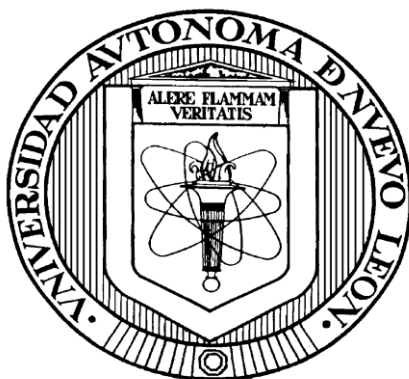


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
POSGRADO DE ORTODONCIA



**DESARROLLO DE MÉTODO DE ADHESIÓN DE NANOPARTÍCULAS  
DE PLATA A MINI IMPLANTES DE ORTODONCIA**

Por:

**Lizeth Edith Quintanilla Rodríguez**

Cirujano Dentista

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Julio, 2006

Como requisito parcial para obtener el grado de:  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS** con Especialidad en  
Ortodoncia

**Noviembre, 2012**

Los miembros del Comité de Tesis aprobamos la investigación titulada:  
**“Desarrollo de método de adhesión de nanopartículas de plata a mini  
implantes de ortodoncia”**

**DIRECTOR DE TESIS**

---

CD., MC., Roberto Carrillo Fuentes

**CO-DIRECTOR DE TESIS**

---

Dr. en C. Virgilio González González

**ASESOR**

---

Dr. En C. Marco Garza Navarro

**COORDINADOR DEL POSGRADO DE ORTODONCIA**

---

C.D. Especialista en Ortodoncia Roberto J. Carrillo González. PhD

**SUBDIRECTOR DE ESTUDIOS SUPERIORES**

---

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

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Los miembros del jurado aceptamos la investigación y aprobamos el documento que avala a la misma, que como opción a obtener el grado de Maestría en Ciencias Odontológicas con Especialidad en Ortodoncia presenta la CD Lizeth Edith Quintanilla Rodríguez.

Honorables Miembros del Jurado:

PRESIDENTE

---

SECRETARIO

---

VOCAL

---

## AGRADECIMIENTOS

Realmente me parece imposible resumir lo inmensamente agradecida que estoy con todas y cada una de las personas que de alguna manera contribuyeron a la realización de éste trabajo que representa la culminación de años de esfuerzo para obtener el grado Maestría en Ciencias Odontológicas y el título de Ortodoncista que tanto anhelo.

Me considero una persona sumamente afortunada de haber contado con tantas personas en los momentos más importantes de mi vida personal y profesional, y me voy a permitir mencionar algunas de ellas.

Primero que nada a mis padres Rolando y Rosa Elia, quienes me han brindado todo su amor y apoyo incondicional en cada momento y decisión que he tomado en mi vida, por ser las personas que más me han impulsado a ser una persona de bien, por inculcarme desde pequeña valores como la honestidad, responsabilidad y respeto Porque siempre están presentes para guiarme y darme lo mejor de sí sin límite alguno. Por darme lo mejor de ustedes y haber contribuido a lograr todas las metas que me he propuesto en la vida, definitivamente esto no hubiera sido posible sin su apoyo.

A mis tíos Manolo y Martine, por su generosidad, confianza pero sobre todo su cariño y apoyo siempre incondicional cuándo más lo he necesitado. Gracias por compartir sus certeros consejos y palabras de aliento para seguir adelante esforzándome cada día para lograr mis metas.

Al amor de mi vida, Mario, por ser mi compañero y estar conmigo en cada momento de felicidad, tristeza y estrés que he vivido éstos últimos años, apoyándome todo el tiempo, y brindándome fortaleza para poder culminar ésta etapa; gordo, realmente no tengo palabras que puedan expresar todo el amor y agradecimiento que tengo hacia ti por estar conmigo impulsándome todo el tiempo para ser una mejor persona cada día, y poder lograr ésta meta tan importante en mi vida. Eres mi principal fuente de inspiración y motor que me impulsa a seguir esforzándome día a día, te amo.

Gracias a mi familia, a mis hermanos que siempre han estado apoyándome y motivándome para poder seguirme superándome, al igual

que mis abuelitos, tías, tíos y primos que de alguna manera pusieron su granito de arena para poder culminar ésta etapa.

Dra. Rosa Isela Sánchez, gracias por todo su cariño, sus consejos, pero sobre todo, por el apoyo incondicional que he recibido de su parte para mi formación profesional y por ser un ejemplo para mi no sólo en el ámbito profesional si no en el personal también, gracias por guiarme siempre en lo académico y personal y por ayudarme siempre a crecer.

Con mucho cariño agradezco al Dr. Sergio Nakagoshi por todo su apoyo para poder llegar a la culminación de éste trabajo.

Dra. Akemi Nakagoshi, gracias Dra. Por sus palabras de aliento y motivación; gracias por consejos y también por todo el apoyo que he recibido de usted para poder llegar a éste momento.

Agradezco también al Dr. Roberto Carrillo González, por compartir con nosotros de manera plena y desinteresada todos sus conocimientos y lecciones de vida, por ser una persona admirable y sembrar en nosotros esas ganas de trabajar intensamente con entusiasmo y constancia.

Dr. Roberto Carrillo Fuentes, por ser mi director de tesis, gracias por su confianza, por sus valiosas enseñanzas y su apoyo incondicional durante la realización de éste proyecto, gracias también por la disposición que siempre mostró para poder llevarlo a cabo.

Dr. Virgilio González y al Dr. Marco gracias infinitas por toda la enorme disposición y entusiasmo que siempre mostraron desde que empezamos éste proyecto, gracias por compartir todos sus valiosos conocimientos de manera desinteresada, definitivamente sin su apoyo éste trabajo no hubiera sido posible.

Dra. Marianela Garza Enríquez, gracias por todo el apoyo que he recibido de usted, que ha sido invaluable para mi formación profesional y la culminación de éste proyecto.

Gracias a todos los doctores y maestros que contribuyeron aportando valiosa información a nuestra formación profesional, gracias por exigirnos y ser capaces de sacar lo mejor de cada uno de nosotros, por esa vocación de docencia y espíritu de servicio que los caracteriza a todos y cada uno de ustedes, gracias por compartir con nosotros su tiempo y conocimientos de manera desinteresada.

Gracias a mis 8 hermanos de generación, que durante éstos últimos años compartimos juntos experiencias y momentos inolvidables. Dulce, Evelyn, Val y Rita gracias por brindarme su amistad y por todas las muestras de cariño que me han demostrado, por todo su apoyo incondicional y por compartir su alegría, entusiasmo y transmitir su energía en cada momento, las quiero muchísimo y las llevaré en mi corazón siempre. Dulce gracias por ser mi hermana y compartir tantos momentos siempre apoyándome, motivándome, y siendo capaz de sacarme una sonrisa, te quiero mucho.

A todos les deseo éxito rotundo en su vida personal y profesional.

Dra Kori y Dra. Silvia gracias por ese espíritu de servicio y por todas las muestras de cariño que tuvieron en todo momento hacia nosotros, gracias por todo el tiempo y conocimientos que aportaron a nuestra formación los cuáles son invaluable.

Gracias también a todas las personas que laboran en el Posgrado que hacen que nuestro trabajo sea más fácil, gracias Esthercita, Jorge y Julio, por todo su cariño y apoyo.

Agradezco también a la compañía DB Orthodontics, United Kingdom por la donación de los mini implantes utilizados en éste trabajo.

## INDICE

CAPITULO	PÁGINA
1. RESUMEN.....	XII
2. INTRODUCCIÓN.....	1
3. ANTECEDENTES.....	5
3.1 Mini implantes.....	5
3.1.1 Áreas de aplicación para el anclaje esquelético en ortodoncia.....	7
3.1.2 Usos de los mini implantes.....	8
3.1.3 Factores asociados con la estabilidad de los mini implantes .....	9
3.2 Periodonto.....	11
3.3 Respuesta Inmunitaria .....	11
3.4 Proceso Inflamatorio .....	13.
3.5 Mucositis .....	15.
3.6 Peri-implantitis .....	16
3.7 Colonización microbiana .....	17
3.8 Microbiología del implante dental .....	18
3.9 Aspectos Diagnósticos .....	20
3.9.1 Sangrado al sondeo .....	20
3.9.2 Profundidad de bolsa y pérdida de inserción .....	21
3.9.3 Parámetros clínicos diagnósticos de la peri-implantitis .....	21
3.10 Terapia antimicrobial .....	22
3.11 Prevalencia de Peri-Implantitis.....	23



3.12	Partículas De Plata .....	23
3.13	Nanotecnología .....	25
3.13.1	Aplicaciones de nanopartículas metálicas .....	26
3.14	Nanopartículas de plata.....	27
3.15	Propiedades de las nanopartículas de plata .....	30
3.15.1	Mecanismo de acción de las nanopartículas de plata .....	31
3.15.2	Toxicidad de las nanopartículas de plata .....	31
4.	MATERIALES Y EQUIPO .....	33
4.1	Materiales.....	33
4.2	Equipo .....	33
4.3	Metodología .....	34
4.3.1	Preparación del compósito de nanopartículas en carboximetilcelulosa.....	34
4.3.2	Caracterización del nanocompósito.....	35
4.3.2.1	Microscopia electrónica de transmisión.....	36
4.3.2.2	Espectroscopia de ultravioleta-visible.....	36
4.3.3	Acondicionamiento de solución y mini implantes....	37
4.3.3.1	Prueba de determinación del tiempo requerido para la deposición de las Nanopartículas.....	37
4.3.3.2	Prueba de determinación del tratamiento de la superficie mediante el arenado de los mini implantes para la deposición de las nanopartículas.....	37
4.3.4	Caracterización y análisis de la adherencia del Nanocompósito sobre mini implantes mediante SEM y XEDS .....	38

4.3.5	Determinación de la concentración de nanopartículas de plata depositadas sobre los mini implantes.....	38
4.3.6	Determinación mediante balanza analítica.....	39
4.3.7	Determinación mediante el análisis de absorbancia en el espectroscopio .....	39
4.3.8	Análisis termogravimétrico (TGA).....	40
5.	RESULTADOS.....	42
5.1	Caracterización del material nanocompuesto AgCMC... ..	42
5.2	Análisis de la adherencia del nanocompuesto AgCMC al mini-implante .....	45
5.2.1	Muestras 3 días.....	46
5.2.2	Muestras 6 días.....	47
5.2.3	Muestra de 8 días.....	48
5.3	Acondicionamiento de solución y mini implantes.....	49
5.3.1	Prueba de determinación del tratamiento de la superficie de los mini implantes para la deposición de las nanopartículas.....	49
5.4	Determinación de la concentración de nanopartículas de plata depositadas sobre los mini implantes.....	50
5.4.1	Determinación mediante balanza analítica.....	51
5.4.2	Determinación de la concentración de nanopartículas de plata mediante espectroscopia de ultravioleta-visible (Uv-vis).....	52
5.4.3	Análisis de termogravimetría.....	53
6.	DISCUSIÓN.....	55
7.	CONCLUSIONES.....	62
8.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63

# Resumen

Universidad Autónoma de Nuevo León  
Facultad de Odontología  
Subdirección de Estudios de Posgrado  
Posgrado de Ortodoncia

C.D. Lizeth Edith Quintanilla Rodríguez

Candidato a: Maestría en Ciencias Odontológicas con Especialidad en  
Ortodoncia

***Desarrollo de método de adhesión de nanopartículas de plata a mini  
implantes de ortodoncia***

No. de páginas:

## 1. RESUMEN

El **objetivo** de este trabajo es elaborar un nanocompósito basado en nanopartículas de plata (Ag) reducidas y estabilizadas en un matriz biopolimérica de carboximetil-celulosa (CMC), mediante una ruta de química verde para recubrimiento de mini implantes. **Metodología.** Primero se estableció el proceso de formación de nanopartículas de plata con carboximetilcelulosa evitando el uso de otros agentes reductores. Se caracterizó la composición química y morfológica del nanocompósito desarrollado mediante espectroscopia de ultravioleta (UV-vis), microscopia electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés), y algunas de sus técnicas relacionadas, tales como contraste en Z (STEM, por sus siglas en inglés) y difracción de electrones (SAED, por sus siglas en inglés). Además, se evaluó la adherencia por medio de microscopia electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés) y espectroscopia de energía dispersada de rayos X (XEDS, por sus siglas en inglés) en los mini implantes después de sumergirlos durante 3, 6, 8 y 30 días en la solución. **Resultados.** Se logró producir un nanocompósito Ag- CMC utilizando a la CMC como agente reductor y estabilizador, obteniendo una reducción total a  $Ag^0$  de los iones  $Ag^+$  agregados a la reacción, según lo indican los espectros de UV-vis obtenidos. El tamaño de las nanopartículas obtenidas tuvo un valor central de 21 nm y una desviación estandar de  $\pm 5$  nm, según el análisis realizado mediante el STEM. Se logró una mejor adherencia de las nanopartículas sumergiendo los mini tornillos durante 6 días en la solución, según las observaciones hechas mediante SEM y el análisis elemental realizado mediante el espectro XEDS. Más aún, en cuanto a la adherencia del nanocompósito, no hubo diferencia significativa con respecto a mini implantes arenados previamente en su superficie. **Conclusión** se logró sintetizar un nanocompósito basado en nanopartículas de Ag estabilizadas en el biopolímero CMC, que se puede depositar como recubrimiento sobre la superficie de mini implantes de ortodoncia, a partir de una técnica simple.

Director

de

tesis: \_\_\_\_\_

Universidad Autónoma de Nuevo León  
Facultad de Odontología  
Subdirección de Estudios de Posgrado  
Posgrado de Ortodoncia

C.D. Lizeth Edith Quintanilla Rodríguez

Candidato a: Maestría en Ciencias Odontológicas con Especialidad en  
Ortodoncia

### **Abstract**

#### **Development of a silver nanocomposite and its adhesion to miniscrew implants**

**Objective.** Silver nanoparticles are known to be an effective antimicrobial agent having great potential in the orthodontic industry. The objective of this research was to develop a nanocomposite of silver nanoparticles that can effectively adhere to miniscrew implants (MSI).

