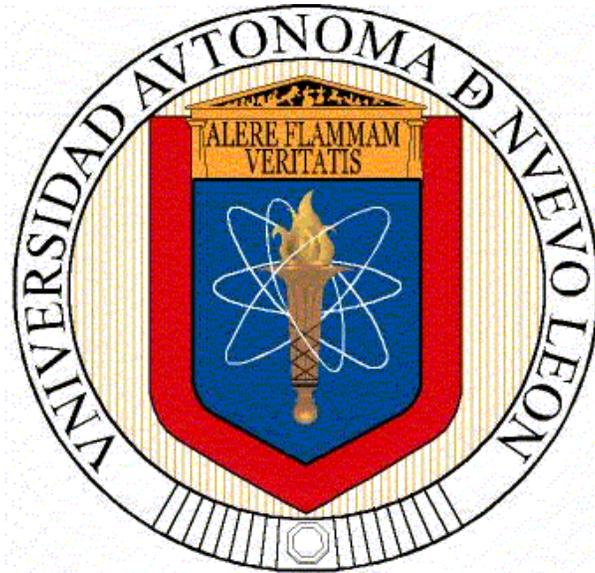


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**



TESIS

***“EFECTO ANTIMICROBIANO Y CITOTÓXICO DE LAS
NANOPARTÍCULAS DE PLATA DEPOSITADAS EN
DISCOS DE ACERO INOXIDABLE. IN-VITRO”***

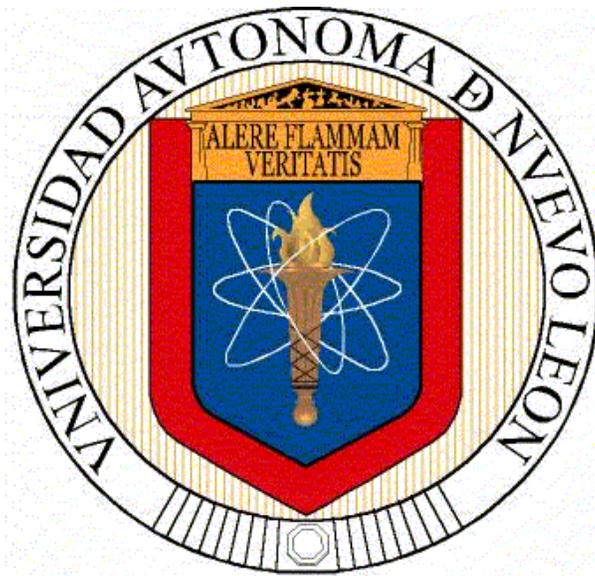
TESISTA:

ANA SOFIA SALAZAR GUTIERREZ

**REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS CON ORIENTACIÓN
EN ORTODONCIA**

2014

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
SUBDIRECCION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
POSGRADO DE ORTODONCIA**



TESIS

***“EFECTO ANTIMICROBIANO Y CITOTÓXICO DE LAS
NANOPARTÍCULAS DE PLATA DEPOSITADAS EN
DISCOS DE ACERO INOXIDABLE. IN-VITRO”***

Tesista:

Ana Sofia Salazar Gutierrez

CIRUJANO DENTISTA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN 2010

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS CON ORIENTACIÓN EN
ORTODONCIA**

DICIEMBRE 2014



ASESORES

DIRECTOR DE TESIS

CD. ESPECIALISTA EN ORTODONCIA PHD. ROBERTO CARRILLO GONZALEZ

CO-DIRECTOR DE TESIS

CD.MC. PHD. ROBERTO CARRILLO FUENTEVILLA

ASESORA METODOLOGICA

CD. POSGRADUADA EN ORTODONCIA PHD. MC. HILDA H.H. TORRE MARTINÉZ

ASESOR EXTERNO

CD. MC. PHD. MYRIAM ANGELICA DE LA GARZA RAMOS

PHD. MARCO ANTONIO GARZA NAVARRO

CD. MC. CASIANO DEL ANGEL MOSQUEDA

ASESOR ESTADISTICO

LFM., MC., Dr. En C. ROBERTO MERCADO HERNÁNDEZ

C.D. Especialista en Ortodoncia PhD Roberto Carrillo Gonzalez.

Coordinador del Posgrado de Ortodoncia.

C.D. M.E.O. PhD. Sergio Eduardo Nakagoshi Cepeda.

Subdirector de Estudios de Posgrado.

Universidad Autonoma de Nuevo Leon
Facultad de Odontologia
Subdireccion de Estudios de Posgrado

Los miembros del jurado aceptamos la investigacion y aprobamos el documento que avala a la misma, que como opcion a obtener el grado de Maestría en Ciencias Odontológicas con Orientación en Ortodoncia presenta la Cirujano Dentista Ana Sofia Salazar Gutierrez.

Honorables miembros del Jurado:

Presidente

Secretario

Vocal

AGRADECIMIENTOS

Gracias a mis padres por haber hecho posible todo esto, gracias por el apoyo incondicional, por las palabras justo en el momento indicado, por esas llamadas solo para inyectar animos y amor en los momentos mas pesados. Los consejos, protección, motivación y confianza solo pudo haber venido de ustedes. Gracias a mis hermanos, Susana, pepe y Daniel Salazar, he aprendido tanto de ustedes, veo sus vidas y me da alegría poder distinguir la mano de Dios en ellas. Gracias por dejarme dormir cuando tenia que hacerlo, gracias Susi por hacerme de comer, escucharme y siempre dar un consejo muy acertado. Pepe gracias por enseñarme a pensar en grande, a salir de mi zona de confort y siempre estar viendo hacia delante y Daniel, gracias por siempre estar al pendiente, por hacerme reir y por abrazarme cuando lo necesite. Los quiero mucho a los tres.

Gracias al Doctor Roberto Carrillo Gonzalez y Doctor Roberto Carrillo Fuentes, por la oportunidad y confianza, gracias por haberme dado la oportunidad de estar en el mejor posgrado de México, por sus enseñanzas y por el lado humano que siempre mostraron, gracias por preocuparse por mi en todo momento. Por exigirme ser mejor cada dia. En realidad es un honor para mi haberlos tenido de maestros.

Doctora Hilda Torre Martinez, no tendre nunca el tiempo ni las palabras suficientes para agradecerte todo lo que haz hecho por mi, gracias por tus consejos y regaños, gracias por cada una de las enseñanzas y el tiempo que invertiste en mi, gracias por tu paciencia y cariño. Doctor Pedro Menchaca, gracias por las largas horas de clase, donde aprendi no solo de ortodoncia, sino también de la vida. Gracias por enseñarme y por transmitirme el amor y la pasión por la ortodoncia y la ortopedia. Por recibirme en el consultorio siempre con una sonrisa y una anécdota y al mismo tiempo siempre dispuesto a enseñar. Ustedes saben lo importantes y queridos que son para mi, solo quería recordárselos.

Dra. Martha García y Dra. Ana Maria Salinas, muchas gracias por los consejos, por las platicas, por decir las palabras exactas en el momento preciso y darme animos. Las quiero mucho a las dos.

A las personas involucradas en este proyecto de investigación, el Doctor Marco Garza, gracias por el interés y el tiempo invertido en este trabajo, Doctora Myriam de la Garza, Dr. Roberto Mercado, Lic. Dagoberto Silva sin su ayuda no hubiera sido posible. A la Doctora Juana Nelly Leal, al Doctor Miguel Angel Quiroga y la Doctora Rosalva Gonzalez por tomarse el tiempo en la revisión de esta proyecto de investigación, a todos ustedes Gracias!

Alicia Laredo, amiga, gracias por todos los momentos que compartimos en el proceso, recolección de nanopartículas, las idas al aeropuerto, al centro de investigación, las perdidas que nos dimos en el trayecto, no se me va a olvidar la noches que pasamos escribiendo hasta tarde. Gracias por tu apoyo y amistad.

A mis queridos maestros y compañeros, gracias porque nadie se va de tu vida sin dejarte una enseñanza o lección de vida y definitivamente ustedes han sido parte importante de mi formación.

Dios este logro es tuyo. Gracias.

“Porque definitivamente yo sé, que soy el resultado de gigantes”

Universidad Autonoma de Nuevo Leon
Facultad de Odontologia
Subdireccion de Estudios de posgrado
Posgrado de Ortodoncia
C.D. Ana Sofia Salazar Gutierrez
Candidato a: Maestría en Ciencias con Orientación en Ortodoncia

“Efecto Antimicrobiano y citotóxico de las nanopartículas de plata depositadas en discos de acero inoxidable. In-vitro”

Introducción: Las manchas blancas en el esmalte ocasionadas por la desmineralización del mismo, provocadas por las bacterias alojadas en la placa dentopacteriana son el principal problema al momento del retiro de la aparatología fija en ortodoncia.

Objetivos: El objetivo general de este estudio fue determinar el efecto antimicrobiano y citotóxico de las nanopartículas de plata aplicadas a los discos de acero inoxidable, usando las cepas *Streptococco mutans* (AU159 ATCC17040) y *Streptococco sobrinus* como modelos para pruebas in-vitro. (ATCC316). Asimismo, determinar el efecto citotóxico *in-vitro* de las nanopartículas de plata en concentraciones de 16%, 50% y 100% y comparar el halo inhibitorio de las 3 concentraciones y con la clorhexidina.

Materiales y Métodos: Para las pruebas antimicrobianas se cubrieron los discos de acero inoxidable, previamente esterilizados, con un material composito basado en carboximetil-celulosa y nanopartículas de plata a las tres diferentes concentraciones y clorhexidina al 0.12%. Se sembraron en las cepas *Streptococco mutans* y *Streptococco sobrinus* posteriormente se midió el halo de inhibición. La prueba de citotoxicidad de las nanopartículas de plata a las concentraciones experimentales y de la clorhexidina al 0.12% se realizó con el equipo de fluorescencia Glomax- Multi detection system, y se evaluo la viabilidad celular, usando como modelo células mesenquimales extraídas de pulpa dental, por triplicado.

Resultados: Para las concentraciones experimentales se encontró halo inhibitorio, aunque no hubo diferencia significativa entre ellos. Sin embargo en prueba de citotoxicidad, la concentración de nanopartículas de plata mas baja usada resulto ser menos tóxica que la clorhexidina.

Conclusión: Las nanopartículas de plata tienen efecto antimicrobiano efectivo y usando una baja concentración, el efecto citotóxico es mucho menor a la clorhexidina utilizada comunmente al 0.12%.

Palabras clave: nanopartículas de plata, acero inoxidable, efecto antimicrobiano, citotoxicidad, clorhexidina, ortodoncia, brackets, manchas blancas del esmalte

Director de Tesis: Especialidad en Ortodoncia, PHD. Roberto Carrillo González.

