



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES  
UNIDAD LEÓN**

**TÍTULO:  
HIDROGEL ANTIMICROBIANO BASADO EN  
NANOCOMPUESTOS PARA LA REGENERACIÓN  
PERIODONTAL**

**MODALIDAD: TESINA**

**FORMA DE TITULACIÓN: ACTIVIDAD  
DE INVESTIGACIÓN**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
LICENCIADO EN ODONTOLOGÍA**

**P R E S E N T A:**

**SHARON SHEIDA SUHAIL OROZCO  
ESCALANTE**

**TUTOR: DR. RENÉ GARCÍA CONTRERAS**

**LEÓN GTO, 2023**





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.

## Tabla de contenido

<b>RESUMEN</b>	<b>7</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>8</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>9</b>
<b>2. Marco Teórico</b>	<b>12</b>
1.1 Enfermedades Dentales	12
2.2. Placa Dental	12
2.3. Bolsa Periodontal	12
2.4. Enfermedad Periodontal	13
2.5. Raspado y Alisado Radicular	13
2.6. Historia de los hidrogeles	13
2.7. Clasificación de los hidrogeles	14
2.8. Biomateriales	15
2.9. Agentes	16
2.9.1. Pluronic 127	16
2.9.2. La penicilina y Estreptomicina	16
2. <i>Staphylococcus aureus</i>	18
3.1. Método de Kirby-Bauer	18
3.2. Potencial Z (40)	18
<b>3. Antecedentes</b>	<b>20</b>
<b>4. Planteamiento del problema</b>	<b>23</b>
<b>5. Hipótesis</b>	<b>24</b>
<b>6. Justificación</b>	<b>25</b>
<b>7. Objetivos</b>	<b>26</b>
<b>8. Marco metodológico</b>	<b>27</b>
8.1. Tipo y diseño de estudio	27
8.2. Universo o muestra, tipo de muestreo	27
8.3. Criterios de selección Materiales y métodos	27
8.4. Análisis de las variables	28
<b>8.5. Materiales y métodos</b>	<b>30</b>
<b>9. Resultados</b>	<b>33</b>

<b>10. <i>Discusión</i></b>	<b>34</b>
<b>11. <i>Conclusión</i></b>	<b>36</b>
<b>12. <i>Bibliografías</i></b>	<b>37</b>

## **DEDICATORIAS**

Mi tesis la dedico principalmente a mi Padre Rafael Orozco y a mi Hermana Melissa Orozco por haberme apoyado en esta etapa de mi vida que realmente no fue nada fácil, creo que sin ellos no lo habría logrado nunca. Por último y no por ser menos significativo a mi Madre Elizabeth que, sin los sacrificios que ella nos brindó toda su vida hasta ahora, no seríamos lo que somos ahora.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a mi papá por cada esfuerzo y el sacrificio que mi hermana me dio a pesar de no tener ninguna responsabilidad conmigo siempre me estuvo motivando e inspirando para poder superarme.

A mis compañeras quienes compartieron conmigo sus conocimientos, alegrías y tristezas.

## RESUMEN

La enfermedad periodontal sigue siendo una enfermedad prevalente a nivel mundial, la reducción de las bacterias se considera la principal estrategia terapéutica para eliminar estas bacterias infecciosas. Sin embargo, la adición de antibióticos es complementaria y recientemente se ha demostrado que el tratamiento antibiótico local, es más eficaz en las personas con periodontitis.

**Objetivo:** Conocer el efecto antimicrobiano de hidrogeles a base de F127/bPEI/PMMA/PLGA en cultivo con *Staphylococcus aureus*. **Materiales y**

**Métodos:** Se desarrolló un hidrogel basado en nanocompuestos mediante el método de desplazamiento de disolventes: Grupo-A: PLGA,PMMA, PEI, pluronic F127)+hidrogel F127+Penicilina/Estreptomina al 100% y grupo-B al 50%, grupo-C: PLGA, PMMA, PEI, pluronic+Penicilina/Estreptomina al 100% y grupo-D al 50%, control positivo: Penicilina/Estreptomina, control negativo: agua destilada. Se caracterizó por medio del potencial z. Se evaluó la actividad antimicrobiana por el método de Kirby-Bauer ajustado el *Staphylococcus aureus* a una escala Mc Farland de 0.5 y se cultivaron en agar Mueller-Hinton. Los datos fueron expresados en promedio, desviación estándar y analizados con pruebas de ANOVA post-hoc de Tukey. La significancia estadística fue considerada con un valor  $p < 0.05$  y un intervalo de confianza de 95%. **Resultados:** El hidrogel mostró un tamaño de  $144.4 \pm 57.82$ . Los puntos de corte según el documento M44-A CLSI, 2004 de la *Clinical and Laboratory Standard Institute* para el ensayo de la difusión de agar demostraron estar en el punto SDD (sensible dependiendo dosis) mostraron zonas de inhibición (mm) para el Grupo-A:  $15.5 \pm 1.9$ , Grupo-B:  $13.1 \pm 1.3$ , Grupo-C:  $18.7 \pm 0.9$ , Grupo-D:  $16.8 \pm 1.3$ , control positivo:  $24.6 \pm 1.1$ , control negativo: 6.0. **Conclusión:** Los hidrogeles mostraron ser más sensibles en contacto *Staphylococcus aureus* con el siguiente orden:  $A < C < D < B$ . Su uso como coadyuvante antimicrobiano en cirugía bucal puede ser prometedor con capacidad de liberación a largo plazo.

## ABSTRACT

Periodontal disease remains a prevalent disease worldwide, and bacterial reduction is considered the main therapeutic strategy to eliminate these infectious bacteria. However, the addition of antibiotics is complementary and recently it has been shown that local antibiotic treatment is more effective in people with periodontitis. Objective: To determine the antimicrobial effect of hydrogels based on F127/bPEI/PMMA/PLGA in culture with *Staphylococcus aureus*. **Materials and Methods:** A hydrogel based on nanocomposites was developed using the solvent displacement method: Group-A: PLGA, PMMA, PEI, pluronic F127)+F127 hydrogel+Penicillin/Streptomycin 100% and Group-B at 50%, Group-C: PLGA, PMMA, PEI, pluronic+Penicillin/Streptomycin 100% and Group-D at 50%, positive control: Penicillin/Streptomycin, negative control: distilled water. The hydrogel was characterized by means of zeta potential. Antimicrobial activity was evaluated by the Kirby-Bauer method with *Staphylococcus aureus* adjusted to a McFarland scale of 0.5 and cultivated in Mueller-Hinton agar. Data were expressed as mean, standard deviation, and analyzed using Tukey post-hoc ANOVA tests. Statistical significance was considered at a p-value of <0.05 and a confidence interval of 95%. **Results:** The hydrogel showed a size of  $144.4\pm 57.82$ . The breakpoint values according to the M44-A CLSI document, 2004 from the Clinical and Laboratory Standard Institute for the agar diffusion assay, were at the SDD (susceptible dose-dependent) point, showing inhibition zones (mm) for Group-A:  $15.5\pm 1.9$ , Group-B:  $13.1\pm 1.3$ , Group-C:  $18.7\pm 0.9$ , Group-D:  $16.8\pm 1.3$ , positive control:  $24.6\pm 1.1$ , negative control: 6.0. **Conclusion:** The hydrogels were found to be more sensitive to *Staphylococcus aureus* contact in the following order:  $A < C < D < B$ . Their use as an antimicrobial co-adjuvant in oral surgery may be promising with long-term release capability.

