



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

CARRERA DE CIRUJANO DENTISTA

“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO  
DE MAGNESIO EN *Streptococcus mutans*”

**T E S I S**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**C I R U J A N A D E N T I S T A**

P R E S E N T A:

**CABALLERO VILLAGOMEZ XIMENA GUADALUPE**

DIRECTOR:

**DR. ALEJANDRO LUIS VEGA JIMÉNEZ**

ASESORES:

**DRA. MIRIAM MARÍN MIRANDA**

**ESP. ANDRES ALCAUTER ZAVALA**



CDMX 2021



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **AGRADECIMIENTOS**

Debo agradecer en primer lugar a Luz María Villagómez Mata y a Juan Manuel Caballero Hernández, mis padres; por apoyarme a lo largo de la carrera, no dejarme desistir y motivarme día a día, gracias por acompañarme a lo largo de este proceso, hoy soy lo que soy gracias a ustedes y a su dedicación, de igual manera nada de esto sería posible sin ustedes, siempre estaré eternamente agradecida. A Erick Caballero Villagómez, mi hermano, por ser esa inspiración y ejemplo a seguir que siempre tuve, a mi familia en general por siempre estar incondicionalmente y brindarme su ayuda siempre.

Quiero expresar mi total gratitud a la Universidad Nacional Autónoma de México y en particular a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por haberme dado la oportunidad de culminar mis estudios profesionales de Licenciatura y de haberme brindado a tan buenos docentes.

Agradezco al Dr. Alejandro Luis Vega Jiménez, del Laboratorio de Bioingeniería de Tejidos de la Facultad de Odontología UNAM, por permitirme realizar esta tesis bajo su dirección, por su apoyo incondicional y confianza, por compartir sus conocimientos conmigo y ampliar los míos, por enseñarme que la investigación es una parte importante en la odontología, gracias por guiarme a lo largo del desarrollo de este trabajo ya que sin usted no hubiera sido posible.

También quiero agradecer a la Dra. Adriana Patricia Rodríguez Hernández del Laboratorio de Genética Molecular de la Facultad de Odontología UNAM, por brindarnos su apoyo, al igual que los asesores; la Dra. Miriam Marín Miranda y a el Esp. Andrés Alcauter Zavala de la FES-Zaragoza UNAM.

A los docentes de la FES-Zaragoza que estuvieron presentes a lo largo de mi formación académica, gracias por enseñar con tanta pasión y transmitir lo mejor de ustedes, no solo son grandes docentes si no también excelentes personas, me llevo grandes aprendizajes no tan solo en el ámbito profesional, sino también en lo personal.

Por último, a todos mis amigos y compañeros que estuvieron desde el inicio de mi formación escolar hasta los que la universidad me regaló, también a aquellas personas importantes que han estado en lo largo de este proceso, les extiendo un gran agradecimiento por confiar en mí, darme motivación y apoyarme incondicionalmente, ustedes también son parte de este logro.

Este trabajo se pudo realizar con el apoyo del proyecto PAPIIT No. IA105020

“Por mi raza hablará el espíritu”

## ÍNDICE

<b>1. Introducción</b> .....	3
<b>2. Marco teórico</b> .....	4
2.1 Magnesio.....	4
2.2 El magnesio en el área médico – odontológica.....	4
2.3 Óxido de Magnesio.....	6
2.4 Nanociencia y nanotecnología.....	6
2.4.1 Mecanosíntesis.....	7
2.4.2 Nano-odontología.....	9
2.5 Caries dental.....	11
2.5.1 Microorganismos involucrados en la caries dental.....	11
2.5.2 Características de <i>Streptococcus mutans</i> .....	12
2.6 Manejo odontológico de la caries dental.....	14
<b>3. Planteamiento del problema y justificación</b> .....	17
<b>4. Hipótesis</b> .....	18
<b>5. Objetivos</b> .....	18
<b>6. Material y métodos</b> .....	18
6.1. Tipo de estudio.....	18
6.2. Muestra.....	18
6.3. Variables.....	19
6.4. Técnicas.....	19
6.4.1 Mecanosíntesis.....	19
6.4.2 Caracterización por Microscopia electrónica de transmisión (TEM) y Difracción de rayos X (XRD).....	20
6.4.3 Ensayos antibacterianos <i>in vitro</i> .....	22
<b>7. Resultados</b> .....	27
7.1 Síntesis y caracterización de NPs de MgO.....	27
7.2 Ensayos antibacterianos <i>in vitro</i> .....	29
<b>8. Discusión</b> .....	32
<b>9. Conclusiones y perspectivas</b> .....	35
<b>10. Referencias</b> .....	36

## 1. INTRODUCCIÓN.

En la microflora oral albergan aproximadamente 700 especies de bacterias, entre las cuales se encuentra el *Streptococcus mutans*, presente en la biopelícula o biofilm dental y principal microorganismo asociado a caries dental.

El principal problema de salud pública bucal a nivel mundial es la caries dental teniendo una prevalencia del 80-90%; es una enfermedad de origen multifactorial en la que intervienen 3 factores; huésped, microflora y sustrato, por un determinado tiempo, teniendo como consecuencia la destrucción de tejidos duros, infecciones dentales, dolor y la pérdida dental. A consecuencia de problemáticas como ésta, se ha buscado la aplicación de la nanociencia y la nanotecnología, para la obtención de biomateriales en terapéuticas médico – odontológicas; tal es el caso del uso de diversos metales, como la plata, oro, zinc, entre otros, ya que se ha comprobado que presentan excelentes propiedades antibacterianas para ser empleados en dichas áreas.

El magnesio es un metal ligero ocupando el cuarto lugar como el más abundante en el organismo y está también presente en diferentes alimentos, por lo que se ha tomado en cuenta para ser utilizado en las áreas de las ciencias de la salud.

La nano-odontología ha buscado promover el mantenimiento de la salud bucal integral mediante el empleo de biomateriales nanoestructurados, creando así potenciales tratamientos en odontología. Se sabe que la actividad antibacteriana de las nanopartículas metálicas, es una función que depende de su contacto con los microorganismos gracias a su tamaño, área de superficie, composición química, entre otros beneficios.

En base a lo anterior, el presente trabajo tuvo como objetivo la obtención y caracterización de nanopartículas de óxido de magnesio y su actividad antibacteriana frente a la cepa *Streptococcus mutans*, siendo el principal microorganismo asociado a caries dental.

## **2. MARCO TEÓRICO.**

### **2.1 MAGNESIO.**

Es un metal liviano, color blanco plateado y medianamente fuerte e insoluble, de una alta reactividad por lo que es usual hallarlo en compuestos y sales. Su comportamiento químico es semejante al del calcio, elemento vecino en la tabla periódica, y al de los metales alcalinotérreos <sup>(1)</sup>.

Su nombre proviene del latín *magnesium*, y este vocablo a su vez nace del griego, tal y como el de la magnetita y el manganeso, pues estos metales se encontraban en abundancia en la prefectura de Magnesia, una de las cuatro regiones en que se dividía la antigua Tesalia, en la Grecia helénica <sup>(1)</sup>.

El Magnesio (Mg) se halla presente en diversos alimentos, pero sobre todo en los de origen vegetal como semillas, frutos secos, hierbas secas, salvado, nueces, almendras y muchos otros. Forma parte de los nutrientes esenciales para el cuerpo humano <sup>(1)</sup>.

### **2.2 EL MAGNESIO EN EL ÁREA MÉDICA-ODONTOLÓGICA.**

El magnesio es el cuarto elemento más abundante del organismo y el segundo en importancia dentro del mismo <sup>(2)</sup>. Las concentraciones de Mg en la dentina natural y ósea son de 1.23% y 0.72%, respectivamente <sup>(3)</sup>, así mismo cumple importantes funciones en numerosas reacciones enzimáticas, procesos de transporte y síntesis de proteínas, ADN y ARN <sup>(4)</sup>.

Fue usado por primera vez en cirugía ortopédica a principios del siglo XX, el Mg y las aleaciones de magnesio se han evaluado en aplicaciones ortopédicas y cardiovasculares <sup>(3)</sup>.

El magnesio se ha empleado como agente terapéutico en problemas como: Eclampsia y preeclampsia reduciendo su riesgo.

También se ha utilizado en la arritmia en pacientes con síndrome de QT largo (trastorno del ritmo cardíaco que puede provocar latidos rápidos y caóticos) y arritmias inducidas por digoxina <sup>(5)</sup>.

Asimismo, se ha utilizado como suplemento para contrarrestar los efectos en diferentes enfermedades como:

- Diabetes mellitus tipo 2 donde mejora el control glucémico.
- En la arterioesclerosis donde su empleo aumenta la concentración de HDL, disminución de triglicéridos en sangre, disminución de la inflamación sistemática, disminución de la disfunción endotelial.
- En la hipertensión, mejora el efecto del tratamiento para prevenir infartos y en calambres musculares reduce la frecuencia de los eventos <sup>(5)</sup>.

Hay evidencias que indican que el magnesio ejerce un papel importante en la formación ósea, ya que tiene la función de formar hueso nuevo. Este mineral también influye en la actividad de la vitamina D, necesaria para que el calcio se fije en el hueso <sup>(6)</sup>.

En el área odontológica la colocación de implantes dentales biodegradables a base de Mg ha indicado dentro de las primeras etapas de osteointegración, que este se degrada, formando calcio y fosfato los cuales son muy similares a la estructura del hueso <sup>(5,6)</sup>.

Se ha asociado ingesta baja de Mg con la hipomagnesemia que puede traer el desarrollo de diferentes enfermedades como:

- Enfermedad arterial coronaria.
- Hipertensión.
- Síndrome metabólico.
- Diabetes mellitus tipo 2 <sup>(4)</sup>.

### **2.3 ÓXIDO DE MAGNESIO (MgO).**

Es un óxido metálico, formado por magnesio y oxígeno, de estructura iónica, de aspecto y color blanco, un polvo fino, inodoro y con un punto de fusión de 2852 ° C. También es conocido como magnesia calcinada y es obtenida por medio de la calcinación controlada del mineral de magnesita (carbonato de magnesio), y se encuentra en minerales naturales de magnesio. Dentro de sus propiedades químicas, es un compuesto que absorbe fácilmente humedad y dióxido de carbono cuando se expone al aire, sin embargo, es insoluble en agua <sup>(1)</sup>.

Se ha informado sobre la actividad antibacteriana del MgO contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Se ha informado que la actividad antimicrobiana del MgO micrométrico, se debe a la presencia de oxígeno activo como superóxido (O<sub>2</sub>-), en la superficie de las partículas de MgO <sup>(7)</sup>.