INDICE

1. Introducción	9
2. Antecedentes	11
3. Planteamiento del Problema	22
4. Justificación	24
5. Objetivos	26
5.2 Objetivo Especifico	27
6. Hipótesis	28
7. Materiales y Métodos	30
7.1 Universo de Estudio	31
7.2 Tamaño de la Muestra	31
8. Criterios de selección	32
8.1 Criterios de Inclusión	32
8.2 Criterios de exclusión	32
8.3 Criterios de Eliminación	33
8.4 Captación de Variables.	33
9. Descripción de Procedimientos	33
9.1 Metodología para la obtención de la concentración de la Solución de CMC con Nanoparticulas de plata.....	34
9.2 Metodología de la deposición de la solución de CMC con nanoparticulas de plata en las discos de acero inoxidable.....	35
9.3 Metodología de la prueba antimicrobiana	37
9.4 Metodología para la prueba de citotoxicidad	39
10.Resultados	41
10.1 Pruebas Antimicrobianas	42
10.2 Pruebas de Citotóxicidad	43
11. Discusión	45
12. Conclusiones	49
13. Anexos	51
Figuras y Gráficas	51
14. Anexos	57
Tablas	57
15. Referencias	61
Bibliográficas	61

1. Introducción

2. INTRODUCCIÓN

El objetivo de la ortodoncia es mejorar la calidad de vida del individuo, buscando equilibrar la forma y las funciones del aparato masticatorio, previniendo, corrigiendo o disimulando los problemas dentofaciales. Todo esto para obtener como resultado simetría y equilibrio, y consecuentemente una mejor estética y función.

Para lograr esto es necesario colocar aparatología especializada; un soporte o accesorio ortodóntico que se asegura al diente con el fin de enganchar al arco que permitirá realizar los movimientos deseados. Estos se conocen con el nombre de bracket.

Factores como la desmineralización del esmalte o manchas blancas alrededor del bracket son asociadas a la acumulación de placa dentobacteriana. Siendo ésta una entidad o masa estructurada específica, que se adhiere al diente, específicamente refiriéndose al *Streptococcus Mutans*, *Streptococcus Sobrinus*. A medida que estos se organizan en colonias, crecen y producen sustancias destructivas en los tejidos subyacentes.

Debido a ello se consideró importante llevar a cabo esta investigación, donde se evaluó la efectividad antibacterial de las nanopartículas de plata tomando en cuenta el efecto antimicrobiano y citotóxico que estas poseen.

La hipótesis planteada en este estudio es que con el uso de las nanopartículas de plata recubriendo discos de acero inoxidable, es posible inhibir el crecimiento de *Streptococco mutans* y *Streptococco sobrinus* además de presentar una citotoxicidad aceptable.

Esta investigación consistió en un estudio *in vitro* experimental, comparativo, abierto, prospectivo y longitudinal; en el que se tuvo como objetivo determinar la efectividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata en la formación de colonias bacterianas alrededor de las discos de acero inoxidable, así como evaluar el grado de citotoxicidad de la misma.

2. Antecedentes

2. Antecedentes

La ortodoncia es una rama especializada de la odontología, que realiza el diagnóstico y tratamiento de las alteraciones dentales y faciales. Su objetivo es mejorar la calidad de vida del individuo buscando equilibrar la forma y las funciones del aparato masticatorio que comprenden huesos, músculos, terminaciones nerviosas, dientes etc., previniendo, corrigiendo o disimulando los problemas dentofaciales. Obteniendo como resultado simetría y equilibrio, y consecuentemente una mejor estética y función.

Para lograr estos resultados es necesario colocar aparatología especializada; un soporte o accesorio ortodóntico que se asegura al diente con el fin de enganchar un arco de alambre que permitirá realizar los movimientos deseados. Estos se conocen con el nombre de “bracket” y se pueden fabricar de diferentes materiales como acero inoxidable, cerámica o plástico. El primero en utilizarlos fue Angle que introdujo el Bracket Edgewise. Fue diseñado para reemplazar al mecanismo de arco de cinta inventado diez años antes (1915)

La tecnología ha avanzado a pasos agigantados y la aparatología que se utilizaba en los comienzos es diferente en muchos aspectos a la utilizada actualmente. Han evolucionado los diseños y aleaciones usadas para su fabricación, buscando aminorar la fricción y acumulación de alimento; y por supuesto inhibir la formación de placa dentobacteriana.

Las ligas o elastómeros usados para sujetar el alambre en el bracket, para que éste ejerza su función, tienen características que fomentan la adhesión de alimento. En un estudio realizado en pacientes activos de ortodoncia de la universidad de India, se tomaron elastómeros de diferentes tipos y casas comerciales a los 21 días de haberlos colocado en boca, y los sembraron en agar sangre al verlo al microscopio. En este estudio se encontraron *Streptococcus mutans* y después *Lactobacillus*, y la recomendación fue utilizar ligadura metálica, elásticos súper slick o brackets autoligables. (Jitendra, 2013)

No obstante, a pesar de los avances y técnicas novedosas en ortodoncia, los pacientes que utilizan aparatología como los brackets sufren la amenaza de desmineralización o de las manchas blancas alrededor de éste; ya que son propensos a la acumulación de placa dentobacteriana. La placa dentobacteriana es una entidad o masa estructurada específica, que se adhiere al diente, altamente variable que se forma por el crecimiento de colonización de microorganismos. A medida que estos se organizan en colonias, crecen y producen sustancias destructivas en los tejidos subyacentes. (Gudiño, F. Silvia. 1983)

La caries es una enfermedad causada principalmente por los ácidos producidos por las diferentes bacterias alojadas en el biofilm. La primer evidencia clínica de la desmineralización del esmalte son las manchas o lesiones blancas que son las precursoras de la caries. Los pacientes deben estar conscientes de la gran responsabilidad que tienen para prevenir este proceso patológico con excelente higiene y aplicaciones de flúor (Passini et al. 2006)

Gorelick y Geiger en su estudio de la incidencia de la formación de manchas blancas después de colocar aparatología fija, encontraron que al final del tratamiento, cuando se descubre el área ocupada por el bracket, había más manchas blancas de descalcificación del esmalte que en el grupo control. Estas se localizan alrededor de los brackets cercanas al área gingival, en primeros molares inferiores y laterales superiores, que son en las piezas que se reportan tienen mas incidencia de manchas blancas del esmalte. Este estudio también demostró que no hay diferencia entre niños y niñas, además de que después de los 6 meses de tratamiento fue cuando se observaron las descalcificaciones; y considerando lo rápido que avanzaron y que se pueden volver irreversibles el diagnóstico y tratamiento es de vital importancia (Lucchese et al 2012)

Cerca de un tercio de los pacientes en tratamiento de ortodoncia desarrolla al menos una lesión del esmalte como resultado de una pobre higiene y retención de placa dentobacteriana alrededor del bracket. (Lovlov et al 2007)

La desmineralización del esmalte es un efecto adverso común en el tratamiento de ortodoncia. El medio oral con aparatología fija provee la condición ideal para la colonización de microorganismos, los más comunes y documentados son el *Streptococcus mutans* que se ha encontrado en cavidad oral después de la colocación de brackets (Ahn SJ, 2007).

Igualmente *Streptococcus sobrinus* el cual coloniza en diferentes grados las superficies dentarias y contribuye en el desarrollo de caries dental. (Kóglér, B.; Pettersson, B.M.; Bratthall, 1981) Son las especies con mayor potencial cariogénico por dos factores fundamentales, la formación de placa bacteriana gruesa y su gran capacidad acidogena; seguida de *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis*, *Actinomyces sp.*, los *lactobacilos* y *enterococos* (Gudiño, F. Silvia. 1983).

En un estudio realizado en la Universidad de Mahidol, Bangkok, probaron la adhesión de *Streptococo mutans* al plástico, cerámica y metal, que son los tres materiales que componen la superficie de los brackets utilizados en el tratamiento de ortodoncia. Los resultados mostraron que no hubo diferencia significativa en la cantidad de bacterias encontradas entre los diferentes materiales, pero el tamaño y la forma jugaron un papel importante en la adherencia y retención de placa dentobacteriana. (Thaweboon, 2014)

Otro estudio realizado en el 2007, donde se analizaron la prevalencia de caries por la adherencia de *Streptococco mutans* a los brackets de los incisivos, tomando como muestra 80 pacientes que al llegar a consulta visiblemente se encontraba placa bacteriana, inflamación y sangrado de encías, se les retiró la aparatología fija en anteriores, y se demostró que la prevalencia de *S. mutans* era mayor en superior, y en inferiores era de igual grado que *S. sobrinus*.

Se ha demostrado que la aparatología fija utilizada en Ortodoncia causa cambios específicos en el medio oral como bajar el nivel de pH y aumentar la acumulación de placa, de igual manera se conoce que los brackets metálicos tienen una tensión superficial mayor y se puede esperar que tendrán mayor capacidad de retención de placa por lo que poseen un riesgo potencial a la desmineralización del esmalte. (J. W. Balensteifen 1970) (Theodore Eliades, 1995)

Al principio se creía que los *lactobacilos* eran los responsables de la formación de caries, ahora se sabe que el ácido producto de la fermentación bacteriana es realmente el causal número uno. (Denepitiya, L. and Schiôt, 1980)

Es necesario saber que la placa dentobacteriana por sí sola no es dañina hasta que no sea colonizada por microorganismos productores de toxinas causantes de caries o enfermedad periodontal. (Emilson, 1981)

Existen varios métodos y soluciones para tratar este tipo de patología, uno de ellos es la remineralización del esmalte con láser fraccional de CO₂ y aplicaciones de fluoruro. Ya que el flúor ayuda a incrementar la dureza del esmalte, esta técnica ha sido la primera elección por mucho tiempo; mientras que el láser es una innovación y alternativa a esta técnica. En un estudio realizado en la universidad Islámica Asad, en Iran, demostraron como se recuperan las piezas de la desmineralización provocada con este tipo de tratamiento, además del efecto estético, ya que recuperaron su color natural y la remineralización del tejido fue significativa. (Poosti, 20014)

Diferentes tipos de productos como colutorios, pastas dentales, tratamientos abrasivos y resinas, han salido al mercado tratando siempre de contrarrestar los efectos antiestéticos y precarios de la desmineralización del esmalte. A este respecto, Ballard y Hagan et al. demostraron objetivamente sin ningún interés financiero por las diferentes compañías, que no hay diferencia significativa entre tres tipos de productos y tampoco en la mejoría de esta afección. (Ballard 2013)

Lo mas importante es preservar la estructura dentaría lo mas posible, es por eso que se introdujo el ozono para remineralizar la superficie del esmalte utilizando nano-hidroxiapatita en un estudio realizado en San Francisco, California. En este estudio se descubrio que efectivamente al utilizar ozono en agua como colutorio, ademas de usar láser que induce a la fluorescencia, se logran cambios considerables revirtiendo el efecto causando por los ácidos producidos por las bacterias encontrados en la placa dentobacteriana. (Samuelraj, 2014)

El Biofilm es una capa densa de comunidades de células microbianas que crecen en superficies inertes y vivas, se rodean de polimeros secretores. Después de diversos estudios extensos se sabe que es extremadamente compleja su estructura celular, de hecho se cree que están coordinadas las bacterias en diferentes capas y grupos cooperativos análogos a organismos multicelulares. (Nodell CD, 2009)

De acuerdo a M. Parsek, la placa dentobacteriana es una biopelícula (biofilm) sobre la superficie de los dientes. Esta acumulación de microorganismos somete a los dientes y tejidos gingivales a altas concentraciones de metabolitos y proliferación de ácidos producidos por bacterias que traduce a enfermedad dental (Parsek, PHD 2003).

Después de la colonización inicial, el biofilm crece a través de una combinación de la división celular y el reclutamiento de bacterias, llamadas *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *sanguis*, *oralis*, *mitis*. La siguiente etapa de la formación se conoce como desarrollo y es la etapa en la que se establece la bio-película y solo puede cambiar de tamaño y forma, lo que tarda de 2 a 4 semanas.