**Methodos.** A nanocomposite composed of silver nanoparticles and carboxymethyl cellulose was developed. This nanocomposite was produced using a novel and green synthesis process to minimize environmental damages. The chemical composition and morphology of the silver nanocomposite was analyzed by UV spectroscopy (UV-VIS) and by transmission electron microscopy (TEM). The MSIs were submerged in the nanocomposite for 3, 6, 8 and 30 days. The adhesion of the silver nanoparticles was evaluated by scanning electron microscopy (SEM) and X-ray energy dispersive spectroscopy (XEDS).

**Results.** It was possible to have a nanocomposite of silver nanoparticles using carboxymethyl cellulose as the only reducing agent and stabilizer, according to the UV-VIS results obtained. The size of nanoparticles obtained had a mean value of  $21\pm 5$  nm according to the analysis conducted by TEM. According to the observations of SEM and elemental analysis performed using the XEDS an improved adhesion was achieved by the immersion of the MSIs into the silver nanocomposite solution for 6 days. Roughening the MSI surfaces showed no significant difference in levels of adhesion of the nanoparticles to the MSI.

**Conclusion.** The combination of this nanocomposite and immersion technique have shown to be an effective method to adhere silver nanoparticles to the MSI surface. The antibacterial and cytotoxic properties of this nanocomposite as implant coating needs to be further evaluated.

# Introducción

## 2. INTRODUCCIÓN

Los mini implantes son cada vez más utilizados en ortodoncia para realizar movimientos dentarios sin la necesidad de anclarse en otras estructuras dentarias lo que ha facilitado la biomecánica en ortodoncia y por lo tanto el éxito de los tratamientos.

Éstos se colocan en el periodonto quedando incluidos la mayor parte en el hueso y la parte superior (cuello y cabeza) en mucosa. La inserción del mini implante así como la acumulación de placa promueve la colonización del área alrededor de éste lo que lleva a la formación de biofilms, lo que posteriormente puede causar mucositis y peri-implantitis.

La peri-implantitis se considera una inflamación que afecta el hueso de sostén del mini implante lo que produce su movilidad. Siendo éste el principal problema por lo que puede fracasar la utilización del mismo. Por lo que nos planteamos el siguiente problema: ¿Será posible diseñar un nanocompósito basado en nanopartículas de plata que se pueda adherir de manera simple a mini implantes de ortodoncia?

Actualmente la ciencia y la tecnología brindan cada vez más herramientas como la nanotecnología que recientemente ofrece nuevas alternativas

para la solución de este tipo de problemas; ya que tiene aplicaciones en ámbitos como el industrial, alimenticio, y biomédico.

Recientemente existe la oportunidad de re explorar las propiedades biomédicas de componentes que son conocidos por poseer propiedades antimicrobianas mediante la manipulación de su tamaño y por lo tanto la alteración de su efecto.

El objetivo de éste trabajo fue diseñar un compuesto de nanopartículas de plata biopolimérico obtenido mediante un procedimiento verde que tenga una adhesión a los mini implantes.

Por lo cuál se plantearon los siguientes objetivos específicos: Diseñar la metodología de síntesis de nanopartículas de plata en carboximetilcelulosa, sintetizar nanopartículas de plata mediante la reducción de nitrato de plata en carboximetilcelulosa, caracterizar la composición química y morfológica del nanocompuesto desarrollado mediante espectroscopia de ultravioleta-visible (UV-vis) y mediante el TEM, analizar la adherencia del nanocompuesto sobre mini implantes mediante SEM y XEDS.

La hipótesis de trabajo fue: “Es posible sintetizar un nanocompuesto basado en nanopartículas de plata reducidas y estabilizadas en carboximetil-celulosa que se adhiera en mini-implantes”

El estudio se clasifica como experimental, longitudinal y analítico.



La finalidad de éste trabajo fué diseñar un nanocompósito basado en nanopartículas de plata estabilizadas en el biopolímero carboximetilcelulosa (CMC), que puedan depositarse sobre mini implantes dentales, como posible solución para prevenir la colonización bacteriana y la formación de biofilms y prevenir, de esta manera, la peri-implantitis. Al poder lograr que el fracaso de los mini implantes a causa de la peri-implantitis disminuya considerablemente, tendremos más posibilidades de tratamiento para ofrecerlo a nuestros pacientes y por lo tanto también podremos brindar un servicio de mejor calidad, y una atención integral a los pacientes.

Se reconoce que existe un incremento en el interés de la explotación de la tecnología de las nanopartículas de plata en el desarrollo de materiales bioactivos, debido a sus relevantes propiedades antimicrobianas.

Representa un reto utilizar la simultánea acción de un polímero unido a nanopartículas de plata aplicado a los mini implantes en ortodoncia ya que nos adentra a la posibilidad de aplicar ésta tecnología a otras áreas biomédicas, específicamente en el área de la odontología, mejorando la eficacia y pronóstico de muchos tratamientos.

# **Antecedentes**

### 3. ANTECEDENTES

#### 3.1 Mini implantes

En ortodoncia los sistemas de fuerza extraoral, como la máscara facial, y el “head gear” aplican fuerzas a través de las estructuras dentales. Desafortunadamente, esta aplicación de fuerza indirecta causa movimientos indeseables de dientes y limita los efectos ortopédicos. Para evitar estos efectos indeseados el anclaje en dientes anquilosados o implantes orales son preferibles. Pero aún que los implantes se osteointegran la sobrecarga o la infección de bacterias alrededor de los tejidos circundantes al implante puede producir fallas. (De Pauw GA y cols., 1999)

Los mini implantes son ampliamente utilizados para lograr un anclaje esquelético en ortodoncia y en cirugía oral y maxilofacial. En ortodoncia se han convertido esenciales en proveer un anclaje sólido para los movimientos dentales. En traumatología maxilofacial y cirugía ortognática, son utilizados para lograr una oclusión estable y segura además de facilitar el reposicionamiento temporal intraoperativo. Los mini implantes pertenecen a la categoría de aditamentos de anclaje temporal (TAD). Este término denota cualquier tipo de implante, tornillo, o pin insertado para proveer anclaje esquelético, que luego será removido otra vez después de que el tratamiento haya terminado. Los mini implantes modernos están regularmente hechos de componentes de titanio bio-inerte (Ti6A14V),

tienen un diámetro de 1.2-2.3 mm y miden de largo entre 4 y 15 mm. (Florvaag B y cols., 2010)

Dependiendo del tratamiento que se tenga que realizar, los mini implantes pueden ser insertados verticalmente y horizontalmente dentro del maxilar o la mandíbula bajo anestesia local. Los tornillos auto perforantes son atornillados transgingivalmente con un destornillador o con un contra ángulo quirúrgico en pieza de mano. Antes de que los tornillos auto penetrantes sean insertados, un agujero piloto debe realizarse del mismo diámetro. Los mini implantes pueden ser cargados inmediatamente después de su inserción. La popularidad de los mini implantes radica en su colocación simple con un mínimo de invasión además de su fácil retirado, así como un alto nivel de confort y relativamente bajo costo para el paciente. Actualmente existen en el mercado un amplio rango de mini implantes de diferentes diseños y dimensiones. Difieren en características básicas ejemplo: auto perforantes vs. auto penetrantes, cilíndricos contra cónicos, rosca simétrica vs asimétrica y el tipo de cabeza del tornillo.

La literatura actual trata de enfocarse en sus aplicaciones clínicas, en su biocompatibilidad y en su estabilidad. La falta de estabilidad primaria tiende a causar que los mini implantes se vuelvan progresivamente más móviles hasta que falle el tratamiento. Algunos de los factores que influyen la estabilidad primaria son el diseño del implante, la calidad del hueso, y las modalidades de inserción. (Florvaag B y cols., 2010)

El anclaje esquelético está basado principalmente en el principio de osteointegración descrito en 1977 por Branemark. La osteointegración implica el contacto directo entre el hueso y el implante visible al observarlo a través de un microscopio óptico. Roberts en 1990 expandió el concepto incluyendo: tejido no fibroso entre el implante y el hueso, alto tono a la percusión, ausencia de deriva fisiológica, no movimiento bajo cargas ortodónticas y el equivalente funcional a una anquilosis dental. (Wehrbein H y cols., 2007)

### **3.1.1 Áreas de aplicación para el anclaje esquelético en ortodoncia:**

1.- Anclaje ortodóntico-prostético: los implantes prostéticos son inicialmente usados como anclaje ortodóntico y luego se les agrega el aditamento que fijará una prótesis de reemplazo de la pieza perdida

2.- Anclaje ortodóntico: las siguientes son regiones anatómicas que han sido descritas para la aplicación de elementos de anclaje esquelético ortodóntico:

- a) El tabique interradicular de procesos alveolares edéntulos
- b) El área supra-apical e infra zigomática
- c) El área retromolar del maxilar y la mandíbula
- d) La parte medial o paramedial de la parte anterior del paladar

Indicaciones para la aplicación de elementos de anclaje esquelético ortodóntico:

- a) Cierre de espacios desde mesial
- b) Cierre de espacios desde distal
- c) Intrusión y extrusión
- d) Distalización, mesialización y corrección de línea media
- e) Enderezamiento de molares

3.- Anclaje esquelético para procedimientos ortopédicos (Wehrbein H y cols., 2007)

El anclaje en el tratamiento de ortodoncia es un el factor mas importante que afecta el plan de tratamiento y el resultado de éste. Recientemente aparecieron una gran variedad de implantes para proveer anclaje absoluto. Los implantes de titanio los cuales originalmente se diseñaron para ser utilizados como la fijación intermaxilar o fijación ósea tienen las siguientes ventajas: mínima limitación anatómica para su colocación, bajo costo, procedimiento quirúrgico de colocación simple.

### **3.1.2 Usos de los mini implantes**

Por lo tanto, los implantes de titanio en varios tamaños han sido utilizados gradualmente en ortodoncia para producir anclaje absoluto. Con respecto a los implantes dentales ha sido reportado un rango de éxito de 87% y que los factores que disminuyen su estabilidad son la edad del paciente de más de 40 años, el diseño y el material de la aleación. Además es muy

bien conocido que la inflamación del tejido peri implantar causa pérdida de hueso permitiendo la movilidad del implante. (Miyawaki S y cols., 2003)

### **3.1.3 Factores asociados con la estabilidad de los mini implantes**

La estabilidad a largo plazo de un implante osteointegrado utilizado como anclaje para fuerzas ortopédicas u ortodónticas, depende de que ése resista las fuerzas en todos los planos del espacio. En 1933 se realizó un estudio (Akin-Nergiz N y cols., 1998) para evaluar las reacciones funcionales y morfológicas del hueso alrededor de mini tornillos en perros, el grupo experimental constaba de tornillos cargados ortodónticamente mientras que el grupo control constaba de implantes osteointegrados cargados mediante las fuerzas de masticación. No se observó bolsa periodontal peri implantal en el grupo control por lo que estos tienen un potencial como anclaje óseo firme en el tratamiento de ortodoncia y pueden resistir las fuerzas horizontales de hasta 5 N.

En otro estudio (Miyawaki S y cols., 2003) para evaluar los factores asociados con la estabilidad de los implantes de titanio colocados en la región posterior para anclaje ortodóntico señala que hay factores que no se correlacionan con el fracaso del implante como: la longitud de los implantes, edad del paciente, género, apiñamiento de los dientes, relación anteroposterior de la mandíbula, enfermedad periodontal controlada o síntomas de la ATM. Mientras que los implantes de titanio con inflamación

del tejido peri implantar mostró un significativo menor rango de éxito que los que no presentaban inflamación.

Las complicaciones que se pueden producir durante la colocación de mini implantes y después de cargarlos ortodónticamente pueden afectar su estabilidad y la seguridad del tratamiento del paciente. Mediante el entendimiento de una técnica de colocación adecuada, es necesario tomar en cuenta la densidad del hueso, el tejido alrededor del mini implante, las estructuras anatómicas regionales y los cuidados del paciente para un óptimo y seguro éxito de los mini implantes. (Kravitz N. y cols., 2007)

Hay factores que pueden afectar el anclaje temporal proporcionado por un mini implante. Es importante mencionar también, que los que son colocados sobre tejido alveolar sin queratina tienen mayores índices de fracaso que aquellos colocados sobre tejido queratinizado. Esto se debe a que la mucosa alveolar es móvil, y si no tiene queratina es por lo tanto fácilmente irritable y la inflamación del tejido blando alrededor del mini implante está directamente relacionada con el incremento de la movilidad. Por lo que se concluye que el tejido delgado sin queratina que se encuentra en la región dentoalveolar o media del paladar es el lugar ideal para la colocación de mini implantes. (Kravitz N. y cols., 2007)



### **3.2 Periodonto**

La encía representa un sitio único en nuestro cuerpo, por que es el único lugar donde la continuidad de la capa protectora epitelial es interrumpida por la protrusión de los dientes dentro de la cavidad oral. Las propiedades protectoras del epitelio gingival están comprometidas frecuentemente por la colonización de microorganismos orales en la región cervical de los dientes. En la mayoría de las personas, la persistente placa dental resulta en inflamación de la encía. En algunos casos con la presencia de supuestos periodontopatógenos, como el *Actinobacillus actinomycetecomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*. (Monique T.M. y cols., 2000)

### **3.3 Respuesta Inmunitaria**

El cuerpo humano dispone de diversas formas para defenderse de agentes extraños que lo rodean. La primera línea de defensa que posee es la formada por las barreras físicas que incluyen la piel que protege toda la superficie del cuerpo y las mucosas que revisten todos los órganos huecos y cavidades; éstos componentes poseen características que les ayudan a que los microorganismos no puedan penetrar al organismo. Una de éstas características es que el tejido epitelial que reviste toda la superficie interna y externa del cuerpo está conformado por células muy juntas entre sí lo cual le da al tejido la capacidad de ser impermeable; a su vez ésta puede presentar prolongaciones

citoplasmáticas en su superficie apical las cuales pueden transportar partículas para que éstas sean eliminadas; otra característica es la capacidad de algunas glándulas anexas a la mucosa digestiva y respiratoria, junto con algunas células epiteliales de producir moco el cual sirve para atrapar, disolver y eliminar partículas. Además aquí se debe incluir la acción de lavado que producen las lágrimas, saliva y orina, sobre la superficie epitelial. Nuestra superficie epitelial es más que una barrera física a la infección, ya que además produce sustancias químicas que son microbicidas o que inhiben el crecimiento bacteriano. Por ejemplo la lisozima que es una enzima antibacterial y la fosfolipasa A, las cuales son secretadas en las lágrimas y la saliva. (Aderem, A. y cols., 1999, Beutler, B y cols., 2003)

Si un microorganismo cruza la barrera epitelial y empieza a replicarse en el organismo, en muchos casos éstos son inmediatamente reconocidos por los fagocitos, o macrófagos, que residen en esos tejidos. Los macrófagos maduros provienen continuamente de monocitos que dejan la circulación para migrar dentro de los tejidos. Estas células son encontradas especialmente en grandes cantidades dentro del tejido conjuntivo, en la túnica submucosa del tracto intestinal, respiratoria, y en el bazo. La segunda mayor familia de fagocitos (los neutrófilos o leucocitos polimorfonucleares), son células que viven en abundancia en los vasos sanguíneos, pero no los encontramos presentes en tejidos normales o sanos. Ambas células fagocíticas juegan el rol clave en la respuesta

inmune innata, por que pueden reconocer, ingerir y destruir muchos patógenos sin la necesidad de una respuesta inmune adaptativa.

