



Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Ciencias de la Conducta

Doctorado en Ciencias de la Salud

Análisis cuantitativo de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* en resinas compuestas para uso en bases protésicas (estudio *in vitro*)

TESIS

Para Obtener el Grado de:
Doctor en Ciencias de la Salud

Presenta:

Mtro. Jorge Méndez Serrano.

Comité Tutorial:

Dr. Ulises Velázquez Enríquez.

Director de tesis

Dra. Rosalía Contreras Bulnes.

Tutor interno

Dr. Isaías de la Rosa Gómez.

Tutor externo



Toluca., México, Noviembre 2021.

“La Ciencia es la poesía de la realidad”.

Richard Dawkins

“El mundo del hombre contemporáneo se funda sobre los resultados de la ciencia: el dato reemplaza al mito, la teoría a la fantasía y la predicción a la profecía”.

Mario Bunge

“Incluso la gente que afirma que no podemos hacer nada para cambiar nuestro destino, mira antes de cruzar la calle”.

Stephen Hawking

“Para enseñar a los demás, primero has de hacer tú algo muy duro: has de enderezarte a tí mismo”.

Siddharta Gautama

INDICE

CONTENIDO

	Página
1. ANTECEDENTES	6
1.1 Microbiota normal	6
1.2 Microbiota bucal	6
1.2.1 Microorganismos colonizadores de prótesis bucales	8
1.2.2 Streptococcus mutans	10
1.2.3 Candida albicans	12
1.2.4 Materiales para elaboración de prótesis bucales	14
1.2.4.1 Resina acrílica de Polimetilmetacrilato (PMMA)	15
1.2.5 Aplicación de la nanotecnología en medicina	16
1.2.6 Aplicación de la nanotecnología en odontología	17
1.2.7 Uso de nanopartículas de plata (AgNPs) en los materiales dentales	18
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	21
2.1 Pregunta de investigación	22
3. JUSTIFICACIÓN	23
4. HIPÓTESIS	25
5. OBJETIVOS	26
6. DISEÑO METODOLÓGICO	27
6.5. Variables	30
7. MATERIALES Y MÉTODOS	31
7.1 Preparación de muestras	31
7.2 Cultivo y radiomarcaje de los microorganismos	32
7.3 Análisis de adherencia	33
7.4 Análisis microscópico	34
7.5 Evaluación de microdureza Vickers	34
7.6 Consideraciones Bioéticas	35
8. RESULTADOS	36
8.1 Análisis estadístico	38
8.1.1 Análisis Microscópico	38
9. DISCUSIÓN	41

10. CONCLUSIÓN	46
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
12. ANEXOS	54

1. ANTECEDENTES

1.1 Microbiota normal

En un individuo sano los tejidos internos pertenecientes a órganos tales como el corazón y cerebro normalmente están libres de microorganismos. Sin embargo, los tejidos superficiales (piel y mucosas) están constantemente en contacto con microorganismos del medio ambiente y son fácilmente colonizados por especies diferentes. La microbiota normal está constituida por una multitud de bacterias, hongos, protozoarios y virus, tan solo la microbiota intestinal humana constituye un complejo ecosistema integrado por alrededor de 400 especies bacterianas. Asimismo, colonizan ambientes específicos como la piel, el tracto gastrointestinal, cavidad bucal, orofaringe y sistema genitourinario, entre otros. La población de microorganismos que se encuentra en contacto directo con el hombre, excede al número de células corporales del mismo en una relación de 10:1 (por cada célula humana hay 10 microorganismos). Tomando en cuenta que el cuerpo humano se compone aproximadamente de 10^{13} células, el organismo humano lleva consigo a 10^{14} células que no le son propias. Los intestinos gruesos son la parte anatómica en la cual reside la mayor parte de la microbiota, la cifra de MO (microorganismos) es de aproximadamente 10^{12} - 10^{14} (equivalente cercano al 1-1,5 kg en peso), esta cifra resulta ser superior a la encontrada en el subsuelo, suelo y océanos.^{1,2}

1.2 Microbiota bucal

Los MO posiblemente fueron los primeros seres vivos que habitaron el planeta tierra, se sabe que en el momento actual alcanzan una cifra que ronda entre 300,000 y 1,000,000 especies, las cuales tienen un papel fundamental en la autorregulación del planeta.¹

Hasta el momento, se considera que la ciencia ha logrado aislar y caracterizar sólo una pequeña fracción de todas las bacterias existentes, aplicando técnicas de biología molecular para detectar, tipificar e identificar microorganismos por ciertos marcadores moleculares. Se ha logrado examinar una gran parte de la diversidad microbiana y analizar la estructura de las

comunidades microscópicas. Esto ha permitido establecer dos conceptos importantes: microbioma y microbiota.^{2,3}

Se conoce cómo microbiota normal (anteriormente flora normal), indígena o nativa a aquellos MO que residen normalmente en la mayoría de los hombres sanos en estado de mutualismo o comensalismo. La línea divisoria entre los M.O. que forman parte de la microbiota normal de aquellos que no lo son a menudo no es clara. Por ejemplo el *Streptococcus pneumoniae* y la *Neisseria meningitidis*, dos agentes causales de meningitis y otras patologías, se encuentran presentes como microbiota normal en alrededor del 5% de la población.³

Dentro de las acciones benéficas de la microbiota normal en la salud humana se ha reportado la generación de sustancias bactericidas que limitan el sobre crecimiento de otras bacterias; la saturación de receptores en los tejidos mucosos puede evitar el ingreso de gérmenes exógenos, y la síntesis de vitaminas ayuda a convertir pigmentos y sales biliares en los intestinos.²

Dentro de los efectos nocivos, se ha demostrado que la presencia de gran cantidad de bacterias en determinados nichos ecológicos, predispone a que en ciertas circunstancias, los microorganismos salgan de su hábitat e ingresen en sitios normalmente estériles, con la consiguiente producción de patologías conocidas como infecciones endógenas.³

Se clasifica a la microbiota normal en dos tipos:

1. Invariable o residente, formada por especímenes relativamente fijos de MO que en caso de desaparecer, vuelven inmediatamente cuando eliminan dicho factor.
2. Transitoria, constituida por gérmenes que en algunas ocasiones llegan al huésped, provenientes del medio ambiente permaneciendo en las mucosas o piel durante períodos de horas o días.³

El concepto de microbiota era un paradigma dominante en las ciencias médicas, considerando a los MO como agentes extraños; esta idea llevó a la opinión de que la eliminación de los patógenos mas comunes resultaría en la mejora de la enfermedad. Actualmente este punto de vista ha cambiado, ya que los resultados de muchas investigaciones coinciden en que los

humanos sirven como huéspedes de los microorganismos que viven en comunidades muy abundantes y en coevolución. A esta forma nueva de abordar la relación microorganismo-humano se le conoce como microbioma humano.⁴

La microbiota oral es un ecosistema muy complejo que contiene una gran variedad de especies microbianas, la boca se coloniza por microorganismos antes de la erupción del órgano dentario y posterior a la erupción el biofilm (biopelícula) crece y se desarrolla en las superficies duras del diente que se encuentran expuestas, cubiertas al inicio por una película de glicoproteínas salivales; en caso de no existir higiene bucal se acumularán grandes cantidades de microorganismos sobre la superficie de los dientes, lo cual no sucede sobre las superficies de tejidos blandos de carrillos y lengua debido a la descamación de células epiteliales. La cantidad de bacterias que se acumulan en el biofilm puede llegar a ser de 10^8 por mg (peso húmedo).⁵

La cavidad bucal es un ecosistema donde conviven principalmente como comensales, alrededor de 500 a 700 especies (aproximadamente 10^{10} siendo el 60% cultivables) las cuales colonizan mucosas y órganos dentarios a través de la biopelícula, entre los cuales están los miembros del género *Streptococcus*.⁶

1.2.1 Microorganismos colonizadores de prótesis bucales

En el proceso de adhesión bacteriana, interactúan cuatro elementos: MO, características del material, antimicrobianos y mecanismos de defensa. La influencia de los materiales es importante en los estadios iniciales de la adhesión, predominando dentro de las características del material la rugosidad y la energía superficial; estos factores inciden en las características de la película adquirida y en la especificidad de las proteínas adsorbidas salivares que actúan como receptores condicionados por la composición del material y por las características de su superficie.

En los sistema de agua corriente, los sólidos sumergidos tienen en la superficie una pletórica actividad de microorganismos, los cuales deben tener capacidad de adhesión para poder

mantener su actividad. De esta propiedad (adhesión) depende que puedan fijarse a la superficie y de esta situación reproducirse y nutrirse, o ser renovados. De tal forma, esta dinámica en su composición hace que a estos sistemas se les denomine abiertos, característica principal en todos los sistemas biológicos.⁷

En el área odontológica la sustitución de los tejidos dentarios por materiales restauradores o la rehabilitación mediante prótesis y aditamentos en la cavidad bucal establece las condiciones para que estas superficies, al encontrarse sumergidas en fluidos, sean colonizadas por microorganismos. La superficie del material y sus características, como ya se ha mencionado, influyen en la capacidad de adhesión de los MO y en la rápida formación de la biopelícula (biofilm).

En estudios donde se ha medido la capacidad adhesiva de diversos microorganismos a materiales colocados en diferentes localizaciones del órgano dentario, se ha observado que destaca una mayor adhesión en superficies correspondientes a caras vestibulares y linguales. Esto puede ser debido a que los mecanismos de auto limpieza son más eficaces por palatino, por lo tanto la autoclisis representa un factor determinante en la adhesión de los MO.⁸

También es importante considerar la *rugosidad*, como característica de superficie; este factor implica que las superficies más rugosas tienen la capacidad de retener mayor cantidad de biopelícula. Esto sucede principalmente en las superficies no pulidas de las prótesis, que van en contacto con los tejidos blandos de los pacientes, normalmente la acumulación bacteriana inicia en estas áreas debido a que los microorganismos se protegen mejor de los mecanismos naturales de defensa de auto limpieza y al aumentar la rugosidad, aumenta el área de superficie con lo cual favorece la adhesión.⁹

Existe un factor conocido como Coagregación, mediante el cual un MO tiene la capacidad de establecer uniones con otras especies bacterianas; por ejemplo el *S. mutans* aglutina por adición de dextranos de peso molecular alto para formar agregados con, *Neisseria*, *Nocardia* y con *C. albicans* por adherencia heteróloga, una vez que el consumo de sacarosa del ser humano les resulta favorable para formar la biopelícula, éste será fermentado por ambos (*S. mutans* y *C. albicans*) produciéndose un entorno acidogénico favorable, de tal forma que la superficie de las prótesis es susceptible de ser colonizada por microorganismos que pueden

dar origen a diversas patologías de la mucosa bucal que queda en contacto directo con las prótesis como pueden ser Candidiasis y Estomatitis.

Existen 3 mecanismos de fijación de la biopelícula a las superficies bucales:

1. Fijación directa de los microorganismos a las superficies del órgano dentario: En este mecanismo de fijación puede ser reversible en una primera fase y este fenómeno se explica por medio de la energía de superficie; la cual puede resultar alta o baja entre los microorganismos y la superficie de la prótesis, dependiendo de fenómenos electrostáticos y de hidrofobicidad y/o hidrofilia. En una segunda fase, la adhesión puede ser mediada por la interacción entre las diversas características de los materiales (resinas, acrílicos, metales, ionómeros, etc.) y receptores específicos.

2. Formación de una película orgánica: Se presenta a las pocas horas de la inserción en boca de las prótesis, la película adquirida es constituida por las proteínas que se encuentran en la saliva, y que estarían actuando como mediadores en la fijación de la placa biopelícula adherida a las superficie de las prótesis.

3. Anclaje mecánico y penetración de los microorganismos en los defectos de superficie de los materiales: Este fenómeno favorece la formación inicial de la biopelícula y evitar su remoción o que entre en etapa de reversibilidad. Diversos estudios realizados para determinar las características de superficie, empleando diferentes materiales utilizados en el ámbito odontológico, tales como: materiales de impresión, yesos y materiales para elaboración de modelos, adhesivos, agentes separadores y resinas termo polimerizables y auto polimerizables, el fenómeno da como resultado que la profundidad de las indentaciones origine una penetración que varía de 1 a 12 μm ; siendo la anchura varias veces superior a la profundidad y presentando las paredes una inclinación expulsiva, que ofrece una resistencia débil a la remoción de los MO.¹⁰

1.2.2 *Streptococcus mutans*

Entre las enfermedades de origen infeccioso que afectan al ser humano se encuentra la caries dental como una de las mas prevalentes, consistiendo esta enfermedad en una desmineralización de los tejidos duros del órgano dentario producto del metabolismo

bacteriano sobre las superficies de esmalte y posteriormente de la dentina, en la etapa de cavilación. Las bacterias bucales pertenecen a una compleja comunidad de numerosas especies que participan en la formación del biofilm o biopelícula con todas sus funciones, propiedades e interacciones.

