



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EFFECTO ANTIBACTERIANO *in vitro* DE
NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE MAGNESIO EN
Enterococcus faecalis.

**TRABAJO TERMINAL ESCRITO DEL PROGRAMA DE
TITULACIÓN POR ALTO PROMEDIO**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A:

ALEJANDRO MÉNDEZ HERNÁNDEZ.

TUTOR: Dr. ALEJANDRO LUIS VEGA JIMÉNEZ.



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

Gracias a mi mamá; Francisca y a mi papá; Alejandro por ser mis grandes pilares en la vida, por siempre apoyarme y brindarme su amor y compañía durante toda mi vida, me siento muy orgulloso de ustedes y sé que ustedes de mi, siempre estaré agradecido por todo lo que han hecho por mi.

Gracias a mi hermanita Yazmín por siempre apoyarme y creer en mí, por sus consejos, comprensión y cariño, eres la mejor amiga, hermana y persona.

También quiero agradecer a mi tutor el Dr. Alejandro Luis Vega Jiménez, por toda su comprensión, apoyo y tiempo dedicado a este trabajo, por ser un gran amigo y profesor, su guía fue primordial para este trabajo, muchas gracias Dr. Alejandro.

A cada uno de mis pacientes, gracias a todos ustedes, que sin conocernos, me permitieron aprender, atenderles y superarme, siempre estaré eternamente agradecido con ustedes.

Mis amigos y compañeros gracias por haber permitido conocerlos, cursar esta etapa juntos, el tiempo que me brindaron fue muy valioso, Lizbeth, Alexis, David gracias por toda su ayuda y cariño.

A mi tía Yazmín y a mi tío Fernando por todo su amor, cariño y consejos, por hacerme sentir como en casa siempre.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, que siempre ha sido mi segunda casa, por permitirme aprender en otro país ,superarme, conocer, estudiar, experimentar, gracias por todo lo que me has dado.

Este trabajo es parte del financiamiento otorgado por UNAM-DGAPA-PAPIIT-IA104823

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

ÍNDICE

Resumen.	4
1. Biomateriales de uso odontológico con efecto antibacteriano	7
1.1 Generalidades	7
2. El Magnesio en odontología y medicina	9
2.1 Óxido de Magnesio	10
3. Nanotecnología	11
3.1 Nanomateriales en Odontología	12
3.2 Mecanosíntesis	14
4. Infecciones asociadas a <i>Enterococcus faecalis</i>	14
4.1 Características morfológicas de <i>Enterococcus faecalis</i>	15
4.2 <i>Enterococcus faecalis</i> en sistema de conductos radiculares.	18
5. Estrategias utilizadas de medicación intraconducto para infecciones endodónticas.	18
II. Justificación y planteamiento del problema	21
III. Hipótesis	21
IV. Objetivo	21
V. Materiales y Metodología.	21
5.1 Mecanosíntesis de NPs de MgO	21
5.2 Caracterización de nanopartículas de MgO	22

5.3 Evaluación antibacteriana de NPs de MgO	22
VI. Resultados	23
6.1 Ensayos antibacterianos in vitro.	26
VII. Discusión.	26
VIII. Conclusiones y Perspectivas	28
Referencias	28

Resumen.

En la actualidad la resistencia bacteriana es considerada un problema de salud pública, es por ello que existe la necesidad de buscar nuevos biomateriales con nanoestructuras para potencializar su uso, durabilidad, que no sea tóxico para el ser humano, que nos ofrezca funcionalidad y que nos provea propiedades antimicrobianas. Esto nos ha llevado a la simbiosis entre la nanotecnología y la ingeniería de tejidos que busca nuevas alternativas en este campo. El presente trabajo presenta el desarrollo y evaluación antibacteriana de nanopartículas (NPs) de óxido de magnesio (MgO), así como una revisión bibliográfica acerca del tema.

Para lo anterior, las NPs de MgO se sintetizaron por mecano-síntesis y se caracterizaron utilizando microscopía de transmisión (TEM) y difracción de rayos X (XRD). Para la evaluación antibacteriana se empleó el método de la NCCLS. utilizando las cepas de *E. faecalis* (ATCC 51299) y (ATCC 29212) y como C+ ampicilina y C- medio de cultivo.