Un importante efecto de la interacción entre patógenos y macrófagos en los tejidos es la activación de éstas células para liberar citocinas, quimiocinas y otros mediadores del proceso inflamatorio en los tejidos. Además atraen neutrófilos y proteínas del plasma al sitio de la infección. (Harrison, R.E. y cols., 2002, Janeway, CA y cols., 2002)

### **3.4 Proceso Inflamatorio**

Se refiere a la reacción del organismo frente a una lesión tisular ya sea causado por algún material biológico (bacteria, toxina, parásito, etc.), agente químico, físico o bien algún material inerte. Esta reacción es la principal defensa del cuerpo, se lleva a cabo en el tejido conjuntivo y su finalidad es delimitar la lesión ya que al principio es un proceso local.

La inflamación juega tres roles esenciales en el combate a la infección. El primero es la liberación de moléculas efectoras adicionales y células al sitio de la infección. La segunda es proveer una barrera física en la forma de contracción microvascular para prevenir la diseminación de la infección a través del torrente sanguíneo. La tercera es promover la reparación del tejido dañado. La inflamación en el sitio de la infección se inicia por la respuesta de los macrófagos ante algún patógeno.

La respuesta inflamatoria es ocasionalmente caracterizada por dolor, calor, tumefacción, rubor, pérdida de la función en el sitio de la infección, reflejando 4 tipos de cambios locales en los vasos sanguíneos. El primer cambio es el incremento del diámetro vascular, incrementando el flujo local de sangre (por lo que se produce el calor y el rubor), una reducción en la velocidad del flujo de sangre especialmente a través de vasos sanguíneos pequeños. El segundo cambio es que las células del endotelio son activadas para expresar moléculas de adhesión que promueven el binding de circulación de leucocitos. La combinación del lento flujo de sangre y las moléculas de adhesión permiten que los leucocitos se adhieran al endotelio y migren al interior de los tejidos, un proceso llamado extravasación.

Todos estos cambios son iniciados por la liberación de citocinas y quimiocinas producidas por los macrófagos activados. Una vez iniciada la inflamación, los primeros glóbulos blancos que llegan al sitio de la lesión son los neutrófilos. Éstos son seguidos por los monocitos, los cuales se diferenciarán en el tejido conjuntivo en macrófagos. En estados posteriores de la inflamación otros leucocitos como eosinófilos y linfocitos también llegan al sitio de la lesión. El tercer mayor cambio es los vasos sanguíneos locales es el aumento de la permeabilidad. Aunque las células endoteliales normalmente están muy juntas unas de otras, éstas

comienzan a separarse, permitiendo la salida de fluidos y proteínas desde la sangre y su acumulación en los tejidos. Este acontecimiento es conocido como edema.

Estos cambios son inducidos por la liberación de una variedad de mediadores como consecuencia del reconocimiento de patógenos por los macrófagos. Éstos incluyen los lípidos mediadores de la inflamación: prostaglandinas, leucotrienos y platelet-activating factor (PAF) los cuales son rápidamente producidos por los macrófagos. Éstas acciones son seguidas por las citocinas y quimiocinas que son sintetizadas y secretadas por los macrófagos en respuesta a patógenos. La citocina TNF-Alfa por ejemplo, es un potente activador de células endoteliales. (Janeway, CA y cols., 2002, Larsson, B.M., y cols., 1999, Van der Poll y cols., 2001)

El proceso inflamatorio en respuesta a la infección bacterial es mediado por citocinas proinflamatorias como el TNF alfa, interferón gama y las interleucinas 1beta, 6 y 12, las cuales entre otras propiedades biológicas inducen la destrucción de tejidos mediante la activación de colagenasa y otros factores proinflamatorios. (Poliana Mendes Duarte y cols., 2009)

### **3.5 Mucositis**

Así se le denomina a la respuesta inflamatoria inicial a la colonización microbiana sobre la superficie de los implantes. Ésta es una condición

inflamatoria reversible limitada a los tejidos blandos alrededor del implante sin que haya pérdida de hueso. Cuando esta inflamación se dispersa apicalmente produce pérdida de hueso de soporte (peri-implantitis) (Commander Brett Metcalf, DC y cols., 2008)

### **3.6 Peri-implantitis**

La peri-implantitis se define como un proceso inflamatorio que afecta los tejidos alrededor de un implante osteointegrado en función, resultando en una pérdida de hueso de soporte. Hace algunos años estudios de seguimiento infrecuentemente reportaban alguna incidencia de peri-implantitis, por lo que se creía que esto era un fenómeno muy raro. Sin embargo datos recientes indican que la peri-implantitis es un problema clínico común después de 10 años de haber estado en función. Como los implantes se han convertido en una cada vez más común alternativa de tratamiento para la pérdida de dientes, el número de casos de peri-implantitis ha ido incrementando y seguirá aumentando en el futuro. (Poliana Mendes Duarte y cols., 2009, Renvert S y cols., 2008, Frank Schwarz y cols 2006)

La etiología infecciosa de la peri-implantitis es evidente. Un potencial de cicatrización de los tejidos peri-implantales siguiendo la supresión de la microbiota peri-implantal, por que la limpieza mecánica alrededor de los implantes es obstaculizada y frecuentemente una estructura de superficie

rugosa, el uso de debridamiento mecánico solo puede no ser suficiente para suprimir la microflora a un nivel asociado con la salud clínica. Se ha recomendado el uso de clorhexidina tópica para el tratamiento de infecciones peri-implantales tempranas. Sin embargo algunos autores no encontraron diferencia en usar la clorhexidina durante el debridamiento mecánico o realizando solo el debridamiento. (Renvert S y cols., 2008)

### **3.7 Colonización microbiana**

La cavidad bucal representa un sistema fluido perfecto en el cual la microbiota presente en la saliva puede colonizar los dientes y las superficies artificiales siguiendo el depósito de una película que contiene glucoproteínas. Además, las bacterias pueden acumular en ciertos nichos ecológicos los cuales proveen condiciones ecológicas óptimas para el crecimiento, división, así como en las bolsas periodontales, amígdalas y criptas de la lengua. (Lang NP, Wilson TG y cols. 2000).

La presencia de bacterias alrededor de los implantes pueden crear un riesgo para el éxito del tratamiento. Además la presencia de un gran número de anaerobios Gram negativos en el surco alrededor del implante por lo que es frecuente asociar esto con la peri-impantitis, pérdida de hueso marginal y por lo tanto la falla del implante. (Paolantonio M y cols., 2008, Paolantonio M y cols., 2008)

Se ha mostrado in vitro e in vivo que las bacterias pueden penetrar la cavidad interna del implante como consecuencia de filtración en la interface del implante-pilar o por atrapamiento durante la colocación del implante en implantes con pilar accesorio. Las poblaciones de bacterias asociadas son frecuentemente del tipo periopatógenas. La penetración de bacterias a la parte interna del implante produce un reservorio de bacterias que ha sido asociado con un área inflamada de tejido conjuntivo frente a la unión de accesorio-pilar, aún bajo condiciones clínicamente saludables. Numerosos esfuerzos se han realizado para reducir la colonización interna de bacterias en los implantes a corto plazo, para lo que se han utilizado sustancias como la clorhexidina. (Paolantonio M y cols., 2008)

### **3.8 Microbiología del implante dental**

Mombelli y cols en 1988 publicaron un estudio que concluye que después de dos semanas de haber colocado implantes transmucosos en pacientes edéntulos se había establecido la microbiota en el surco peri-implante, la cual predominantemente estaba formada por bacterias facultativas gram positivas muy parecidas a la microbiota asociada con la gingivitis.

Así también en pacientes edéntulos, la flora fue establecida rápidamente y más del 85% de los microorganismos encontrados e identificados en el



microscopio fueron cocos, y mas del 80% de las bacterias cultivadas fueron cocos facultativos Gram positivos.( Mombelli, A y cols., 1988)

En 1990 Mombelli y colaboradores investigaron la microflora asociada con implantes osteointegrados que servían exitosamente como pilares para sobredentaduras en 18 pacientes edéntulos 2 años después de su colocación. Encontraron que más del 50% de los organismos cultivados fueron cocos anaerobios facultativos, y 17% fueron anaerobios facultativos, mientras que anaerobios gram negativos se encontraron solo en 7%. *Fusubacterium sp* y *Prevotella intermedia* se encontraron en 9% delas muestras mientras que no se encontraron *Porphyromonas gingivalis* ni *Espiroquetas*. (Mombelli A y cols., 1990)

Similar a lo que ocurre en pacientes parcialmente desdentados, así como también se ha identificado la microbiota en infecciones peri-implantes es muy similar a la de las bolsas periodontales con periodontitis avanzada. (Lang NP y cols., 2000)

Estudios longitudinales han mostrado que implantes exitosos son colonizados principalmente por Gram positivos, flora facultativa la cual se establece poco después de la implantación. En pacientes con pérdida de hueso y formación de bolsas alrededor de los implantes, sin embargo, una flora diferente fue encontrada: bacterias anaerobias Gram-negativas,

particularmente *Fusubacterias sp*, *Espiroquetas sp* y *Prevotella intermedia* fueron frecuentemente presentes en altas proporciones. Por lo que el tratamiento antimicrobial con agentes específicamente activos en contra de anaerobios pueden detener la progresión de infecciones alrededor del implante en algunos casos. (Mombelli, A y cols. 1993)

Otros estudios demuestran que sitios infectados alrededor de implantes que fracasaron pueden alojar un complejo microbiota con una gran proporción de patógenos periodontales bien conocidos como *Porohyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Fusubacterium nucleatum*. (Commander Brett Metcalf y cols., 2008)

### **3.9 Aspectos Diagnósticos**

#### **3.9.1 Sangrado al sondeo**

Sangrado al sondeo (BOP) representa un parámetro clínico el cual se define como la presencia de sangrado justo después de haber penetrado con la sonda periodontal dentro del surco alrededor del implante o de una bolsa periodontal utilizando una fuerza gentil, habiendo estandarizando previamente el tamaño de la sonda así como la fuerza. En un periodonto

sano y normal la fuerza usada para sondear es de 0.25 N. (Lang, N.P y cols. 2000)

### **3.9.2 Profundidad de bolsa y pérdida de inserción**

Se refiere al sondeo periodontal para determinar la profundidad de bolsa y el nivel de inserción en relación a la unión cemento esmalte, la cual es la más ampliamente utilizada como parámetro clínico en la practica periodontal. En ves de relacionar la profundidad de bolsa a la unión cemento esmalte en el caso de los implantes los examinadores pueden utilizar como marca el hombro del implante para que sea fácil de localizar en la práctica clínica. Sondear alrededor de los implantes orales debe considerarse un parámetro clínico sensible y repetible para monitorear a largo plazo los tejidos mucosos alrededor del implante. (Lang, N.P y cols. 2000)

### **3.9.3 Parámetros clínicos diagnósticos de la peri-implantitis**

- a) Presencia de placa o cálculo
- b) Profundidad de bolsa peri implante (deberá ser menor de 3mm)
- c) Presencia de sangrado al sondeo
- d) Presencia de supuración
- e) Adelgazamiento de la encía insertada

- f) Evaluación radiográfica para monitorear los niveles de las crestas óseas
- g) Movilidad (Lang, N.P y cols. 2000, Commander Brett Metcalf y cols., 2008)

### **3.10 Terapia antimicrobial**

Tratar de remover mecánicamente de depósito de bacterias sobre los implantes podría dañar su superficie si se realiza con instrumentos comúnmente utilizados como las curetas periodontales. Para mejorar la resistencia a la carga mecánica de los implantes actualmente casi todos poseen una superficie rugosa en el área donde se llevará a cabo la osteointegración. Sin embargo se sabe que este tipo de superficie puede ser colonizada por bacterias y el debridamiento mecánico tiene un efecto limitado y puede no remover completamente las bacterias. Por esto se han recomendado la utilización de agentes químicos. Muchos clínicos irrigan el espacio alrededor del implante con soluciones antisépticas como la clorhexidina al 0.12% sin que se hayan encontrado efectos microbiológicos clínicos. (Renvert S y cols.2008)

Se ha recomendado el uso de clorhexidina tópica para el tratamiento de infecciones peri-implantales tempranas. Sin embargo algunos autores no encontraron diferencia en usar la clorhexidina durante el debridamiento mecánico o realizando solo el debridamiento. (Renvert S y cols.2008)

Hay algunos estudios donde la combinación de terapia sistémica antimicrobial y debridación mecánica si tiene efectos en la resolución de la peri implantitis. (Renvert S y cols.2008)

### **3.11 Prevalencia de Peri-Implantitis**

La peri-implantitis es una enfermedad que hay aumentado considerablemente su prevalencia y su tendencia indica que seguirá aumentando a medida que la utilización de los mini implantes siga expandiéndose, el promedio de prevalencia según estudios es de 8.9-47%. (Koldslund OC y cols. 2010, Jain J y cols. 2009)

### **3.12 Partículas De Plata**

Por miles de años las partículas y los iones de plata han sido utilizados por sus propiedades bactericidas. Los ancestros de los romanos trataron su agua con monedas de plata, una tradición que aún continua en muchas sociedades, incluso en programas del espacio para la purificación del agua a bordo de la nave espacial Apollo y en la estación espacial MIR. (Melaiye, A y cols 2005)

El uso de la plata como agente antimicrobial en estudios clínicos también tienen una larga historia. En 1884 Crede ginecólogo alemán, uso 1% de solución de nitrato de plata para eliminar la ceguera causada por infecciones post parto en recién nacidos. En 1920 la US Food and Drug Administration aprobó el coloide de plata para el tratamiento de heridas.