Las investigaciones actuales han demostrado que una variada y compleja cantidad de microorganismos participan en la patogénesis de la caries bucal, tales como *Lactobacillus app*, *Actinomyces app*, *Veillonella* y *Streptococcus mutans*, etc., los cuales son los agentes patógenos más importantes asociados a esta entidad patológica.

El *Streptococcus mutans* es un estreptococo alfa hemolítico, se visualiza bajo el microscopio como bacilo cuando se aísla de un medio que presenta un pH ácido y como cocócea cuando se sub-cultiva en un medio neutro o alcalino. Este microorganismo fue descrito por Clarke en 1924, quien fue el primer investigador en notar la variación en la morfología con el pH del medio.^{4,11} Es de tipo gram positivo, con disposición en cadena, es catalasa positivo, inmóvil, tiene la capacidad de producir ácido láctico y cambia de un medio de pH 7 a 4.2 en 24 horas, puede fermentar lactosa, manitol, glucosa, rafinosa, salicilina e insulina, no produce hemólisis ni decoloración en agar sangre, se sub clasifica en varios tipos de acuerdo a sus propiedades genéticas, inmunológicas y biológicas, los serotipos existentes son: C, E, F y K.¹¹

Con base en la composición y los enlaces de los polisacáridos de la pared celular, los estreptococos del grupo *mutans* se clasifican en los siguientes 10 serotipos:

Streptococcus mutans (serotipos C,E,F y K)

Streptococcus sobrinus (serotipos D y G)

Streptococcus cricetus (serotipo A)

Streptococcus ferus (serotipo C)

Streptococcus macacae (serotipo C)

Streptococcus downei (serotipo H).

El Serotipo C de *Streptococcus mutans* es el más predominante en la cavidad bucal humana.^{5,12}

En general, el hábitat natural del *Streptococcus mutans* es la cavidad bucal humana, lugar en donde las colonias de este microorganismo se adhieren cerca de la superficie de los órganos dentarios y de las lesiones cariosas.

El crecimiento de la biopelícula proporciona las condiciones óptimas para el funcionamiento del sistema de señalización entre las células estreptocócicas, para facilitar el intercambio genético y generar factores de virulencia. La importancia del *S. mutans* como patógeno oportunista dentro y fuera de la cavidad bucal tiene que ver con las poblaciones formadoras de biopelícula que pueden alcanzar alta colonización en áreas confinadas de aparatos protésicos, ya sea dentro o fuera de la cavidad bucal y también en válvulas cardíacas, amígdalas, senos paranasales, pasajes respiratorios terminales y lesiones infecciosas en la piel.⁴

Existe un amplio rango de factores de virulencia importantes para el establecimiento del *S. Mutans* en la comunidad microbiana de la biopelícula; el contagio inicial se produce durante los primeros años de vida mediante transferencia vertical de madre a hijo, pudiendo darse también un contagio de tipo horizontal por el contacto con otras personas cercanas como familiares o cuidadores en etapas posteriores de la vida, otra característica importante de este MO es la persistencia de sus genotipos en la cavidad bucal de adultos, adolescentes y en niños mayores de 5 años.¹³

1.2.3 *Candida albicans*

La *Candida albicans* es un hongo o *fungi* dimorfo que suele formar largas hifas, pseudohifas y blastoconidios, que son células germinantes subesféricas de 3-8 x 2-7µm, y se encuentran asociadas a especies animales de sangre caliente, su temperatura óptima de crecimiento es de 37°C. Los tractos respiratorio, digestivo, el sistema genito urinario y las heces fecales son los repositorios más importantes de este hongo en los seres humanos, en donde se comporta

como un saprobio y su sola presencia no implica la presencia de infección; este microorganismo no sobrevive largo tiempo en superficies carentes de humedad. Su dimorfismo le permite evadir algunos mecanismos de defensa relacionados con la inmunidad del huésped, cuando toma la forma de levadura se comporta como saprófita, conviviendo en simbiosis con el huésped y cuando se presenta en forma de hongo filamentoso se convierte en un parásito patógeno que produce síntomas de infección en el huésped.¹⁴

Las candidiasis superficiales son muy frecuentes y de fácil tratamiento, y no suelen afectar la salud de los pacientes, por otro lado, las candidiasis sistémicas son generalmente graves; éstos casos están relacionados con pacientes con deficiencias en su sistema inmune.

Las candidiasis superficiales se relacionan con alteraciones en la hidratación y cambios en el pH de piel, boca, faringe y otros tejidos superficiales.

La Candidiasis Bucal se presenta en tres tipos principales:

1. Seudomembranosa: Es el tipo más frecuente y se presenta comúnmente en recién nacidos y en adultos mayores; se adhiere principalmente en la lengua, paladar y vestíbulo bucal y se caracteriza por presentarse como una capa blanca membranosa, de bordes difusos y con base eritematosa. La membrana blanca está formada por fibrina, células epiteliales descamadas, leucocitos, pseudohifas, leucocitos y levaduras que se unen al epitelio inflamado.

2. Hiperplásica o leucoplaquia: Se localiza comúnmente en la parte dorsal de la lengua, y se compone de una capa blanca persistente, rugosa y firme, irregular y eritematosa, asociándose a las estomatitis bucales y queilitis angulares.

3. Glositis Romboide. Se presenta en la parte dorsal de la lengua, atrofiando las papilas gustativas y puede ser una variante de la candidiasis pseudomembranosa crónica⁷

En los Adultos Mayores existe una disminución del flujo salival que puede ser causada por la ingesta de algunos medicamentos, a esto se suman varios factores que favorecen la

proliferación del hongo, como son: la pérdida de la dimensión vertical por atrición, erosión, abrasión y pérdida de los órganos dentarios, lo cual origina escurrimiento salival por las comisuras de los labios y/o retención salival, todos estos factores crean las condiciones ideales para la proliferación del hongo de *C. albicans*, además se pueden añadir factores locales y predisponentes como el uso de prótesis y dispositivos bucales por tiempos prolongados y a la falta de higiene, lo cual puede dar origen a las estomatitis subprotésicas.⁸

1.2.4 Materiales para elaboración de prótesis bucales

Los materiales con los que se fabrican las prótesis bucales han variado a lo largo de la historia humana. En las culturas antiguas hubo reposiciones hechas con marfil proveniente de cuernos de animales, metales, conchas marinas e incluso se utilizaron dientes naturales humanos.

La rehabilitación dental es importante porque cumple funciones como la masticación y fonación y representa una necesidad de las sociedades modernas relativa a consideraciones estéticas.

Uno de los retos principales de la Investigación en la Odontología ha sido crear o desarrollar un material biocompatible con propiedades físicas similares a los tejidos duros y blandos de la boca, además de ser fácil de manipular, de larga duración y que sea capaz de resistir las condiciones adversas de la cavidad bucal.

Actualmente los materiales de fabricación de las prótesis son básicamente tres: metal, cerámica y resina.

1. Metal: En la actualidad se han descubierto una amplia variedad de aleaciones metálicas en distintas concentraciones. Además de aleaciones de oro existen otras aleaciones nobles como las de Ag-Pd (Plata-Paladio).¹⁵

Las aleaciones más usadas para la confección de prótesis suelen ser Cr-Ni (Cromo-Níquel) y Cr-Co (Cromo-Cobalto), ambas se encuentran dentro del grupo de los metales no nobles.

Los metales en Prosthodontia Dental se trabajan mediante colado con una técnica conocida como “técnica de la cera perdida”, y en los años recientes se han desarrollado vertiginosamente tecnologías novedosas como los sistemas CAD/CAM para mecanizado con 3 o 5 ejes así como modificaciones con agregación de diversos materiales con el objetivo de mejorar las propiedades de los mismos desde diversos puntos de vista y necesidades.

2. Cerámicas: Este material es también conocido como porcelana, tiene un origen mineral y por sus características físicas resulta ser duro y frágil a la vez, se obtiene mediante cocción por acción de calor en hornos especializados. Existen muchos tipos de cerámicas para la confección de prótesis dentales, clasificándose según su temperatura de fusión que puede ser alta y baja y también por su composición química pudiendo ser de tipo feldespática y aluminosa. Este material es muy utilizado por ofrecer cualidades físicas muy similares a las de los órganos dentarios naturales en lo concerniente a características de color y dureza.¹⁶

3. Resinas: Actualmente se usan distintos tipos de resina utilizadas en la elaboración de prótesis bucales, principalmente como base de prótesis metálicas; en prótesis combinadas o híbridas. Las resinas tienen amplio uso en especialidades como ortodoncia, prosthodontia total, prosthodontia removible y en prótesis fija se usa para elaborar restauraciones provisionales con el objetivo de proteger temporalmente los tallados de los órganos dentarios mientras se realizan las preparaciones. Es un material con excelentes características como fácil manipulación, propiedades estéticas y además ofrecen la capacidad de reproducir con mucha similitud las propiedades anatómicas del órgano dentario natural.¹⁶

1.2.4.1 Resina acrílica de Polimetilmetacrilato (PMMA)

En el área de la ciencia médica se utiliza la resina de polimetilmetacrilato para la fabricación de prótesis óseas y como aditivo en polvo en la formulación de medicamentos de administración por vía oral. En este caso actúa como una cápsula retardante a la acción de los medicamentos.

Las ventajas del PMMA son muchas: bajo peso molecular, baja energía superficial, mejor transparencia, menor fragilidad. Se diferencia de otros plásticos especialmente por su mejor transparencia, su fácil moldeo y la posibilidad de reparación en caso de cualquier defecto

superficial resultante de su elaboración. La capacidad de obtener fibras continuas de gran longitud mediante un proceso de fabricación relativamente económico lo convierte en un material que puede ser utilizado incluso en la elaboración de fibra óptica.

En la actualidad, los materiales para base de dentaduras de polimetilmetacrilato se suministran en forma de dos componentes, el monómero-líquido (metacrilato de metilo) se mezcla con el polímero-polvo (formado de pequeños fragmentos de cadenas de polimetacrilato de metilo). El monómero disuelve parcialmente al polímero dando una masa plástica, ésta se mezcla dentro de un molde, donde el monómero polimeriza; debido a esta presentación, se puede observar una estructura de tipo esférico, donde hay una matriz uniforme en la que resaltan las partículas esféricas del polímero.¹⁷

Mecánicamente, el polimetacrilato de metilo es un material frágil y relativamente rígido. Como valores medios tiene una resistencia a la compresión de 76 Mpa (Mega pascales) y de tracción de 55 Mpa. Una de sus desventajas es la escasa resistencia al impacto que facilita su fractura si se deja caer sobre una superficie dura. La resistencia a la abrasión es moderada.¹⁰

1.2.5 Aplicación de la nanotecnología en medicina

El término "nano" proviene del idioma Griego y significa "enano".¹¹

Nanotecnología es la ciencia que estudia los materiales, dispositivos y cualquier otra estructura que se componga de partículas muy pequeñas del orden de al menos 1-100 nm (0.1 a 0.01 micras).

Eric Drexler (1980) del Instituto Foresight, implantó por primera vez el término

^{11,12,18}

“nanotecnología”.

Por su parte, Richard Feynman (1959) fue el primero en hacer referencia a las posibilidades de la nano ciencia y la nano tecnología durante un discurso ofrecido en el Instituto

Tecnológico de California, titulado: “En el fondo hay espacio de sobra”. Feynman ganó el premio Nobel de física en 1965.¹¹

Las nanopartículas son definidas por el *Handbook of Pharmaceutical Technology* como todas aquellas partículas coloidales sólidas que se encuentran en un rango de tamaño de 1 a 1000 nm ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$). Un nanómetro es una medida de longitud equivalente a la milmillonésima parte del metro. Son materiales macro moleculares que se pueden utilizar terapéuticamente en el transporte de fármacos, los cuales pueden ser encapsulados, atrapados o disueltos. Por tal motivo la Nanomedicina incluye a un amplio rango de aplicaciones científicas que van desde el lanzamiento de fármacos, la formación de tejidos a partir de diseños a escalas manométricas para el diagnóstico y tratamiento de diversas enfermedades hasta moléculas de fármacos que son transportadas por el sistema circulatorio y nano robots que son capaces de reconocer células cancerígenas y destruirlas.¹⁵

La Nanotecnología ha modificado la perspectiva y funcionalidad de los materiales que se emplean en el área de la salud, dicha funcionalidad consiste en la ventaja de su tamaño (manométrico). Las nanopartículas (Nps) muestran diversas propiedades en los sistemas biológicos, este tamaño permite utilizarlas para penetrar y atravesar diferentes membranas biológicas, como las paredes bacterianas y con esto aumentar el efecto bactericida; la industria farmacéutica también ha sido beneficiada, pues la aplicación de la nanotecnología ha permitido la creación y modificación de algunos medicamentos^{9,15,19}

El método más común para la preparación de AgNPs consiste en la reducción de una solución salina de plata con un agente reductor como el borohidruro de sodio, el citrato o el ascorbato. La tendencia de los métodos de síntesis, actualmente, se enfoca en el uso de compuestos benéficos al medio ambiente. Otros métodos utilizan la condensación de gases, irradiación láser y deposición sonoquímica^{9,20}.