### **2.4 NANOCIENCIA Y NANOTECNOLOGÍA.**

La nanotecnología es considerada en el siglo XXI como una tecnología actual, basada en su potencial económico y científico <sup>(8)</sup>. Richard Feynman (1959), fue el primero en hacer referencia de las posibilidades de la nanociencia y la nanotecnología en su discurso que dio en el Instituto Tecnológico de California (USA), titulado “En el fondo hay espacio de sobra” <sup>(9)</sup>. Eric Drexler fundador del Instituto Foresight (1980), implantó por primera vez el término “nanotecnología” <sup>(10)</sup>.

La US National Nanotechnology Initiative explica que “La nanotecnología es la compresión de la materia que incluye imágenes, medidas, modelación y manipulación de la materia a nano escala, donde los fenómenos únicos permiten nuevas aplicaciones <sup>(11)</sup>.”



El prefijo “nano” proviene del griego y significa “enano”. Un nanómetro equivale a la milmillonésima parte de un metro, o millonésima parte de un milímetro. Un nanómetro (nm) se representa como 1 nm igual a 0.000 000 001 o  $1 \times 10^{-9}$  <sup>(12)</sup>.

La nanociencia es la disciplina encargada de imaginar, fabricar y manipular materiales <sup>(13)</sup>, en otras palabras, consiste en la capacidad de controlar átomos y moléculas para formar nuevas estructuras, nuevas moléculas y nuevos materiales de acuerdo con nuestras necesidades específicas, a escalas de tamaño mil millones más pequeñas que las que observamos a simple vista. Mediante la nanotecnología es posible desarrollar nuevos materiales y aparatos con precisión atómica. Los materiales a nanoescala (en el rango de 1 a 100 nm) permiten obtener propiedades mecánicas, eléctricas, térmicas, ópticas, entre otras, únicas y mejoradas <sup>(14)</sup>.

La nanotecnología incluye a la electrónica y el magnetismo, para la fabricación de estructuras de carbón, silicio, materiales inorgánicos, metales y materiales semiconductores <sup>(15)</sup>. Asimismo, interviene también en el diseño de los sistemas biológicos incluyendo al material genético. La nanotecnología, genera materiales funcionales como las nanopartículas (NPs) por medio de técnicas fisicoquímicas <sup>(16)</sup>.

Las NPs poseen propiedades físicas y químicas únicas en relación con su tamaño, distribución, morfología, naturaleza polimórfica, cristalinidad, biocompatibilidad, biodegradabilidad y propensión a la agregación <sup>(17)</sup>.

#### **2.4.1 MECANOSÍNTESIS.**

Existen dos procesos para la síntesis de nanopartículas y nanoestructuras, según la técnica de aplicación: técnicas de arriba hacia abajo (Top-down) y técnicas de abajo hacia arriba (Bottom-up). En el caso de la nanotecnología Top-down, se trata de diseñar y miniaturizar el tamaño de estructuras para obtener a nanoescala sistemas funcionales en el caso de la producción de nanoelectrónica (miniaturización de sistemas electrónicos). Y en el caso de la nanotecnología tipo

Bottom-up, se centra en la construcción de estructuras y objetos más grandes a partir de sus componentes atómicos y moleculares o sea este tipo de nanotecnología es acogida como el enfoque principal de la nanotecnología ya que permite que la materia pueda controlarse de manera extremadamente precisa <sup>(18)</sup>.

Existen diferentes métodos para la obtención de nanopartículas, como por ejemplo:

- Métodos físicos: condensación con un gas inerte, descarga al arco eléctrico, corte por láser, pirólisis y pirólisis por aerosol.
- Métodos químicos: reducción del metal, síntesis solvotermal, síntesis fotoquímica, síntesis electroquímica, rutas termolíticas, rutas sonoquímicas, micelas y micro emulsiones, interfaces líquido-líquido.
- Métodos biológicos: microorganismos son los reactores y realizan la síntesis de las nanopartículas.
- Métodos híbridos: es una mezcla de los métodos anteriores; como la síntesis láser, el procesamiento selectivo de tamaño post sintético y la dispersión atómica de metales solvatados (DAMS) <sup>(18)</sup>.

En este trabajo la síntesis de NPs de MgO que se empleó, fue un método mecanoquímico (mecanosíntesis), el cual se encuentra dentro de los métodos híbridos

El término mecanoquímica se refiere a las reacciones químicas que involucran reactivos en cualquier estado de agregación, pero comúnmente se usa para reacciones sólido-sólido, en donde la energía necesaria para llevar a cabo la reacción, involucra un proceso o tratamiento mecánico. Este método se ha utilizado en los últimos años para sintetizar materiales a partir de reactivos en estado sólido, que a temperaturas habituales de trabajo no muestran la reactividad necesaria para su formación, o bien para la preparación de compuestos que, en condiciones normales de presión y temperatura, son metales nobles o no pueden ser obtenidos por métodos de síntesis convencionales <sup>(18)</sup>. La acción mecánica que se ejerce sobre los reactivos permite llevar a cabo una verdadera reacción química

(mecanosíntesis) que hace posible obtener nuevos compuestos, con dimensiones nanométricas <sup>(18)</sup>.

La energía mecánica que se aporta a los reactivos en estado sólido puede acumularse en la deformación plástica de los cristales, produciendo defectos cristalinos que, en consecuencia, producen regiones de especial reactividad química que facilitan el desarrollo de los procesos en fase sólida. Según el sistema y las condiciones de activación, pueden producirse reacciones en fase sólida durante el tratamiento mecánico a temperatura ambiente y/o pueden generarse cambios estructurales, reduciéndose la temperatura necesaria de ciertas reacciones <sup>(18)</sup>.

La mecano-síntesis ha despertado el interés de diversos grupos de investigación en nanomateriales principalmente debido a su sencillez y su bajo impacto ambiental

#### **2.4.2 NANO – ODONTOLOGÍA.**

La nanotecnología en odontología, o nano-odontología, promueve el mantenimiento de la salud oral integral mediante el empleo de nanomateriales, dentro de la ingeniería de tejidos, y en diferentes especialidades odontológicas <sup>(19, 20)</sup>. La nueva oportunidad de tratamiento potencial en odontología puede incluir herramientas para el diagnóstico oportuno de infecciones dentales, el uso de nuevos anestésicos locales y el tratamiento para restauración y rehabilitación odontológica <sup>(21)</sup>.

Gracias a la nanotecnología el empleo de las nanopartículas son otra opción que ha comenzado a tener un rol destacado en el área médico - odontológica, por ejemplo, existen aplicaciones concretas como la de las nanopartículas de plata que se utilizan dentro de pastas dentales ya que poseen propiedades anti-desgaste, antifúngicas y antibacterianas <sup>(22)</sup>.

En ortodoncia, se están aplicando nanopartículas que controlan la señalización del dolor y que incrementan la ramificación de las terminaciones nerviosas al utilizar nanoesferas que contienen factores de crecimiento que favorecen la regeneración del tejido nervioso <sup>(23)</sup>.

En implantología se verá muy favorecida con la introducción de un biomaterial conocido como nano-hueso, que simula la estructura y composición del hueso <sup>27</sup>. Se están diseñando implantes para ayudar a evitar las complicaciones que suelen observarse tras un implante óseo, como inflamación e infecciones, provocando el fracaso del tratamiento <sup>(24)</sup>.

Se sabe que la actividad antibacteriana de las nanopartículas metálicas, depende del área de superficie de la partícula en contacto con los microorganismos. Se ha demostrado una relación inversa entre el tamaño de las nanopartículas y su actividad antimicrobiana, donde las nanopartículas en el rango de tamaño de 1-10 nm han mostrado tener la mayor actividad antibacteriana <sup>(25)</sup>.

Existen reportes de actividad antibacteriana de distintas nanopartículas metálicas como el oro, plata, cobre, titanio y zinc <sup>(26)</sup>. Pese a esto, los mecanismos bactericidas de éstas aún no se entienden completamente. Tres mecanismos hipotéticos son los más aceptados y reportados en la literatura:

- Acumulación y disolución de nanopartículas metálicas en la membrana plasmática generan un cambio en su permeabilidad, con la consecuente liberación de lipopolisacáridos, proteínas de membrana y biomoléculas intracelulares.
- Generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) generando daños oxidativos a las estructuras celulares como el DNA, la membrana plasmática y las proteínas de membrana.
- Adsorción de iones metálicos derivados de las nanopartículas o las mismas nanopartículas en el interior de las células, seguido por el agotamiento de la producción de ATP intracelular y la interrupción de la replicación del ADN <sup>(27)</sup>.

## 2.5 CARIES DENTAL.

La caries dental es una enfermedad de origen multifactorial en la que existe interacción de tres factores principales: el huésped (higiene bucal, la saliva y los dientes), la microflora (bacterias cariogénicas) y el sustrato (dieta cariogénica). Además de estos factores, deberá tenerse en cuenta uno más, el tiempo. Para la formación de caries es necesario que las condiciones de cada factor sean favorables; es decir, un huésped susceptible, una flora oral cariogénica y un sustrato apropiado que deberá estar presente durante un periodo determinado de tiempo.

Es un proceso y/o enfermedad dinámica crónica, que ocurre en la estructura dentaria en contacto con los depósitos microbianos y, debido al desequilibrio entre la sustancia dental y el fluido de placa circundante, dando como resultado una pérdida de mineral de la superficie dental (Figura1), cuyo signo es la destrucción localizada de tejidos duros; esmalte y dentina principalmente <sup>(28)</sup>.



Figura 1: Caires Dental

Fuente: <http://www.crismarfernandez.com/odontologia/que-son-las-carries/>

### 2.5.1 MICROORGANISMOS INVOLUCRADOS EN LA CARIES DENTAL.

La presencia de microorganismos es necesaria para el desarrollo de la caries. Este aspecto microbiológico determina la caries dental como una enfermedad transmisible <sup>(29)</sup>. Las bacterias acidogénicas de la biopelícula dental necesitan los hidratos de carbono como fuente de energía para sus actividades celulares. Los

hidratos de carbono, como la sacarosa y lactosa, son metabolizados con rapidez por ciertos microorganismos <sup>(30)</sup>.

Las bacterias orales pertenecen a una comunidad compleja de numerosas especies que participan en la formación de la placa bacteriana (biopelícula) con todas sus funciones, interacciones y propiedades. El concepto actual contempla que varios microorganismos se incluyen en la patogénesis de la caries dental como lo son *Streptococcus* sp, *Phrophylomonas*, *Lactobacillus* sp y *Actinomyces* sp, de los cuales, *Streptococcus mutans* es el agente más importante asociado a ella <sup>(31)</sup>.