Al respecto, la clorhexidina es ampliamente usada para limpieza oral. La clorhexidrina se une al tejido bucal, mucosa oral y los dientes, para luego liberse con el tiempo y así combatir bacterias y hongos. Esto ayuda a reducir el recuento de bacterias y evita la placa dental. Se ha convertido en el estándar de

oro en la odontología debido a su capacidad de adherirse al tejido blando y duro y mantener una liberación sostenida potente. Además, se sabe que la clorhexidina es un biocida de amplio espectro contra bacterias Gram-positivas, Gram-negativas y hongos. El mecanismo de acción es sencillo ya que inactiva los microorganismos con un espectro más amplio que cualquier otro antimicrobiano, por ejemplo antibióticos. (Slot, 2013).

La clorhexidina puede interferir con la respiración mitocondrial de las células, la inhibición de síntesis de ADN y proliferación celular. Sin embargo los mecanismos específicos aun no se conocen por completo. Independientemente de la concentración utilizada, a mayor tiempo de contacto de las células vivas con la clorhexidina, mas intenso será el efecto citotóxico de este agente químico. (Carrilho, 2007)

El uso de la clorhexidina ha aumentado en los últimos años para evitar la formación de caries. En un estudio realizado en la universidad de Finlandia, se probó la susceptibilidad del *Streptococcus mutans* a amoxicilina, penicilina, tetraciclinas y eritromicina. No obstante se concluyó que éste es susceptible al tratamiento en colutorios de clorhexidina, dando como resultado menor población en boca. (Jarvinen,1993) Esto es un resultado importante, ya que hay suficiente evidencia donde se asocia al *Streptococcus mutans* como una de las bacterias mas cariogénicas en la flora oral. Más aún, se ha reportado que el uso de la clorhexidina en gel 2 veces al día por 2 semanas, por 3 o 4 semanas al año significativamente disminuye el indice de caries (Liebana, 1991)

Por otro lado, la plata es un elemento químico de número atómico 47 situado en el grupo 1b de la tabla periódica de los elementos. Su símbolo es Ag, procede del latín: argentum, blanco o brillante. Es un metal de transición blanco, brillante, blando, dúctil, maleable. Se encuentra en la naturaleza formando parte de distintos minerales. Su masa atómica es de 107.87. El uso medicinal ha sido documentado desde 1000 a. de C. (Mritunjai Singh 2008)

El uso de la plata como agente bacteriano ha ganado su lugar establecido como un importante agente terapéutico en la medicina especialmente en enfermedades infecciosas ya que tiene efecto bactericida y bacteriostático sobre los microorganismos. La plata, después del oro y cobre, es el tercer metal conocido desde la antigüedad con propiedades antibióticas utilizadas en condiciones médicas. Se retomó su uso después del auge de la penicilina (1940) en 1960, cuando Moyer introdujo el uso de nitrato de plata para tratamientos de quemaduras y diversas situaciones. Las propiedades físicas de las partículas de plata dependen de su tamaño, siendo una de éstas el aumento de actividad catalítica, como función de la disminución de su tamaño. (Huiliang Cao, 2010)

En este estado parece ser un antibiótico poderoso natural y preventivo en contra de las infecciones por microorganismos. La plata actúa como un catalizador, incapacitando la encima que metaboliza el oxígeno que necesitan para vivir las bacterias unicelulares, hongos y virus, sofocándolas sin daño correspondiente a enzimas o partes químicas del cuerpo humano. (Mritunjai Singh 2008)

De acuerdo a N. Taniguchi, la nanotecnología, consiste en el proceso de separación, consolidación y deformación de materiales por un átomo o una molécula (N. Taniguchi, 1974). La nanotecnología y la nanociencia tuvo un gran impulso a principios de 1980.

Según la Universidad de Rice, en Texas existen 3 diferentes nanotecnologías:

- 1. Nanotecnología mojada o húmeda**, que es el estudio de los sistemas biológicos que existen en sistemas húmedos, como el material genético, membranas, enzimas u otros componentes celulares
- 2. Nanotecnología seca**, que se deriva de la superficie o de la fisicoquímica como el carbón, silicón u otros materiales inorgánicos.

3. Nanotecnología Computacional, que permite la simulación de estructuras complejas a nanoescala.

De acuerdo a M. Singh, estas tres son altamente co-dependientes. (Mritunjai Singh 2008)

El tamaño nanométrico de las partículas de plata se puede lograr condensando gas inerte y otra técnica de co-condensación. Estas dos están basadas en la evaporación del metal hasta llegar a una atmósfera inerte después enfriando para la nucleación y crecimiento de las nanopartículas. Su tamaño y morfología se analizan con un microscopio de transmisión electrónica. Es importante mencionar que las partículas más pequeñas presentan una mayor superficie en relación a su volumen, y tienen más eficiencia en la actividad antibacterial. (C. Baker 2005)

El mecanismo de acción de las nanopartículas de plata es el siguiente. La nanopartículas de plata actúan mediante su combinación con las proteínas de las bacterias, que están situadas en su pared celular o citoplasma, haciendo que falle en su funcionamiento; lo que resulta en la muerte de la bacteria. En este sentido, las nanopartículas de plata actúan directamente sobre las bacterias, interfiriendo con la función de la célula al momento de replicar su material genético, ácido desoxirribonucleico (ADN). Esto detiene la proliferación de las bacterias y eventualmente las erradica del organismo.

Las nanopartículas de plata no tienen problema con la bicapa de fosfolípidos ni con el intercambio de iones, ya que éstas pueden interactuar directamente con las células bacterianas mediante la interrupción de la transferencia de electrones transmembrana, penetrándola y oxidando los componentes celulares; y produciendo productos secundarios que causan daño mortal. Se forma una sustancia dañina conocida como “especies reactivas del oxígeno” con sus siglas en inglés (ROS) dentro de las células bacterianas que causan daño significativo

en las estructuras celulares. (Huiliang Cao, 2010)

Se ha tenido que llegar al estudio de los nanomateriales por el incremento en la resistencia de las bacterias a antibióticos más potentes. (Mritunjai Singh, 2008) En el área médica se le conoce con el nombre de nanomedicina. Aun que es relativamente reciente esta tendencia, es necesario mencionar que el uso de la nanotecnología en esta rama de la ciencia se ha utilizado décadas atrás, como en el primer sistema liberador de macromoléculas de polímeros controlado en 1976; y el primer nanocable con nanosensor a principios del 2001. Hoy en día está presente en estudios de arteroesclerosis y patologías cardiovasculares. (S. A. Wickline, 2002). También existen estudios que permiten la detección temprana de la enfermedad Alzheimer (S. Singh, 2008).

Hwang-Sog, realizó en el año 2000 una investigación donde se analizó el efecto antibacterial que tenían los brackets de acero inoxidable cubiertos de una placa de 1.03 a 2.34 mm de grosor, con la técnica de vaporización y condensación de plata-platino. Se encontró que este recubrimiento provee de una efectiva actividad antimicrobiana, que está activa durante el tratamiento de ortodoncia.

La Colonización de bacterias en dispositivos implantados, la formación del biofilm es la complicación más común en la colocación de mini implantes y recurrentemente el resultado es en el fracaso del procedimiento. A este respecto, el objetivo del estudio de Liao Juan en su reporte de depósitos de nanopartículas de plata en superficies planas de titanio, fue el de medir el efecto antibacterial; para lo cual preparó las nanopartículas y modificó la superficie del titanio utilizando el método de silanización. Utilizó 2 bacterias, *Estafilococo aureus* y *Escherichia coli* para medir el efecto antimicrobiano en discos de titanio recubiertas con nanopartículas de plata. El rango del diámetro de estas iban de 10 nm a 100 nm. Los estudios de EDS (Energy-dispersive X-ray spectroscopy) mostraron que había un recubrimiento total de 4.26% de los discos. Como resultado obtuvieron que el 94% de *Estafilococo aureus* y más del 95% de *Escherichia coli* se encontraban muertos en los discos de titanio; y

mediante los resultados obtenidos con SEM (El Microscopio electrónico de barrido o Scanning Electron Microscope) demostraron que había menos bacterias adheridas a la superficie de la placa que el grupo no tratado. Estos datos sugieren que las nanopartículas de plata modificadas con titanio, son un material con propiedades antibacterianas y que puede ser usado en biomateriales implantables. (Liao Juan, 2010)

De igual manera Alok Girish Shah y colaboradores realizaron otro estudio para medir las propiedades anti adherentes y antimicrobianas de la superficie de un bracket ortodóntico de acero inoxidable al microorganismo *Lactobacillus acidophilus* recubriendo la superficie con óxido de titanio fotocatalítico.

Los resultados fueron muy evidentes, los brackets recubiertos respondieron con una buena propiedad anti-adherente en comparación a los brackets no recubiertos. Y la masa bacteriana encontrada en los brackets tratados fue menor a la estudiada en los brackets no recubiertos. Esta fue medida por peso en cada bracket, antes y después del estudio. Además se midieron las colonias de manera digital con un conteo milimétrico.

Los brackets recubiertos con óxido de titanio fotocatalítico demostraron un efecto antimicrobiano en contra de *L. Acidophilus*, el cual es uno de los causantes de caries dental y desmineralización del esmalte. Ciertamente es un hallazgo importante ya que es el problema que se trata de erradicar, o por lo menos controlar, en los pacientes activos en el tratamiento de ortodoncia, para poder llevar a cabo un buen desempeño como ortodoncistas.

3. Planteamiento del Problema

3. Planteamiento Del Problema

¿Cuál es el porcentaje del efecto antimicrobiano y de citotoxicidad de las discos de acero inoxidable recubiertas de nanopartículas de plata?

4. Justificación

4. Justificación

Uno de los agravantes que se tiene a largo plazo en el tratamiento de ortodoncia es la acumulación de placa dentobacteriana, la cual da a lugar a la proliferación de bacterias, produciendo ácidos que causan descalcificación del esmalte o “manchas blancas”; que primeramente y en la mayoría de los casos dan lugar a caries dental; y en segundo lugar son altamente antiestéticas, estas son más evidentes alrededor de la base del bracket, jugando un papel muy importante y de gran preocupación. Por lo general al final del tratamiento la apariencia de sus dientes es decadente y como consecuencia esto lleva al paciente a una restauración de la o las piezas afectadas, mayormente de los incisivos centrales superiores e inferiores, ya que cumplen un papel muy importante en la estética y armonía de la sonrisa.

En este estudio se busca implementar el uso de las nanopartículas de plata como agente bactericida para evitar la proliferación de las bacterias *Streptococcus Mutans*, *Streptococcus Sanguis*, formadoras de los ácidos precursores de la caries dental o descalcificaciones. Sin embargo es necesario conocer el porcentaje de la acción antimicrobiana que ejercen, haciendo pruebas *in-vitro*, para así llegar a conocer el grado real antimicrobiano de las nanopartículas de plata en cultivos de infusión cerebro-corazón así mismo su citotoxicidad.

5. Objetivos

5.1 Objetivo General

1. Determinar el efecto antimicrobiano y citotóxico de las nanopartículas de plata aplicadas a los discos de acero inoxidable.