Con el advenimiento de los antibióticos en los años 40's la investigación sobre la aplicación médica de la plata disminuyó dramáticamente. Sin embargo en 1964 Moyer y cols. fueron los primeros en usar solución de nitrato de plata al 0.5% en la arena quemada. La cual incremento de nueva cuenta el interés en la investigación de la plata. Cuatro años después en 1968, Se introdujo una crema al 1% de sulfadiazina de plata (SSD), la cual se convirtió en uno de los principales agentes antimicrobiales tópicos usados para tratar infecciones en heridas por quemaduras en las últimas cuatro décadas. (Jain J y cols. 2009)

Al principio del siglo 20 las infecciones en heridas por quemaduras fueron la principal fuente de morbilidad y mortalidad (más del 50%) en pacientes quemados. Heridas por quemaduras alteran tanto las barreras de la piel sana como muchas de los mecanismos sistémicos de defensa del huésped, lo cual los vuelve más susceptibles a la colonización microbial resultando en el desarrollo de sepsis en heridas por quemaduras. La piel

quemada se vuelve vulnerable a las infecciones invasivas microbiales de todo tipo hasta que se completa la reparación epitelial. La terapia antimicrobial tópica para controlar la colonización y proliferación de patógenos microbiales incluyendo organismos resistentes a múltiples drogas es el más importante método para tratar las heridas por quemaduras. A éste respecto, agente microbiales que contienen plata han revolucionado el cuidado de heridas por quemaduras y redujo significativamente la morbilidad y mortalidad. (Jain J y cols. 2009)

### **3.13 Nanotecnología**

Aunque hay diversas definiciones de nanotecnología, entre las que podemos mencionar dos establecidas desde ópticas diferentes y que son: “es el diseño, caracterización y producción de nanoestructuras, nanodispositivos y nanosistemas novedosos a partir de ‘controlar’ la forma, el tamaño y las propiedades de la materia a dicha escala con el objeto de su uso en diversas aplicaciones”, o bien: “es la generación y aplicación del conocimiento en materiales que por sus dimensiones (generalmente iguales o menores a los 100 nm) tienen propiedades explicables mediante la combinación de las físicas cuántica y clásica. El aspecto más importante es que los materiales formados por partículas del orden de los nanómetros ( $10^{-9}$  metros) adquieren propiedades

inesperadas en relación a los mismos materiales formados por partículas a escalas mayores.

Para explicar las propiedades de los átomos, moléculas y racimos (clusters en inglés), es necesario utilizar la física cuántica, al llegar a los nanomateriales es necesario utilizar tanto ambas teorías, después cuando se considera un material como en masa (bulk en inglés), ya la teoría cuántica es inaplicable utilizando solo la mecánica clásica.

Además en la actualidad ha surgido el término “materiales funcionales”, con el cual se engloban, además de las propiedades físicas y químicas extraordinarias de los materiales nanométricos, las actividades de que son capaces de desarrollar los materiales como efecto de varias propiedades. Como ejemplos de materiales funcionales se pueden mencionar: La dosificación localizada de medicamentos, la fotocatalisis, la hipertermia localizada, la acción bactericida, el censado de gases y biomoléculas y otras.

Las nanopartículas de plata en particular, poseen propiedades interesantes con aplicaciones en diversas áreas tecnológicas. Aún cuando se tenían antecedentes de la utilización de nanopartículas metálicas, no es sino hasta 1857 que Faraday realiza el primer estudio sistemático de nanopartículas, presentando un estudio de la síntesis y propiedades de coloides de oro.



### **3.13.1 Aplicaciones de nanopartículas metálicas:**

Se han utilizado gasas para quemaduras o heridas que contienen nanopartículas de plata, creada por una compañía canadiense Weistmer que se utilizan en la mayoría de los hospitales para quemaduras

Adhesivo dental de 3M “Adper Single Bond Plus Adhesive” contiene nanopartículas de silicio para formar uniones más fuertes con el esmalte (Claudia E y cols.)

### **3.14 Nanopartículas de plata**

La convergencia de la nanotecnología con la medicina ha agregado una nueva esperanza en la terapéutica y la farmacéutica. Las nanopartículas de plata son ampliamente utilizadas en medicina, física, ciencia de los materiales y química. Sin embargo el progreso rápido de la nanotecnología ha sido acompañado de insuficiente información de la identificación de su potencial tóxico. La exposición a nano materiales ocurre a través de la inhalación, ingestión, inyección para propósitos terapéuticos y a través de contacto físico en heridas o abrasiones de la piel. Estudios in vivo muestran que la exposición a las nanopartículas puede resultar en inflamación, estrés oxidativo, infarto al miocardio y trombosis. Además algunas nanopartículas pueden alterar la

permeabilidad de las barreras sanguíneas del cerebro. (Asharani PV y cols. 2009)

Las nanopartículas de plata son clasificadas como agentes antimicrobiales y son ampliamente utilizadas para tratar heridas, quemaduras e infecciones relacionadas con catéteres, incluso complejos de plata se han utilizado para decorar dulces y como componentes de aleaciones dentales. Algunos reportes demostraron la toxicidad del nitrato de plata sobre fibroblastos dérmicos humanos y sobre especies acuáticas. Se cree que las nanopartículas de plata alteran la estructura de la membrana mediante la adición del sulfuro a las proteínas que contiene la membrana plasmática celular produciendo daño a la membrana celular de la bacteria. (Asharani PV y cols. 2009)

La mayoría de las infecciones nosocomiales asociadas con el uso de catéteres son causadas por estafilococos coagulasa-negativa como el *Staphylococcus epidermidis*. Infecciones causadas por *S. aureus*, *Enterococcus sp* y *E. coli* son también frecuentes y son algunas veces asociadas con el incremento a la resistencia de los antibióticos. Un pequeño porcentaje infecciones relacionadas con catéteres son causadas por otras bacterias como *P. aeruginosa* y *Klebsiella sp pneumonia* y principalmente por *Candida spp*. Los catéteres recubiertos con nanopartículas de plata son un método efectivo para prevenir el

crecimiento y la formación del biofilm para la mayoría de éstos patógenos in vitro. (Roe D y cols. 2008)

Las bacterias resistentes a drogas están emergiendo, su perfil de resistencia presenta el principal desafío para contener la expansión y su impacto sobre la salud humana. Actualmente mas del 70% de infecciones bacteriales nosocomiales en USA son resistentes a uno o más antibióticos de los más tradicionalmente utilizados para eliminarlas. Por lo que la gente que resulta infectada con un microorganismo resistente a alguna droga usualmente gastan más tiempo en el hospital y requiere tratamientos donde se utilicen dos o tres antibióticos y es menos efectivo, más tóxico y más costoso. La actividad bactericida de las nano partículas de plata en contra de bacterias resistentes a múltiples drogas pueden ser utilizadas acompañadas de otros avances en técnicas de impregnación y tecnología en polímeros para expandir el rango de aplicaciones de éstas nano partículas en la preservación de comida, desinfección de equipo médico y descontaminación de las superficies de objetos como juguetes o utensilios de cocina (Humberto H y cols., 2010)

La adhesión de bacterias a superficies de varios materiales como implantes médicos (catéteres urinarios) pueden llevar a la formación de biofilms y la aparición de enfermedades infecciosas. Recubiertas antibacteriales que pueden ser fácilmente aplicadas a diferentes tipos de superficies para prevenir la proliferación de microorganismos peligrosos

podrían minimizar estas situaciones indeseables. Estas partículas pueden ser incorporadas dentro de materiales que son procesados desde suspensiones o emulsiones como cubiertas de polvo y pigmentos, y también pueden ser usadas como relleno en varios aditamentos médicos. (Daeyon Lee y cols. 2005)

### **3.15 Propiedades de las nanopartículas de plata**

Las propiedades físicas y químicas de las nanopartículas de plata que son responsables de su actividad antimicrobiana ha sido estudiada con nanopartículas cuasi esféricas (9 nm de diámetro aproximadamente) sintetizadas a partir de la reducción de iones de plata utilizando borohidruro de sodio., en relación a su sensibilidad a la oxidación, actividad en contra de bacterias resistentes a la plata, actividad dependiendo del tamaño y la solución electrolítica y dispersa. Las nanopartículas de plata parcialmente oxidadas tienen propiedades antimicrobianas. Los niveles de absorción química de la plata que se forma sobre la superficie de las partículas, como ha sido revelado por cambios en la *superficie plasmon resonance absorption* durante la oxidación y reducción, correlacionan bien con la actividad antimicrobial observada. La actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata están relacionadas con el tamaño; por ejemplo, las partículas de menor tamaño representan una actividad antimicrobiana más alta con respecto a

su equivalente en bulto o microestructurada. El agregado de nano partículas de plata en un medio con alto contenido electrolítico, resulta en la pérdida de la actividad antimicrobiana. Sin embargo la mezcla con albúmina puede estabilizar las nanopartículas de plata en contra de la agregación, permitiendo que posea su actividad antimicrobiana. (Lok CN y cols., 2007)

### **3.15.1 Mecanismo de acción de las nanopartículas de plata**

El comportamiento bactericida de las nanopartículas es atribuido a la presencia de efectos electrónicos que a su vez se derivan de los cambios en la estructura electrónicas en su superficie (M. Raffi y cols., 2008). Los iones de plata interactúan fuertemente con los grupos tiol de enzimas vitales y las inactivan. Se ha sugerido que el DNA pierde su capacidad de replicación una vez que las bacterias son tratadas con iones de plata. Las nanopartículas de plata desestabilizan el potencial de membrana plasmática y la disminución de los niveles de ATP intracelular resultando en la muerte de la célula. (M. Raffi y cols., 2008).

### **3.15.2 Toxicidad de las nanopartículas de plata**

En el 2009 (P. V. AshaRani y cols 2009). se realizó un estudio donde se evaluó la toxicidad de las nanopartículas de plata utilizando fibroblastos

pulmonares humanos (IMR-90) y células de un glioblastoma humano (U251). La toxicidad fue evaluada valorando cambios en la morfología celular, viabilidad celular, actividad metabólica y estrés oxidativo. Las nanopartículas de plata redujeron el contenido celular de ATP causando daño a la mitocondria e incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) de acuerdo a la dosis manejada. El daño del DNA fue medido mediante un gel de electroforesis y prueba de “cytokinesis blocked micronucleus assay” (CBMN), la cual fue también dependiente de la dosis utilizada y más prominente en las células cancerígenas. El tratamiento con nanopartículas causó un arresto del ciclo celular en la fase G<sub>2</sub>/M posiblemente tratando de reparar el daño del DNA. Se mostró una masiva apoptosis y necrosis. El análisis al microscopio electrónico de transmisión (TEM por sus siglas en inglés) indicó la presencia de nano partículas de plata dentro de la mitocondria y el núcleo, implicando su involucramiento directo en la toxicidad de la mitocondria y el daño del DNA. Un posible mecanismo de toxicidad es propuesto el cual involucra la interrupción de la cadena respiratoria mitocondrial permitiendo la producción de ROS y la interrupción de síntesis de ATP, lo cual causa daño en el DNA. (P.V. AshaRani y cols 2009).