# 1. INTRODUCCIÓN

En la cavidad oral existen colonias de microorganismos que añadiendo una deficiente limpieza dental conjunto a enfermedades sistémicas, dieta, ingesta de algún fármaco, contribuyen a tener un ambiente excelente para permitir que patógenos oportunistas predominen teniendo como resultado enfermedades tales como la caries, enfermedad periodontal etc.

La enfermedad periodontal es determinada por una inflamación total de los tejidos circundantes del diente (la encía, el cemento, el ligamento periodontal y el hueso alveolar) que por lo general conduce a una migración de la encía (epitelio de unión) a largo de la superficie radicular. Por consiguiente la destrucción gradual del ligamento periodontal y hueso alveolar trae como consecuencia movilidad dental y en casos más graves la pérdida de estos. Las bacterias que se encuentran en la biopelícula dental subgingival son primordialmente los agentes etiológicos de la periodontitis, aunque la respuesta inmune del huésped modula el desarrollo de la enfermedad hacia la destrucción o la curación. Puesto que esta enfermedad es naturalmente infecciosa, después de un tratamiento convencional el uso de antibióticos está justificado (1-4)

Además, de los tratamientos existentes, incluso en los casos en que haya una reducción o inhibición en la evolución de la enfermedad, persisten dos problemas: (1) el desprendimiento de los tejidos periodontales al diente y entre sí, perjudicando la funcionalidad del diente y de la dentición, y (2) la constante resistencia de las bacterias (gram-positivas y gram-negativas) a los antibióticos a causa de un probable mal uso, limitando así su completa eficacia para actuar en la interferencia de la síntesis de las proteínas bacterianas y en la inhibición de las actividades de las colagenasas.

Mencionando algunos patógenos oportunistas dentro de la cavidad oral como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* se adhieren fijamente a la biopelícula.

La reducción de las bacterias mediante tratamientos mecánicos se considera la principal estrategia terapéutica para eliminar estas bacterias infecciosas. Sin embargo la adición de antibióticos es complementaria y recientemente se ha demostrado que el tratamiento antibiótico local, es más eficaz en las personas con periodontitis. La capacidad de formar biopelícula no parece restringirse a ningún grupo bacteriano específico y, en la actualidad, se considera que bajo condiciones ambientales adecuadas, la inmensa mayoría de las bacterias, independiente de la especie, puede existir dentro de biopelícula adheridos a superficies en una interfase sólido/líquida, incluyendo patógenos como *P. aeruginosa*, *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *Klebsiella* y *S. aureus* (Anderl et al., 2000; Chole y Faddish, 2003; Post et al., 2004; Thomas y Nakaishi, 2006). La adhesión a una superficie húmeda (inanimada o viviente), es de carácter irreversible; el biofilm no logra ser removido mediante lavado suave (Fergie et al., 2004; Ramadan et al., 2005)

Así, los biomateriales vienen siendo desarrollados para mimetizar el microambiente oral y restituir la funcionalidad del periodonto sano, en función de la versatilidad para regenerar tejidos blandos (vía materiales orgánicos) o tejidos duros (vía materiales inorgánicos). Sin embargo, estos materiales combinados o modificados aún no alcanzan la reparación ideal de las estructuras finas del periodonto normal, siendo necesario micro y/o nano-biomateriales para anclar los tejidos blandos y duros en los defectos periodontales irregulares.(1,6,7,8)

Este tratamiento se coloca directamente donde se encuentra el patógeno (*Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*, por ejemplo) y en donde la enfermedad periodontal recurre quizás en sitios específicos después a un tratamiento convencional. Para destruir la estructura bacteriana y puede promover la bio modulación en queratinocitos, los fibroblastos, los osteoclastos y la angiogénesis, estimulando la citocromo C oxidasa en la cadena respiratoria mitocondrial para inducir un aumento de la energía

celular, lo que conduce a una respuesta celular, que a su vez aumentará la proliferación, la migración, la diferenciación y las actividades celulares pertinentes a la actividad metabólica para la reparación de los tejidos (8,9).

Por lo tanto, el desarrollo de un producto inteligente, seguro y eficiente basado en biomateriales, capaz de superar las limitaciones, es una estrategia potencial inmediata para permitir el uso clínico de primera línea del Cpt en el tratamiento periodontal no quirúrgico.

Alternativamente, han surgido nano antibióticos basados en polímeros biodegradables para controlar estas enfermedades infecciosas y reducir la resistencia microbiana, porque ofrecen propiedades estructurales, químicas, mecánicas, magnéticas, eléctricas y biológicas únicas, también incluyendo la versatilidad de desarrollo capaz de mejorar los perfiles de liberación, penetración y liberación controlada de los medicamentos encapsulados y así lograr características deseables, como una mayor absorción de antibióticos, menos reacciones adversas, mejor resistencia a los medicamentos, menor duración del tratamiento, dosis más bajas y menor costo, especialmente para pacientes con infecciones graves (3, 8,)

Por lo antes mencionado, el objetivo de la presente investigación fue el de conocer el efecto antimicrobiano de hidrogeles a base de F127/bPEI/PMMA/PLGA en cultivo con *Staphylococcus aureus* mediante la síntesis de un hidrogel por el método de desplazamiento de disolventes y conocer su actividad antimicrobiana por el método de Kirby-Bauer por la determinación de los halos de inhibición. (10,11)

Los trabajos más recientes de nuestro grupo de investigación interdisciplinaria han revelado que los biomateriales de PMMA, PEI, entre otros, pueden generar propiedades (nanoestructuras, antibacterianas, antifúngicas, biocompatibles, controlables e híbridas). (12,13)

## **2. Marco Teórico**

### **1.1 Enfermedades Dentales**

Se han realizado diversos estudios donde se demuestra que la caries, la enfermedad periodontal y traumatismo dental son una de las principales causas de la pérdida dental en la población mexicana.

De acuerdo a lo documentado se ha reportado que el 85% de la población padece caries y el 90% gingivitis. La gingivitis es una inflamación circundante de los tejidos de sostén del diente asociada principalmente por acumulación de biopelícula dentobacteriana, hormonal o en la administración de algún fármaco que con el tiempo reacciona en las fibras colágenas de la superficie radicular que se van desprendiendo y al no controlar este proceso esta enfermedad se va convirtiendo en periodontitis en donde existen factores más complejos para su gravedad en conjunto a enfermedades sistémicas como la diabetes, nutrición, hormonas, hipertensión como administración de algún fármaco; factores locales como la cantidad de producción de saliva, género, dieta y edad. El traumatismo periodontal también suele ser una causa de la pérdida de piezas dentales donde se ejerce una fuerza de tensión entre las mismas piezas dentales causando así lesiones en los tejidos de soporte. (14,15)

### **2.2. Placa Dental**

Masa de bacterias, materia orgánica y sustancias inorgánicas bien organizadas retenidas mayormente en malformaciones o mal posiciones dentales, aparatos ortodónticos etc, que forman el cálculo dental al mineralizarse. (16)

### **2.3. Bolsa Periodontal**

Se puede describir como la desinserción apical del tejido epitelial del diente y en donde el acumulamiento de placa bacteriana es mayor que en otros espacios del mismo diente (17)

### **2.4. Enfermedad Periodontal**

Respuesta inflamatoria de los tejidos de sostén del diente (encía, ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar) lo cual resulta por una carencia de cepillado e higiene bucal, las bacterias patógenas que se encuentran en la biopelícula dental subgingival y la respuesta inmune del huésped genera destrucción en estos tejidos volviéndose crónica y dando como resultado pérdida de hueso y así mismo pérdida del diente como tal irreversiblemente.