5.2 Objetivo Especifico

1. Evaluar el efecto antimicrobiano *in-vitro* de las nanopartículas de plata con la cepa *Streptococco mutans* (AU159 ATCC17040).
2. Medir el efecto antimicrobiano *in-vitro* de las nanopartículas de plata contra *Streptococco sobrinus*. (ATCC316)
3. Determinar el efecto citotóxico *in-vitro* de las nanopartículas de plata en concentraciones de 16%, 50% y 100%.
4. Comparar el halo inhibitorio de las 3 concentraciones y con la clorhexidina.

6. Hipótesis

6. Hipótesis

Se inhibe el crecimiento de *Streptococco mutans* y *Streptococco sobrinus* con el uso de las nanoparticulas de plata recubriendo los discos de acero inoxidable con bajos niveles de citotoxicidad.

7. Materiales y Métodos

7. Materiales y Métodos

7.1 Universo de Estudio

Discos de acero inoxidable de 9 mm de diámetro X 2 mm de alto, impregnadas de nanopartículas de plata, 3 diferentes concentraciones partiendo de 0.06 mg/ml. Comparando con discos impregnados de clorhexidina al 0.12%

7.2 Tamaño de la Muestra

Por ser este un estudio prospectivo, experimental, longitudinal y comparativo se realizaron dos pruebas, la primera antimicrobiana y la segunda es de citotoxicidad, siendo ambas condiciones de la variable a evaluar de manera cuantitativa (Halo de inhibición antibacterial y absorbancia de la citotoxicidad). Se utilizaron las células mesenquimales de pulpa dental para la prueba de citotoxicidad y una población infinita se estimó el tamaño de la muestra con base en experiencia previa de investigación con cultivos bacterianos por Liao J, Anchun M, Zhu Z., Quan Y. 2010; en su estudio titulado Antibacterial Titanium plate deposited by Silver Nanoparticles exhibits cell compatibility, se realizó la aplicación de la siguiente fórmula general:

$$n = \frac{z^2 \sigma^2}{e^2}$$

Y se obtuvo el tamaño de la muestra de la siguiente manera:

$$n = \frac{(1.96)^2 (230)^2}{(61)^2} \qquad n = 54.61 \approx 55$$

De aquí se obtuvo que el número total de piezas de estudio fue de 22 discos de acero inoxidable que fueron distribuidas conforme a los datos establecidos en el estudio; consistiendo en 18 con disposición de nanopartículas (3 Subgrupos de discos para cada una de las cada una de las diferentes concentraciones: 9.6×10^{-3} , 0.03 y 0.06 mg/ml) y 4 sin nanopartículas de plata (Grupo control).

8. Criterios de selección

8.1 Criterios de Inclusión

- Discos de Acero inoxidable, estériles de 9 mm de diámetro por 2 mm de altura impregnadas de acuerdo a la concentración específica.
- Solución de CMC con nanopartículas de plata a las 3 concentraciones.
- *Streptococco mutans* – AU159
- *Streptococco sobrinus*– ATCC3168
- Medio de cultivo (agar de tripticaseina de soya)
- Células Mesenquimales de pulpa dental.
- Clorhexidina al 0.12%

8.2 Criterios de exclusión

- Pérdida del volumen inicial de Nanopartículas de Plata
- Alguna falla en la superficie de los discos de acero inoxidable
- Que la nomenclatura de la cepa bacteriana no sea la correcta
- Medio de cultivo contaminado.

8.3 Criterios de Eliminación

- Exposición al sol de la solución de nanopartículas.
- Daño, ruptura de la placa de acero inoxidable
- Cepas bacterianas caducadas.
- Fracaso de inoculación de bacterias
- Contaminación bacteriana

8.4 Captación de Variables.

- Halos de inhibición bacteriana
- Halos de inhibición de los controles
- Intensidad de fluorescencia
- Micrografías SEM

9. Descripción de Procedimientos

Se adquirió la solución de carboximetil-celulosa con nanopartículas de plata a concentración de sólidos totales de 6.06 mg/mL o $[Ag] = 0.06$ mg/mL del Centro de Investigación, de la Facultad de Ingeniería y Mecánica de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

De igual manera, a través del posgrado de Ortodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León, se obtuvieron las 22 discos de acero inoxidable de 9 mm de diámetro por 2 mm de altura.

Las Bacterias utilizadas en esta investigación, *Streptococco mutans* y *Streptococco sobrinus*. Fueron obtenidas por medio de la Unidad de Odontología

Integral y Especialidades del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma de Nuevo (UOIE-CIDICS)

Se utilizó la línea celular de células madre de la pulpa dental de diente primario, proporcionado por la Unidad de Odontología Integral y Especialidades del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UOIE-CIDICS)

9.1 Metodología para la obtención de la concentración de la Solución de CMC con Nanopartículas de plata.

1. Se preparó disolución stock de CMC con DS = 1.2 al **15 mg/mL**.
2. Se agregó **20 mL** de disolución de CMC a un matraz de tres bocas y se agitó vigorosamente a temperatura ambiente.
3. Se preparó disolución de AgNO_3 al **0.482 mg/mL**, se la siguiente manera:
 - Se disolvió **96.4 mg** AgNO_3 en agua des ionizada y aforar a 10 ml para obtener disolución de la sal a **$[\text{AgNO}_3] = 9.64 \text{ mg/mL}$** .
 - Se tomó **1 ml** de esta disolución y se aforó a 10 mL para obtener disolución de la sal a **$[\text{AgNO}_3] = 0.964 \text{ mg/mL}$** .
 - Después se tomó **5 ml** de esta disolución y aforó a 10 mL para obtener disolución de la sal a **$[\text{AgNO}_3] = 0.482 \text{ mg/mL}$** .
4. Se agregaron 10 mL de disolución de sal al **$[\text{AgNO}_3] = 0.482 \text{ mg/mL}$** , preparada en el paso anterior, al reactor con CMC y se incrementó su temperatura a 90 °C. La reacción de debió mantener en reflujo durante 24 horas.
5. Se dejó enfriar la muestra resultante bajo condiciones ambiente y posteriormente aforarla a **50 mL** con agua des ionizada para obtener una concentración **$[\text{Ag}] = 0.06 \text{ mg/mL}$** . (figura 1)
6. Se caracterizó la muestra resultante por UV-Vis, IR y TEM.
7. Finalmente se purificó durante 24 horas utilizando una membrana de celulosa en agua desionizada.

Siguiendo esta metodología se consiguieron **3 mg** de Ag con **300 mg** de CMC, siguiendo el cálculo siguiente:

Suponiendo total reducción de Ag:



9.2 Metodología de la deposición de la solución de CMC con nanopartículas de plata en las discos de acero inoxidable.

De los 22 discos de acero inoxidable previamente estériles, se dividieron en dos grupos, el grupo control, que constó de 4 discos de acero inoxidable sin nanopartículas de plata, y un segundo grupo experimental que fue de 18 discos de acero inoxidable impregnadas con nanopartículas de plata de la siguiente manera:

Los 18 discos de acero inoxidable se dividieron en 3 subgrupos, y cada uno de estos subgrupos contenía 6 discos. Se depositaron 200 μL de la solución de Carboximetil celulosa con las 3 diferentes concentraciones de nanopartículas de plata. Se introdujo al horno de calor seco a 50 – 60°C por 24 horas a que estuvieran completamente secos y posteriormente se utilizaron para realizar la prueba antimicrobiana con las dos cepas bacterianas. Los subgrupos anteriormente mencionados son los siguientes:

Subgrupo 1

Constó de 6 discos de acero inoxidable en las que se depositó 200 μL de solución CMC con nanopartículas de plata a concentración de sólidos totales de 6.06 mg/mL o $[\text{Ag}] = 0.06 \text{ mg/ml}$ (concentración al 100% en peso de material)

Subgrupo 2

Constituido 6 discos de acero inoxidable en las que se depositó 200 μL de solución CMC con Nanopartículas de plata a concentración de sólidos totales de 3.03 mg/mL o $[\text{Ag}] = 0.03 \text{ mg/mL}$ (concentración al 50% en peso de material.)

Subgrupo 3

Compuesto por 6 discos de acero inoxidable en las que se depositó 200 μL de solución CMC con Nanopartículas de plata a concentración de sólidos totales de 0.96 mg/mL o $[\text{Ag}] = 9.6 \times 10^{-3} \text{ mg/mL}$ (Concentración al 16% en peso de material)

Grupo Control Positivo

2 discos de acero inoxidable, estériles, a las que se les depositó 200 μL de clorhexidina al 0.12% (Concepsis al 2%)

Grupo Control Negativo

Constó de 2 discos de acero inoxidable esteriles sin depositación de algún material.

9.3 Metodología de la prueba antimicrobiana

En el centro de investigación (CIDICS), se separaron las 22 cajas de Petri con Tripticaceína de Soya en 2 dos grupos, que corresponden a las dos cepas bacterianas, *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*. Después de las 24 horas de la deposición de las nanopartículas de plata, según las tres diferentes concentraciones y el disco de clorhexidina.

Grupo Experimental: 18 cajas de Petri

Grupo A

En 9 cajas con tripticaseína de Soya se inocularon por medio de difusión, 1 ml de *S. mutans* – AU159 logrando una capa homogénea. Seguido de esto se colocó individualmente la placa de acero inoxidable recubierta con la concentración descrita anteriormente de los subgrupos 1, 2 y 3. Posteriormente se incubaron a 37°C durante 24 horas y finalmente se realizó la medición del halo de inhibición. Este procedimiento se repitió 3 veces. (figura 3)

Grupo B

En 9 cajas con tripticaseína de soya se inocularon por medio de difusión, 1 ml de *S. sobrinus* – ATCC3168, logrando una capa homogénea. Seguido de esto se colocó individualmente la placa de acero inoxidable recubierta con la concentración descrita anteriormente de los subgrupos 1, 2 y 3. Posteriormente se incubaron a 37°C durante 24 horas y finalmente se realizó la medición del halo de inhibición. Este procedimiento se repitió 3 veces.

Grupo Control: 4 cajas de Petri.

Control Negativo

En 1 caja de tripticaseína de soya se inoculó por medio de difusión, 1 ml de *S. sobrinus* – ATCC316. Seguido de esto se colocó un disco de acero inoxidable sin nanopartículas de plata. Posteriormente se incubó a 37°C durante 16 horas y finalmente se realizó la medición del halo de inhibición.

Control Negativo

En 1 caja de tripticasina de soya se inoculó por medio de difusión, 1 ml de *S. mutans* – ATCC7987. Posteriormente se colocó un disco de acero inoxidable sin nanopartículas de plata. Posteriormente se incubó a 37°C durante 24 horas y finalmente se realizó la medición del halo de inhibición.

Control Positivo

En 1 caja de infusión cerebro-corazón se inoculó por medio de difusión, 1 ml de *S. mutans* – AU159. Seguido de esto se colocó en cada una, 1 placa de acero inoxidable esteril impregnada con 200 microlitros de digluconato de clorhexidina peroxidin 0.012%. Posteriormente se incubó a 37°C durante 24 horas y finalmente se realizó la medición del halo de inhibición.

Control Positivo

En 1 caja de infusión cerebro-corazón se inoculó por medio de difusión, 1 ml de *S. sobrinus* – ATCC316. Seguido de esto se colocó en cada una, 1 placa de acero inoxidable con 200 microlitros de digluconato de clorhexidina peroxidin 0.012%. Posteriormente se incubó a 37°C durante 24 horas y finalmente se realizó la medición del halo de inhibición.