1.2.6 Aplicación de la nanotecnología en odontología

Al igual que la nanomedicina, la nanotecnología y su aplicación en las Ciencias Odontológicas tiene como objetivo ideal crear el material perfecto que pueda ser utilizado en

la cavidad bucal, siendo compatible y presentando propiedades físicas similares a las de los tejidos naturales, esto incluye bioingeniería de tejidos y diferentes tecnologías como el uso de nanorobots.

La Nano Odontología es muy variada y tiene un amplio rango de aplicaciones, se ha utilizado para la creación de cerámicas nano optimizadas, nuevos materiales con propiedades estéticas, nanosoluciones (agentes adhesivos y polímeros modificados), materiales de impresión con nanorellenos, nanoagujas, nanoencapsulados como vacunas y antibióticos, materiales utilizados en la regeneración ósea, nanofibras biodegradables, nanocristales, terapias foto dinámicas, implantes dentales con superficies que incluyen nanotecnología, nano robots dentales, prótesis dental con nanocompuestos, nanoestructuras, etc.¹¹

Las nanopartículas son una opción que ha comenzado a tener un rol destacado en la Odontología; existen aplicaciones concretas como las nanopartículas de plata (AgNPs) que se utilizan como una alternativa en curaciones dentales por poseer propiedades antifúngicas, antibacterianas y de antidesgaste. En Ortodoncia, se utilizan las nanopartículas para controlar la señalización del dolor e incrementar la ramificación de las terminaciones nerviosas al utilizar nanoesferas que favorecen la regeneración de tejidos nerviosos. En Implantología se ha desarrollado un biomaterial conocido como nano hueso, que simula la estructura y composición del hueso humano. También se han creado implantes inteligentes, que son capaces de identificar el tipo de tejido que se está formando sobre ellos, para liberar factores de crecimiento, lo cual favorece el desarrollo tisular.^{11,21} En prostodoncia se han podido modificar los materiales para conferirle propiedades antibacterianas y antifúngicas a las placas base utilizadas en las prótesis parciales y totales.

1.2.7 Uso de nanopartículas de plata (AgNPs) en los materiales dentales

Los componentes de plata (Ag) han sido conocidos por su actividad antimicrobiana desde hace siglos por diversas culturas alrededor del mundo.

La plata tiene un amplio espectro de actividad antibacteriana, contra hongos, virus e incluso protozoos. Esta acción se puede magnificar en forma de nanopartícula; las nanopartículas de

plata (AgNPs) tienen la capacidad de inactivar enzimas y prevenir la replicación del ADN bacteriano. Esta acción ocurre porque las nanopartículas se adhieren a la membrana extra celular y provocan cambios en la estructura celular modificando su permeabilidad.

Con el objetivo de proveer actividad antimicrobiana a los materiales dentales, se han realizado diversos estudios que han demostrado que la incorporación de la plata a resinas dentales detiene el crecimiento de cepas microbianas ^{6,7}.

Las nanopartículas de plata (AgNPs) han sido incorporadas a adhesivos y primers (acondicionador) para inhibir el crecimiento de MO en cavidades y en superficies de órganos dentarios demostrando su eficacia y los únicos problemas que se han presentado son debidos a la liberación del ion de plata, el cual origina cambios en la dureza de los materiales y en la coloración.

El amplio rango de aplicaciones de la Nanotecnología ha desarrollado diversos métodos de fabricación de AgNPs (nanopartículas de plata), así como diversos compuestos que contienen iones de plata o plata metálica.⁹

En un estudio realizado por Gómez-Quintero en 2012 se evaluó la adherencia de *Candida albicans* sobre el polimetil metacrilato (PMMA) conteniendo Óxido de Titanio (TiO₂) y adicionados o no con nanopartículas de plata, con el resultado de que las nanopartículas de plata sintetizadas y agregadas al PMMA le confieren mayor efecto antimicrobiano contra *Candida albicans*, lo que indica resultados prometedores para su uso clínico, proponiendo que usar prótesis dentales confeccionadas con PMMA adicionado con AgNPs (nanopartículas de plata) reduciría la presencia de estomatitis protésica en los pacientes portadores. Se realizó la síntesis efectiva de PMMA con nanopartículas de TiO₂ con fase cristalina anatasa, al cual se le adicionaron nanopartículas de plata para conferirle mayores efectos antimicrobianos. Los resultados indican la obtención de un compuesto eficaz ante la presencia de *Candida albicans*, lo que sugiere realizar trabajos de investigación posteriores que demuestren su adecuado uso como material para elaborar prótesis dentales y diversos dispositivos odontológicos ^{13,22}.

La caracterización de la compatibilidad celular en cultivos *in vitro e in vivo* en modelos animales y humanos de los nuevos materiales dentales con partículas nanométricas han demostrado que incrementan la respuesta celular, presentan características de biomimetismo con los tejidos dentales, ofrecen propiedades antifúngicas y fortalecen el desarrollo de nuevos materiales con aplicaciones clínicas en muy diversas especialidades de las Ciencias Odontológicas.^{17,18}

De manera general se puede afirmar que las propiedades físico-químicas alcanzadas por los materiales dentales con presencia de partículas nanométricas ha incrementado la eficiencia de los materiales de restauración odontológica.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A nivel mundial la prevalencia de la caries dental en los adultos es alta, la enfermedad afecta a la población en proporciones cercanas al 100% en la mayoría de los países del mundo.

El número de órganos dentarios perdidos entre los adultos se encuentra relacionado con la edad. La pérdida de los dientes refleja la acumulación del daño que ocasionan las dos principales enfermedades bucales (caries y enfermedad periodontal) y su falta de tratamiento oportuno y enfoque preventivo, así como la interrelación de estas con las enfermedades crónico degenerativas.

Preservar los órganos dentarios y en caso de pérdida lograr una adecuada sustitución y/o rehabilitación de los mismos es importante no solo para la masticación, nutrición y estética de los pacientes, también juegan un papel relevante en la fonación, comunicación y calidad de vida. La falta de programas preventivos y la ausencia de materiales con propiedades antimicrobianas que contrarresten la caries y su consecuente pérdida de órganos dentarios ha ocasionado que un alto porcentaje de pacientes en México principalmente adultos y adultos jóvenes demanden la utilización de prótesis bucales que pueden inicialmente rehabilitar la ausencia dentaria pero que por el uso prolongado tienden a colonizarse y convertirse en reservorios de grandes cúmulos de MO.⁶

El *Streptococcus mutans* y la *Candida albicans* son dos de los principales microorganismos relacionados con la caries y la enfermedad periodontal, el primero se encuentra presente en la biopelícula, participando en la desmineralización que da lugar a las cavidades cariosas y el segundo es un hongo que se encuentra relacionado con la inmunosupresión relacionada con la edad y con padecimientos crónico degenerativos y que tiene la capacidad de colonizar la superficie de las prótesis que se encuentran en contacto directo con un medio húmedo durante tiempos prolongados, dando lugar a estomatitis bucal y/o subprotésica.²³

En la actualidad, la investigación en nanotecnología aplicada a las Ciencias Odontológicas se puede catalogar como un proyecto innovador, con un fuerte potencial para revolucionar los materiales usados en la rehabilitación, así como en el diagnóstico y tratamiento de las

enfermedades odontológicas y además presenta un enfoque preventivo, razón por la cual es necesario hacer investigación.

2.1 Pregunta de investigación

¿Cuál es el material para elaboración de bases para prótesis con menor y mayor adherencia de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans*?

3. JUSTIFICACIÓN

Actualmente existen pocos reportes en la literatura acerca del *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* con respecto a su adhesión a los materiales utilizados para fabricar aparatos protésicos, los datos obtenidos en esta investigación aportarían información de importancia clínica, sugiriendo el material con menor adherencia a microorganismos que pueda ser usado clínicamente.

La rehabilitación protésica total o parcial es el único recurso existente para devolver al paciente su capacidad masticatoria y su estética cuando ha perdido sus órganos dentarios, por lo tanto, el estudio y mejoramiento de los materiales que se usan para elaborar aparatos protésicos es muy importante dentro de las ciencias odontológicas.²³

En la República Mexicana se contempla dentro de la Ley General de Salud en su artículo 27 que la prevención y control de las enfermedades bucales deberá ser realizado por servicios profesionales odontológicos pertenecientes al sector público y privado, debido a que el sistema de salud nacional es mixto, las instituciones que conforman el sistema deben proporcionar un conjunto de servicios con el fin de proteger, promover y restaurar la salud bucal de la población.⁵

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido al grupo de edad de entre 35 a 44 años como el grupo de seguimiento estándar para las condiciones de salud de los adultos, ya que permite observar el efecto total de la caries dental, la salud periodontal y el resultado general de los servicios dentales. Cabe destacar que el grupo de edad conformado por la población que tiene entre 65 a 74 años correspondiente a los Adultos Mayores se ha convertido en un foco de atención debido a la disminución de la tasa de mortalidad y aumento de la esperanza de vida y longevidad; es dentro de este amplio grupo de población donde se tienen que volver a replantear modelos de atención preventivos; actualmente la demanda de tratamientos bucales que incluyen aparatos protésicos necesarios para rehabilitar los órganos dentarios perdidos es muy amplia, por lo tanto, resulta primordial la investigación en materiales dentales que puedan aportar un beneficio preventivo con la capacidad de limitar

o detener la adhesión de microorganismos, lo cual podría disminuir los altos índices de caries, estomatitis, enfermedad periodontal y pérdida de órganos dentarios.^{5,24,25}

También es importante destacar que en México, la incursión en el campo de la nanotecnología se encuentra poco desarrollada y es necesaria una completa inmersión a éste conocimiento a todos los profesionistas e investigadores dedicados a la bioingeniería en la Medicina y Odontología.⁵

La Odontología del futuro será totalmente diferente cuando la fármaco genética, la Bioingeniería de tejidos, la modificación de biomateriales, la terapia con células madre, la imagenología y la bioinformática confluyan con el propósito de diseñar nuevas técnicas diagnósticas y terapéuticas^{11,19,20,26}.

Además resulta necesario considerar que la globalización y el desarrollo tecnológico moderno obligan a una transformación de la ciencia odontológica mediante el uso de nano sistemas para el tratamiento de diferentes padecimientos. Sin embargo, se debe hacer énfasis en que existen factores sociales, así como dilemas éticos, reglamentaciones y limitantes legales y normativas para establecer tratamientos con esta tecnología en seres humanos, todas estas dificultades se tienen que afrontar para que la nanotecnología pueda incorporarse a la Odontología de manera completa. Una forma de superar estos dilemas es realizar investigación en ciencia básica para demostrar que el desarrollo y modificación de los materiales dentales es necesario antes de usarlos clínicamente de manera segura.^{22,23,27}

4. HIPÓTESIS

Hipótesis de trabajo:

Los modelos prototipo de resina compuesta a los que se les añadieron partículas de plata tendrán menor adherencia bacteriana de *Streptococcus mutans* y *Cándida albicans* en comparación a los grupos de resinas de prescripción protésica sin ningún agente antimicrobiano.

Hipótesis nula:

Los modelos prototipo de resina compuesta a los que se les añadieron partículas de plata tendrán significativamente mayor adherencia bacteriana de *Streptococcus mutans* y *Cándida albicans* en comparación a los grupos de resinas de prescripción protésica sin ningún agente antimicrobiano.

Hipótesis alterna:

Se genera el mismo patrón de adherencia sin importar la modificación de la composición de los materiales.

5. OBJETIVOS

General:

Determinar cuantitativamente el grado de adherencia bacteriana de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* en resinas compuestas de prescripción protésica.