Por lo general la enfermedad se manifiesta primordialmente como Gingivitis en donde esta aún es reversible y sólo se presenta clínicamente sangrado gingival, inflamación, dolor y halitosis, no hay como tal destrucción total de los tejidos de sostén del diente. (18)

### **2.5. Raspado y Alisado Radicular**

El tratamiento de esta enfermedad es la remoción de la placa bacteriana y el control de su nueva formación por ello se utilizan instrumentos adecuados que ayuden a remover cálculo dental y cemento que esté infectado y afectado, antibióticos sistémicos y antisépticos causando una desinflamación y reestructuración de los tejidos de sostén del diente.

El Glossary of periodontal Terms lo define: un proceso que está diseñado para retirar cemento o dentina superficial rugosos con cálculos adheridos contaminados con toxinas microorganismos. (18)

## **2.6. Historia de los hidrogeles**

El término de hidrogel se propuso por Wichterle y Lim en 1960 al usarlos como materiales para lentes de contacto, aunque a finales del siglo XIX se empezó a emplear este término para describir algunas formas coloidales, como idea general estos hidrogeles compuestos de varios polímeros suelen tener una estructura a una red tridimensional que se le caracteriza tener la capacidad de retener o absorber una cantidad significativa de agua que esto a su vez los hace compatibles con la mayoría de los tejidos vivos ya que su naturaleza y su elasticidad al ser blanda minimiza la irritación de los tejidos (19,20)

Los hidrogeles pueden definirse como redes de polímeros hidrófilos, naturales y sintéticos donde se pueden obtener propiedades efectivas gracias a sus capacidades físicas o químicas para desarrollar diversidades de hidrogeles de distintas composiciones, características de formación, propiedades para diferentes aplicaciones

Específicamente en la aplicación en biomateriales lo que se busca principalmente es la liberación controlada y prolongada de diferentes fármacos frente a estímulos como temperatura, solventes, fuerza iónica, agentes biológicos etc (20-23)

## **2.7. Clasificación de los hidrogeles**

Existen hidrogeles naturales y sintéticos.

Los hidrogeles naturales realizados por cadenas de proteínas pueden contener propiedades inherentes como biocompatibilidad, biodegradabilidad y reconocimiento biológico celular ya que son degradados por enzimas presentes naturalmente en el cuerpo, por mencionar algunos tenemos los que están quitosán, alginato, celulosa, colágeno, ácido hialurónico, gelatina, queratina.

Los hidrogeles sintéticos químicamente presentan redes poliméricas más resistentes con degradaciones más lenta por lo que ayuda a la estancia más prolongada de esta sustancia en cualquier parte del cuerpo además de poderse modificar para lograr determinada funcionalidad y controlar su biodegradabilidad. Actualmente han sido utilizados en el campo de la medicina para regenerar tejidos, proliferación de hueso, membranas de protección absorbibles después de una cirugía.

#### Entrecruzamiento

- Físico
- Químico

#### Preparación

- Homopolímeros
- Copolímeros
- IPN o semi IPN

#### Origen

- Naturales
- Sintéticos

#### Degradabilidad

- Degradables
- No degradables

#### Carga

- No iónicos
- Catiónicos
- Aniónicos
- Anfóteros

#### Respuesta a estímulos

- Sensibles
- No sensibles

#### Tamaño

- Hidrogeles
- Microgeles
- Nanohidrogeles

## **2.8. Biomateriales**

Son usados y estructurados para usarlos como sustitución de algún órgano o tejido vivo enfermo que a su resultado presentan recuperación ya sea funcional o anatómica, algunos temporales o a lo largo de la vida del paciente como algunas prótesis en columna o en cualquier parte del cuerpo humano por ello deben cumplir ciertos criterios para poder ser aceptados en la zona a tratar como respuestas biológicas, durabilidad, comportamiento físico-químico ya que esto contribuirá a un buen resultado o fracaso de cualquiera de sus usos. (19-23)

## **2.9. Agentes**

### **2.9.1. Pluronic 127**

Debido a la frecuente resistencia a los antifúngicos y antibióticos en la población por una mala administración se han generado varios estudios para combatir enfermedades que actualmente han sido un problema de salud mundial y los tratamientos que sugieren una visión más avanzada es la aplicación de los fármacos aplicados o administrados directamente en donde se encuentre la infección y a sí mismo poder combatir algunos efectos secundarios que provoca tomarlos sistémicamente. Por ello se han estudiado biopolímeros o nanogeles que tengan propiedades físicas y químicas para mantener su estructura con la capacidad de administrarse dentro de ellos moléculas que ayuden a la liberación del fármaco y así a la sanación de la infección. (24)

Pluronic F127 co-poly-(ácido acrílico) en especial ha sido evaluado por la

FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos) siendo un ingrediente biocompatible farmacéutico para la aplicación tópica teniendo una consistencia sol-gel que ayuda a encapsular y liberar a ciertas temperaturas lo que atrapan teniendo una forma y consistencia fácil de aplicar en cualquier lugar (25,26)

El pluronic F-127 (hidrofílico, biocompatible y biodegradable), en forma de hidrogel termosensible (4 °C (líquido) - 37 °C (semisólido)), ha demostrado ser un potencial biomaterial inyectable debido a la singular transición de fase sol-gel bajo temperatura corporal que, cuando se combina con nanopartículas basadas en poli(D,L-lactida-co-glicolida) (biocompatibles y biodegradables), por ejemplo, puede evitar la liberación rápida para modular la cinética de liberación controlada, protegiendo la degradación previa y aumentando la biodisponibilidad de los fármacos. (27,28,29, 42)

### **2.9.2. La penicilina y Estreptomicina**

La penicilina es un antibiótico  $\beta$ -lactámico que inhibe la replicación de las bacterias Gram+ al interferir con la formación de la pared celular, mientras que la estreptomina es un antibiótico aminoglucósido, que mata las bacterias Gram- a través de la inhibición de la síntesis de proteínas.

El mecanismo de acción que ejerce la penicilina, es la interrupción de la síntesis de las proteínas que se usan para el crecimiento y reproducción de la célula bacteriana.

La transpeptidación de la pared se bloquea evitando la unión de nucleótidos llamados Park, asimismo bloquea 2 enzimas llamadas transpeptidasa y carboxipeptidasa que impiden la regeneración de sus paredes acelerando su destrucción (autólisis) aumentando la presión de 5 a 15 atmósferas superior al espacio en el que se encuentran normalmente.

En cambio la Estreptomina se une a la proteína P-10 sobre la subunidad ribosomal 30's, inhibiendo y disminuyendo la síntesis de proteínas y fidelidad de la traducción del código genético.

Sin embargo, como mecanismo de resistencia, algunas bacterias Gram+ excretan enzimas  $\beta$ -lactamasas que hidrolizan el enlace amida del anillo  $\beta$ -lactámico, antes de llegar a la célula bacteriana, inactivando así la penicilina y promoviendo la resistencia antimicrobiana, mientras que otras bacterias Gram- excretan la enzima estreptomina 6-fosfotransferasa que modifica y inactiva el estreptomina.