### 2.5.2 CARACTERÍSTICAS DE *Streptococcus mutans*

*S. mutans* es un coco Gram-positivo, dispuesto en cadena, no móvil, catalasa negativa, productor rápido de ácido láctico con capacidad de cambiar un medio de pH 7 a pH 4.2 en, aproximadamente, 24 horas (Figura 2). Fermentador de glucosa, lactosa, rafinosa, manitol, inulina y salicina con la producción de ácido. Normalmente no desamina la arginina para producir amoniaco. Usualmente no producen ni hemólisis ni decoloración en agar sangre, es principalmente alfa o gamma hemolítico en agar sangre de cordero, aunque se han reportado unas pocas cepas hemolíticas <sup>(32)</sup>.

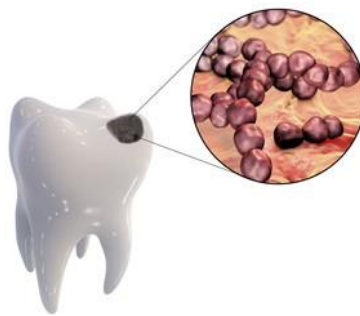


Figura 2: *Streptococcus mutans*

Fuente: <https://www.shutterstock.com/es/search/streptococcus+mutans>

## Medios de cultivo

Hay muchas dificultades técnicas para obtener muestras representativas de diferentes sitios orales y para aislar, cultivar y contar los microorganismos. Afortunadamente, muchas de las especies de *Streptococcus* orales pueden aislarse de varios sitios usando medios selectivos como Tripticaseina Soya Agar. Los *Streptococcus* orales muestran una morfología característica de las colonias (blanquecinas, de bordes definidos, colonias firmes muy adherentes al medio de cultivo) lo cual permite su diferenciación inicial <sup>(32)</sup>.

## Clasificación de *Streptococcus mutans*

Con base en la composición y los enlaces de los polisacáridos de la pared celular, *Streptococcus* del grupo *mutans* se pueden clasificar en 8 serotipos entre los cuales se encuentra el *S. mutans* (serotipos c, e, f y k). Se sabe que el serotipo c de *S. mutans* es el tipo predominante en la cavidad oral humana <sup>(33)</sup>.

**Colonización.** Como en muchas enfermedades infecciosas, se requiere la colonización de un patógeno antes de que ocurra la infección

Hay un rango de factores de virulencia importante para el establecimiento de *S. mutans* en la compleja comunidad microbiana de la biopelícula dental <sup>(34)</sup>.

1. Acidogenicidad: El *S. mutans* puede fermentar los azúcares de la dieta para originar principalmente ácido láctico como producto final del metabolismo. Esto hace que baje el pH y se desmineralice el esmalte dental.
2. Aciduricidad: Es la capacidad de producir ácido en un medio con pH bajo. Lo que ocasiona que baje el pH y se desmineralice el esmalte dental.
3. Acidofilicidad: El *S. mutans* puede resistir la acidez del medio bombeando protones (H<sup>+</sup>) fuera de la célula.
4. Síntesis de glucanos y fructanos: Por medio de enzimas como glucosil y fructosiltransferasas (GTF y FTF), se producen los polímeros glucano y fructano, a

partir de la sacarosa. Los glucanos insolubles pueden ayudar a la bacteria a adherirse al diente y ser usados como reserva de nutrientes <sup>(34)</sup>.

**Adherencia.** *S. mutans* cuenta con receptores que le permiten adherirse a superficies del diente creando un entorno viscoso. Después de la adherencia comienza a dividirse y producir microcolonias para la construcción de la biopelícula <sup>(34)</sup>.

**Coagregación.** *S. mutans* tiene la capacidad de adherirse a superficies, establecer uniones con otros *streptococcus* y con bacterias de otras especies. Muchas cepas de *S. mutans* se aglutinan (adherencia homóloga) por la adición de dextranos de alto peso molecular. También se ha reportado que ciertas cepas de *S. mutans* forman agregados con *Nocardia*, *Neisseria* al igual que con *Candida albicans* <sup>(34)</sup>.

## 2.6 MANEJO ODONTOLÓGICO DE LA CARIES DENTAL

Para el manejo odontológico de la caries dental existen dos abordajes; la manera no invasiva, la cual implica una serie de técnicas o estrategias para disminuir el riesgo de padecer caries o aminorarla en estadios tempranos, por otro lado, está la invasiva que abarca técnicas para retirar la caries que ha cavitado la superficie dental <sup>(35)</sup>.

La primera manifestación clínica o primera lesión en hacer su aparición es la llamada mancha “blanca”, este proceso puede ser detenido o revertido por el proceso de re mineralización y aunado a diversos factores (cambios en la dieta, usos de fluoruros, remoción sistémica de placa <sup>(35)</sup>.

Una vez que la cavidad se ha formado es muy difícil que el proceso de remineralización pueda interactuar y por lo tanto, el diente necesita ser restaurado con un material que restituya y reemplace la anatomía perdida del diente y su función <sup>(35)</sup>. La restauración de la cavidad no es una cura para la enfermedad, porque puede reaparecer una o más veces alrededor de la restauración, ya sea



como una nueva lesión o como caries residual, cuando no fue totalmente removida la lesión previa durante la restauración del diente <sup>(35)</sup>.

Una vez que los microorganismos invaden los tejidos, su eliminación completa no es posible, siempre existirá la posibilidad de que la preparación cavitaria mantenga alguna dentina contaminada <sup>(36)</sup>. Por otro lado, se ha demostrado que aun cuando toda la dentina reblandecida haya sido eliminada, pueden permanecer microorganismos, e incluso mantenerse viables debajo de restauraciones, sin causar ningún efecto deletéreo aparente (Figura 3) <sup>(37)</sup>.

Se ha encontrado en un estudio longitudinal que el 46% de las restauraciones colocadas se deben a caries primaria, mientras que el resto (54%) son reemplazó por restauraciones con diagnóstico de fracaso <sup>(35)</sup>.

En cuanto al tipo de material restaurador, existen materiales restauradores que ofrecen propiedades anti-cariogénicas, a través de la liberación de iones (fluoruro, calcio, etc.) que tienen efecto bacteriostático o bactericida y/o favorecen la remineralización, y contribuye combatir la aparición de la caries secundaria <sup>(38)</sup>.

Svanberg y col. en 1990, demostraron en un estudio *in vitro* que los materiales resinosos pueden favorecer el crecimiento de *S. mutans* y el depósito de colonias bacterianas sobre la restauración, probablemente esto se deba a la constitución orgánica de la resina compuesta. Según Mjör y col, los materiales resinosos acumulan más placa dental, y esta placa dental es más cariogénica que el observado sobre amalgama y cemento de ionómero de vidrio <sup>(38)</sup>.



Figura 3. Caries secundaria

Fuente: <https://www.actaodontologica.com/ediciones/2009/2/art-24/>

El uso de nanopartículas de metales incorporadas en biomateriales de uso dental confiere propiedades bacteriostáticas y/o bactericidas para inhibir la colonización y crecimiento de microorganismos propios de la caries dental.

Actualmente hay pocos reportes de materiales resinosos, ionómeros de vidrio, adhesivos ortodónticos, que se han puesto a prueba, en los cuales se han incorporado NPs metálicas para probar su efecto antibacteriano, teniendo como resultado dicha actividad ante *S. mutans*.

Gracias a estas propiedades agregadas a los biomateriales dentales, la incidencia y reincidencia de caries dental podría ser disminuida con el empleo de dichos materiales cuando ya existe una lesión por caries e incorporar estas NPs en artículos de higiene bucal y en más biomateriales dentales y así dejar de ser un problema a nivel mundial por la actividad que presentan las nanopartículas en el principal microorganismo presente en la caries dental.

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

Se ha demostrado que existe efecto antibacteriano de las nanopartículas de metales como: plata, oro, cobre, zinc, entre otros, los cuales han sido investigados y utilizados para introducirlos a la nano-odontología, con el objetivo de crear nuevas estrategias y tratamientos para las enfermedades bucodentales. Con respecto a las nanopartículas de óxido de magnesio existe poca o nula información sobre su efecto antibacteriano en contra de *S. mutans*

El magnesio es un elemento importante ya que éste se encuentra en el organismo, formando parte de huesos, músculos, tejidos y células nerviosas, la mayor parte del magnesio se encuentra en huesos y dientes. También es utilizado como terapia farmacéutica para el alivio de algunos efectos de ciertas enfermedades como la diabetes, arteriosclerosis e hipertensión, de igual forma es utilizado como suplemento alimenticio y evitar el desarrollo de enfermedades. Lo anterior podría indicar que su uso en forma manométrica reduce la probabilidad de ser un elemento tóxico para uso clínico en comparación con la plata, oro y cobre; y así beneficioso en la terapia odontológica.

Por lo que surge la siguiente pregunta:

¿Las nanopartículas de óxido de magnesio tendrán actividad antibacteriana contra la especie *S. mutans*?

## 4. HIPÓTESIS

Las nanopartículas de óxido de magnesio tienen actividad antibacteriana en contra de *S. mutans*.

## 5. OBJETIVOS

### Objetivo general:

- Determinar la actividad antibacteriana de las nanopartículas de óxido de magnesio en *S. mutans*.

### Objetivos específicos:

- Sintetizar las nanopartículas de óxido de magnesio.
- Caracterizar las nanopartículas de óxido de magnesio.
- Evaluar la actividad antibacteriana de las nanopartículas de óxido de magnesio en *S. mutans*.

## 6. MATERIAL Y MÉTODOS

### 6.1 Tipo de estudio

Según Méndez y col <sup>(39)</sup>. el presente estudio será experimental, longitudinal, comparativo.

### 6.2 Población de estudio / Muestra

#### Muestra

Se utilizarán nanopartículas de MgO y cepa Liofilizada de *S. mutans* proveniente del ATCC® 25175™

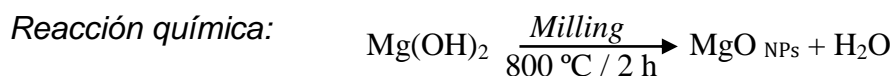
### 6.3. Variables.

Variable	Definición	Tipo de variable	Escala de medición	Operacionalización
<b>Nanopartículas de MgO</b>	Material de tamaño inferior a 100 nm	Independiente	Cuantitativa continua	mg/mL
<b>Efecto antibacteriano</b>	Capacidad de causar muerte de bacterias La Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) determinada por el número de colonias visibles (número de UFC), la sensibilidad con la Concentración Mínima Bactericida (MBC) había informado por no crecimiento (UFC = 0) y los resultados de resistencia habían informado como un crecimiento positivo incontable. (CFU's = +) así como inhibición no visible	Dependiente	Cuantitativa continua	Conteo UFC y absorbancias

### 6.4. Metodología / Técnicas

#### 6.4.1 Mecanosíntesis

El primer paso para sintetizar las NPs de MgO fue balancear la reacción química con los reactivos y sales de partida. El peso molecular del compuesto se registró y se multiplicó por la concentración con la que se trabajó. En este caso, el peso molecular del Mg (OH)<sub>2</sub> es 58.32 g/mol y la concentración final fue de 1x10<sup>-3</sup> moles.