Los resultados obtenidos tanto en el grupo control como en el experimental, se recaudaron individualmente y se llenó la tabla de resultados.

9.4 Metodología para la prueba de citotoxicidad

Para evaluar los efectos citotóxicos de las nanopartículas de plata a las distintas concentraciones experimentales, se empleó, como medio celular, células mesenquimales de pulpa dental. Durante 24 horas se cultivaron en una incubadora hasta obtener una confluencia celular de 15 mil células, las cuales se evaluaron por medio de la cámara de Neubauer.

Se usó una placa de 96 pocillos de los cuales se usaron 15 pozos y por cada pozo se colocaron 200 μ L de medio celular. Se incubaron 24 horas para posteriormente colocar las sustancias a evaluar de la siguiente manera:

Grupo experimental 15 pocillos

Grupo 1:

Se colocaron 160 μ L del medio de las células mesenquimales en 3 pocillos y 40 μ L de la dispersión de nanopartículas de plata a una concentración de 6.06 mg/mL, que equivale a la concentración del 100% usada en las pruebas antimicrobianas.

Grupo 2:

Se tomaron 180 μ L del medio de las células en 3 pocillos de los discos y se añadió 20 μ L de la dispersión de nanopartículas de plata a una concentración de 3.03 mg/mL, que equivale a la concentración del 50% usada en las pruebas antimicrobianas.

Grupo 3:

Se incorporaron 180 μ L del medio de las células en 3 pocillos junto con 20 μ L de la dispersión de nanopartículas de plata a una concentración de 96×10^{-3} mg/mL que equivale a la concentración al 16% usada en las pruebas antimicrobianas.

Control Negativo:

Se añade 180 μ L del medio de las células en 3 pocillos y 20 μ L de agua desionizada

Control Positivo:

Se colocaron 180 μ L del medio de las células en 3 pocillos junto con 20 μ L de digluconato de clorhexidina al 0.12% (Concepsis 2%)

El experimento se realizó colocando primero el medio de cultivo de fibroblastos, seguida de la molecula experimental. Cada una de las sustancias a evaluar, es decir el conjunto de las células junto con las moleculas de los experimentos, se mantuvo durante 24 horas en la incubadora para posteriormente lavar con sulucion de PBS 3 veces y poder colocar el compuesto fluorescente. Se colocó 100 μ L del compuesto fluorescente y se deja durante 30 minutos en la incubadora, y despues se realizó el metodo de fluoescencia con el aparato Glomax – Multi Detection System; para finalizar con la lectura de la intensidad de fluoescencia y absorbancia.

Se calcularon los valores promedios y desviación estándar de la lectura de fluoescencia emitida por las células de las celdillas correspondientes a cada conecentración de nanopartículas de plata y controles positivos y negativos.

10. Resultados

10. Resultados

Cuando se realizó la deposición de las nanopartículas de plata en los discos de acero inoxidable, lo primero que se observó fue que a las 24 horas, el disco contaba con una película en la superficie, color bronce oscuro. Y este disminuía conforme disminuía la concentración. (Figura 4) Era de esperarse ya que la Carboximetil Celulosa combinada con las nanopartículas de plata tiene un color amarillento y mientras mas concentrado este mas viscosa es su presentación.

10.1 Pruebas Antimicrobianas

En general, se observó que el recubrimiento de los discos de acero inoxidable con nanopartículas de plata tienen propiedades antimicrobianas, ya que al momento de colocarlas en el agar de tripticaseína de soya con las dos diferentes bacterias, *S. mutans* y *S. sobrinus*, resultan halos de inhibición alrededor del disco en las tres diferentes concentraciones 16%, 50% y 100%; y no se observó diferencia significativa ($P < 0.05$) entre ellos (figura 4, gráfica 1). Cabe mencionar que si se compara con el control negativo, el cual no tenía en su superficie nanopartículas de plata, si se encontró diferencia con respecto a los grupos experimentales.

Al comparar el efecto antimicrobiano de la Clorhexidina con las nanopartículas de plata impregnadas en los discos de acero, se pudo observar que la clorhexidina tubo un efecto mayor que las nanopartículas de plata ($P \leq .05$). Como resultados específicos de las pruebas antimicrobianas a las dos diferentes cepas bacterianas tanto *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus* fueron similares. Para *Streptococcus sobrinus*, no hay diferencia estadísticamente significativa en las distintas concentraciones de nanopartículas de plata; lo mismo se observó con *Streptococcus mutans* en las mismas condiciones de concentración ($p \leq .05$). (Ver Tabla 1)

Prueba antimicrobiana con *Streptococcus mutans*:

Después de 24 horas de incubación de la bacteria, con el disco de acero inoxidable recubierto con nanopartículas de plata al 16% se observó un halo de inhibición promedio de 1.4 mm de diámetro, el cual fue incrementando ligeramente con la concentración de nanopartículas de plata, teniendo un halo inhibitorio de 1.5 mm y 1.56 mm, con el 50% y con el 100% de concentración, respectivamente. Estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. (Ver tabla 2 y gráfica 2)

Prueba antimicrobiana con *Streptococcus sobrinus*:

Los resultados de las pruebas antimicrobianas para *Streptococcus sobrinus* mostraron que a una concentración del 16% de nanopartículas de plata se obtuvo un halo de inhibición promedio de 1.2 mm de diámetro, mientras que al 50% el promedio de halo inhibitorio fue de 1.26 mm de diámetro y a una concentración del 100%, el promedio de halo de inhibición fue 1.46 mm de diámetro. Estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. (Ver tabla 3)

10.2 Pruebas de Citotóxicidad

Se puede observar que hubo una reducción porcentual altamente significativa ($P \leq 0.01$) (Ver tabla 4) en la viabilidad celular al aplicar la solución de nanopartículas de plata, la cual se acentuó al momento de aumentar la concentración de nanopartículas de plata. Esto como consecuencia disminuye la probabilidad de supervivencia de las células mesenquimales de pulpa dental que se utilizaron en este experimento. Observando una alta diferencia significativa entre las medidas de citotoxicidad de los diferentes grupos experimentales.

De igual manera se puede observar que la cantidad de células vivas disminuye con el digluconato de clorhexidina al 0.12%. observando que solo el 62% de estas células presentaron viabilidad celular ($P \leq 0.01$)

Esto dando como resultado que la clorhexidina al 0.12% es mucho más tóxica que las nanopartículas de plata al 16%. Lo cual es de suma importancia para este experimento. (ver gráfica 3)

Se aprecia una reducción significativa en el número de células madre mesenquimales de pulpa dental vivas utilizando la concentración del 100%, ya que solo el 4% de las células madre se encontraban viables, dando como resultado un alto nivel citotóxico.

Ocurrió algo muy similar con los resultados de la concentración al 50% de las nanopartículas de plata, siendo evidente su toxicidad sobre las células vivas, teniendo un 3.99% de las células viables.

Sin embargo en los resultados se aprecia que no hubo una reducción porcentual significativa en la viabilidad celular al aplicar la solución de nanopartículas de plata al 16%, encontrándose un 95% de células vivas, lo que prueba su bajo grado de citotoxicidad. (Ver grafica 4)

Comparando esta última cifra con el digluconato de clorhexidina al 0.12% se puede observar claramente que las nanopartículas tienen un nivel citotóxico menor, en cantidad y valor p significativo.

11. Discusión

11. Discusión

Hoy en día los diferentes tipos de maloclusiones requieren de tratamiento de ortodoncia, los brackets son los aditamentos de primera elección para poder llegar a obtener resultados optimos y regresar la salud dental al paciente. Aún que los beneficios pueden llegar a ser muy positivos, uno de los problemas más comunes son la acumulación de placa dentobacteriana y por consiguiente manchas blancas en el esmalte al momento de retirar la aparatología fija. Esto resulta en una buena oclusión pero con pobre resultado estético.

Según Thaweboon en su publicación del 2014, no importa el material con el que esta fabricado el bracket, sino la forma y el tamaño, lo que lo hace mas propenso a la acumulación de placa y formación de biofilm, por lo que se decidió en éste estudio utilizar brackets de acero inoxidable, ya que son los mas comunes.

La clorhexidina es un producto aprobado por la FDA para su uso dental, tiene la propiedad de liberar de manera aleloquímica, este fenómeno se define como la cualidad de algunos compuestos químicos que tienen la característica de provocar determinado efecto sobre otras células, lo cual no se aprecia en el efecto antimicrobiano con las nanopartículas. (Lankau, 2011)

En éste estudio se decidió utilizar nanoparticulas de plata para el recubrimiento de los discos de acero inoxidable simulando la superficie de los brackets utilizados en ortodoncia; para así medir el efecto antimicrobiano y al mismo tiempo el efecto citotóxico de las mismas concentraciones. De manera análoga al estudio realizado por Alok Girish en el cual se utilizó óxido de titanio fotocatalítico, los resultados fueron similares ya que hubo buena respuesta anti-adherente a las bacterias en ambos estudios.

García Contreras también reconoce la susceptibilidad de la actividad antimicrobiana de las Nanopartículas de plata contra las bacterias Gram Negativas, observándose unas pequeñas perforaciones en la pared bacteriana, haciendo que la morfología de la membrana cambie, incrementando su capacidad permeable y así facilitando la muerte celular, lo cual es lo que se busca, poder erradicar este tipo de bacterias para así poder evitar la formación de Biofilm el cual precede a las manchas blancas en el esmalte. (García Contreras. R. 2011).

Liu Hl en su publicación del 2010, mencionó que a menor tamaño de las nanopartículas de plata es mayor la actividad antimicrobiana que poseen, esto fue probado con *E. coli* y *St. aureus*, donde observaron que esta misma actividad antimicrobiana se reducía con el aumento de tamaño de las nanopartículas de plata. (Liu HL 2010)

En este estudio se cubrieron los discos de acero inoxidable con nanopartículas de plata en tamaño de 19 nm con una desviación de 7.9 nm, presentando un mayor tamaño al reportado por Morones, además de las distintas concentraciones, 100%, 50% y 16% partiendo de una concentración de 6.06 mg/ml ($Ag=0.06\text{mg/ml}$). referente a la película de recubrimiento, la solución de carboximetil celulosa (CMC) con las nanopartículas de plata, se observó que a mayor concentración mayor color oscuro dorado, homogéneo y con buena adhesión al disco.

Las 3 concentraciones mostraron actividad antimicrobianas para las 2 bacterias, *Streptococcus mutans* y *sobrinus*. Sin embargo, la clorhexidina tuvo un halo inhibitorio aun mayor, esto debido al tamaño de nanopartículas utilizadas en este estudio.

También se encontró mayor grado de toxicidad a la clorhexidina al 0.12% en comparación con las nanopartículas de plata al 16%.

El uso de las nanopartículas de plata puede ser de utilidad en los materiales de la ortodoncia futura, ya que no muestran efecto citotóxico en los tejidos y además de que el mínimo porcentaje de concentración ofrece reducir la adherencia de microorganismos, sin que este efecto sea liberado al resto del organismo, ya que los halos de inhibición bacteriana demuestran que aunque se incrementa la concentración de plata, este no aumenta su tamaño o efecto, mismo que no es necesario para que se evite la colonización sobre la superficie de los materiales.