Los resultados indicaron que a través de un método mecanoquímico y libre de solventes se obtuvieron NPs de MgO de las NPs-MgO por TEM y XRD mostraron que las NPs de MgO tienen diversas formas destacándose formas poliédricas y alargadas con tamaños menores a 100 nm. Los ensayos antibacterianos *in vitro* indicaron actividad antibacteriana de las NPs de MgO sobre las cepas de *E. faecalis*, obteniéndose concentraciones mínimas inhibitorias de 600 µg/ml para ambas cepas. Por lo tanto, las NPs- MgO de magnesio podrían servir como una alternativa al uso de antibióticos debido a sus propiedades antibacterianas.

Abstract

Currently, bacterial resistance is considered a public health problem, which is why there is a need to search for new biomaterials with nanostructures to enhance their use, durability, non-toxicity to humans, and provide antimicrobial properties. This has led us to the symbiosis between nanotechnology and tissue engineering that is looking for new alternatives in this field. This paper presents the development and antibacterial evaluation of magnesium oxide (MgO) nanoparticles (NPs), as well as a bibliographic review on the subject.

For this, the MgO NPs were synthesized by mechanosynthesis and characterized using transmission microscopy (TEM) and X-ray diffraction (XRD). For the antibacterial evaluation, the NCCLS method was used. using the strains of *E. faecalis* (ATCC 51299) and (ATCC 29212) and as C+ ampicillin and C- culture medium.

The results indicated that through a mechanochemical and solvent-free method, MgO NPs were obtained from MgO-NPs by TEM and XRD showed that MgO NPs have various shapes, highlighting polyhedral and elongated shapes with sizes less than 100 nm. The in vitro antibacterial assays indicated antibacterial activity of the MgO NPs on the *E. faecalis* strains, obtaining minimum inhibitory concentrations of 600 µg/ml for both strains. Therefore, magnesium MgO-NPs could serve as an alternative to the use of antibiotics due to their antibacterial properties.

Introducción

En la actualidad la resistencia bacteriana es considerada un problema de salud pública a nivel mundial y de difícil solución; en los últimos años se ha reportado un incremento en la aparición de cepas resistentes o multirresistentes a bacterias patógenas, causantes de diversas enfermedades.

En el campo odontológico dentro de las especies bacterianas encontradas en dientes con necrosis pulpar y en dientes con indicación de retratamiento el *Enterococcus faecalis* es la más frecuente por la permanencia de este microorganismo en los canales radiculares provocando en muchas ocasiones una recidiva de infección. Se ha demostrado la resistencia de esta bacteria y es considerada un problema que requiere una pronta combinación eficaz entre el tratamiento mecánico y la utilización de novedosos biomateriales dentales con características ideales para erradicar la infección..

Este trabajo presenta la obtención de nanopartículas (NPs) de óxido de magnesio (MgO), analizando , sus características microscópicas y la capacidad de impedir el desarrollo de dos cepas de *E. faecalis* (resistentes a antibióticos y no resistentes). El objetivo de esta investigación es sintetizar, caracterizar y evaluar conocer la actividad antibacteriana de nanopartículas basadas en MgO contra *Enterococcus faecalis*.

Capítulo I

1. Biomateriales de uso odontológico con efecto antibacteriano

1.1 Generalidades

La aparición constante de bacterias multirresistentes, ha elevado el esfuerzo por la búsqueda de biomateriales antibacterianos, que sean efectivos para su aplicación en el área odontológica; estos deben generar un efecto bactericida y/o bacteriostático, (1). Una de las finalidades del desarrollo de biomateriales dentales con propiedades antibacterianas, es reducir la incidencia de enfermedades en la cavidad bucal garantizando la disminución o eliminación de los microorganismos patógenos. (2)

Los materiales dentales anti-biopelícula empleados han sido clasificados como:

- a) Inhibidores de la adhesión inicial.
- b) Inhibidores del crecimiento de la placa.
- c) Inhibidores de la actividad bacteriana en la biopelícula.
- d) Eliminadores de bacterias de la biopelícula.
- e) Separadores de la biopelícula.