*Milling* = Activación

Obtenida la cantidad de material, se colocó la concentración en un mortero de ágata (Figura 4) y se activó la reacción química por medio de la molienda, con una duración de 20 minutos. Una vez que se obtuvo el producto de la reacción química, el material se colocó en crisoles y se calcinó a 800°C durante 2 horas.

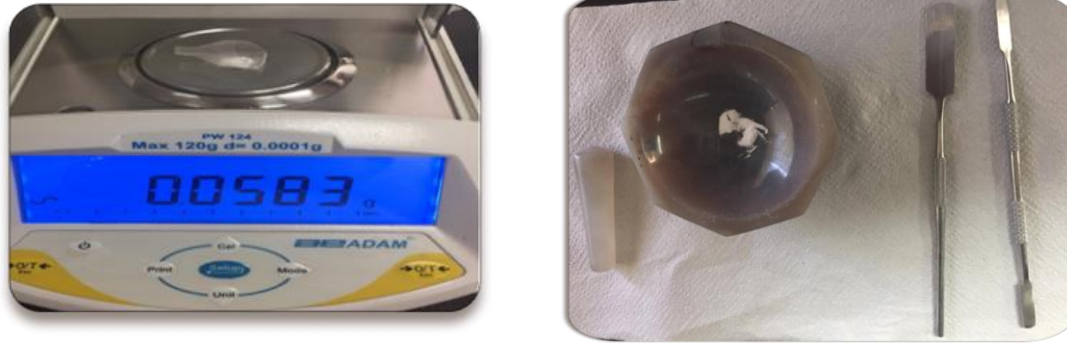


Figura 4. Balanza gravimétrica y mortero de ágata, utilizados para la mecosíntesis de NPs de MgO.

Después de calentar el material, se lavó en tubos de ensayo y con agua fría y se centrifugó por 6 minutos a 3000 rpm, realizándose 3 veces. Se continuó con los lavados con acetona fría y de igual manera se centrifugaron bajo las mismas condiciones anteriores.

Terminado los lavados se dejó secar el material a temperatura ambiente por lo menos 24 horas. Finalmente, el polvo nanométrico de MgO se recolectó y se almacenó a temperatura ambiente.

#### **6.4.2 Caracterización por Microscopia electrónica de transmisión (TEM) y Difracción de rayos X (XRD)**

La caracterización de materiales nanoestructurados se puede llevar a cabo mediante el empleo de diversas técnicas. En este trabajo, la caracterización de las NPs de MgO se realizó utilizando difracción de rayos X (XRD) y microscopia de transmisión (TEM) (ambas técnicas por sus siglas en ingles).

##### **Difracción de Rayos X (XRD).**

*Principio físico:* Es una técnica analítica primaria, no destructiva, utilizada para identificar las fases de un material cristalino y propiedades estructurales como tamaño de grano, dimensiones de la celda unitaria, distancias interplanares, entre otras. La difracción de rayos X se basa en la interferencia constructiva de rayos X

monocromáticos y una muestra cristalina, los rayos x son generados por un tubo de rayos catódicos, filtrados para producir radiación monocromática y luz colimada para concentrarse de esta forma se dirige el haz de rayos X hacia la muestra. El principio se basa en medir los ángulos de difracción del rayo X que se producen por los diferentes planos de la estructura del cristal, que genera un patrón característico para cada tipo de sólido cristalino <sup>(40, 41)</sup>.

*Procedimiento:* Se utilizó un difractómetro Rigaku Ultima IV (Cuk2 1.5406 Å) con una medición de 5 a 35° y un tamaño de paso de 1° por minuto para el análisis de las NPs de MgO. Se colocaron en un portamuestras de vidrio dejándose secar a 60°C durante 24 h. El portamuestras se introdujo en el equipo. Los patrones de difracción fueron obtenidos y se analizaron tomando como referencia las cartas cristalográficas para encontrar a que fase correspondían del MgO y compararlo con el polvo de NPs.

### **Microscópica electrónica de transmisión (TEM).**

*Principio físico:* El microscopio electrónico de transmisión (TEM) utiliza un haz de electrones que es acelerado y enfocado sobre una muestra, de manera tal que al impactar con la misma genera señales directamente relacionadas su estructura y morfología. La interacción entre el haz incidente y los átomos de la muestra produce, entre otros, electrones dispersados, los cuales son captados por un detector para construir una imagen en dos dimensiones. El proceso de formación de una imagen de TEM involucra electrones que se transmiten a través de la muestra sobre la que hizo incidir un haz de electrones coherentes. De acuerdo a la interacción que se produzca entre el haz de electrones y la muestra al atravesar ésta los electrones se pueden clasificar en electrones no desviados, electrones desviados elásticamente y electrones inelásticos. Los electrones no desviados y desviados elásticamente son los responsables de la formación de la imagen en TEM, mientras que una fracción de electrones inelásticos, los cuales ceden energía a la muestra al incidir sobre ella, provocan el ruido de fondo presente en las imágenes de TEM <sup>(42, 43)</sup>.

*Procedimiento:* El equipo empleado para la caracterización de las NPs de MgO fue el microscopio electrónico de transmisión JEOL 1400 de JEOL (Tokio, Japón) operado a un voltaje de 80 kV. Se colocaron 500  $\mu$ L de alcohol isopropílico y 500  $\mu$ L de la muestra de NPs, homogenizada la muestra, una gota de la muestra fue colocada en una rejilla de cobre (200 mesh) recubierta con una película de grafito, y se dejó secar durante una noche, protegidas del polvo, posteriormente fueron colocadas en el TEM y se obtuvieron las imágenes.

### **6.4.3 Ensayos antibacterianos *in vitro***

#### **Condiciones de medios de cultivo**

La cepa bacteriana utilizada en las pruebas de actividad antimicrobiana, fueron crecidas con protocolos estandarizados de cultivo microbiano anaerobio, a partir de cepas adquiridas como cultivos liofilizados del American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD, USA) en el Laboratorio de Genética Molecular de la División de Estudios de Posgrado e investigación de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México. Esta cepa fue cultivada en agar enriquecido: 40 mg de tripticaseína soya agar (TSA), 500 ml agua bidestilada, 5 ml sangre de cordero a temperatura ambiente por una noche. Se almacenaron hasta su uso a 4°C.

#### **Preparación de cultivos bacterianos**

Se descongeló la cepa *Streptococcus mutans* (ATCC® 25175™) de manera estéril en el cuarto de microbiología asignado para dichos fines. Con un mechero y, un asa bacteriológica esterilizada con fuego previo a su utilización, se realizó el sembrado en técnica de pasto o césped, se etiquetaron las cajas petri para después llevarse a la cámara de anaerobiosis en un ambiente de 80% N<sub>2</sub>, 10 % CO<sub>2</sub>, 10% H<sub>2</sub> por 72 horas (figura 5). Se realizaron dos resiembras con estría triple, para la corroboración de purezas de cada cepa, cada siembra se realizó por duplicado, para garantizar la viabilidad y descartar la contaminación del cultivo. Después de 72 horas, el crecimiento de cada cultivo fue recolectado y colocado en tubos de



centrifugación falcón de 15 mL que contenían 5 mL de TSB. Las células fueron medidas con espectrofotómetro para calcular la densidad óptica de 1 (OD1) a una  $\lambda = 600 \text{ nm}$ , que es considerada como equivalente a  $10^9$  células bacterianas ( $OD1 = 10^9$ ).

Una vez obtenida OD1, se realizaron diluciones seriadas, hasta obtener la correspondiente dilución de  $10^5$  células, empleada para los ensayos de susceptibilidad antibacteriana en caldo.



Figura 5. Cultivos para *S. mutans*

### **Preparativos para disoluciones.**

Se marcaron 10 tubos eppendorf estériles con el nombre de la disolución (1 a 10), se pipetearon 10 tubos de 1.5 ml con 500 uL de agua estéril, del tubo de la concentración máxima, pasar 1 ml al tubo 1 y 1 ml al tubo 2 y se mezcló con sonicador y pipeta, del tubo 2 pasar 500 uL al tubo 3 y mezclar con sonicador y pipeta, del tubo 3 pasar 500 uL al tubo 4 y mezclar con las mismas condiciones, del tubo 4 1 ml al tubo 5 y de igual manera se mezcla, se sigue el mismo procedimiento hasta llegar al tubo 10.

En 3 cajas de Petri estériles se marcaron: caldo, bacteria y amoxicilina, se introdujeron a la cámara de anaerobiosis para realizar una lectura y tener un control de OD.

### Prueba de susceptibilidad antibacteriana de NPs de MgO en *S. mutans*

Se realizaron dos pruebas de susceptibilidad, en la primera se colocaron 100 µL de cada una de las dispersiones de NPs de MgO (20 a 0.039 mg/mL) y en la segunda (5 a 0.031 mg/mL), obtenidas a partir de las dispersiones seriadas (1:1), por triplicado, en cada uno de los pozos correspondientes. A cada uno de estos pozos se agregaron 100 µl de *S. mutans* (dilución 10<sup>5</sup>). Para el control positivo (C+) se colocaron 100 µl de bacteria y 100 µL de amoxicilina de concentración 1 mg/mL y para el control de inhibición negativa (CI-) 100 µL de bacteria y 100 µL de caldo TSB. Adicionalmente, se realizó otra placa de control, en la que se depositaron 100 µL de cada sistema de NPs sin bacterias y 100 µL de caldo TSB, para calcular las densidades ópticas propias de las NPs dispersas en el medio de cultivo. Cada ensayo se realizó por triplicado.

Un esquema general de la distribución de los sistemas de NPs, C+, C-, en los pozos de las placas, se muestra en la tabla 1. Posteriormente, se incubaron en cámara de anaerobiosis y bajo aerobiosis durante 72 horas a 160 rpm en plataforma de agitación, selladas con parafilm y cubiertas con plástico adherente. Al concluir el tiempo de incubación (72 horas), se retiraron las placas de 96 pozos. Se utilizaron 90 µl del buffer Trizma-EDTA pH 6.5 (TE) y 10 µl y se procedió a medir cada una de las placas con ayuda de un espectrofotómetro UV-Vis FilterMax F5 a la  $\lambda = 595$  nm.

Se realizaron dos ensayos utilizando diferentes concentraciones como se observa en la Tabla 1 y Tabla 2.