Específicos:

- Cuantificar la adherencia de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* mediante el uso de marcadores radiactivos (tritio ^{h3}).
- Analizar la adherencia de Microorganismos por medio del microscopio electrónico de barrido.
- Determinar si la solución de nanopartículas de plata modifica alguna etapa de polimerización del acrílico auto polimerizable.
- Identificar si la solución de nanopartículas de plata modifica alguna etapa de polimerización del acrílico termo polimerizable.
- Determinar las resinas compuestas de prescripción protésica con mayor o menor susceptibilidad de colonización de *Streptococcus mutans*.
- Identificar las resinas compuestas de prescripción protésica con mayor o menor susceptibilidad de colonización de *Candida Albicans*.
- Analizar mediante Microscopía Electrónica de barrido (MEB) el nivel de adherencia de bacterias.
- Realizar caracterización de las resinas compuestas de prescripción protésica mediante EDX. (análisis por emisión de dispersión de rayos X con microscopio electrónico de barrido).

6. DISEÑO METODOLÓGICO

6.1 Tipo de estudio

Experimental *in vitro*

6.2 Población y Universo

Se consideraron un total de N=240 muestras (bloques de resina de 4x4x1) divididos en 8 grupos con una n=30 como a continuación se describe:

Grupos Experimentales:

GI= PMMA Arias® Auto polimerizable con AgNPs (n=15)

GII= PMMA Nic Tone® Termo polimerizable conAgNPs (n=15)

GIII= PMMA Nic Tone® Auto polimerizable con AgNPs (n=15)

GIV= PMMA Arias® Termo polimerizable con AgNPs (n=15)

Grupos Control

GV= PMMA Arias® Auto polimerizable (n=15)

GVI= PMMA Nic Tone® Termo polimerizable (n=15)

GVII= PMMA Nic Tone® Auto polimerizable (n=15)

GVIII= PMMA Arias® Termo polimerizable (n=15)

6.3 Muestreo

No probabilístico, por cuota y conveniencia.

6.4 Criterios

Criterios de Inclusión:

- Muestras de Polimetilmetacrilato Auto polimerizable y Termo polimerizable con AgNPs que cumplan con el tamaño de 4x4x1.
- Muestras de Polimetilmetacrilato Auto y Termo polimerizable sin defectos de polimerización.
- Muestras de Polimetilmetacrilato Auto y Termo polimerizable elaboradas con las Np's Ag para los grupos correspondientes, así como monómero y polímero proveniente de empaque sellado y dentro de la caducidad del fabricante.

Criterios de exclusión:

- Muestras de Polimetilmetacrilato Auto y Termo polimerizable con defectos en la polimerización.
- Muestras de Polimetilmetacrilato Auto y Termo polimerizable con un tamaño menor o mayor a 4x4x1.
- Polimetilmetacrilato que contenga en su composición algún tipo de agente antimicrobiano en su manufactura original.
- Polimetilmetacrilato reforzado o que contenga algún tipo de elemento que incremente su dureza en su manufactura original.

Criterios de Eliminación:

- Muestras que sufran fracturas o deformación antes o durante en el momento de la fase experimental.
- Muestras que sufran contaminación bacteriana previa a la fase experimental.

6.5. Variables

Operacionalización de las variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición
Dependiente				
Adherencia bacteriana	Proceso por el cual las bacterias se fijan por sí mismas a las células u otras superficies antes de proliferar.	Proceso por el cual se <i>S. mutans</i> y <i>C. albicans</i> se fijan a acrílico termo polimerizable y auto polimerizable.	Cuantitativa	Continua
Microdureza	Condición de la superficie del material, no representa ninguna propiedad de la materia y está relacionada con las propiedades elásticas y plásticas del material.	Método que mide los cambios en la resistencia de la superficie de los materiales.	Cuantitativa	Razón
Independientes				
Adición de nanopartículas	Acción de añadir una partícula microscópica con por lo menos una dimensión menor que 100 nm.	Acción de añadir nanopartículas de plata.	Cuantitativa	Continua
Acrílico termo polimerizable	Fibras y materiales plásticos que se obtienen por polimerización del ácido acrílico o de sus derivados	Acrílico Nic Tone y acrílico Arias termo polimerizable.	Cuantitativa	Continua
Acrílico auto polimerizable	Fibras y materiales plásticos que se obtienen por polimerización del ácido acrílico o de sus derivados y que polimerizan mediante luz halógena.	Acrílico Nic Tone y acrílico Arias auto polimerizable.	Cuantitativa	Continua

7. MATERIALES Y MÉTODOS

La fase operativa se realizó en el Laboratorio de Isótopos Radiactivos de la Universidad de Asahi, Japón.

7.1 Preparación de muestras

Se utilizaron 240 muestras separadas en 8 grupos: 4 para el grupo experimental y 4 para el grupo control para cada microorganismo; dando un total de 120 para *C. albicans* y 120 para la prueba de adherencia con *S. mutans*.

Las muestras fueron elaboradas utilizando un molde de teflón con cuatro contenedores cada uno del cual se obtiene un tamaño de 4x4x1mm para cada muestra; la solución de nanopartículas de plata se añadió al polímero auto polimerizable y termo polimerizable en una proporción de 1.25 mL por cada 12.5 g. de polvo^{17,18}, (la solución de nanopartículas de plata utilizada en este estudio consistió en una solución de agua bidestilada con una granulometría promedio de 15 a 20nm), posteriormente se tuvo cuidado de proteger el polímero modificado de la luz natural y/o artificial y se mantuvo en incubación el material durante 24 horas, después de este tiempo se realizó la mezcla monómero-polímero y al alcanzar el PMMA auto polimerizable la fase filamentosa de polimerización se rellenaron los compartimentos del molde de teflón el cual fue recubierto con un porta objetos de cristal para facilitar que el material alcance la fase rígida de polimerización, es en esta etapa cuando las muestras son retiradas del molde de teflón, recortadas con hoja de bisturí y posteriormente pulidas cada una de ellas por sus cuatro caras, utilizando lijas de grano ultra fino y de manera estandarizada para evitar un sobre pulido.

Las muestras de PMMA termo polimerizables fueron elaboradas mediante la técnica de eliminación de cera, utilizando el molde de teflón y el polímero con AgNPs para empaquetar el acrílico y cocerlo, una vez realizado este procedimiento las muestras son recortadas y pulidas al igual que las auto polimerizables.

Las muestras auto polimerizables y termo polimerizables de los Grupos Control siguen los mismos pasos de elaboración sin añadir la solución de AgNPs al polímero.

El tamaño de la nanopartícula de plata utilizada en el estudio tuvo un promedio de 15 a 20 nm (nanómetros) diluidas en una solución de agua bidestilada determinada a través del SEM (Microscopio electrónico de barrido).

Todas las muestras se limpiaron ultrasónicamente durante un minuto y los grupos de muestras sin adición de AgNPs fueron además esterilizadas con gas de óxido de etileno.

7.2 Cultivo y radiomarcaje de los microorganismos

El radio marcate de los microorganismos se realizó en el Laboratorio de Isótopos Radiactivos de la Universidad de Asahi, utilizando Timidina kBq (6^3H).

Cultivo de los Microorganismos: cepas de *C. albicans* (ATCC 18804) y *S. mutans* (ATCC25175) que se encontraban en ultracongelamiento fueron cultivadas anaerómicamente a 37°C en un medio semi sólido de Trypticaseína de Soya (TSBY), (BBL, Cockeysville, MD, USA) con extracto de levadura (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) durante 18 horas. Después, los microorganismos fueron extraídos del medio semisólido de TSBY e inoculados anaerómicamente usando TSBY en un medio líquido en 150 mL, con un marcador radiactivo, 74 kBq de [6- ^3H] Timidina (para codificar los microorganismos) los cuales fueron cultivados durante 18 horas a 37°C. Posteriormente los microorganismos fueron recolectados mediante centrifugación a 12,000 rpm durante 15 minutos (8 g) dentro de una solución salina de PBS a 0.05 M ajustada a pH 7.0, solución con la que los microorganismos se lavaron tres veces, obteniendo una solución final de 150mL de microorganismos con marcate radiactivo a una concentración de 10^5 UFC/mL.

Este procedimiento se realizó en dos fases, la primera para *C albicans* y la segunda para *S mutans*.

7.3 Análisis de adherencia

Las muestras de PMMA fueron suspendidas individualmente mediante un dispositivo metálico (gancho/pinza) sujetado a una tapa de metal con capacidad para colgar 20 muestras, realizando este procedimiento por triplicado (60 muestras por ensayo) y las muestras se sumergieron en un fluido con 150 mL de *S.mutans* (ATCC25175), radiomarcado con tritio ($5,6 \text{ }^3\text{H}$) e incubadas a 37°C dos horas en constante movimiento mediante agitación magnética durante 2 hrs., posteriormente las muestras fueron recuperadas y lavadas de manera individual a tres tiempos en un molde de vidrio con solución de PBS, posteriormente se colocaron para secado en el laboratorio a temperatura ambiente con ambientes controlados de humedad entre 16 y 25% de humedad.

Las bacterias radio marcadas adheridas a los bloques de PMMA se midieron a través de un equipo automático de combustión (LSC-900, Aloka, Tokyo, Japan), los residuos de la combustión son capturados y recolectados en una solución líquida de aquasol, acto seguido para la medición se empleó una máquina de centelleo (luz u óptica estroboscópica) que al ser proyectada sobre esta solución excita a las moléculas asociadas a isótopos radiactivos, los cuales pueden medirse por medio de sensores que detectan Carbono 14 (^{14}C) y Tritio (^3H); los valores estimados se expresan mediante una medida de desintegración por minuto (dpm), esta medida se repitió tres veces por la máquina para asegurar la confiabilidad de los resultados, entendiéndose que a mayor radiactividad (dpm), es atribuida proporcionalmente mayor colonización de microorganismos. Cabe señalar que es entonces proporcional la cantidad de radiación detectada con el nivel de colonización de microorganismos, por lo tanto, a mayor radiación, mayor el nivel de colonización de microorganismos.

Se realizó el mismo procedimiento hasta completar el análisis de adherencia de 60 muestras para *C. albicans* y 60 para *S. mutans* de manera independiente. Este procedimiento fue realizado en dos ocasiones completando un total de 240 muestras analizadas.

7.4 Análisis microscópico

Algunas muestras representativas fueron observadas en el Microscópico Electrónico de Barrido (SEM, por sus siglas en inglés) bajo los siguientes aumentos: 2500x 5000x y 8000x a una aceleración de 5Kv y en la muestra perteneciente al grupo Arias Auto polimerizable de *C albicans* a 10 000x, a 5 Kv cuando se detectaron características diferentes al resto.

Antes de poder ser observadas en el SEM, las muestras fueron fijadas previamente con Glutaraldehído, fijadas con tetra óxido de Ósmio (OsO₄), deshidratadas con una serie ascendente de etanol a 60, 70, 80 y 95% y posteriormente secadas en congelación. Finalmente fueron recubiertas con una fina capa de Osmio.

El escaneo por dispersión de energía fue realizado utilizando microscopio EDS (Oxford Abingdon, UK) adjunto a microscopio electrónico (SEM, Japón) para llevar a cabo el análisis de caracterización registrando la dispersión de energía con una resolución de 137eV.

7.5 Evaluación de microdureza Vickers

Se realizaron tres indentaciones aleatorias del centro a la periferia en la superficie de cada muestras de PMMA usando un diamante con una punta piramidal a 25 Kg de carga durante 10 segundos. Se midieron los ejes “x y “y” en milímetros para dividirlos y obtener el número de dureza Vickers correspondiente (VHN por sus siglas en inglés) lo valores obtenidos se calcularon a través del paquete computacional Hardness-Course Vickers/ Brinell/ Rockwell copy right IBS 2012 version 10.4.4.

Un total de 120 muestras fueron agrupadas en 8 grupos (n=15/grupo) para la prueba de dureza Vickers de la siguiente manera:

GI PMMA Arias Auto polimerizable con AgNPs

GII PMMA Nic Tone Termo polimerizable con AgNPs

GIII PMMA Nic Tone Auto polimerizable con AgNPs

GIV PMMA Arias Termo polimerizable con AgNPs

GV PMMA Arias Auto polimerizable

GVI PMMA Nic Tone Termo polimerizable

GVII PMMA Nic tone Auto polimerizable

GVIII PMMA Arias Termo polimerizable

7.6 Consideraciones Bioéticas

El presente estudio no infringe la Declaración de Helsinki ni va en contra de ningún principio científico y moral debido a que se trata de un estudio *in vitro*, que no contempla estudios en células humanas o animales, únicamente la modificación en laboratorio en situaciones controladas de un tipo específico de biomaterial.