Estas reacciones han preocupado el campo de la periodoncia regenerativa, porque las infecciones causadas por microorganismos resistentes a los antibióticos han aumentado a nivel mundial y alcanzado proporciones epidémicas, limitando así los tratamientos clínicos disponibles. (30,31, 33)

### ***Staphylococcus aureus***

La bacteria *Staphylococcus aureus* tiene factores determinantes para adquirir resistencia a los antibióticos y diferentes factores de virulencia, con lo que mejora su invasión y así mismo la degradación celular inmune dando como respuesta a tejidos infectados. Lo que lo convierte a ser uno de los principales organismos patógenos más importantes

Todo esto lo convierte en uno de los organismos patógenos más importantes en infecciones nosocomiales y en personas con sistema auto inmune deprimidas produce infecciones piógenas. (30-37)

#### **3.1. Método de Kirby-Bauer**

La Organización Mundial de la Salud en 1961 regularizar métodos utilizados en el laboratorio clínico para medir la susceptibilidad antimicrobiana y en 1971 la FDA seleccionó la prueba de susceptibilidad antimicrobiana por medio de discos de papel filtro descrita por Bauer, Kirby, Sherris y Turck.

este método solo se utiliza en el medio de Agar Hinton-Mueller el cual se colocan 4 mm de profundidad en posición horizontal en cajas petri donde se almacenan a 4°C para ser usadas dentro de los primeros 7 días, antes de inocular el microorganismo las placas de petri se secan a 37°C para evitar gotas de humedad sobre el agar. (38,39)

### **3.2. Potencial Z**

El método de potencial z es una técnica utilizada en electroquímica para estudiar la adsorción de especies en una superficie de electrodo. El principio del método se basa en la medición de la carga superficial (potencial z) de una superficie de electrodo en contacto con una solución de electrolito que contiene una especie adsorbida. Al variar el potencial aplicado al electrodo, se puede medir la cantidad de carga adsorbida en la superficie, lo que permite caracterizar la adsorción.

Este método ha sido utilizado en diversos campos de la electroquímica, como la electrocatálisis, la electroquímica de materiales y la electroquímica de superficies.

El método de potencial z puede ser utilizado para estudiar la adsorción de especies en un hidrogel, lo que es importante para entender su comportamiento en solución y para diseñar hidrogeles con propiedades específicas.

El método de potencial z puede utilizarse para estudiar la adsorción de especies en la superficie de un hidrogel en solución. Por ejemplo, se puede medir el potencial z de un hidrogel en contacto con una solución que contiene iones o moléculas cargadas y variar el potencial aplicado al electrodo para medir la cantidad de carga absorbida en la superficie del hidrogel. De esta

manera, se puede caracterizar la interacción entre el hidrogel y las especies en solución y entender cómo esta interacción influye en las propiedades del hidrogel.(40)

## **2. Antecedentes**

### **Pluronic 127**

En el 2020 se realizó un estudio in vivo para analizar el efecto antimicrobiano y regenerativos a base de reactivos como Pluronic F 127 y quitosano en ratas con heridas cutáneas infectadas con cultivos de bacterias Gram-negativas y Gram-positivas (Cocos grampositivos Staphylococcus aureus, bacilos gramnegativos Escherichia coli y Pseudomonas aeruginosa) en terapia fotodinámica. Sus resultados mostraron que en heridas supurativas el Pluronic f 127 al tener una alta efectividad antimicrobiana las bacterias eran más susceptibles junto con el quitosano que ayudaba a la actividad bactericida causando efectividad desde el primer día y desaparición en el día 4. (10,40,)

En una aplicación in vivo (ratas), el hidrogel a base de F127-pirofosfato plurónico cargado con simvastatina (equivalente a 80 µg por semana) demostró porosidad, biocompatibilidad, adherencia en la bolsa periodontal, liberación sostenida del fármaco por dilución/solubilización/erosión, inhibición de la reabsorción ósea osteoclástica, efecto antiinflamatorio superior y no se informó de ninguna anomalía en el tejido periodontal regenerado. (41)

### **PMMA (Polimetilmetacrilato)**

Además, las nanopartículas a base de poli(metilmetacrilato) (no biodegradables y biocompatibles) son grandes candidatas para combinar los hidrogeles porque son conocidas por su capacidad como adyuvantes (vacunas) y portadores de fármacos (antibióticos, por ejemplo), por diversas vías de administración, y por la razón de que se ha superado la liberación incompleta (bifásica) a la administración controlada de fármacos del poli(metilmetacrilato), individualmente, combinando polímeros hidrofílicos, como el plurónico F-127, por ejemplo (43-45)

### **PEI (Polietilenimina, ramificada)**

Otro polímero hidrófilo, la polietilenimina (biocompatible y no biodegradable), se ha destacado como un candidato prometedor para su acoplamiento al poli(metilmetacrilato) y para producir nanopartículas (poli(D,L-lactida-co-glicolida)-polietilenimina, por ejemplo), ya que presenta algunas evidencias que, efectivamente, podrían prolongar el efecto antibacteriano y aumentar la significación clínica del Ct, tales como a) concentraciones mínimas letales (50 y 400 mg/L) contra las bacterias persistentes, b) aumento de la permeabilidad de la membrana externa de las bacterias gramnegativas, c) los grupos amino y catiónicos libres se unen a la superficie aniónica para internalizar, vía endocitosis, las células, y iv) encapsulación modulable de los quimioterápicos mediante la adición de otros polímeros

Por lo tanto, el desarrollo de un hidrogel, inyectable, estable y controlable en la liberación sostenida de los fármacos encapsulados sería una estrategia novedosa para el tratamiento periodontal no quirúrgico que aún no se ha reportado (11,13, 47)

### **PLGA 50:50 (poli(ácido láctico-co-glicólico))**

En ingeniería de tejidos esta nanoestructura en forma de red polimérica es utilizada para imitar matrices celulares. En tejidos celulares estos andamios se sujetan a alteraciones químicas a fines de prueba en cualquier fármaco modelado en alguna enfermedad. (48)

Son los polímeros más exitosos que se tienen en la literatura para el transporte de medicamentos hidrofílicos o hidrofóbicos aprobado por el FDA debido a su biocompatibilidad y biodegradación así protegiendo a los fármacos de la degradación y la liberación incontrolada.

Con potencial de tener modificaciones en su parte superficial y mejorar al estar en contacto con los tejidos para que así a su vez tenga un mejor

acoplamiento y así lleguen a lugares específicos por ello están siendo utilizados para tratar algunas enfermedades como el cáncer, inflamaciones hablando entre otras. (49)

### **Análisis de dispersión de luz dinámica (DLS)**

Es una técnica utilizada en física y química para medir la distribución de tamaño de partículas en una solución. Funciona mediante el uso de un haz de luz y un detector para medir la dispersión de la luz causada por partículas en solución. DLS es ampliamente utilizado en diversas aplicaciones, incluyendo la caracterización de nanopartículas, proteínas y otros sistemas coloidales.

El análisis por difracción de luz dinámica (DLS) se utiliza en la evaluación de las propiedades de los hidrogeles, incluyendo tamaño de partícula, distribución de tamaño, estabilidad y tiempo de desintegración. DLS es un método no invasivo y de bajo costo que se utiliza comúnmente en la investigación y desarrollo de nuevos hidrogeles. Por ejemplo, DLS se utiliza para medir la liberación controlada de fármacos a partir de hidrogeles y para evaluar la estabilidad de los hidrogeles en diferentes medios biológicos. Además, el análisis por DLS se utiliza para optimizar la formulación de los hidrogeles y para evaluar su seguridad y biocompatibilidad.(50)

### 3. Planteamiento del problema

La prevalencia de enfermedad periodontal y caries dental en el mundo es alarmantemente alta, según la OMS. Se estima que más del 90% de la población mundial padece caries dental en algún momento de su vida, y aproximadamente el 11% de la población adulta sufre de enfermedad periodontal grave. Ambas enfermedades pueden tener graves consecuencias para la salud dental y general, y es importante llevar a cabo medidas preventivas para reducir su prevalencia.