La literatura reporta que el fluoruro tiene efecto bacteriostático por lo que se ha adicionado con diversos biomateriales dentales principalmente el ionómero de vidrio, compómeros de resinas compuestas y pastas dentífricas.

Se han añadido nanopartículas de plata debido al efecto antimicrobiano que estas poseen y se ha experimentado en diversos biomateriales en los últimos años como alginatos, materiales biocerámicos y siliconas principalmente, sin embargo se sigue aún investigando en más biomateriales.

Con respecto a cementos dentales, los cementos de fosfato de zinc, el hidróxido de calcio, el óxido de zinc (ZnO) y el cemento de policarboxilato de zinc tienen propiedades antimicrobianas. Los ionómeros de vidrio son los cementos más cariostáticos y tienen una potente acción antibacteriana, debido a su alto grado de liberación de fluoruros, lo cual ayuda a realzar la remineralización e inhibe el crecimiento bacteriano.

En endodoncia existen biomateriales como los selladores de conductos radiculares con base en su composición de eugenol, realizan una inhibición del crecimiento bacteriano.

En materiales restauradores se puede considerar a la amalgama que recién colocada existe una liberación de mercurio que reduce la actividad microbiana de la placa dental, pero que no afecta la formación de esta, además que la amalgama de plata inhibe completamente el crecimiento de *Streptococcus mutans* y *Actinomyces viscosus* en la placa dental bacteriana. Efecto que dura al menos una semana. (3)

La presencia de microorganismos bacterianos en la superficie de aleaciones de oro fue encontrada con muy poca viabilidad, probablemente debido a su capacidad inerte que desfavorece el crecimiento de crecimiento bacteriano y su adhesión específica.

En resinas compuestas se han añadido compuestos como lo son silicato, nanopartículas de plata y fluoruros otorgándole propiedades antibacterianas. (3)

2. El Magnesio en odontología y medicina

El magnesio (Mg) es un catión divalente que participa en numerosas reacciones enzimáticas, procesos de transporte, y síntesis de proteínas y

ácidos nucleicos. Estabiliza las enzimas en muchas reacciones que generan ATP, antagoniza el calcio en la contracción muscular, modula la señal de transducción y proliferación celular de la insulina y es importante para la adhesión celular y el transporte de membrana. (4)

Dentro de sus diversos usos, está en el área de la salud donde se ha evaluado en aplicaciones ortopédicas y cardiovasculares, comparado con otros tipos de bactericidas sólidos (3).

También se usa para favorecer la osteogénesis y osteointegración de implantes, combinado con carbamazepina sirve como anticonvulsivante, tratamiento para el estreñimiento crónico, controla la nefrolitiasis por oxalato de calcio, uso terapéutico contra el cáncer, prevención de migrañas, andamios híbridos nanofibrosos para la regeneración y reparación de tejidos duros y blandos (3).

En Odontología lo usan en membranas nanohíbridas, nanofibras híbridas como osteoinductivo. Este elemento tiene actividad antibacteriana considerable contra *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*. Se ha investigado su posible uso en andamios híbridos nanoestructurados para regenerar dentina. (4)

Además, el magnesio tiene un valor clínico relevante debido a que puede ser introducido en los tejidos, gracias a su propiedad de bajo peso, excelente conductividad térmica y calor específico. (2)

2.1 Óxido de Magnesio

La literatura reporta que el óxido de magnesio (MgO) tiene acción antibacteriana Gram-positivas y Gram-negativas. a actividad antimicrobiana del MgO micrométrico, se debe a la presencia de oxígeno activo como superóxido (O₂⁻), en la superficie de las partículas de MgO(5). En este

sentido, en los últimos años el MgO en escala nano ha reportado un buen potencial como material bactericida.