Tabla1. Concentraciones de NPs de MgO (mg/mL) en *S. mutans* (primer ensayo)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	20	10	5	2.5	1.25	0.312	0.625	0.156	0.078	0.039	CP	CI-
B	20	10	5	2.5	1.25	0.312	0.625	0.156	0.078	0.039	CP	CI-
C	20	10	5	2.5	1.25	0.312	0.625	0.156	0.078	0.039	CP	CI-
D											Caldo 200µL	Caldo 200µL
E											Caldo 200µL	Caldo 200µL

Tabla 2. Concentraciones de NPs de MgO (mg/mL) en *S. mutans* (segundo ensayo)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	5	4	3	2	1	0.5	0.25	0.125	0.062	0.031	CP	CI-
B	5	4	3	2	1	0.5	0.25	0.125	0.062	0.031	CP	CI-
C	5	4	3	2	1	0.5	0.25	0.125	0.062	0.031	CP	CI-
D											Caldo 200µL	Caldo 200µ L
E											Caldo 200µL	Caldo 200µ L

CP (control positivo). Bacteria 100 µL + caldo 100 µL

CI- (control de inhibición negativa). Bacteria 100 µL + Amoxicilina 100 µL

Pasadas las 72 horas se tomaron 100 µL de cada pozo diluido (1:1), para el cultivo anaeróbico en TSA enriquecido, y corroboración de viabilidad por conteo de Unidades Formadoras de Colonia (UFC's), a las condiciones de cultivo especificadas previamente. El conteo fue realizado con un contador de colonias y estereomicroscopio (Fisherbrand™).

### 6.5 Diseño estadístico

Los datos obtenidos de absorbancia, se almacenaron en una base de datos en Excel, dónde cada una de las lecturas se determinaron de las dispersiones (1:10) 10 µl del contenido de cada pozo y 90 µl de Buffer Trizma-EDTA pH 7.6 (0.372 g - EDTA (1 mM), 1.576g - Trizma® hydrochloride (10 mM) y 1 L - agua destilada UV/UF),

Los resultados fueron promediados por triplicado y comparados en par con respecto al promedio de los controles positivos de la cepa individual, por medio de la prueba estadística *T de Student*, con paquete estadístico SPSS y ajuste de comparaciones múltiples por triplicado, con ICC al 95%. Los valores de P son; 0.05, 0.01, 0.001, al realizar el ajuste por triplicado, ya que el ensayo se manejó de esta manera, los resultados quedaron; 0.01522, 0.00300 y 0.00030 respectivamente <sup>(44)</sup>.

De los cultivos anaerobios obtenidos de cada dilución se determinaron las UFC's como la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) determinada por el número de colonias visibles (número de UFC), la sensibilidad con la Concentración Mínima Bactericida (MBC) había informado no crecimiento (UFC = 0) y los resultados de

resistencia habían informado como un crecimiento positivo incontable. (CFU's = +) así como inhibición no visible <sup>(45)</sup>.

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Síntesis y caracterización de NPs de MgO.

Se lograron sintetizar NPs-MgO a través de un método mecanoquímico y libre de solventes. Según los resultados por XRD, se muestran picos de fuerte intensidad en (111), (200), (220), (311) y (222) que se atribuyen a la fase de MgO cúbico (Figura 6). Los picos de difracción son muy agudos, lo que indica que la fase de las NPs-MgO está bien cristalizada, sin registrarse otros picos que indicaban la presencia de otros elementos que no pertenecen a la estructura cristalina del MgO.

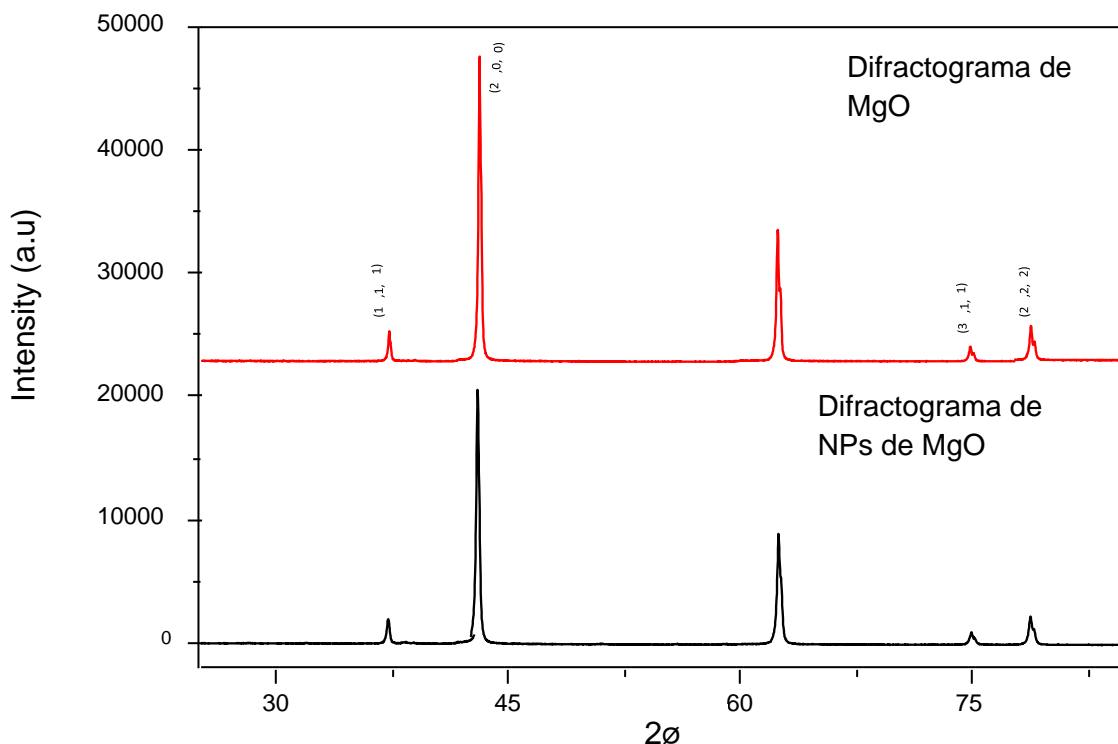


Figura 6. Comparación de difractogramas de MgO y NPs de MgO.

El siguiente paso fue analizar por XRD el tamaño de nanopartícula que se obtuvo con esta síntesis. Se utilizó la fórmula de Debye Scherer con la que se puede estimar el tamaño promedio de cristal:

$$\beta = \frac{k \times \lambda}{FWHM(S) \times \cos\theta}$$

Dónde:

$\beta$  es el tamaño promedio de nanopartícula

K es el factor de forma del cristal y su valor es de 1.0

$\lambda$  es la Longitud de onda de la radiación utilizada ( $\lambda$  Cu)

$\theta$  es la posición del pico de difracción.

FWHM (S) es el ancho a la altura media del pico de difracción de la muestra

El resultado de este análisis indico que el tamaño promedio de los nanocristales de MgO es de **21.25 ± 2.5**.

De esta manera se continuó la caracterización de las NPs-MgO por Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM), obteniéndose las siguientes micrográficas (Figura 7).

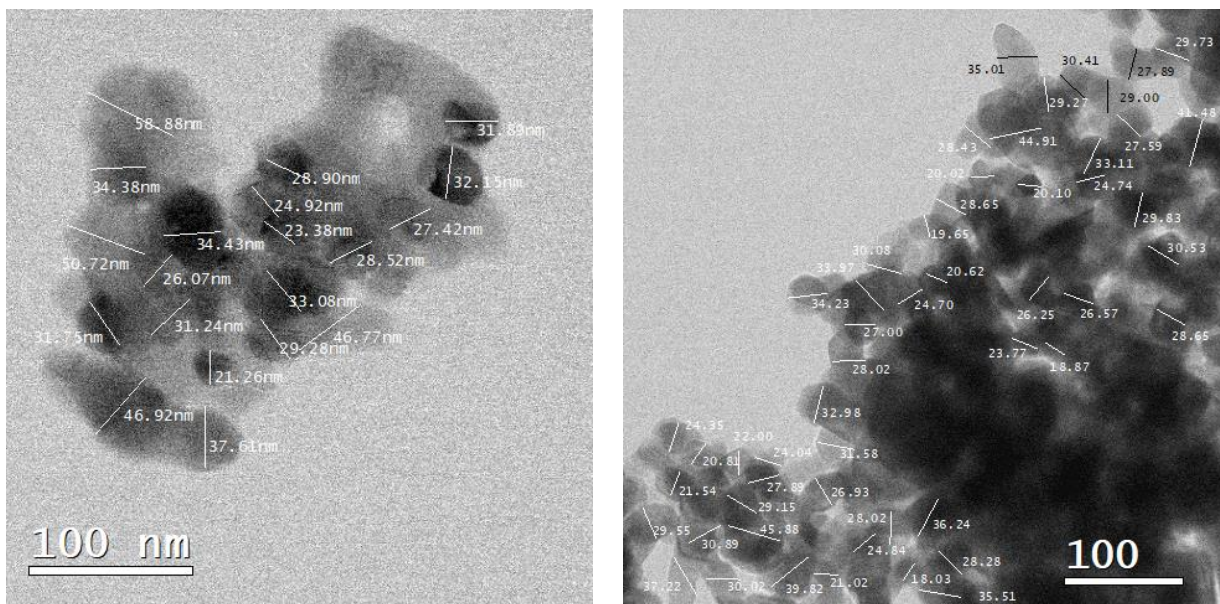


Figura 7. Micrográficas por Microscopia electrónica de transmisión (TEM) de MgO y NPs de MgO.

Las micrográficas por TEM muestran que las NPs-MgO tienen diversas formas destacándose formas poliédricas y alargadas con tamaños menores a 100 nm.