12. Conclusiones

12. Conclusiones:

Después de realizar las observaciones se concluye:

1. Se confirma la hipótesis al comprobar que se inhibe el crecimiento de *Streptococcus mutans* y *sobrinus* con el uso de nanopartículas de plata sobre los discos de acero inoxidable además de obtener grados de citotoxicidad bajos.
2. Según los resultados obtenidos en la prueba antimicrobiana con la cepa *Streptococcus sobrinus*, se encontraron halos inhibitorios en las concentraciones 16%, 50% y 100%, aunque no hubo diferencia significativa entre ellas.
3. En ambos experimentos donde se puso a prueba la clorhexidina al 0.12% para medir su efecto antimicrobiano en las cepas de *Streptococcus mutans* y *sobrinus* el resultado fue mucho mayor que el que se obtuvo con las nanopartículas de plata en las tres diferentes concentraciones
4. Se determinó el efecto citotóxico in-vitro de las nanopartículas de plata a las tres diferentes concentraciones 16%, 50% y 100%,. Al 50% y al 100% se obtuvo una muerte celular altamente significativa en comparación al 16% dando como resultado un grado citotóxico alto, de igual manera a este mismo porcentaje se obtuvo una viabilidad celular del 95%, siendo aun menos tóxica que la clorhexidina al 0.12%

13. Anexos

Figuras y Gráficas

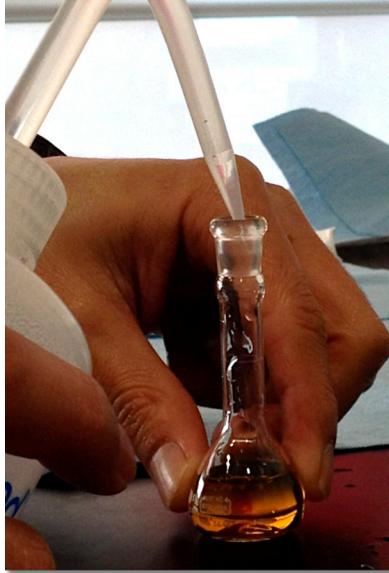


Figura 1. Se observa donde se esta aforando la solución de carboximetil celulosa con las nanopartículas de plata en ella, para poder llegar a la concentración de 16% y 50%.

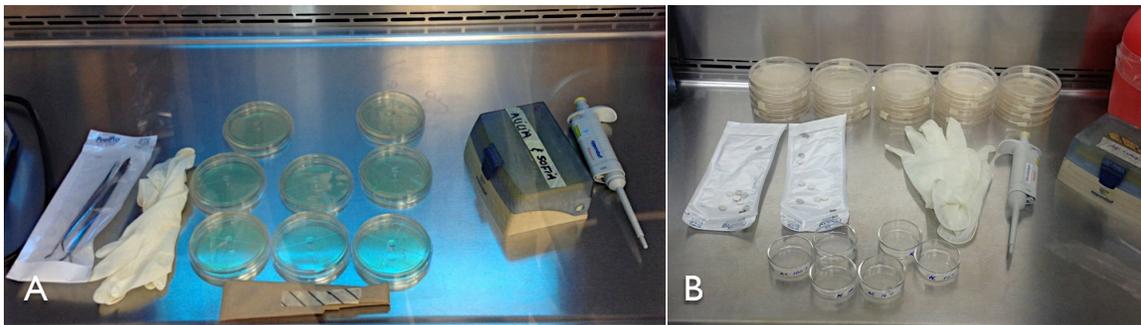


Figura 2. (A) Material estéril listo para la colocación de las cepas bacterianas, *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus* respectivamente en el agar de tripticaceina de soya. (B) material dentro de la campana de esterilizado con rayo UV por 15 minutos, para colocar los discos de acero inoxidable recubiertos con la capa de CMC con nanopartículas de plata a las 3 diferentes concentraciones,

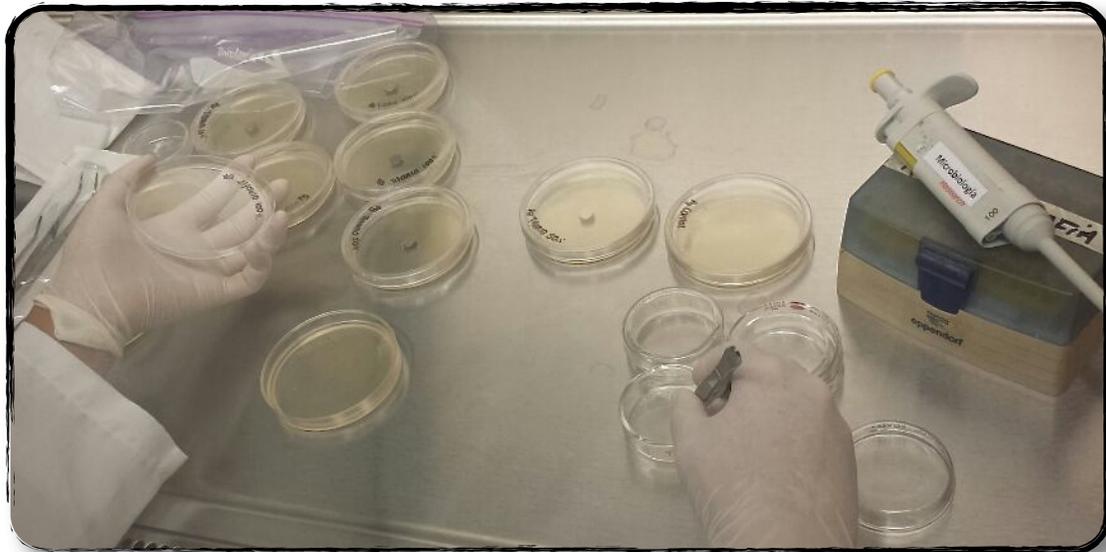


Figura 3. Discos de acero inoxidable con depósito de nanoparticulas de plata a 16%, 50% y 100%, en agares de tripticaceína de soya sembrados con *Streptococcus mutans*.



Figura 4. A. Halos de inhibición de *Streptococcus mutans* en las tres diferentes concentraciones de nanoparticulas de plata al 16%, 50% y 100%. B. Halo de inhibición de *Streptococcus sobrinus* con concentración de nanoparticulas de plata al 50%



Figura 5. (A) Nanopartículas de plata a las 24 horas después de su deposición a la concentración del 100%. (B) Fotografía de los discos de acero inoxidable con deposición de nanopartículas de plata al 50%. (C) Discos con nanopartículas de plata al 16%

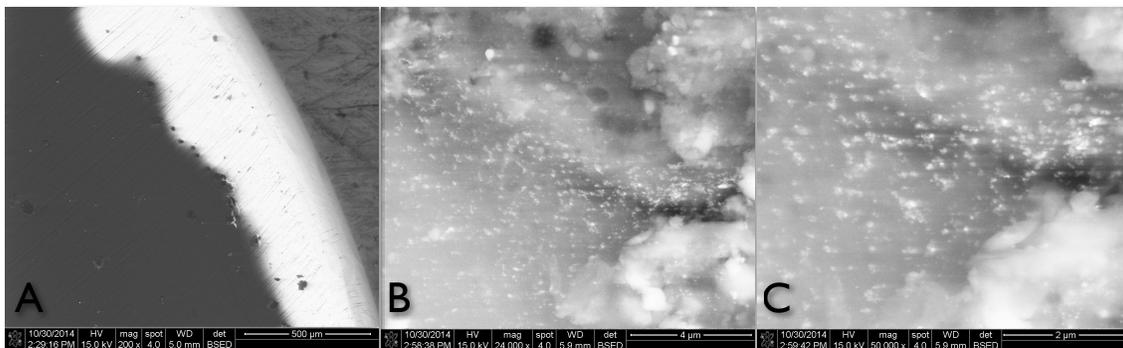
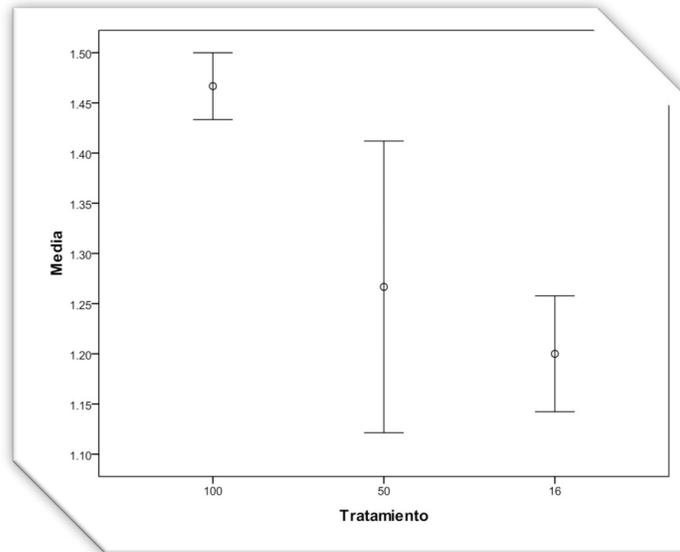
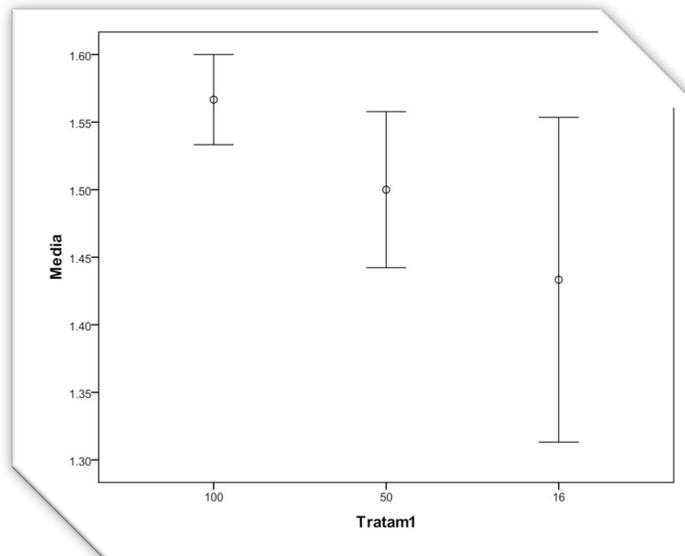


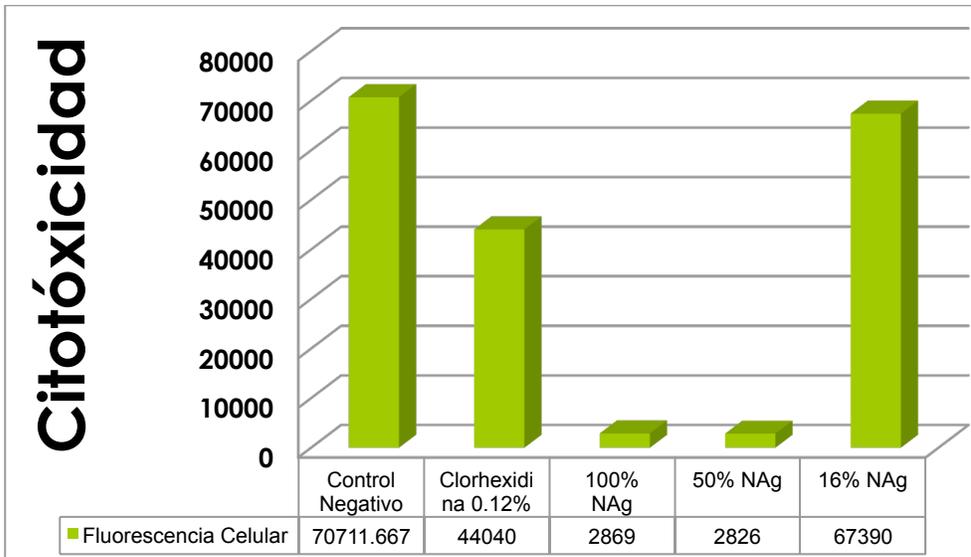
Figura 6. (A) Fotografías en microscopía de barrido, con un buen Back Scattered electrons, que es una señal que ayuda a contrastar la CMC y las nanopartículas de plata y así tener una mejor imagen. (B) Se observan las nanopartículas de plata junto con los aglomerados de CMC en la esquina inferior derecha. (C) Fotografía con mayor aumento para observar con mejor precisión las Nanopartículas de plata.