Las enfermedades dentales involucran en sus estadios finales la pérdida de los órganos dentales lo que causa una pérdida de la homeostasis del sistema estomatognático teniendo como resultado la falta de armonía y fisiología correcta.

La importancia de obtener agentes coadyuvantes antimicrobianos, como los hidrogeles, para la terapia y regeneración periodontal es crucial en la implementación de terapias efectivas. Sin embargo, aún no se han identificado ampliamente los hidrogeles ideales para este propósito. En respuesta a esta problemática, se propone el uso de hidrogeles antimicrobianos basados en F127/bPEI/PMMA/PLGA.

Por lo antes mencionado, es posible formular la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuáles son los efectos antimicrobianos de un hidrogel a base de F127/bPEI/PMMA/PLGA en cultivo con *Staphylococcus aureus*?

## 4. Hipótesis

La utilización de hidrogeles basados en F127/bPEI/PMMA/PLGA tendrán mayor actividad antimicrobiana en cultivo con *Staphylococcus aureus* en comparación con los grupos control.

## 5. Justificación

Los hidrogeles basados en Pluronic F 127 son aceptados por la ADA por sus características comprobadas científicamente in vivo en bolsas periodontales de ratas. La adición de nanocompuestos y un fármaco ayudará a mantener un ambiente microbiano con propiedades físico-químicas biocompatibles para la liberación prolongada del fármaco atrapado en las microesferas.

Esta investigación se justifica por la importancia de obtener agentes coadyuvantes antimicrobianos efectivos en la terapia y regeneración periodontal. Según un estudio publicado en la revista "Dental Materials" en 2012 (Kim et al.), los hidrogeles tienen un potencial significativo como agentes coadyuvantes en la terapia periodontal debido a sus propiedades de liberación controlada de fármacos y biocompatibilidad. (51)

Otro estudio publicado en "International Journal of Nanomedicine" en 2016 (Park et al.) también destaca la efectividad de los hidrogeles basados en Pluronic F 127 en la liberación controlada de fármacos y su aplicación en la terapia periodontal. (52)

En resumen, la elección de Pluronic F 127 como base para el hidrogel se justifica por su aprobación por la ADA y su efectividad comprobada científicamente en la liberación prolongada de fármacos en un ambiente microbiano biocompatible.

## 6. Objetivos

### Objetivo General

Conocer el efecto antimicrobiano de hidrogel a base de F127/bPEI/PMMA/PLGA en cultivo con bacterias *Staphylococcus Aureus*

### Objetivos Específicos

- 1 Obtener hidrogel a base de F127/bPEI/PMMA/PLGA por el método de desplazamiento de disolvente.
2. Caracterizar la estabilidad del hidrogel por análisis por difracción de luz dinámica (DLS).
- 2 Estimar el porcentaje de inhibición de los hidrogeles en cultivo con *Staphylococcus aureus*.

## **7. Marco metodológico**

### **8.1. Tipo y diseño de estudio**

Estudio experimental puro *in vitro*, descriptivo y comparativo

### **8.2. Universo o muestra, tipo de muestreo**

Universo: Hidrogeles y *Staphylococcus Aureus*

Muestreo no probabilístico por conveniencia

Tamaño de muestra, n=9

### **8.3. Criterios de selección**

#### **Criterios de inclusión**

1. Hidrogeles de pluronic
2. Cepas de S. aureus (Aislado clínica)

#### **Criterios de exclusión**

1. Hidrogeles de otro compuesto

#### **Criterios de eliminación**

1. Muestras contaminadas

## 8.4. Análisis de las variables

Variable	Def. Conceptual	Def. Operacional	Tipo de variable	Escala de medición
Variables dependientes				
Efecto antimicrobiano	Un agente antimicrobiano es un agente que mata microorganismo s o detiene su crecimiento (20).	El efecto antimicrobiano se determinó por el halo de inhibición del contacto de los hidrogeles con <i>S. aureus</i> determinado en mm de inhibición	Cuantitativa continua	De razones 0-n mm
Potencial z	Es definido como la suma de una carga superficial inicial y un líquido o capa agregada. Está presente a penas un material entra en contacto con otro líquido mide la magnitud de interacciones electrostáticas en superficies cargadas y se forma en un sólido y un líquido	Se estudiará la adsorción de especies en la superficie del hidrogel en solución y la interacción entre los compuestos y el y las especies en solución y entender cómo esta interacción influye en las propiedades del hidrogel y el tamaños de partícula del hidrogel.	Cuantitativa continua	De Razones 0-n nanómetros

	circundante y representa la carga superficial.(40)			
Variables independientes				
Tipo de hidrogel	Un hidrogel es un material polimérico con una estructura tridimensional que contiene una gran cantidad de agua en su interior (al menos 10% en peso) y que puede retener y liberar agua de forma reversible. Estos materiales pueden ser sintéticos o naturales y tienen una amplia	Dependerá el tipo de hidrogel a utilizar para que contenga sus propias características.	Cualitativa Potómica	Nominal 1. Hidroge I+ ANTIB 2. Hidróge no+Prur oni+ ANTI

	<p>variedad de aplicaciones en campos como la medicina, la ingeniería de tejidos, la agricultura, la alimentación y la purificación de agua.</p>			
--	--	--	--	--

## 8.5. Materiales y Métodos

### Materiales y reactivos

Pluronic®F-127 (polvo, biorreactivo, apto para cultivo celular 250 GR), Polietilenimina ramificada (Mw~25.000 promedio por LS, Mn~10.000 promedio por GPC, 250 ML), Poli(metilmacrilato) (polvo, Mw~15.000 promedio por GPC), Poli(D,L-lactida-co-glicolida)(lactida:glicolida (50: 50), peso molecular 30.000-60.000, 5GR), ácido 9,10-antracenediil-bis(metileno) di malónico (biorreactivo, apto para fluorescencia, 90% (HPCE) 50 MG), dimetilsulfóxido (Hybri-Max™, filtrado estéril, bio reactivo, apto para hibridoma, 99,7% 100 ML) y agua desionizada. Todos los materiales y reactivos (grado analítico) fueron de Industria KEM de León S.A. de C.V. y se utilizaron sin ninguna purificación.

### **Preparación de las nanopartículas**

Se desarrollaron nanopartículas de liberación controlada con 4 polímeros (PMMA, PLGA, PEI, Pluronic® F-127) y 1 fármaco (penicilina-estreptomicina (PS)) mediante el método de desplazamiento de disolventes.

Las nanopartículas libres de fármaco a base de F127/bPEI/PMMA/PLGA se prepararon mediante el "método de desplazamiento de disolvente" las concentraciones de F127 y bPEI se disolvieron en agua desionizada (7,5 mL) y se colocaron en un agitador magnético (temperatura ambiente, baja agitación y tres minutos).

A continuación, se disolvieron las concentraciones de PLGA y PMMA en 2,5 mL de DMSO en un agitador magnético (temperatura ambiente, agitación baja y diez minutos).

### **Preparación de los hidrogeles nanocompuestos**

El hidrogel Pluronic®F127 se preparó por el "método en frío", teniendo en cuenta las ya conocidas características termosensibles (gelificación acelerada durante 5 min (37 °C)), viscoelásticas y biológicas. Brevemente, el hidrogel Pluronic® F127 (25 wt%, 20 mL) se preparó disolviendo gradualmente el polvo de pluronic® F127 en agua desionizada a una temperatura inferior a 4 °C. Las nanopartículas cargadas de fármacos desarrolladas anteriormente se añadieron al hidrogel, mediante el "método de baja dispersión", a través de una agitación magnética baja, manteniéndolo a una temperatura de alrededor de 4 °C, y almacenadas a -80 °C.