## 7.2 Ensayos antibacterianos *in vitro*

Se realizaron dos ensayos antibacterianos *in vitro*, el primero fue exploratorio para valorar las concentraciones efectivas. Se obtuvieron los siguientes resultados

### Ensayo 1

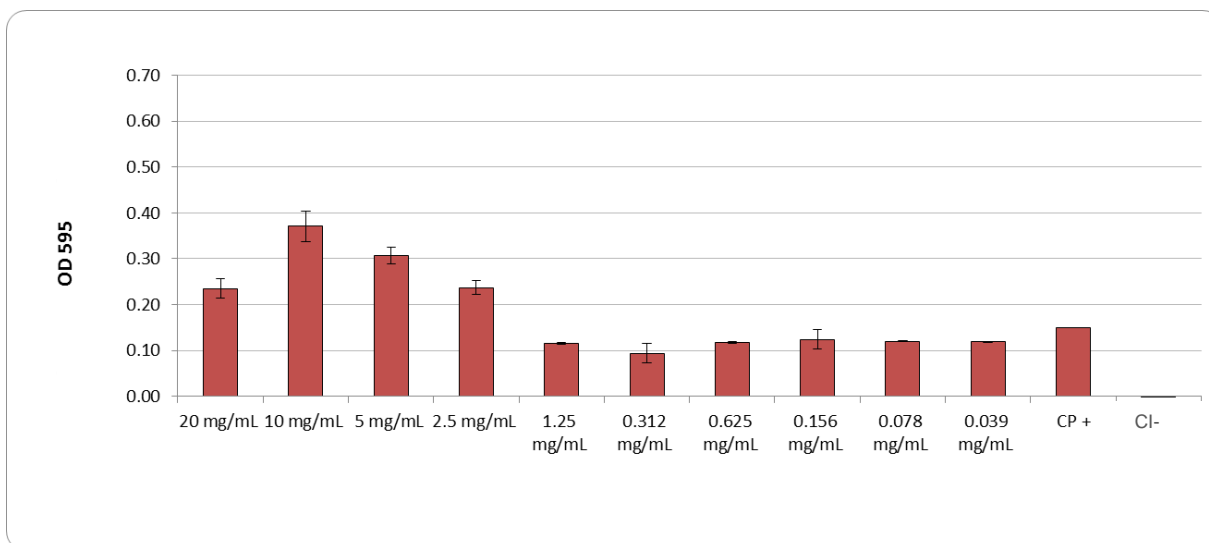


Figura 8. Efecto antibacteriano de NPs de MgO en *S. mutans*. Ensayo 1. Comparaciones en par frente al control +. Prueba *T de student* con comparaciones múltiples, valor de P: 0.01

En este ensayo se observaron variaciones en todas las concentraciones (Figura 8), es decir que si hubo un efecto antibacteriano general de las NPs de MgO en *S. mutans*. Con respecto a las UFC's en la concentración máxima (20 mg/mL) y en las concentraciones medias (0.312, 0.625, 0.156 mg/mL) se presenta un efecto bactericida para *S. mutans*, ya que no se observa crecimiento de UFC en agar, de modo que estas CMB permiten un efecto notable sobre la viabilidad de la bacteria. Por otro lado, en las concentraciones 10, 5, 2.5, 1.25, 0.078 mg/mL existe una propiedad bacteriostática ya que hubo un ligero crecimiento de unidades formadoras de colonia. Lo anterior podría deberse a una limitante de la técnica, es probable que por la cantidad y el espacio del pozo las NPs no se hayan podido dispersar de la manera adecuada y que el efecto haya sido mínimo. (Figura 9)

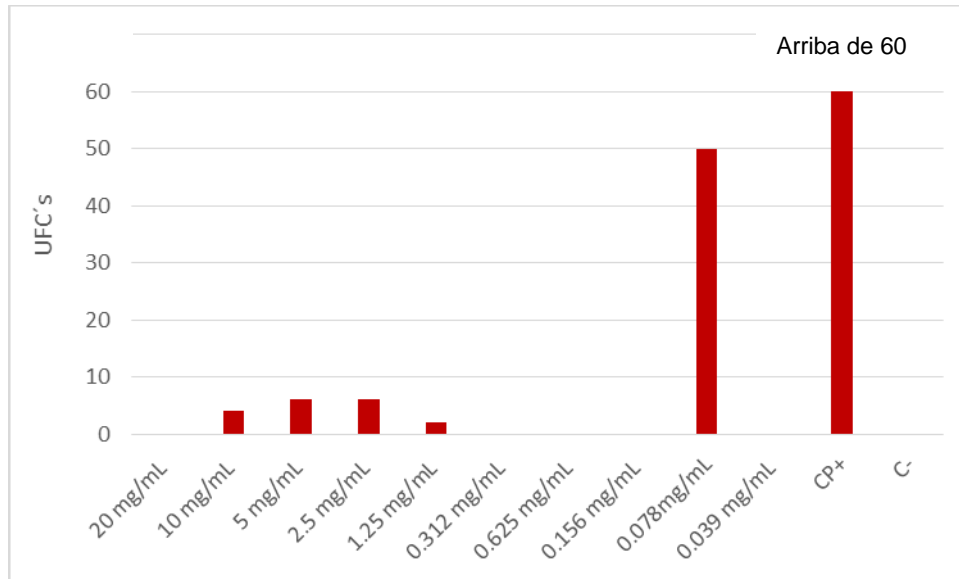


Figura 9. Conteo de unidades formadoras de colonias (UFCs) y efecto antibacteriano de NPs de MgO en *S. mutans*. Ensayo 1

## Ensayo 2

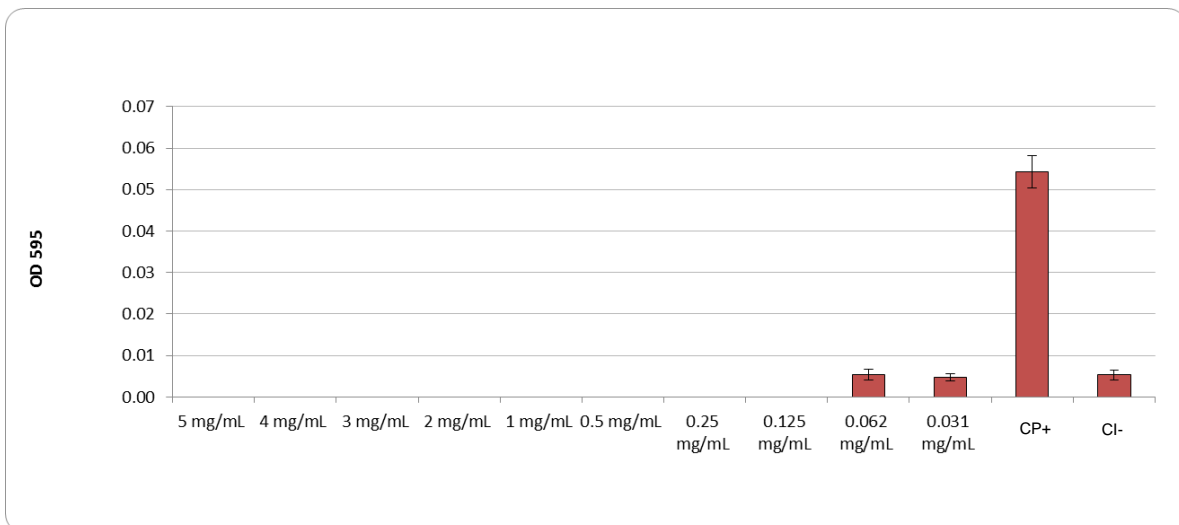


Figura 10. Efecto antibacteriano de NPs de MgO en *S. mutans*. Ensayo 2 Comparaciones en par frente al control +. Prueba *T de student* con comparaciones múltiples, valor de P: 0.05



Con respecto al segundo ensayo, en los resultados se observó disminución en la OD de todas las disoluciones evaluadas (Figura 10), es decir que hubo un efecto antibacteriano significativo y general de las NPs de MgO en *S. mutans* en comparación con los controles negativo y positivo. Las concentraciones más bajas 0.062 y 0.031 mg/mL registran absorbancias mínimas lo que indica que probablemente el efecto sea bacteriostático. Para corroborar lo anterior el conteo de UFCs (Figura 11) indico los siguientes resultados.

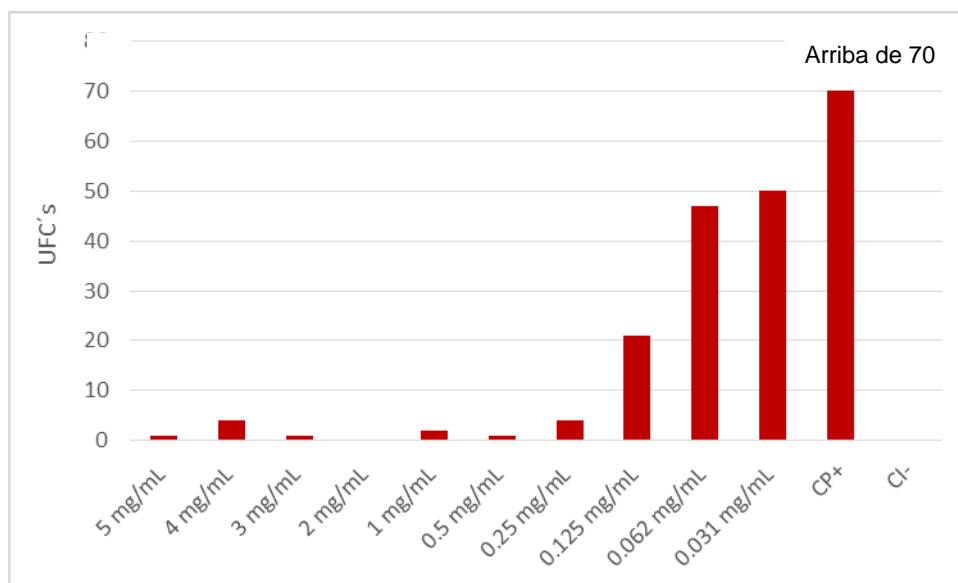


Figura 9. Conteo de unidades formadoras de colonias (UFCs) y efecto antibacteriano de NPs de MgO en *S. mutans*. Ensayo 2

Los resultados indican que existe un efecto bacteriostático en todas las concentraciones de NPs de MgO ya que hubo un crecimiento de UFCs. Se puede observar que en las placas con mayor concentración de NPs el crecimiento de UFCs en agar es mínimo de modo que estas concentraciones permiten un efecto notable sobre la viabilidad de la bacteria, pero bacteriostático al no eliminar completamente la cepa de *S. mutans* (Figura 11).

## 8. DISCUSIÓN

En este trabajo se lograron obtener NPs de MgO utilizando un método de fácil realización, con propiedades antibacterianas en contra de *S. mutans* principal microorganismo responsable de la caries dental.

La mecano-síntesis reportada en esta investigación es un proceso versátil, alternativo y libre de solventes, diferente a la reportada en otros estudios <sup>(18,46-49)</sup>. Las características de estas NPs son comparables con otros reportes donde se utiliza microscopía electrónica de transmisión y difracción de rayos X.

El efecto antibacteriano de NPs de MgO ha sido reportado por diferentes autores, más encaminados a analizar el efecto sobre bacterias patógenas causantes de enfermedades nosocomiales <sup>(50-54)</sup>.

Con respecto al área odontológica los reportes son diversos y más encaminados en el efecto de NPs a base de plata, cobre y zinc (tabla 2). Como se puede apreciar la mayoría de las síntesis de estas NPs involucran solventes y otros agentes que tienen ya un efecto tóxico en bacterias; esto podría disfrazar de manera significativa el efecto propio de las NPs.