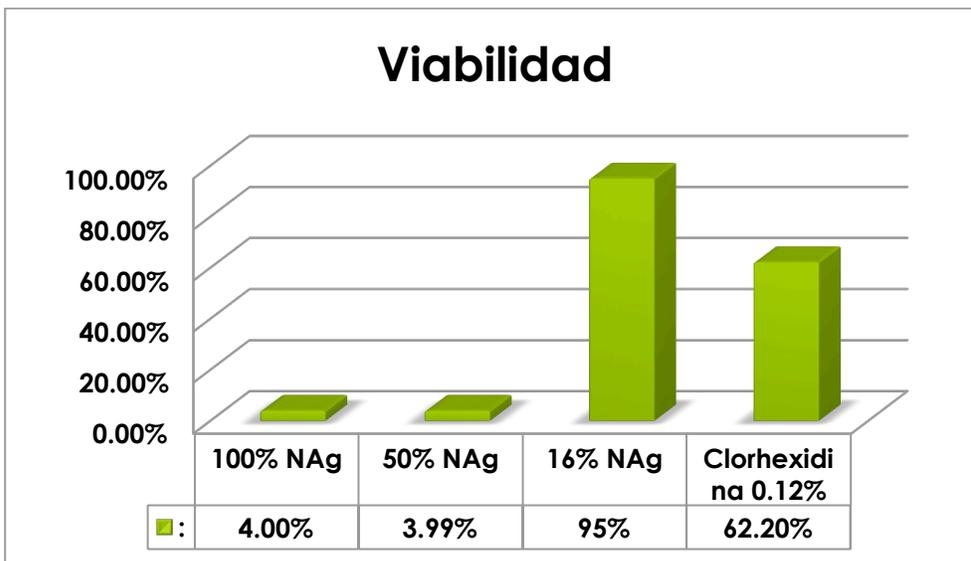
Gráfica 1. Prueba de Tukey en la prueba antimicrobiana de *Streptococcus sobrinus*, con las tres diferentes concentraciones 16%, 50% y 100% donde no hay diferencia en las medias.



Gráfica 2. Prueba de Tukey en la fase antimicrobiana de *Streptococcus mutans* con las tres diferentes concentraciones de Nanopartículas de plata donde no se encuentran diferencia significativa entre las medias.



Grafica 3. Prueba de citotóxicidad que determinó el número de intensidad de fluorescencia, que representa el número de células vivas con la deposición de nanopartículas de plata a las tres diferentes concentraciones y clorhexidina en células madre mesénquimales.



Grafica 4. Porcentajes de intensidad de fluorescencia que representa la viabilidad celular de las nanopartículas de plata y clorhexidina en las células madre tratadas.

14. Anexos

Tablas

	X Clorhexidina al 0.12%	X Nanopartículas Ag	Δ	%
S.m.	2.1 mm	1.36 mm	0.74	35.23%
S.s.	2.3 mm	1.135 mm	1.16	50.40%

Tabla 1. Descripción del comportamiento en los halos de inhibición de la clorhexidina y las nanopartículas de plata.

<i>Streptococcus mutans</i>			
Concentración de Nanopartículas de Ag	Halo de Inhibición		
16%	1.6	3	Numero de variables
16%	1.3	1.4333	Promedio
16%	1.5	0.20817	Desviación estandar
50%	1.5	3	Numero de variables
50%	1.6	1.5	Promedio
50%	1.4	0.1	Desviación estandar
100%	1.6	3	Numero de variables
100%	1.6	1.5667	Promedio
100%	1.5	0.5774	Desviación estandar
Control + CHX 12%			
	2.1		
Control - Sin Nag			
	1		

Tabla 2. Resultados de la prueba antimicrobiana para *Streptococcus mutans*

<i>Streptococcus sobrinus</i>			
Concentración de Nanopartículas de Ag	Halo de Inhibición		
16%	1.1	3	Numero de variables
16%	1.3	1.2	Promedio
16%	1.2	0.1	Desviación estandar
50%	1.5	3	Numero de variables
50%	1.3	1.2667	Promedio
50%	1	0.25166	Desviación estandar
100%	1.4	3	Numero de variables
100%	1.5	1.4667	Promedio
100%	1.5	0.05774	Desviación estandar
Control + CHX 12%			
	2.3		
Control - Sin Nag			
	1		

Tabla 3. Resultados de la prueba antimicrobiana para *Streptococcus sobrinus*

Estadísticas descriptivas de SS y SM en cada tratamiento (concentraciones)

Informe

Tratam1		SS	SM
100	N	3	3
	Media	1.4667	1.5667
	Desv. típ.	.05774	.05774
	Mínimo	1.40	1.50
50	N	3	3
	Media	1.2667	1.5000
	Desv. típ.	.25166	.10000
	Mínimo	1.00	1.40
16	N	3	3
	Media	1.2000	1.4333
	Desv. típ.	.10000	.20817
	Mínimo	1.10	1.20
Total	N	9	9
	Media	1.3111	1.5000
	Desv. típ.	.18333	.13229
	Mínimo	1.00	1.20

ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
SS	Inter-grupos	.116	2	.058	2.261	.185
	Intra-grupos	.153	6	.026		
	Total	.269	8			
SM	Inter-grupos	.027	2	.013	.706	.531
	Intra-grupos	.113	6	.019		
	Total	.140	8			

Prueba de ANOVA y Kruskal-Wallis para la comparación, $p > 0.05$

Estadísticos de contraste^{a,b}

	SS	SM
Chi-cuadrado	3.780	1.233
gl	2	2
Sig. asintót.	.151	.540

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación:
Tratam1

Informe

Citotix

Tratam2	N	Media	Desv. típ.	Mínimo
Control Negativo	3	70711.667	756.6758	70005.0
Control Positivo	3	44040.000	528.4884	43720.0
100	3	2869.000	98.3209	2803.0
50	3	2826.000	199.8725	2614.0
16	3	67390.000	900.1667	66410.0
Total	15	37567.333	30851.8677	2614.0

ANOVA

Citotix

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1.332E10	4	3.331E9	9728.432	.000
Intra-grupos	3423548.667	10	342354.867		
Total	1.333E10	14			

Prueba ANOVA para la comparación, $P < 0.01$

Citotix

HSD de Tukey^a

Tratam2	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
50	3	2826.000			
100	3	2869.000			
Control Positivo	3		44040.000		
16	3			67390.000	
Control Negativo	3				70711.667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

Prueba de Kruskal-Wallis para la comparación, $P > 0.05$

Citotoxicidad

	Control (-)	NAg 16%
# Células	70,711.67	67,390.00
Δ	3,321.66	
P	0.01	
Viabilidad	95%	

15. Referencias Bibliográficas

15. Referencias Bibliografias

1. Ahn SJ, Lee SJ, Kook JK, Lim BS. 2009. Experimental antimicrobial orthodontic adhesives using nanofillers and silver nanoparticles. *Dent Mater* 25:206–213.
2. Ahn SJ, Lim BS, Lee SJ. Prevalence of cariogenic streptococci on incisor brackets detected by polymerase chain reaction. Department of Orthodontics, School of Dentistry and Dental Research Institute, Seoul National University, Seoul, Korea. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2007 Jun;131
3. Alessandra Lucchese, Enrico Gherlone 2013. “Prevalence of white-spot lesions before and during orthodontic treatment with fixed appliances” *European Journal of Orthodontics* 35 (2013) 664–668
4. Allaker RP. 2010. The use of nanoparticles to control oral biofilm formation. *J Dent Res* 89:1175–1186.
5. Alok Girish Shah; Pradeep Chandra Shetty; C. S. Ramachandra; N. Sham Bhat; S. M. Laxmikanth. In vitro assessment of photocatalytic titanium oxide surface modified stainless steel orthodontic brackets for antiadherent and antibacterial properties against *Lactobacillus acidophilus*, *Angle Orthod*. 2011
6. Andrews JM. 2001. Determination of minimum inhibitory concentrations. *J Antimicrob Chemother* 48:5–16.

7. Balakrishnan M, Simmonds RS, Tagg JR. 2000. Dental caries is a preventable infectious disease. *Aust Dent J* 45:235–245.
8. Besinis A, De Peralta T, Handy RD. Inhibition of biofilm formation and antibacterial properties of a silver nano-coating on human dentine. *Nanotoxicology*. 2014 Nov School of Biomedical and Biological Sciences,
9. Bhagchandani Jitendra, Singh Ashish Kumar, Mehrotra Praveen, Shashi Kumar H C, Varshney Shruti Raj, Varshney Krati Raj, “Microbial colonization around orthodontic ligature ties: An *in-vivo* study” Asian Pacific Orthodontic Society 2013, Page 72-77
10. Carrilho MR, Geraldeli S, Tay F, Goes MF, Carvalho RM, Tjäderhane L, et al. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res*. 2007;86(6):529-33.
11. C. Baker, A. Pradhan, L. Pakstis, D. J. Pochan, S. I. Shah, J. Synthesis and antibacterial properties of silver nanoparticles *Journal of nanoscience and nanotechnology*. 5 244 (2005).
12. Denepitiya, L. and Schiöt, C.R. *Streptococcus mutans* like bacteria from human dental plaque in a Sri Lanka (Ceylon) population. *Scand. Dental Res*. 1980; 88:40-45.