## 4. MATERIALES Y EQUIPO

### 4.1 Materiales

- ✓ Carboximetilcelulosa de viscosidad grado reactivo de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO)
- ✓ Nitrato de plata grado reactivo de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO)
- ✓ Agua desionizada
- ✓ Mini implantes de titanio marca infinitas<sup>TM</sup> (DB Orthodontics, United Kingdom)
- ✓ Óxido de aluminio 90  $\mu\text{m}$  marca TruEtch (Ortho Technology, Tampa, Florida, USA)

### 4.2 Equipo

- ✓ SEM (Microscopio electrónico de barrido, marca FEI, modelo FEG NOVA NanoSEM)
- ✓ TEM (Microscopio electrónico de transmisión, marca FEI, modelo Titan G2 80-300).
- ✓ Espectrofotómetro (marca Perkin-Elmer, modelo Lambda 35)
- ✓ Estufa
- ✓ Balanza analítica (BOECO GERMANY BBL31)
- ✓ Micropipetas
- ✓ Termogravimétrico (PerkinElmer STA 6000)

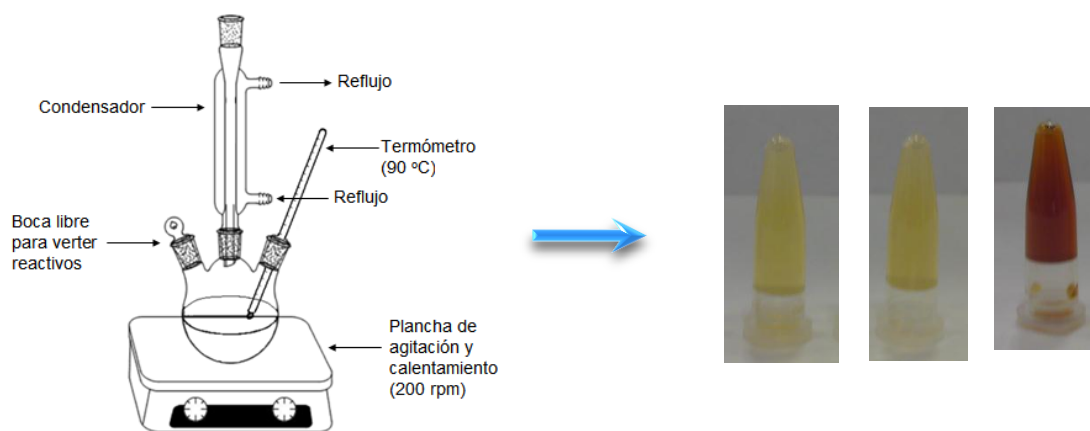
## 4.3 Metodología

### 4.3.1 Preparación del compuesto de nanopartículas en carboximetilcelulosa

1. Se preparó una disolución stock de CMC con DS = 1.2 al **15 mg/mL**.
2. Se agregaron **20 mL** de disolución de CMC a un matraz de tres bocas y se agitó vigorosamente a temperatura ambiente.
3. Se preparó una disolución de  $\text{AgNO}_3$  al **0.482 mg/mL**, se la siguió de la siguiente manera:
  - Se disolvieron **96.4 mg**  $\text{AgNO}_3$  en agua desionizada y se aforó a 10 mL para obtener disolución de la sal a  $[\text{AgNO}_3] = \mathbf{9.64 \text{ mg/mL}}$ .
  - Se tomó **1 mL** de esta disolución y se aforó a 10 mL para obtener disolución de la sal a  $[\text{AgNO}_3] = \mathbf{0.964 \text{ mg/mL}}$ .
  - Se tomaron **5 mL** de esta disolución y se aforó a 10 mL para obtener disolución de la sal a  $[\text{AgNO}_3] = \mathbf{0.482 \text{ mg/mL}}$ .
4. Se agregó 10 mL de disolución de sal al  $[\text{AgNO}_3] = \mathbf{0.482 \text{ mg/mL}}$ , preparada en el paso anterior, al reactor con CMC y se incrementó su temperatura a 90 °C. La reacción se mantuvo en reflujo durante 24 hrs.



5. Se dejó enfriar la muestra resultante bajo condiciones de ambiente y se aforo a **50 mL** con agua desionizada para obtener una concentración **[Ag] = 0.06 mg/mL**.
6. Se caracterizó la muestra resultante por UV-Vis y TEM.
7. Se purificó durante 24 hrs utilizando una membrana de celulosa en agua desionizada.



#### 4.3.2 Caracterización del nanocompósito

Las muestras sintetizadas fueron caracterizadas por técnicas de microscopía electrónica de transmisión, tales como campo claro (BF, por sus siglas en inglés), difracción electrones (SAED, por sus siglas en inglés) y microscopia electrónica de barrido en transmisión (STEM, por sus siglas en inglés), así como también por la técnicas de espectroscopia de ultravioleta-visible (Uv-vis).

#### **4.3.2.1. Microscopia electrónica de transmisión**

El estudio por microscopia electrónica de transmisión del nanocompósito sintetizado se realizó con la finalidad de observar la estructura cristalina y morfología de las partículas sintetizadas en el medio biopolimérico. Para este estudio, una alícuota de la muestra fue depositada en una rejilla de cobre, de malla 200 que se encuentra recubierta con una película de carbón amorfo, con un patrón denominado lacey por el fabricante (EMS, Electron Microscopy Sciences). La caracterización de las muestras fue conducida en un microscopio electrónico modelo Titan G2 80-300, marca FEI a un voltaje de aceleración de 300 kV bajo condiciones de alto vacío.

#### **4.3.2.2 Espectroscopia de ultravioleta-visible**

La caracterización por espectroscopia de ultravioleta-visible se realizó con la finalidad de estimar la eficiencia de la reacción una vez transcurrido el tiempo establecido para la reacción de reducción de la plata en el medio biopolimérico. Para este estudio, 4 mL de las muestras, en forma de dispersión acuosa, fueron medidas en el, utilizando un intervalo de longitudes de onda de entre 200 y 900 nm. Asimismo, se obtuvo, utilizando este intervalo, el espectro correspondiente al nitrato de plata, en forma de disolución acuosa, utilizado para la síntesis de los nanocompósitos preparados.

### **4.3.3 Acondicionamiento de solución y mini implantes**

#### **4.3.3.1 Prueba de determinación del tiempo requerido para la deposición de las nanopartículas**

Muestras de mini implantes fueron sumergidas en solución de CMC-AgNp durante 3, 6, 8 y 30 días (3 mini implantes en cada tiempo) a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo los mini implantes se retiraron de la solución y fueron colocados en la estufa durante 30 minutos a 65°C para ser secados.

#### **4.3.3.2. Prueba de determinación del tratamiento de la superficie mediante el arenado de los mini implantes para la deposición de las nanopartículas.**

Muestras de mini implantes Infinitas fueron arenados en su superficie con partículas de óxido de aluminio de 90  $\mu\text{m}$  con la finalidad de crear una superficie porosa para posteriormente ser sumergidas en solución de CMC-AgNp durante 6 días (tiempo que fue el ideal estimado para la depositación de las nanopartículas de plata). Posteriormente fueron colocados durante 30 min en la estufa para su secado a 65°C.

#### **4.3.4 Caracterización y análisis de la adherencia del nanocompósito sobre mini implantes mediante SEM y XEDS**

Se utilizó microscopía electrónica de barrido para determinar la efectividad de la adhesión de las nanopartículas y mediante XEDS se ratificó la presencia de plata mediante la composición química. Este estudio fue conducido fijando los mini-implantes, impregnados y sin impregnar, a portamuestras para SEM mediante el uso de una cinta de grafito de doble cara. Posteriormente, los portamuestras fueron introducidos a la cámara del microscopio, la cual fue posteriormente cerrada para extraerle el aire y crear las condiciones de vacío necesarias para la operación de microscopio. Las muestras fueron analizadas a voltajes de aceleración de 10, 15 y 20 kV, utilizando las señales de electrones secundarios y retrodispersados, en un Nova NanoSEM FEG, marca FEI.

#### **4.3.5 Determinación de la concentración de nanopartículas de plata depositadas sobre los mini implantes.**

La determinación de la cantidad de nanopartículas de plata que se depositaron sobre los mini implantes se realizó mediante 3 métodos diferentes: determinación mediante balanza analítica, determinación

mediante el análisis de absorbancia en el espectroscopio y mediante el análisis por Termogravimetría (TGA).

#### **4.3.6 Determinación mediante balanza analítica**

Los mini implantes fueron pesados en una balanza analítica de la serie PCE-LS antes de ser colocados en un 1 ml de la solución de CMC-AgNp medido mediante una micropipeta, se dejaron en la solución durante 6 días (tiempo que fue el ideal estimado para la deposición de las nanopartículas de plata). Transcurrido el tiempo se dejaron escurrir completamente durante 10 minutos, se hicieron mediciones del peso de los tornillos en la misma balanza analítica cada hora hasta que ya no hubo variación en el peso, para comprobar de ésta manera si hubo variación en el peso antes y después de la deposición de las nanopartículas (secado hasta peso constante).

#### **4.3.7 Determinación mediante el análisis de absorbancia en el espectroscopio**

Se midió la absorbancia mediante espectroscopia UV de la solución de CMC-AgNp antes de sumergir en ella los mini implantes con la finalidad de determinar la concentración de nanopartículas de plata, posterior a la

deposición durante días teniendo mucha precaución se sacó el tornillo y se escurrió durante 10 min la solución sobre el mismo recipiente con la solución al que se le había medido la absorbancia para inmediatamente después de la deposición volver a realizar el análisis de absorbancia y poder comparar si hubo algún cambio en la concentración de nanopartículas en la solución.

#### **4.3.8 Análisis termogravimétrico (TGA)**

La termogravimetría es un tipo de análisis térmico que examina la variación de la masa de una muestra como una función de la temperatura en el modo de escaneo o como una función de tiempo en el modo isotérmico. Se utiliza para caracterizar la descomposición y la estabilidad térmica de los materiales bajo una variedad de condiciones y para examinar la cinética de los procesos fisicoquímicos que se producen en la muestra. (T. Hatakeyama, 1999)

Se determinó el peso de los mini implantes antes de la deposición de las nanopartículas, mediante el TGA. Las mediciones se realizaron desde una temperatura inicial de 25 °C hasta una temperatura de 500 °C con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min con la finalidad de eliminar en su

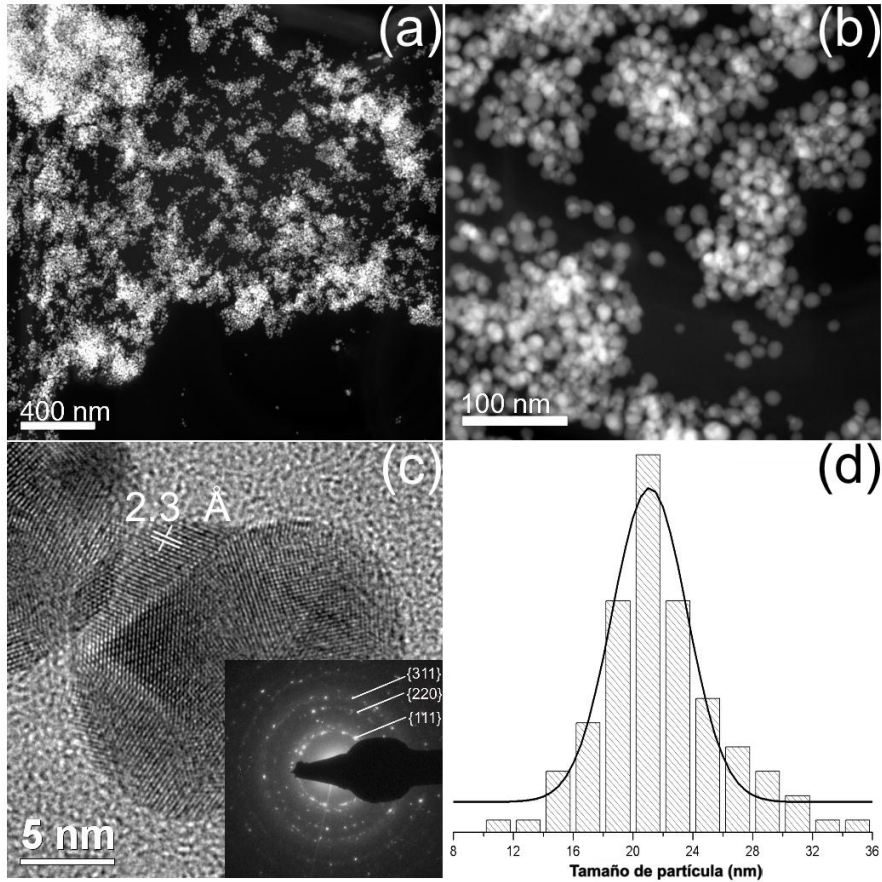
totalidad la humedad que pudiera contener el mini implante y que el peso final fuera solo del mini implante, éste proceso se repitió 3 veces para cada mini implante. Posteriormente los mismos mini implantes fueron sometidos al proceso de deposición de las nanopartículas, se secaron en la estufa durante 30 minutos y se realizaron las mediciones del peso mediante el mismo procedimiento es decir mediante el TGA colocando las muestras desde una temperatura inicial de 25 °C hasta una temperatura de 500 °C con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min con la finalidad de eliminar en su totalidad la humedad que pudiera contener el mini implante y que el peso final fuera solo del mini implante y las nanopartículas en su superficie para poder restar el peso inicial (antes de la deposición)

## RESULTADOS

### 5.1 Caracterización del material nanocompuesto Ag CMC

La Figura 1 muestra las características cristalinas y morfológicas de las nanopartículas de plata sintetizada, utilizando la CMC como agente reductor y de estabilización de tamaño. La Figura 1(a) y (b) muestran imágenes obtenidas por la técnica de contraste en Z (STEM), a bajas y altas magnificaciones, respectivamente, y en donde es posible observar una alta densidad de nanopartículas cuasi-esféricas (estructuras brillantes), que aparentan estar dispuestas en la matriz de CMC. Más aún, como lo sugieren estas imágenes, la distribución de tamaño de éstas es estrecha, con un valor central 21 nm y una desviación estándar de 5 nm. Lo anterior es confirmado por la Figura 1(d), en donde se muestra el gráfico de dicha distribución. Asimismo, la Figura 1(c) muestra una imagen obtenida por la técnica de campo claro (BF), en donde se observa nanopartícula, cuyo arreglo cristalino puede identificarse como congruente con el reportado para la familia de planos {311} (véase la medición de distancia interplanar) de la estructura cristalina de la plata. Más aún, como lo muestra el inserto en esta figura, correspondiente a un patrón de difracción de electrones, es posible identificar reflexiones correspondientes a las familias de planos {111}, {220} y {311} reportadas para la plata.