Por otro lado, los reportes sobre el efecto de NPs de MgO en especies bacterianas bucales y principalmente en *S. mutans*, han sido mínimos o nulos. Rayia J y col. <sup>(55)</sup> reportan el uso de NPs-MgO con un tamaño de 90 nm en contra de *S. mutans*; donde no se reporta la obtención de las NPs y el resultado no es favorable ya que solo se observan de 1-2 mm de inhibición en el antibiograma. Por otro lado, Haghshenas y col. <sup>(56)</sup>, reporta NPs-MgO de 70 nm de tamaño; estas fueron sintetizadas por el método de sonicación, observándose buena actividad antibacteriana en contra de *S. mutans*. Por otra parte, Caballero, J. <sup>(57)</sup> reportó NPs-MgO de 20-40 nm de tamaño sintetizadas por el método de sonotermal, en este reporte se observa la propiedad antibacteriana de las NPs en *S. mutans* y *E. coli*. El resultado es más evidente en contra de *S. mutans*.

**Tabla 2. Reportes del uso de nanopartículas frente a *S. mutans*.**

Tipo de NPS	Tamaño	Concentración	Síntesis/ Método	Prueba <i>in vitro</i>	Referencia (Autor-año)
Plata (Ag)	>100 nm	0.075,0.125 y 0.175 mg/ml	Química convencional	Antibiograma	Guevara L. Y cols. (2019). <sup>(58)</sup>
Plata (Ag)	5.2 y 17.5 nm	5.19 mg/ml	Síntesis no reportada	Microdilución	Díaz J y cols. (2019). <sup>(59)</sup>
Plata (Ag)	35 nm	0.03951mg/ml	Química convencional	Microdilución	Gadelna A. Y cols. (2013) <sup>(60)</sup>
Cobre (Cu)	530 nm	CuNP c/a 0.4 mg/ml CuNP s/a 0.04 mg/ml, QuitNP 0.6 mg/ml, CuNP/QuitNP 0.1mg/ml, CuNP+QuitNP 0.1mg/ml	Química verde	Microdilución	Tepania D. Y cols (2015) <sup>(27)</sup>
Plata c/ clorhexidina	17.5 nm 48.2 nm 8.2 nm	10, 20, 30 mg/ml	Química verde y química convencional	Antibiograma	Guadarrama S. et.al (2013). <sup>(61)</sup>
Plata	10-68 nm	100 mg/ml	Síntesis no reportada	Microdilución	Elias M. et.al (2018). <sup>(62)</sup>
Plata	40 nm 80 nm	98 mg/ml	Síntesis no reportada	Microdilución	Hernández J. et.al (2010). <sup>(63)</sup>
Óxido de zinc y cobre	0.75 y 0.1 / ml	0.02 mg/ ml de acetato de zinc o acetato de cobre	Sonoquímica	Antibiograma	Eshed M. etal (2012). <sup>(64)</sup>
Cobre - níquel	9.3 nm	0.01, 0.010, 1, 10, 100, 1000 mg/ml	Mecanosíntesis	Microdilución	Argueta L. et.al (2015). <sup>(65)</sup>
Quitosan	50 nm	1.25 mg/ml 2.5 mg/ ml 5. 00 mg/ml	Gelificación iónica	Antibiograma y Microdilución	Palmeira B. et.al (2015). <sup>(66)</sup>
Plata Oro Óxido de zinc	25 nm 125 nm 80 nm	0.0976 a 100 mg/ml plata 3.90 a 4000 mg/ml óxido de zinc 0.192 a 197 mg/ml oro	Síntesis no reportada	Microdilución líquida	Hernández J. et.al (2008). <sup>(67)</sup>
Plata	10 nm	5 mg/ml	Mecanosíntesis	Antibiograma	Gurunathan. et. al. <sup>(68)</sup>
Plata	20 nm	0.015 mg/ml 0.0075 mg/ml	Electroquímica	Microdilución	Vázquez M. et.al (2014). <sup>(69)</sup>

Frente a estos reportes, las NPs obtenidas de MgO en esta investigación por mecano-síntesis, de morfología poliédrica y tamaño promedio de 21 nm demuestran que la actividad antibacteriana en contra de *S. mutans*, principal microorganismo causante de la caries dental, es eficiente, ya que, usando diferentes concentraciones, se lograron obtener efectos bactericida y bacteriostático. Dada las características de la metodología empleada, fue necesario realizar dos diseños experimentales con diferentes concentraciones para tener más certeza en los resultados.

Teniendo en cuenta que existe poca literatura en el área dental de dichas nanopartículas, y sintetizadas por mecano-síntesis los resultados de esta investigación indican que estas NPs tienen el potencial de ser usadas dentro de la odontología, pero es necesario aplicar más ensayos para en algún futuro ser utilizadas clínicamente.

## 9. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Las nanopartículas de MgO sintetizadas por mecano-síntesis y caracterizadas por TEM y XRD, presentan una forma poliédrica, cristalina y de 21 nm de tamaño, por lo tanto, el método empleado es eficiente sencillo, libre de solventes u otros materiales tóxicos.

En cuanto a los ensayos antibacterianos *in vitro* se llegó a la conclusión de que las nanopartículas de MgO demostraron que tienen una buena actividad antibacterial en contra del *S. mutans*, principal microorganismo presente en la caries dental, dicha actividad depende de la concentración en la que se utilizaron las nanopartículas.

Las nanopartículas de MgO al tener tanto propiedades bactericidas como bacteriostáticas en *S. mutans* y haber sido sintetizadas por un método en el que no se utilizaron solventes o aditamentos tóxicos, podrían ser incorporadas en selladores, pastas dentales y/o enjuagues, a nivel de prevención para evitar la aparición y disminuir la prevalencia de la caries dental.

En los casos de caries dental en etapas avanzadas en donde ya existe una cavitación y el tratamiento indicado sea una restauración, las nanopartículas de MgO podrían incorporarse en materiales para la desinfección de la cavidad e incluso en los materiales de restauración y así evitar la caries secundaria.

## 10. REFERENCIAS

1. Elguero BP, Román PP, Goya LP. La tabla periódica de los elementos químicos. 1 edición. Madrid: editorial CSIC; 2019.
2. Jin T, He Y. Antibacterial activities of magnesium oxide (MgO) nanoparticles against foodborne pathogens. *J Nanoparticle Res* [Internet]. 2011 [citado 5 Febrero 2020]; 13(12):77–85.
3. De Francisco ALM, Rodriguez M. Magnesio y enfermedad renal crónica. *Revista nefrología. Organó Oficial de la Sociedad Española de Nefrología* [Internet]. 2013 [citado 5 febrero 2020]; 33(3): 389-399.
4. Galli S. Magnesio soluble podría promover la formación de hueso en implantología [internet]. Malmö, Suecia: dental tribune international; 2017[citado 5 febrero 2020;]
5. Aranda P, Planells E, Llopis J. Magnesio. *Ars Pharmaceutica* [Internet]. 2000 [citado 5 Febrero 2020]; 41(1): 91-100.
6. Sezer N, Evis Z, Murat SK, Tahmasebifar A, Koç M. Review of magnesium-based biomaterials and their applications. *ELSEVIER* [internet]. 2018 [citado 6 febrero 2020]. 6. 23-43.
7. Fabrega J, Luoma S, Tyler C, Galloway T, Lead J. Silver nanoparticles: behaviour and effects in the aquatic environment. *Environment International* [internet]. 2001[citado 05 febrero 2020]; 37: 517-531.
8. Feynman RP. The development of the space time view of quantum electrodynamics. *Science* [Internet] 1966 [citado 8 febrero 2020]; 153:699-708.
9. Drexler KE. Molecular engineering: An approach to the development of general capabilities for molecular manipulation. *PNAS USA* [Internet]. 1981 [citado 8 Febrero 2020]; 78:5275-5278.
10. Cantin LM, Vilos OC, Suazo GI. Nanodontología; el futuro de la odontología basada en sistemas Nanotecnológicos. *Int J Odontostomatol* [Internet]. 2010 [citado 8 Febrero 2020]; 4(2):32-127.
11. Sahoo S, Parveen S, Panda J. The present and future of nanotechnology. *Nanomedicine: Nanotechnology. Biology and medicine* [internet]. 2007 [citado 8 Febrero 2020]; 3: 20-31.
12. Bazan SA, Monjaras AJ, Balderas DC, Molina TE. Uso y aplicación de Nanopartículas de plata en Odontología. *Boletín Científico Instituto de Ciencias de la salud, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo* [Internet]. 2020[citado 2 enero 2021]; 8(16):96-100.
13. Braun T, Schubert A, Zsindely. Nanoscience and Nanotechnology on the balance. *Scientometrics* [Internet]. 1997 [citado 9 Febrero 2020]; 38 (2): 321-325.
14. Patil M, Mehta DS, Guvva S. Future impact of nanotechnology on medicine and dentistry. *J Indian Soc. Periodontol.* [Internet]. 2008 [citado 8 Febrero 2020] 12 (2). 34–40.

15. Martínez HR, Abdala HM, Treviño E, Garza G, Pozas A, Rivera G. Aplicación de la nanotecnología en la odontología: Nano-odontología. Revista CES Odontología [internet]. 2011 [citado 08 Febrero 2020]; .24 (2): 87-91.
16. Uskoković V. Entering the era of nanoscience: time to be so small. J Biomed Nanotechnol [Internet]. 2013 [citado 8 Febrero 2020]; 9: 1441-1470.
17. Quintili M. Nanociencia y nanotecnología... un mundo pequeño. Centro de estudios en diseño y comunicación [Internet]. 2012 [citado 9 Febrero 2020]; 42: 125-155.
18. Vázquez OAM, Vega JAL, Paz DB. Mecanosíntesis y efecto antimicrobiano de óxidos metálicos nanoestructurados. Mundo nano [Internet]. 2018 [citado 14 Ene 2021]; 11(21): 29-44.
19. Freitas RA. Welcome to the future of medicine. Strategy for the future of Health. [Internet]. 2009 [citado 9 Febrero 2020]; 149: 6 -251.
20. Freitas RA. Nanodentistry.ELSEVIER [Internet]. 2000 [citado 10 Febrero 2020]; 131:1559-1566.
21. Patil M, Mehta DS, Guvva S. Future impact of nanotechnology on medicine and dentistry. J Ind Soc Periodontol [Internet]. 2008[citado 10 Febrero 2020]; 12:34-40.
22. Cruzat Contreras CA. (2010). Síntesis y caracterización de nanopartículas metálicas soportadas en quitosano.(Tesis de Doctorado). Universidad de Concepción, Facultad de Ciencias Químicas, Chile.
23. Suárez MA, Álvarez O, Álvarez MA, Rodríguez RA, Valdez S, Juárez JA. Characterization of microstructures obtained in wedge shaped Al- Zn-Mg ingots. J Alloys Comp [Internet]. 2010[citado 10 Febrero 2020]; 492:373-377.
24. De la Fuente HJ, Álvarez MA, Sifuentes MC. Uso de nuevas tecnologías en odontología.Revista Odontologica Mexicana [Internet]. 2011. [citado 5 febrero 2020]; Vol 25(3): 157-162.
25. Tolaymat T, Badawy A, Genaidy M, Scheckel K, Luxton T, Suidan M. "An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticle in syntheses and applications: A systematic review and critical appraisal of peer-reviewed scientific papers". Science of the Total Environment [Internet]. 2010 [citado 10 Febrero 2020]; 408(5): 999–1006.
26. Chatterjee A, Chakraborty R, Basu T. "Mechanism of antibacterial activity of copper nanoparticles". Nanotechnology [Internet]. 2014 [ciato 6 Febrero 2020]; 25: 135101-135113.
27. Trepiana Fica D.A. (2015). Síntesis de suspensiones de nanopartículas de cobre y evaluación de sus propiedades antimicrobianas frente a streptococcus mutan. (Tesis de licenciatura) Universidad de Chile.
28. Nuñez DP, Garcia BL. Bioquímica de la caries dental. Revista habanera de ciencias médicas [Internet]. 2019 [citado 6 febrero 2020]; 9(2): 156-166.