Los estudios se realizaron en laboratorios del Instituto de Isótopos Radiactivos de la Escuela de Odontología de la Universidad Asahi en Japón, en donde cuentan con protocolos específicos de control de radiaciones y de acuerdo a ordenanzas gubernamentales y de la misma Universidad, los participantes fuimos sujetos a estudios de laboratorio y se recibió un entrenamiento previo en el manejo de material radiactivo, además de contar todo el tiempo con dosímetros y con el equipo de protección necesario y suficiente para un desempeño seguro dentro del horario de trabajo en los laboratorios.

8. RESULTADOS

Capítulo aceptado en el libro: Mis Casos Clínicos 2021.

Asunto: Aceptación y revisión galeras
capítulo de libro

Dr. Ulises Velazquez-Enriquez

Nos es grato dirigirnos a usted para hacer de su conocimiento que, con base a la revisión editorial y a la calidad del manuscrito titulado:

TÍTULO: Evaluación del efecto antibacteriano de PMMA modificado con AgNPs: Estudio preliminar

AUTORES:

Jorge Méndez-Serrano,¹ Ulises Velazquez-Enriquez,¹ Rosalía Contreras-Bulnes,¹ Isaias De La Rosa-Gomez,² Toshiko Sawada,³ Ana Miriam Santillán-Reyes,¹ Edith Lara-Carrillo.¹

¹Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México,

²Instituto Tecnológico de Toluca, Metepec, México,

³Universidad Asahi, Mizuho, Japón

Ha sido **ACEPTADO**, para ser incluido en el libro que estamos editando. Para finalizar, por favor le pedimos:

- Leer con detenimiento el manuscrito que se encuentra adjunto al correo para eliminar algún error que pudo ser introducido durante la edición del mismo por el equipo editorial.
- Compruebe si el texto está completo y si las figuras, tablas y sus leyendas están incluidas.
- Revisar las referencias que se encuentren en estilo Vancouver.
- Realice sus correcciones insertando los comentarios con la herramienta "control de cambios" del programa Word o resaltando los cambios en color rojo.
- La publicación de datos erróneos, como dosis y unidades pueden tener serias consecuencias. Por favor tenga particular cuidado que todos esos detalles sean correctos.

FAVOR ACUSAR RECIBO DE ESTE CORREO

Santiago, 14 de enero de 2020

Dr. Ulises Velázquez-Enriquez.
Autónoma del Estado de México
School of Dentistry
Jesus Carranza esq. Paseo Tollocan
Toluca, México

MS 6625

Apreciado Dr. Velázquez-Enriquez,

Hemos recibido la versión final del manuscrito **ADHESION OF *Candida albicans* AND STREPTOCOCCUS MUTANS TO SILVER NANOPARTICLE-MODIFIED POLYMETHYLMETHACRYLATE** por Jorge Mendez-Serrano; Ulises Velazquez-Enriquez.; Rosalia Contreras-Bulnes; Isaias De La Rosa-Gomez; Toshiko Sawada; Ryoza Yamaguchi la cual ha sido aceptada para publicación en *Interciencia* Vol. 45(1).

Por otra parte, debido a las serias dificultades financieras de la revista nos hemos visto obligados a solicitar una contribución de US\$225 por página publicada ([estimadas seis](#)). Esperamos que los autores hagan uso de los fondos destinados a este fin en sus subvenciones de investigación o que las instituciones donde prestan sus servicios cubran dichos costos.

Atentamente,

Miguel Laufer
Director

8.1 Análisis estadístico

Se realizó con Anova de un factor con prueba *post hoc* de Sheffè para encontrar diferencias estadísticamente significativas entre los promedios de los grupos. "t" de student utilizando el programa SPSS V.18.

8.1.1 Análisis Microscópico

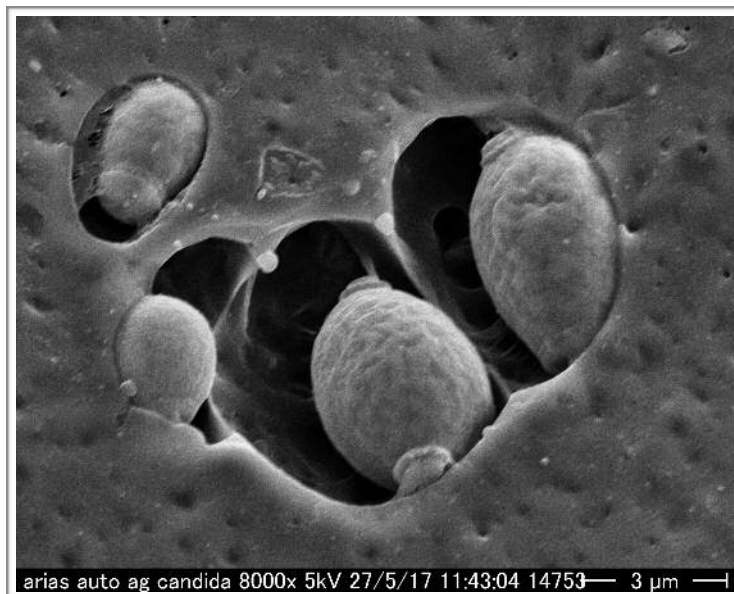


Figura 1. Microfotografía a 8000x de *C. albicans* adherida a superficie de PMMA auto polimerizable con AgNPs.

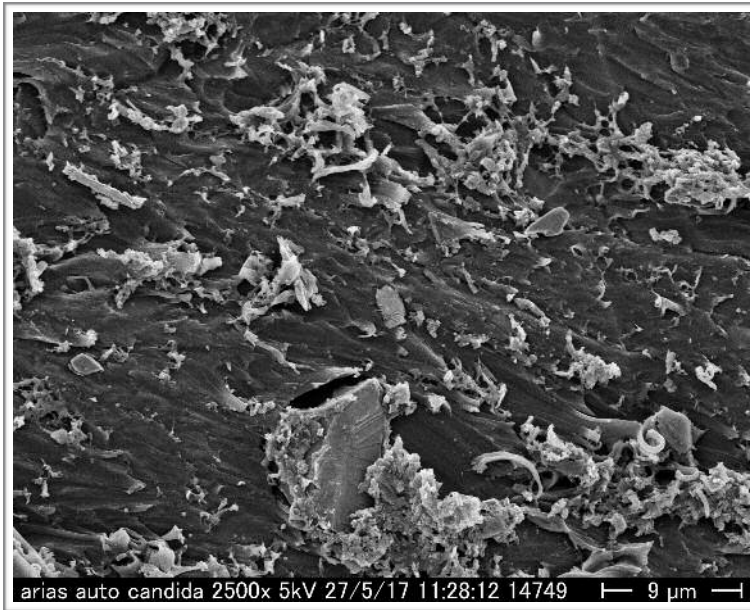


Figura 2. Microfotografía a 2500x de *C. albicans* adherida a superficie de PMMA auto polimerizable.

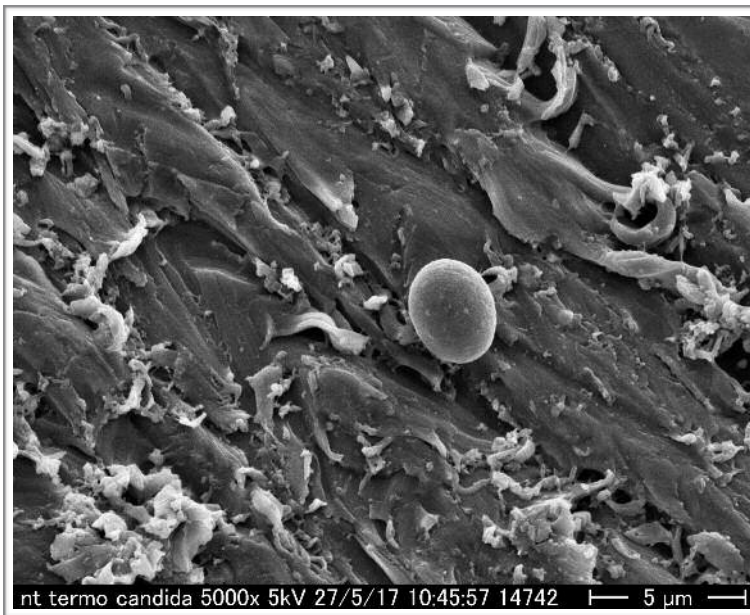


Figura 3. Microfotografía a 5000x de *C. albicans* adherida a superficie de PMMA termo polimerizable.

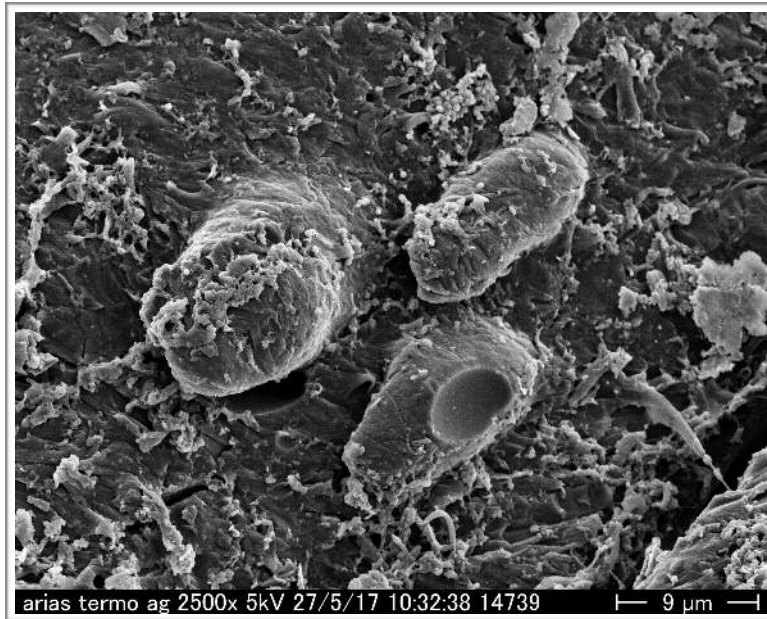


Figura 4. Microfotografía a 2500x de *S. mutans* adherido a superficie de PMMA termo polimerizable con AgNPs.

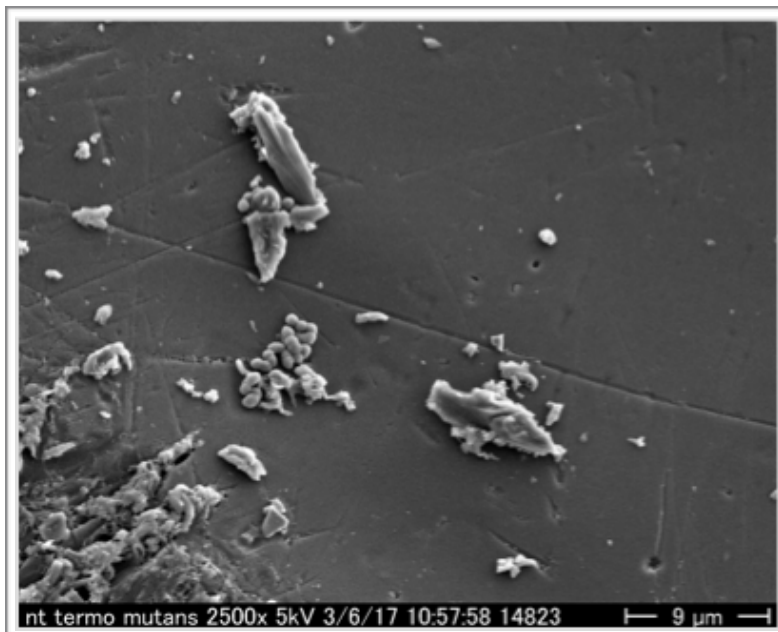


Figura 5. Microfotografía a 2500x de *S. mutans* adherida a superficie de PMMA termo polimerizable.