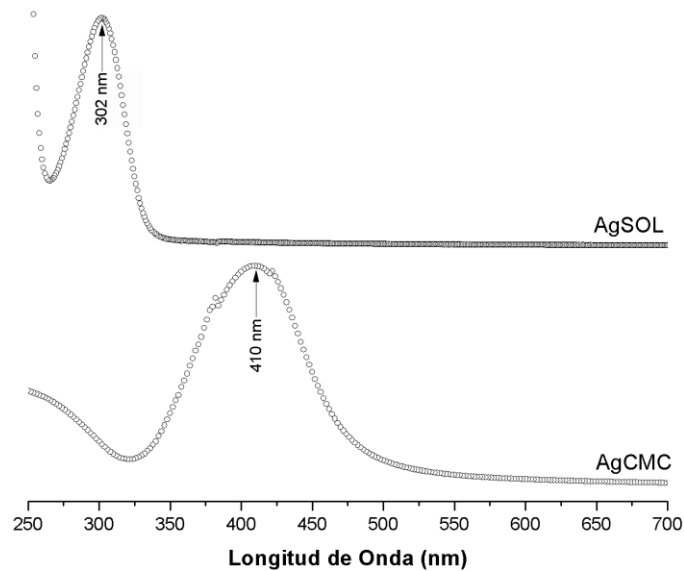




**Figura 2.** Imágenes de TEM obtenidas del material nanocompósito: (a) imagen de STEM en que se muestran cúmulos de nanopartículas; (b) imagen de STEM en que se observa, a más altas magnificaciones, cuatro de estos cúmulos; (c) imagen de BF en que se observa a altas magnificaciones, la cristalinidad de una de las nanopartículas de este material [inserto: patrón de difracción de electrones, obtenido de la zona mostrada en (b)]; (d) distribución de tamaño de partícula obtenida para este material.

En la Figura 2 muestra los espectros de UV-vis obtenidos del material nanocomposito sintetizado (AgCMC) y de la disolución de nitrato de plata

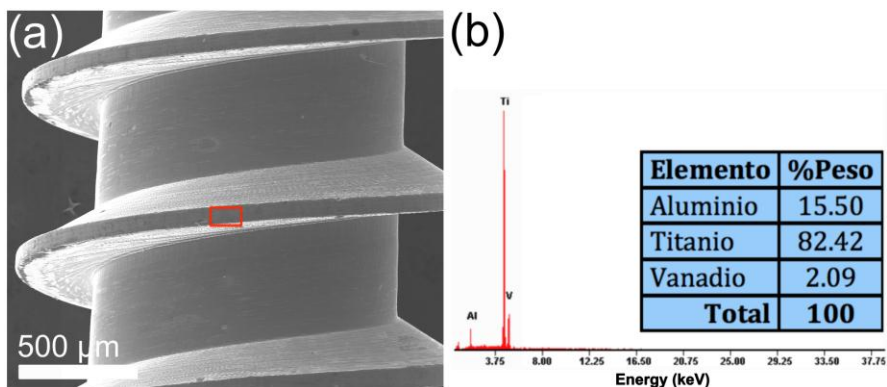
(AgSOL) utilizada como precursor para su síntesis. Como se observa, la curva correspondiente a AgCMC no muestra bandas atribuibles a la excitación del ion  $\text{Ag}^+$ , como la mostrada a 302 nm en el espectro de AgSOL. En su lugar se puede notar una banda a 410 nm, misma que puede atribuirse al fenómeno de resonancia plasmónica a la superficie de las nanopartículas de plata; la resonancia plasmónica esta relacionada a la absorción de radiación electromagnética de cierta frecuencia, que provoca la vibración síncrona de un gran número de electrones en la banda de conducción de un metal. Este resultado indica que la totalidad de los iones  $\text{Ag}^+$  agregados a la reacción fueron reducidos a  $\text{Ag}^0$ .



**Figura 2.** Espectros de UV-vis obtenidos de la disolución de nitrato de plata (AgSOL) utilizada en la síntesis del material nanocompuesto, y el medido de dicho material (AgCMC).

## 5.2 Análisis de la adherencia del nanocompósito AgCMC al mini-implante

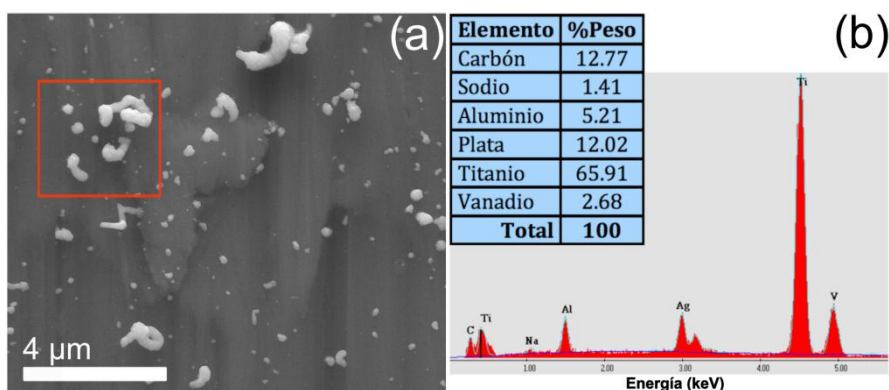
La Figura 3 muestra la topografía y composición química del mini-implante antes de ser inmerso en la disolución de material nanocompósito. La Figura 3(a) muestra un imagen a bajas magnificaciones (80 X) del mini-implante. Asimismo, en la Figura 3(b) se observa el espectro EDS obtenido de la zona indicada en (a). Como se muestra, la composición del mini-implante es esencialmente la de una aleación de titanio, convencionalmente usada en aplicaciones medicas.



**Figura 3.** Imágenes de SEM obtenidas del mini implante antes de sumergirse en la disolución de material nanocompósito: (a) imagen obtenida a 80 X en la que se observan la topografía del mini-implante; (b) espectro de XEDS y tabla de composición de la zona indicada en (a).

### 5.2.1 Muestras 3 días

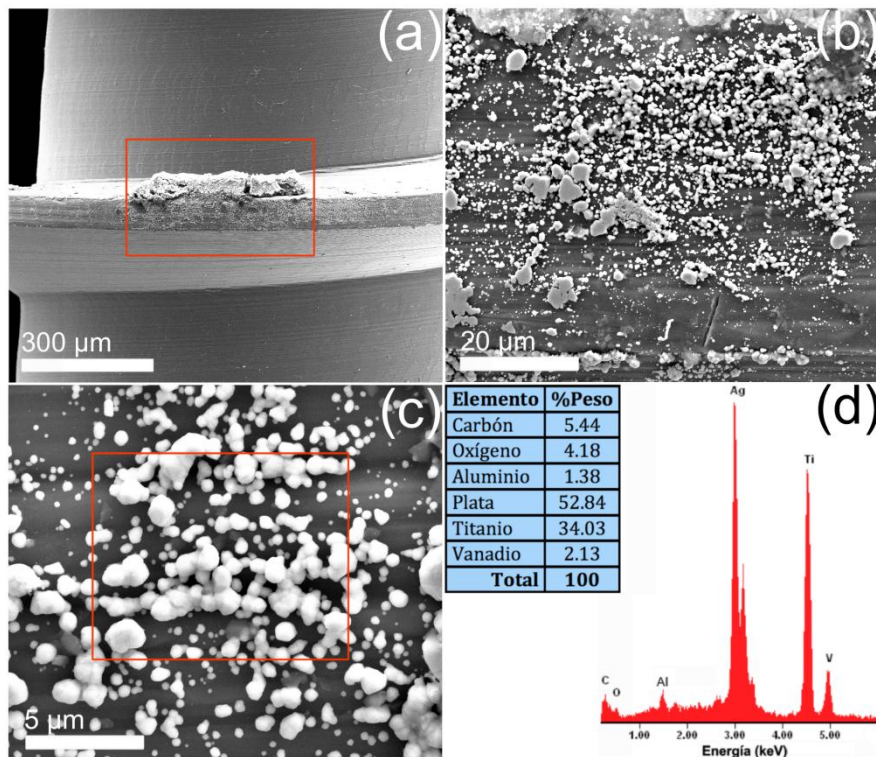
La Figura 4 muestra imágenes de SEM del mini implante que fue sumergido en la disolución de material nanocompósito por un periodo de 3 días. La Figura 4(a) muestra una imagen en la que se pueden apreciar algunos agregados de partículas dispersas en el mini implante. Asimismo, la Figura 4(b) muestra el espectro obtenido por la técnica de XEDS, de la zona indicada en la Figura 4(a). En este espectro es posible notar la presencia de señales atribuibles a plata, aunque, el contenido en peso obtenido de esta zona es primordialmente el de los elementos presentes en la composición del mini implante, titanio y vanadio. Asimismo, es posible detectar trazas de carbón y sodio, atribuibles a la matriz de CMC, en la cual las nanopartículas de plata se hallan embebidas.



**Figura 4.** Imágenes de SEM obtenidas del mini implante sumergido en la disolución de material nanocompósito por 3 días: (a) imagen a magnificación de 20 000 X en la que se observan la morfología de los agregados de partículas adheridos en el mini implante; (b) espectro de XEDS y tabla de composición de la zona indicada en (a).

### **5.2.2 Muestras 6 días**

La Figura 5 muestra imágenes de SEM del mini implante que fue sumergido en la disolución de material nanocompósito por un periodo de 6 días. La Figura 5(a), muestra, a bajas magnificaciones, la zona del mini-implante en la que el material nanocompósito se encuentra adherido (véase zona indicada en el cuadro rojo). Asimismo, la Figura 5(b) muestra una gran cantidad de agregados de partículas, que se ubican en la zona indicada en (a). En la Figura 5(c) es posible observar la morfología de dichos agregados, misma que es análoga a la de los agregados de gran tamaño observado en la Figura 1(a). El estudio de la composición química, de la zona indicada en la Figura 5(c), revela un importante contenido en peso de plata, así como de titanio y vanadio, atribuible a la composición reportada por el fabricante del mini implante [véase Figura 4(d)]. De igual manera, es posible detectar trazas de carbón, atribuibles a la matriz de CMC.

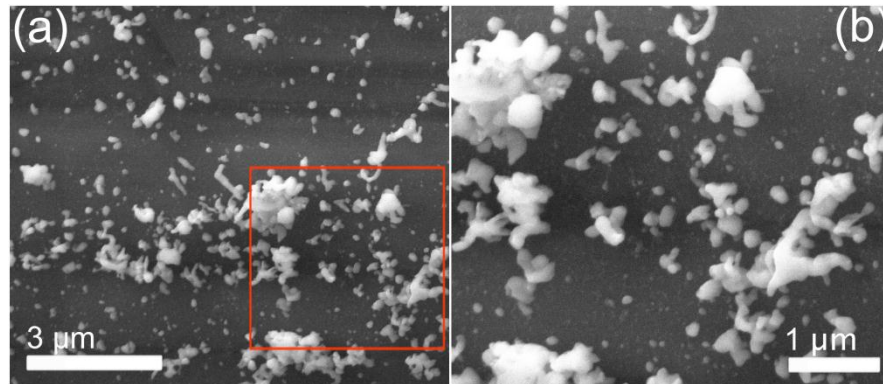


**Figura 5.** Imágenes de SEM obtenidas del mini-implante sumergido en la disolución de material nanocompuesto por 6 días: (a) imagen obtenida a bajas magnificaciones (150 X), en donde se indica la zona que se encuentra impregnada de material nanocompuesto; (b) imagen a magnificación de 2 000 X obtenida de la zona indicada en (a); (c) imagen obtenida, a altas magnificaciones (8 000 X), de los agregados de nanopartículas observados en (b); (d) espectro de XEDS y tabla de composición de la zona indicada en (c).

### 5.2.3 Muestra de 8 días

La Figura 6 muestra imágenes de SEM obtenidas del mini implante sumergido en la disolución de material nanocompuesto por 8 días. De manera análoga a lo observado en los mini implantes sumergidos 4 y 6 días, la imágenes 6(a) y 6(b) revelan que el material impregnado en este mini implante esta compuesto de partículas agregadas en torno a una

matriz. Asimismo, se observa una densidad de material impregnado similar a la observada en el mini implante sumergido por 6 días.



**Figura 6.** Imágenes de SEM obtenidas del mini implante sumergido en la disolución de material nanocompósito por 8 días: (a) imagen obtenida a bajas magnificaciones (15 000 X), en donde se observan agregados de partículas impregnados en el mini implante; (b) imagen a magnificación de 30 000 X tomada de la zona indica en (a).

### **5.3 Acondicionamiento de solución y mini implantes**

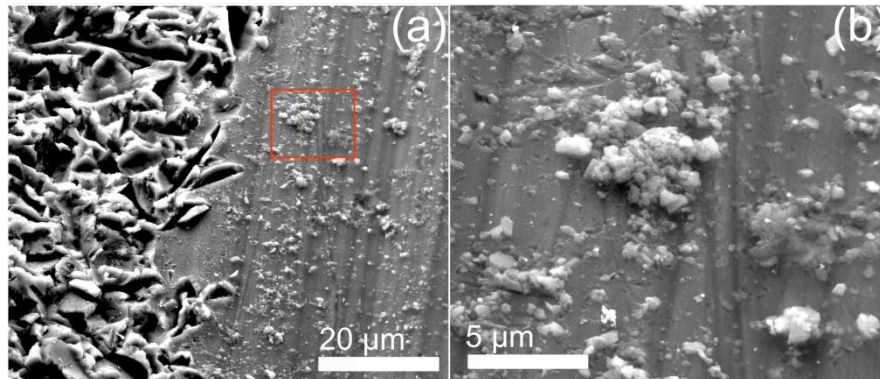
#### **5.3.1 Prueba de determinación del tratamiento de la superficie de los mini implantes para la depositación de las nanopartículas.**

Por otro lado, a fin de promover una mejor adherencia del material nanocompósito al mini implante, se optó por el arenado de una muestra de estos, para posteriormente sumergirlo en la disolución de material AgCMC.

