 6981–6987. <https://doi.org/10.1039/c2ra20684f> (2012).
26. Huang, H. I. *et al.* In vitro efficacy of copper and silver ions in eradicating *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* and *Acinetobacter baumannii*: implications for on-site disinfection for hospital infection control. *Water Res.* **42**, 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.07.003> (2008).
27. Sunada, K., Minoshima, M. & Hashimoto, K. Hocheffiziente antivirale und antibakterielle Aktivitäten von Festkörper-Kupferverbindungen. *J. Hazard. Mater.* **235–236**, 265–270. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.07.052> (2012).
28. Minoshima, M. *et al.* Vergleich der antiviralen Wirkung von festen Kupfer- und Silberverbindungen. *J. Hazard. Mater.* **312**, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.03.023> (2016).
29. Pietsch, F. *et al.* Selektion der Resistenz durch antimikrobielle Beschichtungen im Gesundheitswesen. *J. Hosp. Infect.* **106**, 115–125. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2020.06.006> (2020).
30. Hans, M. *et al.* Role of copper oxides in contact killing of bacteria. *Langmuir* **29**, 16160–16166. <https://doi.org/10.1021/la404091z> (2013).
31. Vincent, M., Duval, R. E., Hartemann, P. & Engels-Deutsch, M. Contact killing and antimicrobial properties of copper. *J. Appl. Microbiol.* **124**, 1032–1046. <https://doi.org/10.1111/jam.13681> (2018).
32. Mosselhy, D. A. *et al.* Copper-silver nanohybrids: Sars-Cov-2 hemmende Oberflächen. *Nanomaterialien* <https://doi.org/10.3390/nano11071820> (2021).
33. Poggio, C. *et al.* Copper-alloy surfaces and cleaning regimens against the spread of SARS-CoV-2 in dentistry and orthopaedics. Von Fomiten zu antiinfektösen Nanobeschichtungen. *Materials* **13**, 1–12. <https://doi.org/10.3390/ma13153244> (2020).
34. Hutasoit, N. *et al.* Sars-CoV-2 (COVID-19) Inaktivierungsfähigkeit von kupferbeschichteten berührungsempfindlichen Oberflächen, die mit der Cold-Spray-Technologie hergestellt wurden. *Manuf. Lett.* **25**, 93–97. <https://doi.org/10.1016/j.mfglet.2020.08.007> (2020).
35. Hewawaduge, C., Senevirathne, A., Jawalagatti, V., Kim, J. W. & Lee, J. H. Copper-impregnated three-layer mask efficiently inactivates SARS-CoV2. *Environ. Res.* <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.110947> (2021).
36. Noyce, J. O., Michels, H. & Keevil, C. W. Potential use of copper surfaces to reduce survival of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the healthcare environment. *J. Hosp. Infect.* **63**, 289–297. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2005.12.008> (2006).

## Danksagung

Wir danken allen Mitgliedern der Abteilung für Molekulare & Medizinische Virologie für hilfreiche Anregungen und Diskussionen. Wir danken Herrn Martin Trautmann vom Lehrstuhl für Analytische Chemie (Prof. Dr. Wolfgang Schuhmann) der Ruhr-Universität Bochum für die ICP-MS-Messungen. Dem ZGH wird für den Zugang zum SEM gedankt.

## Beiträge der Autoren

Konzeption und Gestaltung: M.B., C.S., E.S., M.K., S.P., A.L.; Datenerfassung und -analyse: T.L.M., J.F., M.B.; Interpretation der Daten: T.L.M., J.F., M.B., C.S., E.S., M.K., S.P., A.L.; Schreiben: T.L.M., J.F., M.B., C.S., E.S., M.K., S.P., A.L.

## Finanzierung

Wir danken für die Unterstützung durch den Open-Access-Publikationsfonds der Ruhr-Universität Bochum. E.S wurde von der VIRUS ALLIANCE NRW (VIRAL) des Ministeriums für Kultur und Wissenschaft des Landes Nordrhein-Westfalen (Förderkennzeichen 323-8.03-151826) und von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) - Förderkennzeichen 458338078 - unterstützt. SP wurde von der DFG gefördert - Grant No. 458610711.

## Konkurrierende Interessen

Die Autoren erklären, dass sie keine konkurrierenden Interessen haben.

## Zusätzliche Informationen

**Ergänzende Informationen** Die Online-Version enthält zusätzliches Material unter <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11212-w>.

**Korrespondenz** und Materialanfragen sollten an S.P. oder A.L. gerichtet werden.

**Informationen zu Nachdrucken und Genehmigungen** finden Sie unter [www.nature.com/reprints](http://www.nature.com/reprints).

**Hinweis des Herausgebers** Springer Nature bleibt neutral in Bezug auf Rechtsansprüche in veröffentlichten Karten und institutionelle Zugehörigkeiten.



**Open Access** Dieser Artikel steht unter einer Creative Commons Attribution 4.0 International License, die die Nutzung, Weitergabe, Anpassung, Verbreitung und Vervielfältigung in jedem beliebigen Medium erlaubt.

Solange Sie den/die Originalautor(en) und die Quelle in angemessener Weise nennen, einen Link zur Creative-Commons-Lizenz bereitstellen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die Bilder oder anderes Material von Dritten in diesem Artikel sind in der Creative-Commons-Lizenz des Artikels enthalten, es sei denn, es wird in einer Kreditlinie für das Material anders angegeben. Wenn das Material nicht in der Creative-Commons-Lizenz des Artikels enthalten ist und die von Ihnen beabsichtigte Nutzung nicht durch gesetzliche Bestimmungen erlaubt ist oder über die erlaubte Nutzung hinausgeht, müssen Sie die Erlaubnis direkt beim Urheberrechtsinhaber einholen. Eine Kopie dieser Lizenz können Sie unter <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/> einsehen.