Los grupos de estudio corresponden de la siguiente manera Grupo-A: PLGA,PMMA, PEI, pluronic F127)+hidrogel F127+Penicilina/Estreptomicina al 100%; Grupo-B al 50%; Grupo-C: PLGA, PMMA, PEI, pluronic+Penicilina/Estreptomicina al 100% y Grupo-D al 50%, control positivo: Penicilina/Estreptomicina; Control negativo: agua destilada.

## Caracterización del hidrogel

El potencial zeta de las nanopartículas HN1F= Nanopartículas (PLGA, PMMA, PEI, PLURONIC F127) + hidrogeles de F127+ penicilina /estreptomicina, N1F= Nanopartículas DE PLGA, PMMA, PEI, penicilina/estreptomicina se midieron mediante análisis por difracción de luz dinámica (DLS), Zetasizer Nano Series (Malvern Instruments Ltd., Reino Unido). Luego, las muestras se diluyeron con agua (1:100) y los datos se analizaron en triplicado con los parámetros ópticos de la viscosidad de 0.89 mPa-s y el índice de refracción del agua de 1.33 (25 °C).

## Preparación de Cultivo en Ágar Mueller Hinton

Se preparó agar Mueller Hinton (BD Bioxon) disolviendo 38 gr en 1L de agua destilada siendo esterilizada en autoclave (121°C, 2 atm) por 15 min. Se colocaron 20 mL en cajas de Petri de 10 cm de diámetro. Posteriormente con un asa esteril se tomó un inóculo de bacteria *Staphylococcus Aureus* (Aislado clínico) disponible en el área de Nanoestructuras y Biomateriales de la ENES Unidad León, UNAM. La bacteria se colocó en medio de cultivo agar Mueller Hinton. Se incubaron a 37°C durante 24 h para crear un cultivo joven. Posterior a ese tiempo, en un tubo para densitómetro con 5 mL de cloruro de sodio se colocaron 9 colonias de cultivo joven hasta ajustar la solución a una escala Mc Farland de 0.5. Una vez ajustada la bacteria, se inocularon cajas petri con agar mueller hinton y se colocaron discos de papel filtro impregnados con

HN1F= Nanopartículas (PLGA, PMMA, PEI, PLURONIC F127) + hidrogeles de F127+ penicilina /estreptomicina

N1F= Nanopartículas DE PLGA, PMMA, PEI, penicilina/estreptomicina.

Para el control positivo se consideró penicilina G/ sulfato de estreptomicina (10.000 UI/ 10 mg/mL) y para el control negativo agua destilada estéril. Las zonas de inhibición fueron medidas mediante un vernier electrónico expresado en mm considerando de principio a fin pasando por encima del disco.

## Análisis estadístico

Los datos fueron expresados en promedio, desviación estándar y analizados con pruebas de ANOVA post-hoc de Tukey. La significancia estadística fue considerada con un valor  $p < 0.05$  y un intervalo de confianza de 95%.

## Resultados

### Caracterización de potencial z

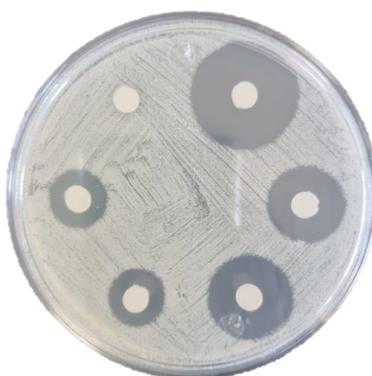
Los resultados mostraron que el tamaño promedio de partícula de las nanopartículas HN1F, que contenían PLGA, PMMA, PEI y PLURONIC F127 fue de 144.4 nanómetros y considera que su comportamiento electrostático estaba influenciado por la presencia del hidrogel de F127 (Fig. 1).



Fig. 1

### Efecto antimicrobiano

Los puntos de corte según el documento M44-A CLSI, 2004 de la *Clinical and Laboratory Standard Institute* para el ensayo de la difusión de agar demostraron estar en el punto SDD (sensible dependiendo dosis) mostraron zonas de inhibición para el grupo el Grupo-A:  $15.54 \pm 1.9$  mm, Grupo-B:  $13.14 \pm 1.3$  mm; Grupo-C:  $18.77 \pm 0.9$  mm; Grupo-D:  $16.81 \pm 1.3$  mm; Control positivo:  $24.65 \pm 1.1$  mm; Control negativo:  $6.0 \pm 0.0$  mm (Fig. 2).



**Fig. 2**

## **8. Discusión**

El uso de hidrogeles como vectores para medicamentos se está explorando en el tratamiento de enfermedades dentales y bucales. Al cargarlos con antibióticos, los hidrogeles muestran una mayor actividad antimicrobiana, lo que los hace prometedores para el tratamiento de infecciones de los conductos radiculares y la caries dental. La administración de hidrogeles se ha reportado se utiliza mediante la inyección en las bolsas periodontales, lo que permite una concentración controlada y constante del medicamento. Los hidrogeles también se están utilizando en la curación de heridas en la mucosa oral debido a sus propiedades elásticas, adhesivas y degradables. Los hidrogeles térmicamente sensibles también están siendo estudiados para tratar la mucositis oral, y los antioxidantes también se están combinando con hidrogeles para jugar un papel en la cavidad oral. (54)

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que el hidrogel desarrollado basado en nanocompuestos y caracterizado por medio del potencial zeta tiene un tamaño promedio de partícula de  $144.4 \pm 57.82$  nm. Estos resultados son consistentes con otros estudios que han reportado tamaños de partícula similares para hidrogeles basados en nanocompuestos.(55,56)

En cuanto a la actividad antimicrobiana, los resultados muestran que el hidrogel presenta actividad contra *Staphylococcus aureus*, con zonas de inhibición que varían entre los diferentes grupos evaluados. En comparación con otros estudios, algunos autores han encontrado que el tamaño de partícula puede influir en la actividad antimicrobiana, siendo las partículas de menor tamaño más efectivas. (57,59)

Es importante destacar que en este estudio se evaluó la actividad antimicrobiana utilizando el método de Kirby-Bauer ajustado para *Staphylococcus aureus*. Sin embargo, se necesitan más estudios para evaluar la actividad contra otros microorganismos y para determinar la eficacia en diferentes aplicaciones clínicas.

La hipótesis del estudio es aceptada ya que los resultados obtenidos indican que los hidrogeles basados en F127/bPEI/PMMA/PLGA tienen una actividad antimicrobiana significativamente mayor en comparación con los grupos control, cuando se evalúa su capacidad para inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus* en ensayos de difusión en agar. La eficacia de estos hidrogeles se debe a la combinación de sus componentes y a la técnica de síntesis utilizada, que ha sido validada como adecuada y eficiente en la producción de hidrogeles con propiedades antimicrobianas.

Para tener un uso seguro y compatible de los hidrogeles basados en F127/bPEI/PMMA/PLGA, se sugieren los siguientes experimentos futuros: 1) Evaluación de la citotoxicidad y tejidos humanos; 2) Se debe investigar la biocompatibilidad de los hidrogeles con los tejidos humanos y la respuesta inmune a largo plazo; 3) Evaluación en diferentes tipos de bacterias para determinar su amplio espectro de acción; 4) Evaluación en modelos animales para evaluar la seguridad y eficacia de los hidrogeles en la actividad antimicrobiana antes de su uso en seres humanos.

## 9. Conclusión

Los hidrogeles mostraron ser más sensibles en contacto con *Staphylococcus aureus* con el siguiente orden: A<C<D<B. Su uso como coadyuvante antimicrobiano en cirugía bucal puede ser prometedor con capacidad de liberación a largo plazo.