La Figura 7 muestra imágenes de SEM obtenidas del mini implante sometido al proceso de arenado y sumergido en la disolución de material



nanocompósito por un periodo de 6 días. La Figura 7(a) muestra, a bajas magnificaciones (2 000 X), la morfología de la zona del mini implante que fue arenada, así como también el material AgCMC adherido a ella. La Figura 7(b) muestra que la morfología del material adherido es análoga a la observada en los mini implantes que no fueron arenados, así como que la densidad de material nanocompósito en la zona impregnada es similar a la observada en el que se sumergió durante el mismo periodo de tiempo, sin arenar, en la disolución mencionada, imagen a magnificación de 8 000 X.



**Figura 7.** Imágenes de SEM obtenidas del mini implante sometido al proceso de arenado y sumergido en la disolución de material nanocompósito por un periodo de 6 días: (a) imagen obtenida a bajas magnificaciones en donde se observa material nanocompósito adherido al mini implante; (b) imagen que muestra la zona indicada en (a).

#### **5.4 Determinación de la concentración de nanopartículas de plata depositadas sobre los mini implantes.**



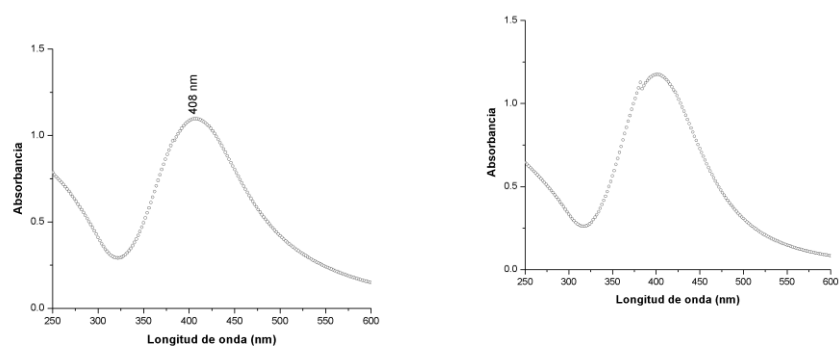
### 5.4.1 Determinación mediante balanza analítica

Con la finalidad de estimar la cantidad de material nanocompósito adherido al mini-implante, se optó por el pesado de éstos antes y después de la depositación del dicho material. La tabla 1 muestra los resultados de la medición del peso de los mini-implantes utilizados. Como se observa, mediante esta técnica no fue posible observar una variación significativa en el peso medido en ambos casos. Debido a ello, se optó por realizar una medición más precisa de la cantidad de material nanocompósito adherido a los mini-implantes, utilizando la técnica de espectroscopia de ultravioleta.

Tornillo	Antes de sumergir	A las 3 hrs	A 1 hr en la estufa	A 1 hr en la estufa2	A 1 hr en la estufa3	A 1 hr en la estufa4
1	0.1350 g	0.1352	0.1352	0.1350	0.1350	0.1350
	0.1350 g	0.1353	0.1353	0.1350	0.1350	0.1350
	0.1351 g	0.1353	0.1352	0.1349	0.1350	0.1350
2	0.1342 g	0.1344	0.1344	0.1344	0.1344	0.1344
	0.1342 g	0.1344	0.1344	0.1344	0.1344	0.1344
	0.1342 g	0.1345	0.1344	0.1343	0.1343	0.1343
3	0.1344 g	0.1344	0.1345	0.1345	0.1345	0.1345
	0.1344 g	0.1343	0.1345	0.1344	0.1344	0.1344
	0.1344 g	0.1345	0.1345	0.1345	0.1345	0.1345

#### 5.4.2 Determinación de la concentración de nanopartículas de plata mediante espectroscopia de ultravioleta-visible (Uv-vis).

La Figura 8 muestra los espectros de UV-vis, adquiridos de la muestra de material nanocompósito antes y después de sumergir el mini implante durante 6 días. Como se observa, no existe diferencia significativa en la magnitud de la absorbancia en la banda relacionada a la SPR de las nanopartículas de plata. Lo anterior sugiere que la cantidad de nanopartículas de plata adheridas al mini implante es tan pequeña que la resolución que esta técnica brinda no es suficiente para cuantificarla de manera precisa. En dicho caso, se recurrió al pesado de los mini-implantes en una termobalanza.



### 5.4.3 Análisis de termogravimetría

La Figura 9 muestra la gráfica de la diferencia de peso entre el mini implante con y sin depósito que corresponde precisamente a la cantidad de material depositado durante la inmersión del mini-implante en la disolución del nanocompósito, apreciándose un peso inicial de 8.34 mg. En la Figura 10 se muestra un acercamiento, en el intervalo mostrado, de la Figura 9, en donde se puede apreciar como el peso de la muestra, luego de su secado a 100 °C, se estabiliza en 0.08 mg.

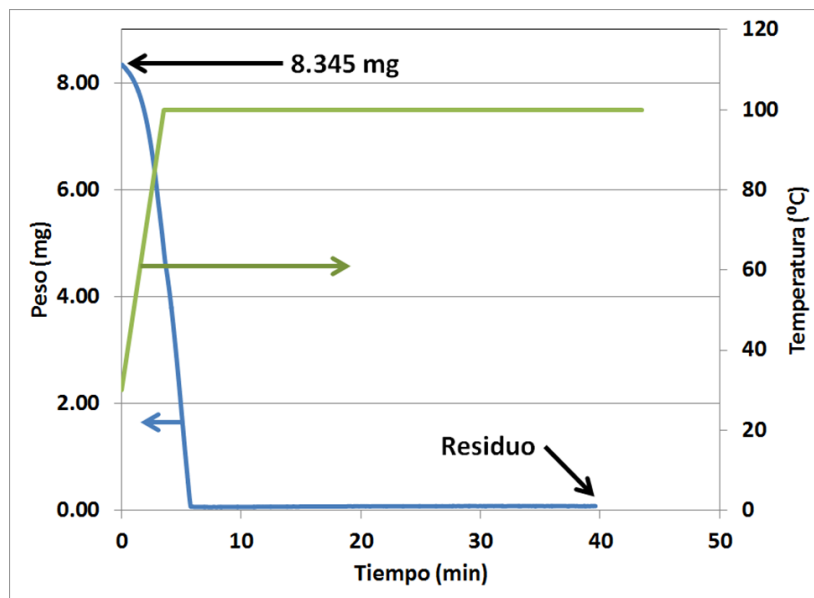


Figura 9. Curva termogravimétrica de la diferencia de peso entre el mini implante recubierto y sin recubrir.

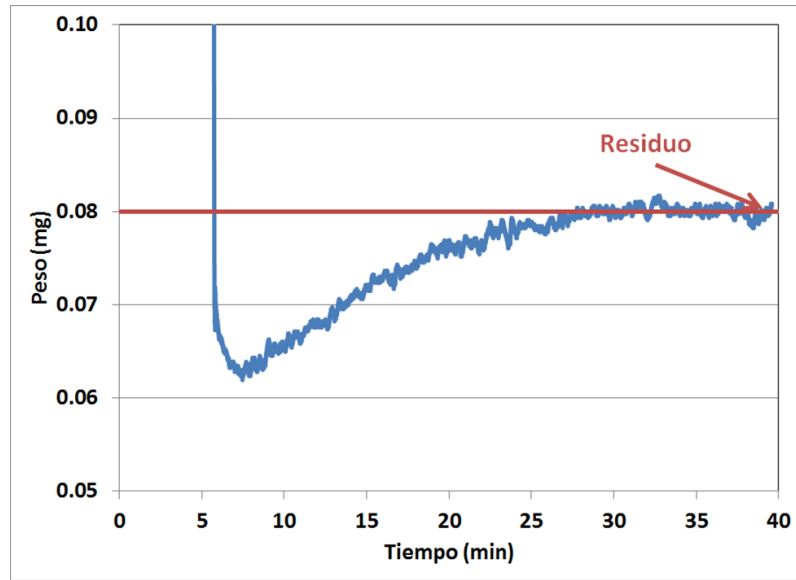


Figura 10. Zoom de la curva termogravimétrica de la figura 9 mostrando el peso residual.

## 5. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos por microscopía electrónica de transmisión y sus técnicas relacionadas, tales como STEM y SAED, sugieren la existencia de nanopartículas de plata embebidas en la matriz de CMC, cuya morfología es cuasi-esférica y que muestran un tamaño de  $21 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$ ., de acuerdo a la distribución obtenida de su medición aunque se pudieron encontrar también formando agregados. El espectro de UV-vis demostró que la totalidad de los iones  $\text{Ag}^+$  agregados a la reacción fueron reducidos a  $\text{Ag}^0$  lo cual significa que el nitrato de plata se convirtió en nano partículas de plata.

Este hecho es apoyado por los resultados obtenidos por la técnica de espectroscopía de ultravioleta, en donde fue posible observar una banda atribuible al SPR reportado para las nanopartículas de plata.

Por otro lado, como lo sugiere el estudio por microscopía electrónica de barrido de los mini-implantes impregnados con el material nanocompósito, la adhesión de dicho material resulto ser efectiva en zonas como los hilos de los mini-implantes e invariable con respecto a su acondicionamiento mediante arenado.

Asimismo, como lo indican los resultados de la determinación de la cantidad de material nanocompósito impregnado en los mini-implantes, la concentración de nanopartículas de plata adheridas a estos fue tan mínima que fue imposible establecerla de manera confiable mediante las técnicas empleadas para este cometido.

Al respecto encontramos que el peso inicial de 8.345 mg, (Fig 9), indica la cantidad de nanocompósito depositado en el mini implante más agua enlazada posiblemente absorción y adsorción (puentes hidrógeno polímero – H<sub>2</sub>O y Ag – H<sub>2</sub>O), ya que se puede apreciar que al calentar a 100 °C se pierde rápidamente casi toda la masa depositada, siendo necesario re-escalar la gráfica para observar que el residuo es menor a 0.1 mg (Figura 10) magnitud que está en los límites de la resolución del equipo.

Haciendo los cálculos pertinentes (Ecs. 1 – 3) para determinar el espesor que tendrían películas de CMC-AgNp a partir del peso de la película (datos de termogravimetría), sobre un mini implante simplificado (Fig. 11), usando para tal efecto la densidad del compuesto,

$$A_1 = \pi D_1 H_2 + \pi D_2 (H_1 - H_2) \quad \text{Para el cálculo de áreas en secciones tubulares}$$

[1]

$$A_2 = \frac{\pi D_1 - \pi(D_2 + e)}{2} \quad \text{Para el cálculo del área en secciones cónicas}$$

[2]

$$V_T = A_T e \quad \text{Para el cálculo del volumen}$$

[3]

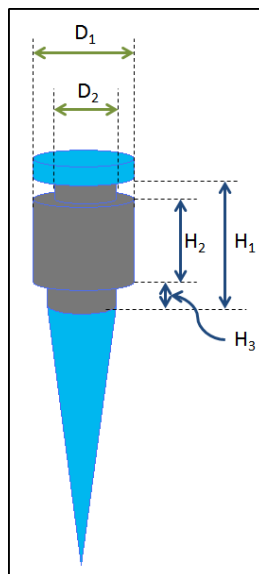


Figura 11. Esquema del mini implante para cálculos de espesor de película o depósito.

Donde las dimensiones del mini implante D1, D2, H1 y H2 se muestran en la figura 003 y “e” es el espesor de la película, encontrando que el espesor calculado para 0.08 mg de nanocompósito es de 593 nm, película que

contendría 0.00079 mg de nanopartículas de plata. Debido a que estas magnitudes están en el límite de la sensibilidad del equipo, solo podemos asegurar que la película depositada tiene un espesor menos a los 593 nm y contiene una cantidad de plata menor a  $8e-4$  mg de plata.

Lo anterior a punta a que la concentración de nanopartículas de plata adheridas efectivamente al mini-implante es bastante inferior a la de éstas en la disolución de material nanocompuesto que se uso para impregnarlos (60 ppm). Más aún, sugiere que, a reserva de los resultados que pudiera arrojar el estudio de su citotoxicidad, los mini-implantes impregnados tienen potencial de aplicarse como remedio para prevenir la peri-implantitis en virtud de las bien conocidas propiedades bactericidas de la plata (Jain J y cols., 2009, Asharani PV y cols., 2009).

La carboximetilcelulosa es un poli sacárido natural compuesto por grupos carboximetil, enlazados a algunos grupos hidroxilos presente en polímeros de la glucopiranososa. Demostró ser un buen agente reductor y estabilizador del nanocompuesto similar a otros biopolímeros que se han utilizado como el almidón (Torres A. y cols., 2009) o el quitosán (Travan A y cols., 2009). El cuál ha demostrado tener una muy buena efectividad en contra de bacterias tanto Gram + como Gram -. Se ha demostrado de polímeros como el quitosán no posee efectos citotóxicos sobre tres diferentes líneas



de células eucariotas, esto por el hecho de que las nanopartículas, inmovilizadas en la matriz del polímero, pueden excretar sus propiedades antimicrobianas por simple contacto con la membrana de las bacterias, mientras que no pueden ser introducidas al interior de las células eucariotas. (Travan A y cols., 2009)

La liberación de plata es activa en contra de microorganismos que son comúnmente responsables de infecciones, proponemos que la deposición de nanopartículas de plata sobre los mini tornillos nos brinde una protección local en contra de infecciones sin riesgo de toxicidad sistémico dada la matriz polimérica en la que se encuentran las nanopartículas.