13. Filipe V, Hawe A, Jiskoot W. 2010. Critical evaluation of Nanoparticle Tracking Analysis (NTA) by NanoSight for the measurement of nanoparticles and protein aggregates. *Pharm Res* 27
14. Flotra L, Gjermo P, Rolla G, Waerhaug J. 1971. Side effects of chlorhexidine mouth washes. *Scand J Dent Res* 79:119–125.:796–810.
15. Garcia Contreras R, Argueta FigueroaL, Mejía Rubalcava C, Jimenez Martinez R, Cuevas Guajardo S, Sanchez Reyna PA, Mendieta Zeron H, 2011. “Perspectives for the use of silver nanoparticles in dental practice” *International Dental Journal*. 2011 (6): 297-301. Doi:10
16. M. A. Garza-Navarro, J. A. Aguirre-Rosales, E. E. Llanas-Vázquez, I. E. Moreno-Cortez, A. Torres-Castro, and V. González-González “Totally Ecofriendly Synthesis of Silver Nanoparticles from Aqueous Dissolutions of Polysaccharides” *Hindawi Publishing Corporation International Journal of Polymer Science* Volume 2013,
17. Gudiño, F. Silvia. *Repertorio Odontológico* No. 120. *Odontología Preventiva*. “Una nueva actitud: Placa y control de placa”. Edit. Publicaciones U.C.R. 1983; 5-7.
18. HELINA JARVINEN, JORMA TENOVUO, AND PENTTI HUOVINEN, In *Vitro Susceptibility of Streptococcus mutans to Chlorhexidine and Six Other Antimicrobial Agents*, Antimicrobial Research Laboratory, National Public, 199

19. Huiliang Cao, Xuanyong Liu, Silver nanoparticles-modified films versus biomedical device-associated infections, WIREs Nanomed Nanobiotechnol 2010 2 670–684.
20. Hwang-Sog Ryu;In-Ho Bae; and Jin Hyoung Cho,“Anti-bacterial effect of silver-platinum coating on orthodontic appliances” Angle orthodontist 2000
21. J. W. BALENSEIFEN and J. V. MADONIA, Study of Dental Plaque in Orthodontic Patients Departments of Oral Biology and Microbiology, Loyola University School of Dentistry Maywood, Illinois 1970
22. Kim Y S, Moon Y S, *Park J D*, Kyung S, Hyeon R, H Chung Y, Hee K C, Lee J H , Kyung A H , Kelman J B, Hwang EK y Il J Y. Subchronic oral toxicity of AgNP, Size-dependent cellular toxicity of silver nanoparticles. Journal of Biomedical Materials Research 2010
23. Kóglér, B.; Pettersson, B.M.; Bratthall, D. Streptococcus mutans in plaque and saliva and the development of caries. Scand. Dental Res. 1981; 89:19
24. Leonard Gorelick, Arnold M. Geiger, and A. John Gwinnett study of incidence of white spot formation after bonding and banding. A m J orthod. 1982
25. Lessa FC1, Aranha AM, Nogueira I, Giro EM, Hebling J, Costa CA. Toxicity of chlorhexidine on odontoblast-like cells. J Appl Oral Sci. 2010

26. Liao Juan, Zhu Zhimin, Mo Anchun, Li Lei and Zhang Jingchao, Deposition of silver nanoparticles on titanium surface for antibacterial effect , Int J Nanomedicine, 2010
27. Liebana,J.,A.Castillo,J.Peis,P.Baca,and G.Piedrola.1991.Antimicrobial susceptibility of 1042 strains of Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus: comparison from 1985 to 1989. Oral Microbiol. Immunol.
28. Liu HL1, Dai SA, Fu KY, Hsu SH Antibacterial properties of silver nanoparticles in three different sizes and their nanocomposites with a new waterborne polyurethane. Int J Nanomedicine. 2010 Nov 19
29. Lovrov S, Hertrich K, Hirschfelder U 2007 Enamel demineralization during fixed orthodontic treatment incidence and correlation to various oral-hygiene parameters. Journal of Orofacial Orthopedics.
30. Madhumathi K1, Sudheesh Kumar PT, Abhilash S, Sreeja V, Tamura H, Manzoor K, Nair SV, Jayakumar R. Development of novel chitin/nanosilver composite scaffolds for wound dressing applications. J Mater Sci Mater Med. 2010 Feb;
31. Bartolo RG, Catrenich CE, Charbonneau D, Ledder RG, Gilbert P. Effects of a chlorhexidine gluconate-containing mouthwash on the vitality and antimicrobial susceptibility of in vitro oral bacterial ecosystems. Appl Environ Microbiol. 2003 Aug;69(8):4770-6.

32. Morones, Jose Luis Elechiguerra, Alejandra Camacho, Katherine Holt, Juan B Kouri, Jose Tapia Ramírez and Miguel Jose Yacaman "The bactericidal effect of silver nanoparticles" *Nanotechnology*, 2005
33. Mritunjai Singh, Shinjini Singh, S. Prasada, I. S.Gambhir *Nanotechnology In Medicine And Antibacterial Effect Of Silver Nanoparticles*, Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures Vol. 3, No.3, September 2008
34. Nadell CD, Xavier JB, Foster KR The sociobiology of biofilms. *FEMS Microbiol Rev.* 2009;33:206-24.
35. Newbrun, E. *Cariology*. 5ta. edición. University of California, San Francisco, 1977; 166-232.
36. N. Taniguchi, Proc. Intl. Conf. Prod. Eng. Tokyo, Part II, Japan Society of Precision Engineering (1974) S. A. Wickline, G. M. Lanza, *J Cell Biochem.* 39 90 (2002).
37. Parsek MR, Singh PK Bacterial biofilms: an emerging link to disease pathogenesis. *Annu Rev Microbiol.* 2003;57:677-701.
38. Pasini S, Bardellini E, Casula I, Flocchini P, Majorana A 2006 Effectiveness of oral hygiene protocol in patients with post-traumatic splinting. *European Journal of Pediatric Dentistry*.
39. Poosti Maryam, Farzanch Ahrari, Horich Moosavi, Hoda Najjaran 2014, "The effect of fractional CO2 laser irradiation on remineralization of enamel

- white spot lesions” *Lasers Med Sci* (2014) 29:1349-1355 Springer-Verlan London.
40. PV AshaRani, M Prakash Hande and Suresh Valiyaveettil. Anti-proliferative activity of silver nanoparticles. *BMC Cell Biology* sept 2009.
 41. Richard A. Lankau “Intraspecific variation in allelochemistry determines an invasive species’ impact on soil microbial communities” February 2011, Volume 165, Issue 2
 42. Richard W. Ballard, Joseph L. Hagan, Alexis N. Phaup, Nikhil Sarkar, Janice A. Townsend, Paul C. Armbruster “Evaluation of 3 commercially available materials for resolution of white spot lesions” *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* Volume 143, Issue 4, Supplement, April 2013, Pages S78–S84
 43. Samuelraj Srinivasan ; Vijendra Prabhu ; Subhash Chandra ; Shalini Koshy ; Shashidhar Acharya, et al. "Does ozone enhance the remineralizing potential of nanohydroxyapatite on artificially demineralized enamel? A laser induced fluorescence study ", *Proc. SPIE* 8929, *Lasers in Dentistry XX*, 892903 (February 18, 2014)
 44. Slot, CE Berchier, M Addy, U Van der Velden GA Van der Weijden, The efficacy of chlorhexidine dentifrice or gel on plaque, clinical parameters of gingival inflammation and tooth discoloration: a systematic review. *International Journal of Dental Hygiene*, July 2013

45. Sroisiri Thaweboon, Yadana Aung, Suwannee Luppanapornlarp, Supatchai Boonpratham, Boonyanit Thaweboon “Adhesion of Streptococcus mutans on Different Types of Orthodontic Brackets”, *Advanced Materials Reserch* Vol. 893 (2014) Switzerland
46. S. Singh, M. Singh, I.S.Gambhir, Nanotechnology in medicine and antibacterial effect of silver nanoparticles. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* 3, 2, 75 (2008).
47. Suresh AK, Pelletier DA, Wang W, Morrell-Falvey JL, Gu B, Doktycz MJ. 2012. Cytotoxicity induced by engineered silver nano- crystallites is dependent on surface coatings and cell types. *Lang- muir* 28:2727–2735.
48. Theodore Eliades, George Eliades and William Brantley, “Microbial attachment on orthodontic appliances: wettability and early pellicle formation on bracket material” *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1995
49. Zachrisson Bjorn and Zachrisson Sigmund “Caries Incidence and orthodontic treatment with fixed appliances” Department of pedodontics, Anatomy and Orthodontics, University of Oslo, Oslo, Norway. *Scand J. Dent Res.* 1971
50. Zhang et al “Effects of dual antibacterial agents MDPB and nano-silver in primer on microcosm biofilm, cytotoxicity and dentin bond properties” *J Dent.* 2013 May

Resumen

El objetivo general de este estudio es determinar el efecto antimicrobiano y citotóxico de las nanopartículas de plata aplicadas a los discos de acero inoxidable, evaluar el efecto antimicrobiano in-vitro de las nanopartículas de plata con la cepa *Streptococco mutans* (AU159 ATCC17040) y *Streptococco sobrinus*. (ATCC316). Determinar el efecto citotóxico in-vitro de las nanopartículas de plata en concentraciones de 16%, 50% y 100% y Comparar el halo inhibitorio de las 3 concentraciones y con la clorexidina.

Materiales y Metodos.

Para las pruebas antimicrobianas se cubrieron los discos de acero inoxidable previamente esteriles, con nanopartículas de plata a las tres diferentes concentraciones 16%, 50%, 100% y clorhexidina al 0.12%. Se sembraron en las cepas *Streptococco mutans* y *Streptococco sobrinus* posteriormente se midio el halo de inhibición.

La prueba de citotoxicidad de las nanopartículas de plata a las concentraciones ya antes mencionadas comparado con la clorhexidina al 0.12% fue por el metodo de fluorecencia Glomax- Multi detection system y se evaluo la viabilidad celular en las celulas mesenquimales de pulpa dental, por triplicado.

Resultados

Para las concentraciones (16%, 50% y 100%) se encontro halo inhibitorio, aunque no hubo diferencia significativa entre ellos.

Sin embargo la prueba de citotoxicidad la concentración de nanopartículas de plata al 16% resulto ser menos citotóxica que la clorhexidina.

Conclusiones

Las nanopartículas de plata tienen efecto antimicrobiano efectivo y utilizado a baja concentración (16%) el efecto citotóxico es mucho menor a la clorhexidina utilizada comunmente al 0.12%.

The main objective of this study was to determine the antimicrobial and cytotoxic effect of Silver nanoparticles applied to Stainless Steel discs, to evaluate the antimicrobial effect of the nanoparticles to *Streptococcus mutans* (AU159 ATCC17040) and *Streptococcus sobrinus* (ATCC316) and determine cytotoxic effect *in-vitro* and compare the inhibitory halo with the 3 different concentrations, 16%, 50%, and 100% and chlorhexidine 0.12%

Materials and Methods

For the antimicrobial trials, sterile stainless steel discs were covered with 16%, 50% and 100% of silver nanoparticles and chlorhexidine at 0.12%, they were cultured with the strain *Streptococcus mutans* and *sobrinus*, 24 hours later the inhibitory halo was measured.

Cytotoxicity of the three concentrations of silver nanoparticles in comparison with chlorhexidine at 0.12% was made with fluorescence method with Glomax-Multi detection system and it was evaluated the cellular viability with mesenchymal cells of dental pulp.

Results

Inhibition was found for the three concentrations, 16%, 50 and 100%, although it had no significant difference between them. The cytotoxicity display that silver nanoparticles in 16% showed 95% viability, in comparison with chlorhexidine at 0.12%. it was less cytotoxic, regardless with the other concentrations (50% and 100%)

Conclusions

Silver nanoparticles has antimicrobial effects and if used in low concentration (16%) the cytotoxic effect is less than chlorhexidine at 0.12% commonly used in dentistry. It is not recommended to use Silver nanoparticles in high concentrations because of its cytotoxic effect.

drasofia.salazar@gmail.com dr.rcarrillo@gmail.com

hilda_torre@hotmail.com myriam.garzarm@uanl.edu.mx

ingmarcogarza@gmail.com