## 10. Bibliografías

1. Liang Y, Luan X, Liu X. Recent advances in periodontal regeneration: A biomaterial perspective. *Bioact Mater* [Internet]. 2020;5(2):297–308. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.02.012>
2. Souza EQM, da Rocha TE, Toro LF, Guiati IZ, Ervolino E, Garcia VG, et al. Antimicrobial photodynamic therapy compared to systemic antibiotic therapy in non-surgical treatment of periodontitis: Systematic review and meta-analysis. *Photodiagnosis Photodyn Ther* [Internet]. 2020;31(101808):101808. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.101808>
3. Xu X, Gu Z, Chen X, Shi C, Liu C, Liu M, et al. An injectable and thermosensitive hydrogel: Promoting periodontal regeneration by controlled-release of aspirin and erythropoietin. *Acta Biomater* [Internet]. 2019;86:235–46. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2019.01.001>
4. Zięba M, Chaber P, Duale K, Martinka Maksymiak M, Basczok M, Kowalczyk M, et al. Polymeric carriers for delivery systems in the treatment of chronic periodontal disease. *Polymers (Basel)* [Internet]. 2020;12(7):1574. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/polym12071574>
5. Almeida R, Mendes, Braga N, Mateus Antunes, Souza GC, Lopes Leite De, et al. Uso de antimicrobianos sistêmicos e locais no tratamento da Periodontite Agressiva. *Oral Sci*. 2014;6(1):4–9.

6. Astuti SD, Utomo IB, Setiawatie EM, Khasanah M, Purnobasuki H, Arifianto D, et al. Combination effect of laser diode for photodynamic therapy with doxycycline on a wistar rat model of periodontitis. *BMC Oral Health* [Internet]. 2021;21(1):80. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s12903-021-01435-0>
  
7. Yadav R, Kanwar IL, Haider T, Pandey V, Gour V, Soni V. In situ gel drug delivery system for periodontitis: an insight review. *Futur J Pharm Sci* [Internet]. 2020;6(1). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s43094-020-00053-x>
  
8. Wang B, Wang J, Shao J, Kouwer PHJ, Bronkhorst EM, Jansen JA, et al. A tunable and injectable local drug delivery system for personalized periodontal application. *J Control Release* [Internet]. 2020;324:134–45. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.05.004>
  
9. Sani ES, Lara RP, Aldawood Z, Bassir SH, Nguyen D, Kantarci A, et al. An antimicrobial dental light curable bioadhesive hydrogel for treatment of Peri-implant diseases. *Matter* [Internet]. 2019;1(4):926–44. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matt.2019.07.019>
  
10. Diniz IMA, Chen C, Xu X, Ansari S, Zadeh HH, Marques MM, et al. Pluronic F-127 hydrogel as a promising scaffold for encapsulation of dental-derived mesenchymal stem cells. *J Mater Sci Mater Med* [Internet]. 2015;26(3):153. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s10856-015-5493-4>

11. Jeong S, Lee J, Im BN, Park H, Na K. Combined photodynamic and antibiotic therapy for skin disorder via lipase-sensitive liposomes with enhanced antimicrobial performance. *Biomaterials* [Internet]. 2017;141:243–50. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.07.009>
  
12. Juan Carlos F-A, Rene G-C, Germán V-S, Laura Susana A-T. Antimicrobial Poly (methyl methacrylate) with Silver Nanoparticles for Dentistry: A Systematic Review. *Appl Sci (Basel)* [Internet]. 2020;10(11):4007. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/app10114007>
  
13. Machado V de O, Andrade ÂL, Simon A, Rodríguez-Fernández DE, Fabris JD, Domingues RZ, et al. Development of a novel nano-biomaterial for biomedical applications. *Mater Res Express* [Internet]. 2018;5(12):125014. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1088/2053-1591/aae11b>
  
14. Stein Gemora E, Pujana García Salmones José A, Salazar Rey D, Moreno Abel G, Nava Areli V, Osuna Luisa L, et al. Aplicación del análisis de correspondencias para determinar la asociación de factores etiológicos locales, funcionales y sistémicos con las enfermedades periodontales. *Rev Práctica Odontológica Año*. 2016;13.
  
15. Healthdata.org. [citado el 3 de abril de 2023]. Disponible en: <http://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool>.

16. Enrile De Rojas F, Fernández F. Manual de higiene bucal. 2009;13.
  
17. Sanchez Perez A, Pérez S, Villaescusa Ma M. Manual de prácticas de periodoncia 4 0 de odontología clínica odontológica universitaria. 1a. España. Universidad de Murcia. 2006;29.
  
18. Ciancios G. Farmacología Clínica Para Odontólogos.3aEdición.México Editorial Manual Moderno. 1990.
  
19. Buwalda SJ, Boere KWM, Dijkstra PJ, Feijen J, Vermonden T, Hennink WE. Hydrogels in a historical perspective: From simple networks to smart materials. J Controlled Release. 2014;190:254–73.
  
20. Wichterle O, Lim D. Hydrophilic Gels for Biological Use. Nature. 1960;185(4706):117–8.
  
21. Caló E, Khutoryanskiy VV. Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products. Eur Polym J. 2015;65:252–67.

22. Beltrán M, Marcilla A. Estructura y propiedades de los polímeros. 2012.
  
23. Rayo E, Guerrero Q. Nanogeles poliméricos: una nueva alternativa para la administración de fármacos. *Rev Mex Cienc Farm.* 2014;45:17–38.
  
24. Cuggino JC, Blanco E, Gugliotta LM, Igarzabal A, Calderón CI. Crossing biological barriers with nanogels to improve drug delivery performance. *J Contr Release.* 2019;307:221–46.
  
25. Bromberg L. Polyether-Modified Poly(acrylic acid): Synthesis and Applications. *Ind Eng Chem Res.* 1998;37(11):4267–74.
  
26. Soni KS, Desale SS, Bronich TK. Nanogels: An overview of properties, biomedical applications and obstacles to clinical translation. *J Contr Release.* 2016;240:109–26.
  
27. Wadhwa A, Mallapragada S, Sharma P. Novel indocyanine green mediated antimicrobial photodynamic therapy in the management of chronic periodontitis - A randomized controlled clinico-microbiological pilot study. *J*

Oral Biol Craniofac Res [Internet]. 2021;11(1):57–62. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jobcr.2020.11.005>

28. Guo J, Sun H, Lei W. MMP-8-Responsive Polyethylene Glycol Hydrogel for Intraoral Drug Delivery. *Journal of Dental Research* [Internet]. 2019;98(5):564–71. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1177/0022034519831931>
29. Broad-spectrum antibacterial and pro-regenerative effects of photoactivated Photodithazine-Pluronic F127-Chitosan polymer system: In vivo study.
30. Escobar-Chávez JJ, López-Cervantes M, Naik A, Kalia YN, Quintanar-Guerrero D, Ganem-Quintanar A. Applications of thermo-reversible pluronic F-127 gels in pharmaceutical formulations. *J Pharm Pharm Sci*. 2006;9(3):339–58.
31. Gemmell CG, Edwards DI, Fraise AP, Gould FK, Ridgway GL, Warren RE, et al. Guidelines for the prophylaxis and treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections in the UK. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 2006;57(4):589–608. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkl017>
32. Gudiol F, Aguado JM, Pascual A, Pujol M, Almirante B, Miro JM. Consensus document for the treatment of bacteremia and endocarditis caused by

methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009;27:105–15.