La plata ha sido conocida por sus propiedades antimicrobianas en últimas décadas (Jain J y cols., 2009, Asharani PV y cols., 2009). Éstas propiedades antimicrobianas son atribuibles a que las nanopartículas alteran la estructura de la membrana mediante la adición del sulfuro a las proteínas que contiene la membrana plasmática celular produciendo daño a la membrana celular de la bacteria (Asharani PV y cols., 2009). El 1988 Maki propuso el uso de recubrimiento de una matriz de colágeno biodegradable con plata para prevenir la colonización bacteriana. (Maki DG y cols., 1988) desde entonces se han reportado diferentes métodos para recubrir materiales con plata que se utilizan en el área médica como

catéteres (Roe D y cols., 2008) lentes de contacto (Santoro CM y cols., 2007) y otros dispositivos médicos (Samuel U y cols. 2004, Bosetti M y cols., 2002). La plata es un agente antiséptico que ha sido efectivo en una variedad de materiales, incluyendo vidrio, polímero y titanio. (Gibbins B y cols., 2005)

Se han desarrollado diferentes métodos para crear dispositivos como por ejemplo catéteres que sean capaces de liberar plata. Éstos métodos pueden ser deposición mediante un haz de electrones, y distribución submicrónica de partículas metálicas de plata en la matriz de poliuretano del catéter (Sioshansi P., 1994) y la impregnación del catéter con nanopartículas utilizando dióxido de carbono supercrítico (Sioshansi P., 1994). Sin embargo éstos métodos son complicados y caros, así que actualmente se buscan alternativas para la deposición directa de las nanopartículas sobre superficies metálicas como las de titanio (Liao Juan Zhu y cols., 2010) que reduzca el costo del proceso, que sean efectivas y que el proceso no sea complicado, lo cual se propone con la elaboración de éste trabajo.

Las imágenes obtenidas del SEM mostraron las nanopartículas esparcidas sobre la superficie de los mini tornillos formando grumos, sin embargo no se observó una capa completamente homogénea sobre toda la superficie,

tal como lo reportaron Liao Juan y cols. al recubrir discos de titanio con nanopartículas de plata, también observaron que las nanopartículas se encontraban esparcidas sobre la superficie del titanio con un diámetro aproximado de 100 nm. Las nanopartículas de plata formaron agregados y no se observó una cubierta homogénea. (Liao Juan Zhu y cols., 2010)

## 7 CONCLUSIONES

En éste trabajo se logró exitosamente la obtención de un nanocompósito basado en nanopartículas de plata, reducidas y estabilizadas en una matriz del biopolímero CMC. Mediante la metodología seguida para su síntesis fue posible obtener una distribución de tamaño aceptable, así como también un material bastante estable en suspensión acuosa.

En este trabajo de investigación también fué posible recubrir mini-implantes dentales, lo cual posiciona a este material como candidato idóneo para su aplicación en terapias con las que se busca aminorar las reacciones inmunes y microbianas resultantes de las practicas odontológicas en las que éstos son indispensables.

El rol de la carboximetilcelulosa no fue solo de agente reductor sino también de agente estabilizador del nanocompósito, teniendo una distribución más o menos homogénea con un diámetro aproximado de 21 nm  $\pm$ 5 nm.

La reproducción y la distribución del tamaño junto con una estabilidad demostrada de las nanopartículas a través del tiempo fueron obtenidas de manera satisfactoria.

Se logró la reducción completa del nitrato de plata a plata elemental utilizando a la carboximetilcelulosa como agente reductor y estabilizador.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aderem, A., and Underhill, D.M 1999; **Mechanisms of phagocytosis in macrophages.** Annu. Rev Immunol.; 17:593-623.

Akin-Nergiz N, Nergiz I, Schulz A, Arpak N, Niedermeier W. 1998; **Reactions of peri-implant tissues to continuous loading of osseointegrated implants.** Am J Orthod Dentofacial Orthop.; 114(3):292-8.

Alejandro Torres-Castro, Virgilio A. González González, Marco Garza Navarro, Edgar Gauna González. 2011; **Síntesis de nanocompósitos de plata con almidón.** Ingenierías; 14(50).

Andrea Mombelli 2002; **Microbiology and antimicrobial, therapy of peri-implantitis.** Periodontology 2000; 28:177–189.

Asharani PV, Hande MP, Valiyaveetil S.BM. 2009; **Anti-proliferative activity of silver nanoparticles.** C Cell Biol.; 10:65.

Beutler, B., and Rietschel, E.T. 2003; **Innate immune sensing and its roots: the story of endotoxine.** Nat, Rev. Immunol.; 3:169-176.

Bosetti M, Massè A, Tobin E, Cannas M. 2002; **Silver coated materials for external fixation devices: in vitro biocompatibility and genotoxicity.** Biomaterials; 23:887–92.

Claudia E, Gutiérrez Wing. **Las nanopartículas: pequeñas estructuras con gran potencial ¿Por qué el interés en estos materiales? Que aplicaciones tienen?.** El ININ hoy p24-29

Colleen M. Santoro, Nicole L. Duchsherer, and David W. Grainger 2007; **Antimicrobial efficacy and ocular cell toxicity from silver**

Commander Brett Metcalf, DC and Commander Matthew J. Gramkee, DC. 2008; **Peri-implant mucositis and peri-implantitis: incidence, etiology, diagnosis and treatment.** Clinical Update Naval Postgraduate Dental School National Naval Dental Center Bethesda; 30(3).

Daeyon Lee, Robert E. Cohen, Michael F. Rubner. 2005; **Antibacterial properties of Ag Nanoparticle loaded multilayers and formation of magnetically directed antibacterial microparticles.** Langmuir; 21, 9651-9659.

De Pauw GA, Dermaut L, De Bruyn H, Johansson C 1999; **Stability of implants as anchorage for orthopedic traction.** Angle Orthod.; 69(5):401-7.

Florvaag B, Kneuertz P, Lazar F, Koebke J, Zöller JE, Braumann B, Mischkowski RA. 2010; **Biomechanical properties of orthodontic miniscrews. An in-vitro study.** J Orofac Orthop.; 71(1):53-67.

Frank Schwarz & Katrin Bieling & Martin Bonsmann & Thilo Latz & Jürgen Becker 2006; **Nonsurgical treatment of moderate and advanced periimplantitis lesions: a controlled clinical study.** Clin Oral Invest; 10:279–288.

Gibbins B, Warner L. 2005; **The role of antimicrobial silver nanotechnology.** Portland, OR: AcryMed Inc.; 2005.  
<http://www.devicelink.com/mddi/archive/05/08/005.html>

Harrison, R.E., and Grinstein, S. 2002; **Phagocytosis and the microtubule cytoskeleton.** Biochem. Cell Biol.; 80:509-515.

Humberto H. Lara Nilda V. Ayala-Nuñez, Liliana del Carmen Ixtepan Turrent, Cristina Rodriguez Padilla 2010; **Bactericidal effect of silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria.** World J Microbiol Biotechnol; 26:615–621.

Jain J, Arora S, Rajwade JM, Omay P, Khandelwal S, Paknikar KM. 2009; **Silver nanoparticles in therapeutics: development of an antimicrobial gel formulation for topical use.** Mol Pharm.; 6(5):1388-401.

Janeway, CA, Medzhitov, R. 2002; **Innate immune recognition.** Annu Rev Immunol ; 20:197-216.

Koldslund OC, Scheie AA, Aass AM. 2010 **Prevalence of peri-implantitis related to severity of the disease with different degrees of bone loss.** J Periodontol. 81(2):231-8.

Kravitz N., Kusnoto B 2007; **Risks and complications of orthodontic miniscrews.** Am J Orthod Dentofacial Orthop; 131:00.

Lang NP, Wilson TG, Corbet EF. 2000; **Biological complications with dental implants: their prevention, diagnosis and treatment.** Clin Oral Implants Res.; 11 Suppl 1:146-55.

Lang, N.P. Nyman, S., Senn, and Joss, A. 1991; **Bleeding on probing as it relates to probing pressure and gingival health.** Journal of Clinical Periodontology; 16:257-261.



Larsson, B.M., Larsson, K., Malmberg, P., and Palmberg, G. 1999; **Gram positive bacteria induce IL-6 and IL-8 production in human alveolar macrophages and epithelial cells.** *Inflammation*; 23:217-230.

Liao Juan Zhu, Zhimin Mo, Anchun Li Lei, Zhang Jingchao ; **Deposition of silver nanoparticles on titanium surface for antibacterial effect** *International. Journal of Nanomedicine* 5 261–267

Lok CN, Ho CM, Chen R, He QY, Yu WY, Sun H, Tam PK, Chiu JF, Che CM. 2007; **Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities.** *J Biol Inorg Chem.*; 12(4):527-34.

M. Raffi, F. Hussain, T.M. Bhatti, J.I. Akhter, A. Hameed, M.M. Hasan. 2008; **Antibacterial Characterization of Silver Nanoparticles against E. Coli ATCC-15224.** *J. Mater. Sci. Technol.*; 24(2).

Maki DG, Cobb L, Garman JK, Shapiro JM, Ringer M, Helgerson RB. 1988; **An attachable silver-impregnated cuff for prevention of infection with central venous catheters: a prospective randomized multicenter trial.** *Am J Med.*; 85(3):307-14.

Melaiye, A.;Youngs, W. J. 2005; **Silver and its application as an antimicrobial agent.** *Expert Opin. Ther Pat.*; 15, 125-130.Miyawaki S, Koyama I, Inoue M,

Mishima K, Sugahara T, Takano-Yamamoto T. 2003; **Factors associated with the stability of titanium screws placed in the posterior region for orthodontic anchorage.** Am J Orthod Dentofacial Orthop.; 124(4):373-8.

Mombelli A, Mericske-Stern R. 1990; **Microbiological features of stable osseointegrated implants used as abutments for overdentures.** Clin Oral Impl Res; 1 : 1'7.

Mombelli, A. 1993; **Microbiology of the Dental Implant.** Adv. Dent. Res.; 7; 202.

Mombelli, A., Buser, D. and Lang, N.P. 1988; **Colonization of osseointegrated titanium implants in edentulous patients.** Oral Microbiology and Immunology; 3:113-120.

Monique T.M. van der Pauwh 2000; **Fibroblasts and their role in periodontal regeneration.** ISBN 90-646-4592-2.

P.V. AshaRani, Grace Low Kah Mun, Manoor Prakash Hande and Suresh Valiyaveettil 2009; **Cytotoxicity and Genotoxicity of Silver Nanoparticles in Human Cells.** ACS Nano; 3(2):279–290.

Paolantonio M, D'Angelo M, Grassi RF, Perinetti G, Piccolomini R, Pizzo G, Annunziata M, D'Archivio D, D'Ercole S, Nardi G, Guida L. 2008;

**Clinical and microbiologic effects of subgingival controlled-release delivery of chlorhexidine chip in the treatment of periodontitis: a multicenter study.** J Periodontol.; 79(2):271-82. 21

Paolantonio M, Perinetti G, D'Ercole S, Graziani F, Catamo G, Sammartino G, Piccolomini R. J Periodontol. 2008; **Internal decontamination of dental implants: an in vivo randomized microbiologic 6-month trial on the effects of a chlorhexidine gel.**; 79(8):1419-25.

Poliana Mendes Duarte, Adriana Cutrim de Mendonca, Maria Beatriz Braz Máximo, Vanessa Renata Santos, Marta Ferreira Bastos, and Francisco Humberto Nociti Jr. 2009; **Effect of Anti-Infective Mechanical Therapy on Clinical Parameters and Cytokine Levels in Human Peri-Implant Diseases.** J Periodontol; 80(2):234-43.

Renvert S, Lessem J, Dahlén G, Renvert H, Lindahl C. 2008; **Mechanical and repeated antimicrobial therapy using a local drug delivery system in the treatment of peri-implantitis: a randomized clinical trial.** J Periodontol.; 79(5):836-44.

Renvert S, Lessem J, Dahlén G, Renvert H, Lindahl C. 2008; **Mechanical and repeated antimicrobial therapy using a local drug delivery system in the treatment of peri-implantitis: a randomized clinical trial.** J Periodontol.; 79(5):836-44.

Roe D, Karandikar B, Bonn-Savage N, Gibbins B, Rouillet JB. 2008; **Antimicrobial surface functionalization of plastic catheters by silver nanoparticles.** J Antimicrob Chemother.; 61(4):869-76.

Samuel U, Guggenbichler JP. 2004; **Prevention of catheter-related infections: the potential of a new nano-silver impregnated catheter.** Int J Antimicrob Agents; 23(Suppl. 1):S75–8.

Santoro CM, Duchsherer NL, Grainger DW. 2007 **Antimicrobial efficacy and ocular cell toxicity from silvernanoparticles.** Nanobiotechnology.; 3(2):55–65.

Sioshansi P. 1994 **New processes for surface treatment of catheters.** Artif Organs; 18: 266–71.

Sudipa Panigrahi, Snigdhamayee Praharaj, Soumen Basu, Sujit Kumar Ghosh, Subhra Jana, Surojit Pande, Tuan Vo-Dinh, Hongjin Jiang, and Tarasankar Pal. 2006; **Self-Assembly of Silver Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Optical Properties, and Application in Surface-Enhanced Raman Scattering.** J. Phys. Chem. B; 110:13436-13444.

Svanborg, C., Godaly, G., and Hedlund, M. 1999; **Cytokine responses during mucosal infections: role in disease pathogenesis and host defence.** Curr. Opin. Microbiol.; 2:99-105.

T. Hatakeyama, F. X. 1999 Quinn **Thermal Analysis Fundamentals and Applications to Polymer Science.** ISBN: 978-0-471-98362-0

Travan A, Pelillo C, Donati I, Marsich E, Benincasa M, Scarpa T, Semeraro S, Turco G, Gennaro R, Paoletti S. 2009; **Non-cytotoxic silver nanoparticle-polysaccharide nanocomposites with antimicrobial activity.** Biomacromolecules; 10(6):1429-35.

Van der Poll, T. 2001; **Coagulation and inflammation.** J. Endotoxin Res.; 7:301-304.

Wehrbein H, Göllner P. 2007; **Skeletal anchorage in orthodontics-- basics and clinical application.** J Orofac Orthop.; 68(6):443-61.