29. Thenisch NL, Bachmann LM, Imfeld T, Leisebach T, Steurer J. Are mutans streptococci detected in preschool children a reliable predictive factor for dental caries risk? A systematic review. *Caries Res* [Internet].2006 [citado 6 Febrero 2020]; 40: 366 -74.
30. Catalá PM, Cortes LO. La caries dental: una enfermedad que se puede prevenir. ELSEVIER [Internet].2014. [Citado 5 Febrero 2020]; 12(3): 147-151.
- 31 .Ojeda GJC, Oviedo GE, Salas LA. Streptococcus mutans y caries dental. *Revista CES odontología* [Internet]. 2013 [Citado 6 Febrero 2020]. 26(1): 44-56.
32. Carels C. Concepts on orthodontics of the future: speculation or illusions? *Orthod France* [Internet]. 2008 [citado 5 Febrero 2020]; 79:49-54.
33. Nakano K, Nomura R, Nakagawa I, Nakano K, Nomura R, Nakagawa. Demonstration of Streptococcus mutans with a Cell Wall Polysaccharide Specific to a New Serotype, k, in the Human Oral Cavity. *J. Clin. Microbiol* [internet]. 2004 [citado 10 febrero 2020]; 42(1): 198–202.
34. Duque de Estrada J, Pérez JA, Hidalgo I. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. *Rev. Cub. Estomatología* [internet].2006 [citado 6 febrero 2020]. 43(1).
35. Carrillo SC. La caries secundaria y su adecuado diagnóstico. *Mediagrapic* [Internet]. 2012 [citado 6 Febrero 2021]; 69(6): 258-265.
36. Kidd E, Fejerskov O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Rest* [Internet]. 2004 [citado 6 Febrero 2021]; 83: 8-35.
37. Basso ML. Conceptos actualizados de cariología. *Rev Asoc Odontol Argent* [Internet] 2019 [citado 5 Febrero 2021]; 107: 25-32.
38. Figueroa GM. Caries secundaria. *Acta Odontológica Venezolana* [Internet]. 2009 [citado 5 Febrero 2021]; 47(2).
39. Méndez I, Namihira D, Moreno J. El protocolo de investigación. Lineamientos para su elaboración y análisis. 2da edición. Mexico: editorial trillas; 1990.
40. Chales PP, Frank JO. Introducción a la nanotecnología. 1 edición. España; editorial REVERTE; 2013.
41. Warren BE. X-ray diffraction. New York, Dover Publications.1990.
42. Vázquez G, Echeverría O. Introducción a la microscopía electrónica aplicada a las ciencias biológicas. 1 edición. México: fondo de cultura económica; 2000.



43. Cao, G. and Y. Wang. Nanostructures & nanomaterials: synthesis, properties, and applications. New Jersey, World Scientific.2011.
44. Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, Dibart S. Relation of counts of microbial species to clinical status at the sampled site. *J Clin Periodontol* 1991, 18, (10), 766-75
45. Jennifer M. Andrews, Determination of minimum inhibitory concentrations, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [Internet] 2001; 48(1), 5–16.
46. Pukazhselvan, D, Nasani, N, Pérez, J, Hortigüela, MJ, Yang, T, Bdikin, I, Fagg, DP. Two step mechanochemical synthesis of Nb doped MgO rock salt nanoparticles and its application for hydrogen storage in MgH<sub>2</sub>. *international journal of hydrogen energy* [Internet]. 2016; 41(27), 11716-11722.
47. Gokmese, H., & Bostan, B. Fabrication and characterization of nanoparticle MgO/B4C composite by mechanochemical method. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part E: Journal of Process Mechanical Engineering* [internet]. 2017; 231(4), 684-694.
48. Shehu, Z., David, Y., Lamayi, DW., Yoro, M., & Aliyu, SI. Mechanochemical synthesis, Characterization and Antibacterial Activity of MgO@ SiO<sub>2</sub> Nanocomposite. *Journal of Nanoanalysis* [internet]. 2020; 7(3), 203-209.
49. Muñoz DR., Cardoso APE., Pérez TJA., Patakfalvi, R., Villa Cruz, V., Pérez Ladrón de Guevara, H.,... & Castañeda Contreras, J. (2021). Two-Step Triethylamine-Based Synthesis of MgO Nanoparticles and Their Antibacterial Effect against Pathogenic Bacteria. *Nanomaterials*, 11(2), 410.
50. Muñoz Diaz, R., Cardoso-Avila, P. E., Pérez Tavares, J. A., Patakfalvi, R., Villa Cruz, V., Pérez Ladrón de Guevara, H., & Castañeda CJ. Two-Step Triethylamine-Based Synthesis of MgO Nanoparticles and Their Antibacterial Effect against Pathogenic Bacteria. *Nanomaterials* [internet]. 2021; 11(2), 410.
51. Tang ZX. & Lv BF. MgO nanoparticles as antibacterial agent: preparation and activity. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* [internet]. 2014; 31(3), 591-601.
52. Leung YH., Ng AM., Xu X., Shen Z., Gethings LA., Wong, M. T., & Leung FC.. Mechanisms of antibacterial activity of MgO: non-ROS mediated toxicity of MgO nanoparticles towards Escherichia coli. *Small* [internet]. 2014; 10(6), 1171-1183.
53. Umaralikhhan L., & Jaffar MJM. Green synthesis of MgO nanoparticles and it antibacterial activity. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science* [internet]. 2018; 42(2), 477-485.
54. Nguyen NYT., Grelling N., Wetteland CL., Rosario R., & Liu H. Antimicrobial activities and mechanisms of magnesium oxide nanoparticles (nMgO) against pathogenic bacteria, yeasts, and biofilms. *Scientific reports* [internet]. 2018; 8(1), 1-23.

55. Rayra J. Effect of metal nanoparticles in Streptococcus mutans. ELSIEVER [Internet] 2014. [Citado 05 Abril 2021]; 12(2): 39-51.
56. Haghshenas L, Amini A, Bashi A, Rahimi G. In vitro Antibacterial Biofilm effect of Magnesium Oxide Nanoparticles on Streptococcus mutans. Revista micro and nano biomedicine [internet]. 2016 [citado 12 febrero 2020]; 1(1): 21-27.
57. Caballero Sarmiento, J Efecto de la morfología de nanocompuestos HA/MgO/Pt en sus propiedades antibacterianas bajo activación fotocatalítica. (Tesis de Doctorado) Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín Facultad de Minas Escuela de Ingeniería de Materiales Ingeniería de Minas y Metalurgia.
58. Guevara Ruiz, L.M. Actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata a diferentes concentraciones sobre Streptococcus mutans en sistemas adhesivos ortodonticos. Estudio in vitro. (Tesis de licenciatura) Universidad central de Ecuador, Quito, Ecuador
59. Días GJO, Reyes LSY, Cuevas GJC, Donohue CA, Nava MSD, Espinosa CLF. Evaluación del efecto antimicrobiano de las nanopartículas de plata en placa dentobacteriana aislada de pacientes. Revista Mexicana de medicina forense [internet]. 2019 [citada 12 febrero 2020]; 4(2): 15-18.
60. Ribeiro TGA, Pelagio FMA, Santos JVE, Freiré PHL, Galembeck A, Rosenblatt A. Antimicrobial activity of silver nanoparticles in treating dental caries. Revista RFO passo fundo [internet]. 2013 [citado 12 febrero 2020] vol. 18(3): 312-315.
61. Guadarrama Reyes, S.C. (2013). Efecto antibacteriano de las partículas de plata versus clorexidina sobre Streptococcus mutans y Lactobacillus casei. (Tesis de maestría) Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, Estado de México.
62. Elias TM, Reyes LS, Tovar CKL, Donohue CA, Cuevas GJC, Espinosa CJF. Actividad antimicrobiana de nanopartículas de plata en placa dentobacteriana aislada clínicamente. Revista de investigación en ciencias de la salud [Internet]. 2018 [citado 12 febrero 2020]; vol.13: 58-60.
63. Hernandez JF. Bactericidal Capacity of Silver Nanoparticles Associated with Gantrez S-97 on Streptococcus Mutans. Journal of Clinical Pediatric Dentistry [internet]. 2010 [citado 12 febrero 2020]; 35(2): 183-185.
64. Eshed M, Lellouche J, Matalon S, Gedanken A, Banin E. Sonochemical Coatings of ZnO and CuO Nanoparticles Inhibit Streptococcus mutans Biofilm Formation on Teeth Model. Revista ASC [internet]. 2012 [citado 12 febrero 2020]; 28: 12288-12295.

65. Argueta FL, Scougall FRJ, Morales LRA, Olea MOF, Martinez JB. Evaluación de las propiedades antibacteriales de las nanopartículas Cu-Ni obtenidas a través de aleado metálico [Internet]. Toluca, Estado de Mexico; 2015:59-72.
66. Palmeira Costa B. (2015). Síntesis, caracterización y efecto inhibitorio de solución de nano partículas de quitosan en biofilm maduro de *S. mutans* (tesis de maestría) Universidad Federal de Paraiba. Paraiba, Brazil.
67. Hernández SJF, Ruiz PF, Cruz PDC, Martínez GF, Martínez AE, Pozos GAJ, Tapia PH, Martínez CG. The antimicrobial sensitivity of *Streptococcus mutans* to nanoparticles of silver, zinc oxide, and gold. *Revista ELSEVIER* [internet]. 2008 [citado 12 febrero 2020]; vol 4: 237-240.
68. Gurunathan S. rapid biological synthesis of silver nanoparticles and their enhanced antibacterial effects against *streptococcus mutans*. *Arabian Journal Chemistry* [Internet]. 2019 [citado 12 Febrero 2020]; 12: 168-180.
69. Vázquez MV, Blandón NL. Comportamiento antimicrobiano de nanopartículas de plata sintetizadas electroquímicamente. *Revista cuaderno activa* [internet]. 2014 [citado 12 febrero 2020]; 6.: 99-107.