9. DISCUSIÓN

La Anodoncia Total y Parcial a consecuencia de caries dental y enfermedad periodontal se rehabilita con aparatos protésicos elaborados principalmente con materiales como el polimetilmetacrilato (PMMA), el cual se utiliza en la Odontología desde inicios del siglo pasado; las prótesis bucales, al encontrarse en un medio húmedo bucal son susceptibles de colonizarse por muy diversos microorganismos; y como consecuencia de esta adhesión microbiana, sobrevienen diversas patologías bucales como estomatitis sub protésicas y caries secundaria.^{28,29}

Estudios previos demuestran la capacidad de colonización de diversos microorganismos en la biopelícula que se encuentra adherida a las superficies de los órganos dentarios así como la capacidad de colonización principalmente en las partes no pulidas y rugosas de los aparatos protésicos que se encuentran en contacto directo durante tiempos prolongados con los tejidos blandos del paciente.^{30,31,32} El proceso de endurecimiento al que es sometido el PMMA puede influir en la capacidad de colonización, las resinas termo polimerizables tienen como iniciador de polimerización al peróxido de benzoilo, el cual se activa por arriba de los 60°C; este iniciador se descompone en radicales libres que reaccionan con las moléculas de monómero disponibles e inician una polimerización en cadena, pasando de un estado gomoso a un estado rígido; por otro lado, las resinas auto polimerizables inician el proceso de curado mediante una amina terciaria (dimetil-p-toluidina ó ácido sulfónico) este método de curado se lleva a cabo a temperatura ambiente y da como resultado un material de peso molecular más bajo que incide negativamente en las propiedades de resistencia del material y origina un porcentaje de entre 3 a 5% de monómero residual no polimerizable , dando lugar a rugosidades y defectos en el pulido.³⁰

Se ha demostrado que *C. albicans* y *S. mutans* son dos microorganismos representativos que forman parte de la biopelícula presente en las superficies de las prótesis en los pacientes con Anodoncia Parcial o Total.³³ En un estudio preliminar realizado como parte de esta investigación se demostró la presencia de halos de inhibición en muestras de PMMA termo polimerizables con AgNPs ante *C. albicans* y *E. faecalis*. Los estudios de adhesión

microbiana relacionados con biomateriales, han dado como resultado prototipos y productos comerciales que pueden utilizarse en cavidad bucal cumpliendo el objetivo principal de no originar caries secundaria o algún otro efecto nocivo a los tejidos blandos a consecuencia de su uso; para ello, la investigación relacionada con estos biomateriales y su mejora antes de poder probarse en boca debe cumplir con altos estándares de calidad internacional y ser sometidas a pruebas y estudios de investigación que contemplen muchas variables como pueden ser pruebas de adhesión bacteriana, biocompatibilidad, citotoxicidad, resistencia a la fractura, resistencia a la tensión, dureza y micro dureza, etc. así como probarse tanto *in vitro* como *in vivo*,^{34,35} en este sentido las propiedades de inhibición bacteriana han sido ampliamente investigadas con la utilización de diversos metales y óxidos; partículas de Plata (Ag), Oro (Au), Óxido de Zinc (ZnO), Óxido de Titanio (TiO₂), Óxido Nítrico (NO), y Clorhexidina son ejemplos de metales y óxidos que, incorporados a muy diversos materiales como fibras de nylon, resinas, cementos, tinturas, adhesivos, polímeros, etc. han demostrado tener moderadas a fuertes propiedades de inhibición bacteriana.³⁶

El presente estudio se enfoca en la capacidad de inhibición bacteriana de la Plata (Ag) en su forma de Nanopartícula (AgNPs) incorporada al polimetilmetacrilato (PMMA) y tuvo como propósito identificar las posibles variaciones en los patrones de adhesión de la *C. albicans* y el *S. mutans* en diferentes tipos de PMMA modificados con AgNPs.^{37,38} Estudios *in vitro* han demostrado la efectividad anti microbiana de las nanopartículas de plata en diversos tipos de materiales como metal y fibras sintéticas, principalmente como recubrimiento.³⁹

En este estudio las nanopartículas de plata (AgNPs) se añadieron al polímero; por lo tanto, al hacer la mezcla monómero-polímero las partículas se encuentran integradas de manera homogénea a las muestras. Este estudio es consecuente con estudios similares que han demostrado actividad biocida de las AgNPs en muestras de PMMA, a diferencia de otras investigaciones en las cuales las AgNPs han sido añadidas en forma de recubrimiento a diversos materiales odontológicos como brackets, nylon, bandas ortodóncicas, etc.^{32,33,34}

La presente investigación parte de la necesidad protésica de crear un material que pudiera tener una perspectiva de aplicación clínica útil en prostodoncia total, parcial, removible y en

general en cualquier aplicación o dispositivo de uso odontológico elaborado con PMMA en donde las necesidades de reparación, añadidos, rebases, etc. hagan complicada la viabilidad de las AgNPs en forma de recubrimiento, estos factores pueden ser motivo de nuevos estudios que ofrezcan evidencia científica con el fin de lograr un material que ofrezca actividad anti microbiana el mayor tiempo posible ante luz, saliva, cambios de temperatura, proporciones estandarizadas, etc., (variables que no fueron analizadas como parte del estudio)^{40,41}

La concentración de la solución de AgNPs añadida al polímero fue de 20 mL / 100g. por lo tanto, es necesario realizar estudios similares subsecuentes a diferentes proporciones para saber cuál podría ser la concentración de AgNPs ideal que, sin modificar o alterar las características del material y su polimerización pudieran tener el mayor efecto antimicrobiano durante tiempos prolongados.^{42,43}

De acuerdo a estudios similares realizados con marcadores radiactivos, niveles más altos de radiactividad debidos al radiomarcaje de microorganismos, son consistentes con el incremento en la adhesión de los mismos a las superficies de las muestras y por el contrario, con un efecto inversamente proporcional, bajos niveles de radiación indicaron una disminución en la adhesión de los microorganismos a la superficie de las muestras.⁴⁴

Este estudio demostró con precisión el nivel de adhesión de *S. mutans* y *C. albicans* a las muestras de PMMA; al ser cultivados y probados de manera independiente ambos microorganismos y su actividad sugieren que pueden relacionarse con la actividad cariosa y las estomatitis sub protésicas o alguna otra patología de tejidos blandos.

Es importante mencionar que pudieron existir variaciones en la cantidad de microorganismos adheridos a las superficies debido a la polimerización del material; el estudio incluyó dos tipos de acrílico: auto polimerizable y termo polimerizable, las diferencias en la polimerización, pudieron originar distintos niveles de dureza y porosidad que afectan de manera inmediata el pulido, esto puede influir en la adherencia de los microorganismos a las superficies; fenómeno consistente con estudios similares en los cuales se demuestra que el

PMMA termo polimerizable presenta mejores cualidades al pulido debido a una mayor dureza del material y menor porosidad.⁴⁵

Por otro lado, la incorporación de la solución con nano partículas de plata al polimetilmetacrilato cambió las características de superficie de las muestras experimentales auto polimerizables, observándose mayor rugosidad y porosidad, lo cual es notable en las microfotografías obtenidas con el microscopio electrónico de barrido (SEM) principalmente en la prueba de adhesión microbiana con *C. albicans*.

En términos generales, los hallazgos del estudio muestran diferencias en el nivel de adhesión entre las muestras de PMMA auto polimerizable y el termo polimerizable identificando una menor adherencia de ambos microorganismos (*S. mutans* y *C. albicans*) principalmente para los grupos de muestras (experimentales) en los que se incorporaron las nanopartículas de plata al polímero del polimetilmetacrilato, en específico al PMMA termo polimerizable, y para el caso del grupo GV auto polimerizable perteneciente a las muestras (control), se identificó una notable afinidad para la adhesión a *C. albicans*, esto es similar a lo reportado en otros estudios en los cuales hubo una menor adherencia *in vitro* de *C. albicans* en materiales plásticos.⁴⁵ Del mismo modo, Velazquez-Enriquez y Jasso-Ruiz han probado la efectividad del método de evaluación por marcadores radiactivos para medir cuantitativamente la adhesión de microorganismos a resinas y brackets ortodóncicos.^{17,18} Por lo tanto, proporcionalmente a mayor radiación detectada, es mayor el nivel de colonización de microorganismos. Por lo que, las evidencias de este estudio sugieren la utilización del PMMA termo polimerizable para la elaboración de los diversos aparatos y dispositivos utilizados en las diferentes especialidades odontológicas, con la ventaja de tener un material con propiedades antimicrobianas y que no modifica las etapas de polimerización que este tipo de material presenta.

La mayor afinidad de colonización de ambos microorganismos al PMMA auto polimerizable puede ser debida a las propiedades de resistencia del material, el cual origina un porcentaje de entre 3 a 5% de monómero residual no polimerizado, dando lugar a rugosidades y defectos en el pulido que sirven como reservorio de los microorganismos.³⁰ Razón por la cual se sugiere al clínico elegir el PMMA de tipo termo polimerizable en la práctica odontológica.

De acuerdo al diseño metodológico se contemplaron hacer pruebas adicionales consistentes en la evaluación de microdureza Vickers con el objetivo de analizar si la incorporación de las AgNPs influye directamente en las propiedades del PMMA, esta prueba reveló que los Grupos GII y GIII mostraron la mayor microdureza Vickers y diferencias estadísticas significativas en comparación con los demás grupos, por otra parte el grupo VIII sin nAgNPs mostró los valores mas bajos de microdureza Vickers y diferencias estadísticas significativas con los demás grupos. Estos resultados son consistentes con lo reportado por Ozkanoglu, 2020 que evaluó la microdureza y estabilidad de diferentes materiales restaurativos.⁴⁶

Es necesario realizar más investigación e incluir diferentes variables como luz, humedad, oclusión, etc. también pudiera ser factible realizar estudios similares con distintos microorganismos de manera simultánea para encontrar la proporción ideal del antimicrobiano (AgNPs) añadido al PMMA que demuestre una mayor capacidad de inhibición y que al agregarse al polimetilmetacrilato pueda mantener sus propiedades físicas ideales en cuanto a dureza y micro dureza, porosidad y cambios de coloración.

10. CONCLUSIÓN

Los principales resultados de esta investigación son los siguientes:

Las muestras de PMMA auto polimerizables mostraron mayor adherencia de *S. mutans* y *C. albicans* en comparación con los bloques de PMMA termo polimerizables.

Se identificaron cambios en la topografía observando cualitativamente una superficie más rugosa en los grupos de muestras experimentales GI y GIII congruente a los resultados de la prueba de adhesión microbiana para *S. mutans* y *C. albicans* lo cual fue notable en las micrografías obtenidas mediante el microscopio electrónico de barrido (SEM).

Los datos más relevantes con respecto a la evaluación de adhesión bacteriana son los siguientes:

El grupo GI de muestras de PMMA para *S. mutans* mostró la menor colonización de microorganismos con un valor de 1648,1427 dpm.

El grupo GIV de muestras de PMMA para *S. mutans* mostró la mayor colonización de microorganismos con un valor de 1914,7657 dpm.

El grupo GVI de muestras de PMMA con AgNPs presentó menor adherencia para *C. albicans* con un valor de 822.8663 dpm.

El grupo GV de muestras de PMMA presentó mayor adherencia para *C. albicans* con un valor de 1706.1760 dpm.

La prueba de microdureza Vickers demostró que los grupos GII y GIII evaluados en este estudio obtuvieron los valores más altos de dureza, esta información puede resultar útil para el clínico al considerar esta propiedad con respecto al uso de PMMA en Prostodoncia Parcial y/o Total.

La información reportada en esta investigación podría utilizarse para ayudar al clínico en odontología a seleccionar el tipo de polimetilmetacrilato más adecuado para la incorporación de nanopartículas de plata con beneficios biocidas ante *Streptococcus mutans* y *Candida albicans*; la modificación del PMMA realizada en este estudio podría evitar los problemas relacionados con la adhesión de microorganismos a las prótesis y aparatología elaboradas con este material, así como previniendo diversas patologías como estomatitis bacteriana y caries dental.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.-Margulis L, Sagan D, Microcosmos: Four billion years of microbial evolution. New York, *University of California Press*. 1997;1a Ed.
- 2.-Inoue Y, Shimojo N. Microbiome/microbiota and allergies. *Semin Immunopathol*, 2015; 37(1):57-64.
- 3.-Porte L, Braun S, Dabanch J, Egaña A, Andriguetti D. *Streptococcus mutans*: una bacteria que hace honor a su nombre. *Rev Chil.Infect*; 2009; 26(6):570-571.
- 4.-Ojeda-Garcés JC, Oviedo-García E, Salas LA. *Streptococcus mutans* and dental caries/*Streptococcus mutans* y caries dental. *CES Odontología*. 2013;26(1):44-56.
- 5.-Secretaría de salud, SIVEPAB Méx. Dirección General de Epidemiología. Disponible en:<https://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/sivepab-sistema-de-vigilancia-epidemiologica-de-patologias-bucales>, 2021.
- 6.-Acosta LD, Pérez-Camacho O, Acosta R, Escobar DM, Gallardo CA, Sanchez-Vargas LO. Reduction of *Candida albicans* biofilm formation by coating polymethyl methacrylate denture bases with a photopolymerized film. *J. Prosthet. Dent*; 2020;124(5):605-613.
- 7.-Aguayo S, Marshall H, Pratten J, Bradshaw D, Brown JS, Porter, SR. Early adhesion of *Candida albicans* onto dental acrylic surfaces. *J. Dent. Res*. 2017; 96(8):917-923.
- 8.-Besinis A, De Peralta T, Tredwin CJ, Handy RD. Review of nanomaterials in dentistry: interactions with the oral microenvironment, clinical applications, hazards, and benefits. *ACS nano*. 2015;9(3):2255-89.