33. Nannini EC, Stryjewski ME, Singh KV, Bourgonne A, Rude TH, Corey GR, et al. Inoculum effect with cefazolin among clinical isolates of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*: frequency and possible cause of cefazolin treatment failure. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2009;53(8):3437–41. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00317-09>
  
34. Sabath LD, Garner C, Wilcox C, Finland M. Effect of inoculum and of beta-lactamase on the anti-staphylococcal activity of thirteen penicillins and cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 1975;8(3):344–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.8.3.344>
  
35. Carrizosa J, Kobasa WD, Snepar R, Kaye KM, Kaye D. Cefazolin versus cephalothin in beta-lactamase-producing *Staphylococcus aureus* endocarditis in a rabbit experimental model. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 1982;9(5):387–93. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1093/jac/9.5.387>
  
36. Goldman PL, Petersdorf RG. Importance of beta-lactamase inactivation in treatment of experimental endocarditis caused by *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis* [Internet]. 1980;141(3):331–7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1093/infdis/141.3.331>

37. Stevens DL, Yan S, Bryant AE. Penicillin-binding protein expression at different growth stages determines penicillin efficacy in vitro and in vivo: an explanation for the inoculum effect. *J Infect Dis* [Internet]. 1993;167(6):1401–5. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1093/infdis/167.6.1401>
38. Bauer AW, Kirby WHM, Sherris JC. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardised Single-Disc Method *American Journal of Clinical Pathology*. 1966;45:493–6.
39. Giono S, Villa L. Pruebas de Susceptibilidad a los antibióticos utilizando discos de papel filtro. 1981.
40. A. Cuadros-Moreno<sup>1</sup>, R. Casañas Pimentel<sup>1</sup>, E. San Martín-Martínez<sup>1</sup>, J. Yañes Fernández. Dispersión de luz dinámica en la determinación de tamaño de nanopartículas poliméricas. En 13 de Diciembre de 2014.
41. Valencia A, Teoría J. Solución a algunos problemas de floculación de fangos mediante el uso conjunto de floculantes aniónicos y catiónicos. En: Management S, Management D, Supply E, Ruíz RY, Vila M, editores. *Diseño y Control de los Procesos de Clarificación del Agua* pp Brookhaven Instruments Corporation Instruction Manual for ZetaPlus. Zeta-Meter, Inc. Coagulation & Flocculation; 1993.
40. Solovieva AB, Rudenko TG, Shekhter AB, Glagolev NN, Spokoinyi AL, Fayzullin AL, et al. Broad-spectrum antibacterial and pro-regenerative effects of photoactivated Photodithazine-Pluronic F127-Chitosan polymer system: In vivo study. *J Photochem Photobiol B* [Internet]. 2020;210(111954):111954. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2020.111954>

41. Chen N, Ren R, Wei X, Mukundan R, Li G, Xu X, et al. Thermoresponsive hydrogel-based local delivery of simvastatin for the treatment of periodontitis. *Mol Pharm* [Internet]. 2021;18(5):1992–2003. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.0c01196>
  
42. Boonrat O, Tantishaiyakul V, Hirun N. Micellization and gelation characteristics of different blends of pluronic F127/methylcellulose and their use as mucoadhesive in situ gel for periodontitis. *Polym Bull (Berl)* [Internet]. 2022;79(7):4515–34. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00289-021-03722-w>
  
43. Ahmad S, Zamry AA, Tan H-TT, Wong KK, Lim J, Mohamud R. Targeting dendritic cells through gold nanoparticles: A review on the cellular uptake and subsequent immunological properties. *Mol Immunol* [Internet]. 2017;91:123–33. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2017.09.001>
  
44. Al-Halifa S, Gauthier L, Arpin D, Bourgault S, Archambault D. Nanoparticle-based vaccines against respiratory viruses. *Front Immunol*

[Internet]. 2019;10:22. Disponible en:  
<http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2019.00022>

45. Alai MS, Lin WJ, Pingale SS. Application of polymeric nanoparticles and micelles in insulin oral delivery. *J Food Drug Anal* [Internet]. 2015;23(3):351–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfda.2015.01.007>
  
46. Vieira S, Vial S, Reis RL, Oliveira JM. Nanoparticles for bone tissue engineering *Biotechnol. Nanoparticles for bone tissue engineering Biotechnol Prog.* 2017;33:590–611.
  
47. Barros J, Dias A, Rodrigues MA, Pina-Vaz C, Lopes MA, Pina-Vaz I. Antibiofilm and antimicrobial activity of polyethylenimine: An interesting compound for endodontic treatment. *J Contemp Dent Pract* [Internet]. 2015;16(6):427–32. Disponible en:  
<http://dx.doi.org/10.5005/jp-journals-10024-1701>
  
48. Khan A, Hadano Y, Takehara H, Ichiki T. Effects of physico-chemical treatments on PLGA 50:50 electrospun nanofibers. *Polymer (Guildf)* [Internet]. 2022;261(125400):125400. Disponible en:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.polymer.2022.125400>
  
49. Loureiro JA, Pereira MC. PLGA based drug carrier and pharmaceutical applications: The most recent advances. *Pharmaceutics* [Internet].

50. Web U-C-C-SF-A-. GP - Grupo Polimeros y Reactores de Polimerizacion - Santa Fe - Argentina. [citado el 3 de abril de 2023]; Disponible en: <http://www.gp>
  
51. Nguyen J-F, Migonney V, Ruse ND, Sadoun M. Resin composite blocks via high-pressure high-temperature polymerization. Dent Mater [Internet]. 2012;28(5):529–34. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2011.12.003>
  
52. Park, J. H., Lee, J. H., & Lee, H. J. Controlled release of drugs from pluronic F127 hydrogel and its application in periodontal therapy. International Journal of Nanomedicine. :11, 1067–79.
  
53. Valencia A, Teoría J. Solución a algunos problemas de floculación de fangos mediante el uso conjuntos de floculantes aniónicos y catiónicos. En: Management S, Management D, Supply E, Ruíz RY, Vila M, editores. Diseño y Control de los Procesos de Clarificación del Agua pp Brookhaven Instruments Corporation Intruccion Manual for ZetaPlus. Zeta-Meter, Inc. Coagulation & Flocculation; 1993.
  
54. Ye S, Wei B, Zeng L. Advances on hydrogels for oral science research. Gels [Internet]. 2022;8(5):302. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/gels8050302>

55. Clasky AJ, Watchorn JD, Chen PZ, Gu FX. From prevention to diagnosis and treatment: Biomedical applications of metal nanoparticle-hydrogel composites. *Acta Biomater* [Internet]. 2021;122:1–25. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2020.12.030>
56. Jiang Y, Krishnan N, Heo J, Fang RH, Zhang L. Nanoparticle-hydrogel superstructures for biomedical applications. *J Control Release* [Internet]. 2020;324:505–21. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.05.041>
57. Chen H, Cheng R, Zhao X, Zhang Y, Tam A, Yan Y, et al. An injectable self-healing coordinative hydrogel with antibacterial and angiogenic properties for diabetic skin wound repair. *NPG Asia Mater* [Internet]. 2019;11(1). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41427-018-0103-9>
58. Liu J, Jiang W, Xu Q, Zheng Y. Progress in antibacterial hydrogel dressing. *Gels* [Internet]. 2022;8(8):503. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/gels8080503>
59. Yang K, Han Q, Chen B, Zheng Y, Zhang K, Li Q, et al. Antimicrobial hydrogels: promising materials for medical application. *Int J Nanomedicine* [Internet]. 2018;13:2217–63. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2147/ijn.s154748>