- 9.-Birnbbaum K, Gutknecht N. Scanning electron microscopy investigation of PMMA removal by laser irradiation (Er: YAG) in comparison with an ultrasonic system and curettage in hip joint revision arthroplasty. *Lasers Med. Sci.* 2010;25(4):595-603.
- 10.-De Matteis V, Cascione M, Toma CC, Albanese G, De Giorgi ML, Corsalini M, Rinaldi R. Silver nanoparticles addition in poly (methyl methacrylate) dental matrix: topographic and antimycotic studies. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(19):4691-4695.
- 11.-Durán N, Nakazato G, Seabra AB. Antimicrobial activity of biogenic silver nanoparticles, and silver chloride nanoparticles: an overview and comments. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2016;100(15):6555-6570.
- 12.-Durner, J, Stojanovic M, Urcan E, Hickel R, Reichl FX. Influence of silver nano-particles on monomer elution from light-cured composites. *Dent. Mater.* 2011;27(7):631-636.
- 13.-Fragal VH, Cellet TS, Pereira GM, Fragal EH, Costa MA, Nakamura CV. Covalently-layers of PVA and PAA and in situ formed Ag nanoparticles as versatile antimicrobial surfaces. *Int. J. Biol. Macromol.* 2016;91(1):329-337.
- 14.-Fragkou S, Balasouli C, Tsuzukibashi O, Argyropoulou A, Menexes G, Kotsanos N, Kalfas S. *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* and *Candida albicans* in oral samples from caries-free and caries-active children. *Eur. Arch. Paediatr. Dent.* 2016;17(5):367-375.
- 15.-Giannunzio GA, Speerli RC, Guglielmotti MB. Electrical field effect on periimplant osteogenesis: a histologic and histomorphometric study. *Implant Dent.* 2008;17(1):118-126.
- 16.-Hamid S, Zainab S, Faryal R, Ali N, Sharafat I. Inhibition of secreted aspartyl proteinase activity in biofilms of *Candida* species by mycogenic silver nano- particles. *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.* 2018;46(3):551-557.
- 17.-Velazquez-Enriquez, U, Scougall- Vilchis RJ, Contreras-Bulnes R, Flores-Estrada J, Uematsu S, Yamaguchi R. Quantitative analysis of *S. mutans* and *S. sobrinus* cultivated independently and adhered to polished orthodontic composite resins. *J. Appl. Oral Sci.* 2012;20(5):544-549.

- 18.-Jasso-Ruiz I, Velazquez-Enriquez U, Scougall-Vilchis RJ, Lara-Carrillo E, Toral-Rizo VH, López-Castañares R, Morales-Luckie RA. Synthesis and characterization of silver nanoparticles on orthodontic brackets: A new alternative in the prevention of white spots. *Coatings*. 2019;9(8):480-485.
- 19.-Iavicoli I, Leso V, Schulte PA. Biomarkers of susceptibility: State of the art and implications for occupational exposure to engineered nanomaterials. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2016;299(1):112-124.
- 20.-Kadiyala KK, Badisa MK, Anne G, Anche SC, Chiramana S, Muvva SB. Evaluation of flexural strength of thermocycled interim resin materials used in prosthetic rehabilitation-an in-vitro study. *J. Clin. Diagn. Res.* 2016;10(9):ZC91-ZC95.
- 21.-Kasraei S, Sami L, Hendi S, Ali Khani MY, Rezaei-Soufi L, Khamverdi Z. Antibacterial properties of composite resins incorporating silver and zinc oxide nanoparticles on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus*. *Restor Dent Endod.* 2014;39(1):109-114.
- 22.-Ladizesky NH, Pang MK, Chow TW, Ward IM. Acrylic resins reinforced with woven highly drawn linear polyethylene fibres. 3. Mechanical properties and further aspects of denture construction. *Aust. Dent. J.* 1993;38(1):28-38.
- 23.-Metin-Gürsoy G, Taner L, Akca G. Nanosilver coated orthodontic brackets: in vivo antibacterial properties and ion re-lease. *Eur J Orthod.* 2016;39(1):9-16.
- 24.-Mousavi SA, Ghotaslou R, Kordi S, Khoramdel A, Aeenfar A, Kahjough ST, Akbarzadeh A. Antibacterial and antifungal effects of chitosan nanoparticles on tissue conditioners of complete dentures. *Int. J. Biol. Macromol.* 2018;118(Pt A):881-885.
- 25.-Namangkalakul, Worachat, Benjavongkulchai, Sunpatch, Pochana, Teeraphat, Promchai, Alitta, Satitviboon, Wuttika. Activity of chitosan antifungal denture adhesive against common *Candida* species and *Candida albicans* adherence on denture base acrylic resin. *J. Prosthet. Dent.* 2019;123(1):1-7.

- 26.-Neves PBAD, Agnelli JAM, Kurachi C, de Souza CW. Addition of silver nanoparticles to composite resin: effect on physical and bactericidal properties in vitro. *Braz. Dent. J.* 2014;25(2):141-145.
- 27.-Noronha V, Paula AJ, Durán G, Galembeck A, Cogo-Müller M, Durán N. Silver nanoparticles in dentistry. *Dent. Mater.* 2017;33(10):1110-1126.
- 28.-Padovani GC, Feitosa VP, Sauro S, Tay FR, Durán G, Paula AJ, Durán N. Advances in dental materials through nanotechnology: facts, perspectives and toxicological aspects. *Trends Biotechnol.* 2015;33(11):621-636.
- 29.-Saku S, Kotake H, Scougall-Vilchis RJ, Ohashi S, Hotta M, Horiuchi S, Yamamoto K. Antibacterial activity of composite resin with glass-ionomer filler particles. *Dent. Mater. J.* 2010;29(2):193-198.
- 30.-Shen XT, Zhang YZ, Xiao F, Zhu J, Zheng XD. Effects on cytotoxicity and antibacterial properties of the incorporations of silver nanoparticles into the surface coating of dental alloys. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* 2017;18(7):615-625.
- 31.-Stenhagen ISR, Rukke HV, Dragland IS, Kopperud HM. Effect of methacrylated chitosan incorporated in experimental composite and adhesive on mechanical properties and biofilm formation. *Eur. J. Oral Sci.* 2019;127(1):81-88.
- 32.-Suo L, Li Z, Luo F, Chen J, JIA, L, Wang T, Wan Q. Effect of dentin surface modification using carbon nanotubes on dental bonding and antibacterial ability. *Dent. Mater. J.* 2018;37(2):229-236.
- 33.-Zhang X, Zhang X, Zhu B, Lin K, Chang J. Mechanical and thermal properties of denture PMMA reinforced with silanized aluminum borate whiskers. *Dent. Mater. J.* 2012;31(6):903-908.
- 34.-Nagayama M, Sato M, Yamaguchi R, Tokuda C, Takeuchi H. Evaluation of coaggregation among *Streptococcus mitis*, *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas gingivalis*. *Lett Appl Microbiol.* 2001;33(2):122-125.

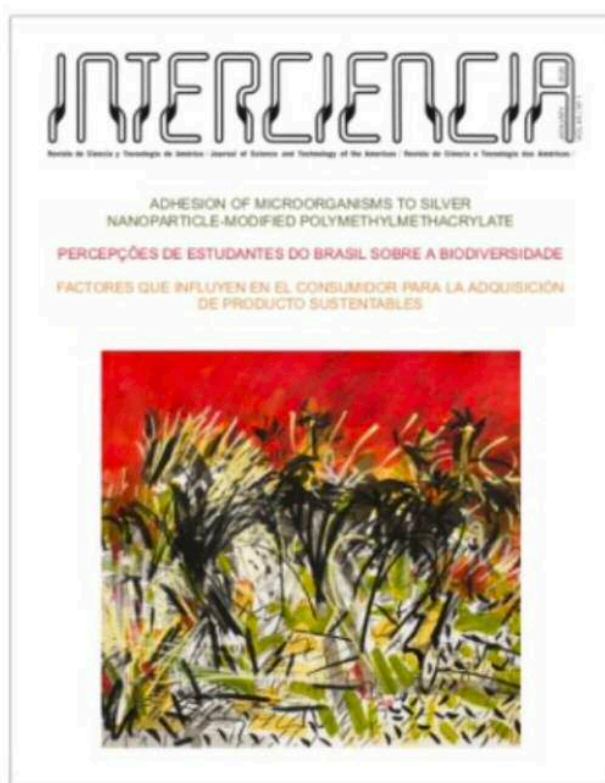
- 35.-Ramon-Martinez H, Marcos-Abdala H, Treviño E, Garza G, Pozas A, Rivera G. Aplicación de la nanotecnología en Odontología: Nano-Odontología. *Rev. CES Odont.* 2011;24(2):87-91.
- 36.-Yoshida K, Tanagawa M, Matsumoto S, Yamada T. Antibacterial activity of resin composites with silver-containing materials. *Our J Oral Sci*; 1999;107(4):290-296.
- 37.-Li Z, Sun J, Lan J, Qi Q. Effect of a denture base acrylic resin containing silver nanoparticles on *Candida albicans* adhesion and biofilm formation. *Gerodontology.* 2016;33(2):209-216.
- 38.-Romo-Arévalo J, Moreno-Maldonado V, Antena-Bizarro S. Análisis microscópico de la adherencia de *Candida Albicans in vitro* sobre resina acrílica utilizada para bases de dentaduras procesada con tres diferentes técnicas. *Rev Odont Mex.* 2006;10(4):167-172.
- 39.-Jandt KD, Watts DC., Nanotechnology in dentistry: Present and future perspectives on dental nanomaterials. *Dent Mater.* 2020;36(11):1365-1378.
- 40.-Garcia Contreras R, Argueta-Figueroa L, Mejía-Rubalcava C, Jimenez-Martínez R, Cuevas-Guajardo S, Sanchez-Reyna PA, Mendieta-Zeron H. Perspectives for the use of silver nanoparticles in dental practice. *Int Dent J.* 2011;61(6):297–301.
- 41.-Alexander JW. History of the medical use of silver. *Surg Infect*, 2009;10(3):289–292.
- 42.-Douglas RM, Luiz FG, Aline ST, Adhemar CR, Emerson RC, Debora BB.,The growing importance of material that prevent microbial adhesion: antimicrobial effect of medical devices containing silver. *Int J Antimicrob Agents.* 2009;34(2):103-110.
- 43.-Rai M, Yadav A, Gade A., Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnol Adv.* 2009;27(1):76-83.
- 44.-Chwalibog A, Sawosz E, Hotowy A, Szeliga J, Mitura S, Mitura K, et al., Visualization of interaction between inorganic nanoparticles and bacteria or fungi. *Int J Nanomedicine.* 2010;5:1085-1094.

45.- Leyva Gómez, G. Nanopartículas de plata: tecnología para su obtención, caracterización y actividad biológica, *Inv. en Discapacidad*. 2013;2(1):18-22.

46.-Ozkanoglu S, G Akin EG. (2020) Evaluation of the effect of various beverages on the color stability and microhardness of restorative materials. *Niger J Clin Pract*. 23(3):322-328

12. ANEXOS

Artículo publicado en Revista Interciencia, Vol. 45(1)



ENERO 2020

VOLUMEN 45
NÚMERO 01

ADHESION OF MICROORGANISMS
TO SILVER NANOPARTICLE-
MODIFIED
POLYMETHYLMETHACRYLATE

Segundo artículo aceptado, capítulo de libro

CIENCIA

ODONTOLÓGICA

RED DE INVESTIGACION EN
U A E M
U A C
U A E H
U D E G
ESTOMATOLOGIA

ISBN: 978-607-8444-XX-X

3. Evaluación del efecto biocida contra *C. albicans* y *E. faecalis* en PMMA modificado con AgNPs: Estudio Preliminar

JORGE MÉNDEZ-SERRANO,¹ ULISES VELÁZQUEZ-ENRÍQUEZ,¹ ROSALÍA CONTRERAS-BULNES,¹ ISAÍAS DE LA ROSA-GÓMEZ,² TOSHIKO SAWADA,³ ANA MIRIAM SANTILLÁN-REYES,¹ EDITH LARA-CARRILLO.¹

¹Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México, ²Instituto Tecnológico de Toluca, Metepec, México, ³Universidad Asahi, Mizuho, Japón.

Correspondencia

Ulises Velázquez Enriquez: Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México. email: ulisesvelazqu@hotmail.com

Objetivo: El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto antimicrobiano de PMMA (termo polimerizable y auto polimerizable) modificados con nanopartículas de plata (AgNPs) mediante cultivos bacterianos. **Material y Métodos:** AGNPs con un tamaño promedio de 15-20nm diluidas en alcohol metílico se añadieron al polímero de cuatro tipos de PMMA en una proporción de 12.5gr./ polímero por 1.25ml/AGNPs. Un total de 64 muestras fueron elaboradas y separadas en ocho grupos; por otra parte, *Enterococcus faecalis* y *Streptococcus mutans* fueron cultivados de manera independiente utilizando medio de cultivo semisólido de agar tripticaseína de soya (TSA); en la prueba de adhesión microbiana se colocaron 4 muestras de cada grupo en cajas Petri cultivadas de manera independiente para cada microorganismo. **Resultados:** Las muestras pertenecientes a los grupos: GII PMMA Nic Tone® Termo curable conAgNPs, GIV PMMA Arias® Termocurable con AgNPs, GVI PMMA Nic Tone® Termo curable y GVIII PMMA Arias® Termocurable presentaron una superficie más tersa al pulido; las muestras Autocurables del grupo Experimental GI PMMA Arias® Auto curable con AgNPs y GIII PMMA Nic Tone® Autocurable con AgNPs; las pruebas microbiológicas evidenciaron una baja inhibición bacteriana con respecto a la formación de halos ante los dos microorganismos utilizados en esta prueba (*E. faecalis* y *C. albicans*), sin embargo, se destaca que a 48 horas de incubación no hubo crecimiento alrededor ni sobre la superficie en los siguientes grupos: GI PMMA Arias® Auto curable

con AgNPs, GII PMMA Nic Tone® Termo curable conAgNPs, GIII PMMA Nic Tone® Autocurable con AgNPs, y GIV PMMA Arias® Termocurable con AgNPs. **Conclusiones:** Los hallazgos de este estudio preliminar demostraron la mayor inhibición de microorganismos en el grupo GIII, esto sugiere que la modificación al PMMA con AgNPs es exitosa en diversos tipos de materiales existentes en el mercado odontológico, adicionalmente se observó potencial de inhibición sobre *C. albicans* y *E. faecalis*, microorganismos considerados como patógenos, lo que podría ayudar en la prevención de estomatitis bacteriana.

Palabras clave: PMMA, *E. faecalis*, *C. albicans*, AgNPs

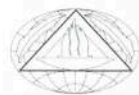
Test of biocide effect against *C. albicans* and *E. faecalis* on PMMA with AgNPs. Preliminary study Abstract

Objective: The purpose of this research was to determine the antimicrobial effect on PMMA (heat-curing and self-curing types) added with silver nanoparticles (AgNPs) by bacteria cultures. **Material and Methods:** AgNPs with an average size of 15-20 nm diluted in methyl alcohol was added into a polymer powder of four types of PMMA, the incorporation rate was 1.25ml (AgNPs) per 12.5 g. (polymer powder). A total of 64 samples were used in this study separated into eight groups; *Enterococcus faecalis* and *C. albicans* were independently cultivated in a semisolid Trypticasein Soy Agar (TSA) In the microbial adhesion test, four samples of each

CONTENIDO

	Pag.
Capítulo 1. Experiencia y prevalencia de pérdida prematura de dientes primarios en pacientes de 2 a 10 años de edad que acuden a un servicio de odontopediatría SAMHARA GISELL ESCUDERO-RODRÍGUEZ, KAREN ANAHÍ JUÁREZ-ZAPATA, SALVADOR EDUARDO LUCAS-RINCÓN, NORMA LETICIA ROBLES-BERMEO, NURIA PATIÑO-MARÍN, AMÉRICA PATRICIA PONTIGO-LOYOLA, CESAR TADEO HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, ROSALINA ISLAS-ZARAZÚA, SONIA MÁRQUEZ-RODRÍGUEZ, CARLO EDUARDO MEDINA-SOLÍS.	1
Capítulo 2. Efectividad de anestésicos tópicos y locales durante el tratamiento endodóntico mediante la escala visual analógica (EVA) JOSUÉ ROBERTO BERMEO-ESCALONA, JESÚS ENRIQUE ESTRADA-CARRANZA, MÓNICA MARLEN SAAIB-GONZÁLEZ, VALERIA CHÁVEZ-MEDEL, JOSÉ LUIS AYALA-HERRERA, MAURICIO GONZÁLEZ DEL CASTILLO-SILVA.	9
Capítulo 3. Evaluación del efecto biocida contra <i>C. albicans</i> y <i>E. faecalis</i> en PMMA modificado con AgNPs: Estudio Preliminar JORGE MÉNDEZ-SERRANO, ULISES VELÁZQUEZ-ENRÍQUEZ, ROSALÍA CONTRERAS-BULNES, ISAÍAS DE LA ROSA-GÓMEZ, TOSHIKO SAWADA, ANA MIRIAM SANTILLÁN-REYES, EDITH LARA-CARRILLO.	22
Capítulo 4. Factores asociados al desarrollo de caries en pacientes Mexiquenses con VIH. LEOPOLDO JAVIER DÍAZ-ARIZMENDI, ULISES VELÁZQUEZ-ENRÍQUEZ, VÍCTOR HUGO TORAL-RIZO, ROGELIO JOSÉ SCOUGALL-VILCHIS, EDITH LARA-CARRILLO, SARAY ARANDA-ROMO, FRANCISCO JAVIER TEJEDA-NAVA.	28
Capítulo 5. Retenciones dentarias: Revisión de la literatura. ALBERTO MÁRQUEZ-CONDE, JAIRO MARIEL-CÁRDENAS, JOSÉ OBED GARCÍA-CORTÉS, MIRIAM ALEJANDRA VERAS-HERNÁNDEZ, JUAN FERNANDO CASANOVA-ROSADO, ALEJANDRO JOSÉ CASANOVA-ROSADO, MIRNA MINAYA-SÁNCHEZ, MARTHA MENDOZA-RODRÍGUEZ, SARA CELINA CONDE-PÉREZ, CARLO EDUARDO MEDINA-SOLÍS.	38
Capítulo 6. Proceso de electropulido en alambres de uso ortodóntico: Revisión de la literatura CARLOS FRANCISCO CORTÉS-ÁNZURES, VÍCTOR HUGO TORAL-RIZO, ULISES VELÁZQUEZ-ENRÍQUEZ, EFRAIN RUBIO-ROSAS, EDITH LARA-CARRILLO, ROGELIO JOSÉ SCOUGALL-VILCHIS, MARÍA DE LOS ÁNGELES MOYAHÓ-BERNAL.	45

Presentación en Congreso Internacional, IADR Vancouver 2019



IADR
International Association
for Dental Research

VERIFICATION OF ATTENDANCE AND PRESENTATION

The International Association for Dental Research verifies that:

Jorge Mendez-Serrano, D.D.S.

attended the 2019 IADR/AADR/CADR General Session & Exhibition
in Vancouver, BC, Canada, June 19-22, 2019, and presented the following research:

Adhesion of *C. albicans* on PMMA modified with AgNPs.

ADA CERP® | Continuing Education
Recognition Program

The International Association for Dental Research
is an ADA CERP Recognized Provider.

ADA CERP is a service of the American Dental Association to assist dental professionals in identifying quality providers of dental education. ADA CERP does not approve or endorse individual courses or instructors, nor does it imply acceptance of credit hours by boards of dentistry.

Concerns or complaints about a CE provider may be directed to the provider or the ADA CERP at www.ada.org/cerp.

Christopher H. Fox, D.M.D., D.M.Sc.
Chief Executive Officer, IADR/AADR

Ponencia en modalidad cartel publicada en las Memorias de IADR, Vancouver, Canadá 2019.



97TH GENERAL SESSION & EXHIBITION OF THE IADR
48TH ANNUAL MEETING OF THE AADR
43RD ANNUAL MEETING OF THE CADR

Vancouver Convention Centre West
Vancouver, BC, Canada

www.iadr.org/2019iags

PROGRAM BOOK

   #IADR2019



IAGS 2019 Meeting App
www.iadr.org/2019iagsapp

Seq#: 405 Saturday, 22 June 2019, 3:45 p.m. – 5 p.m.
Poster Session, West Exhibition Hall B

Dental Materials S: Biocompatibility and Biologic Effects of Materials – Biological Properties of Traditional and Innovative Materials for Dental Applications

- SC3694** Antimicrobial Activity of Silver Ions and Nanoparticles – A Comparative Study. K. WONGKAM-HAENG*, J. BANAS, J. HOLLOWAY, A. HAES, I. DENRY (Department of Prosthodontics, The University of Iowa College of Dentistry, Iowa City, Iowa, USA)
- 3695** Cytotoxic Effect of White LED Light on Human Oral Keratinocytes. A.C. PAVARINA*, P. BARBUGLI, R. OLIVEIRA, J. CARMELLO (Dental Materials and Prosthodontics, São Paulo State University (Unesp), School of Dentistry, Araraquara, Araraquara, SP, São Paulo, Brazil)
- 3696** Intrapulpal Temperature Evaluation During Direct Pulp Capping Procedures. A.P.D. RIBEIRO*, M. ROCHA, L. TABATA, S. GERALDELI, J.-F. ROULET, D. OLIVEIRA, (Department of Restorative Dental Sciences, University of Florida, Gainesville, Florida, USA)
- 3697** Biological Evaluation of FE₃O₄ Nanoparticles for Potential Applications in Dentistry. R. GARCIA-CONTRERAS*, Á. PAULINO GONZÁLEZ, R. SCOUGALL-VILCHIS, J. VEGA-ARREGUÍN, H. SAKAGAMI, L. ACOSTA-TORRES (Laboratorio de Investigación Interdisciplinaria (LI), Área de Nanoestructuras y Biomateriales, Escuela Nacional de Estudios Superiores (ENES) Unidad León, UNAM, León, Guanajuato, Mexico)
- S3698** Adhesion of *C. albicans* on PMMA Modified with AgNPs. J. MENDEZ-SERRANO*, U. VELAZQUEZ-ENRIQUEZ (Odontogeriatrics, Autonomous University of the State of Mexico, Toluca, State of Mexico, Mexico)

NOTE: * = Presenting Author
C = Clinician Track
E = Educator Track
S = Student Presenter

All scientific sessions are located at the Vancouver Convention Centre West Building unless otherwise noted.

264 #IADR2019

Presentación en Congreso Nacional, Toluca, México 2019.


Universidad Autónoma del Estado de México

Facultad de Odontología

Otorga la presente a:

Jorge Méndez Serrano, Ulises Velázquez Enríquez, Rosalía Contreras Bulnes, Isaías De la Rosa Gómez, Víctor Hugo Toral Rizo, Edith Lara Carrillo.

Por su valiosa participación en el concurso de carteles organizado por el CA Odontopediatría y Ortodoncia, con el trabajo de investigación titulado:

“Adhesión bacteriana de *Candida albicans* y *Streptococcus mutans* en polimetilmetacrilato modificado con nanopartículas de plata”

Celebrado en el marco del Congreso conmemorativo del 55 Aniversario de la Facultad de Odontología y 40 Aniversario de la hermandad con las Universidades de Meikai y Asahi (Japón),

Toluca, México a 11 de junio de 2019

PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO
“2019, Año del 75 Aniversario de la Autonomía ICLA-UAEM”



DRA. en C.S. EDITH LARA CARRILLO
DIRECTORA DE LA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

DRA. en C.S. NORMA LETICIA ROBLES BERMEO
LÍDER DEL CUERPO ACADÉMICO
ODONTOPEDIATRÍA Y ORTODONCIA



Paseo Toluca esq. Jesús Carranza
Colonia Universidad, C.P. 50130 Toluca
Estado de México
Tels. (722)217.9070 y 217.9607, ext. 5060



CONSTANCIA

55 Aniversario 1964 - 2019

Estancia de Investigación realizada en Universidad Asahi, Japón, 2017.



School of Dentistry

Presents this

Certificate

to

Mr. Jorge Mendez Serrano

*as an Assistant Researcher at Asahi University,
School of Dentistry.*

31 Mar. 2017 ~ 1 Jul. 2017



[Redacted]
Jun Miyata

*Chairperson
of the Board of Directors
Asahi University*

[Redacted]
Katsuyuki Ohtomo

*President
Asahi University*