Se ha reportado que el mecanismo de acción de las NPs de MgO pueden dañar la membrana celular causando la pérdida de contenidos intracelulares y provocando la muerte de las células bacterianas. Otro mecanismo son las reacciones de óxido-reducción en la superficie de las NPs de MgO lleva a la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), tales como, radicales superóxidos (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y radicales hidroxilos (OH). Las proteínas en la pared celular de las bacterias tienen muchos enlaces peptídicos. El anión superóxido atacaría al carbonilo en los enlaces peptídicos permitiendo eventualmente la destrucción de la bacteria. Al aumentar el área superficial de las partículas de MgO incrementa la concentración de OH^- en su superficie, que a su vez conlleva a mayor concentración de O_2^- en solución y consecuentemente se obtiene mejor efectividad en la destrucción de la pared celular de la bacteria. La actividad antibacteriana de las NPs de MgO depende del tamaño de partícula. Sin embargo, cuando el tamaño de partícula es demasiado pequeño, por ejemplo inferior a 15 nm, el efecto desagregación es significativo afectando la interacción con la bacteria y por ende su eficiencia. (3,6)

3. Nanotecnología

El auge de la nanotecnología empezó a partir de los años 80, con el desarrollo de una amplia gama de microscopios de sonda de barrido, que logran imágenes a escala atómica. Sin embargo, fue Richard Feynman (premio Nobel de Física en 1965) quien con su famosa conferencia titulada "Hay mucho espacio en el fondo", marcó un hito para el desarrollo de ésta, haciendo ver la posibilidad de mover las cosas átomo por átomo.

La nanotecnología podría definirse como el campo de la ciencia dedicada al control y manipulación de la materia en la escala de los átomos y las moléculas, donde el tamaño se mide en millonésimas de un milímetro.(7)

Se encarga del estudio, diseño, creación, síntesis, manipulación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas funcionales a nanoescala. (8)

El aspecto más destacado de la nanotecnología es que los materiales presentan diferentes propiedades a nanoescala. Estas propiedades incluyen mejoras en sus propiedades fisicoquímicas, magnéticas, de reflectividad de la luz, conductividad eléctrica, térmica, entre otros. Estos fenómenos únicos suceden a escala nanométrica, y han sido estudiados en diferentes disciplinas incluidas la medicina, química, física, ingeniería, y otros campos como la odontología. (9)

La nanotecnología en odontología, o nano-odontología, promete el mantenimiento de la salud bucal integral mediante el empleo de nanomateriales, incluyendo la ingeniería de tejidos, y la nanorobótica dental. La nueva oportunidad de tratamiento potencial en odontología puede incluir el diagnóstico de cáncer, el uso de nuevos anestésicos locales, el tratamiento permanente de la hipersensibilidad dentaria, hasta el mantenimiento continuo de la salud oral utilizando dentif robots, desarrollo de nuevos nanomateriales con mejores propiedades atómicas o moleculares. (10)

3.1 Nanomateriales en Odontología

La definición de nanomaterial se refiere a una sustancia o conjunto de sustancias en la escala de los nanómetros donde los constituyentes son átomos y/o moléculas. (11)

De acuerdo a su naturaleza química, los nanomateriales se pueden clasificar en cuatro grandes familias:

1. Nanomateriales derivados del silicio: nanoarcillas, nanoesferas de sílice, nanoesferas de silicio y nanocompuestos tipo POSS.
2. Nanomateriales derivados del carbono: fullerenos, nanotubos y nanofibras de carbono.
3. Nanopartículas metálicas y derivados de éstas: plata, oro, cobre, titanio, zinc, dióxido de titanio, óxido de zinc, óxido de cerio, etc.
4. Nanopartículas poliméricas: dendrímeros. (12)

De acuerdo a sus características químicas y propiedades de cada material cada una de estas familias encuentra su uso en diferentes ramas industriales.

Los nanobiomateriales de uso dental son fabricados y diseñados para su uso en el diagnóstico de tratamiento y prevención de enfermedades dentales, más empleados en prostodoncia, periodoncia, operaciones quirúrgicas, implantología dental, administración de medicamentos orales y tratamiento de algunos tipos de cáncer oral. (13)

Los nanobiomateriales son aquellos que se ponen en contacto directo con el organismo para sustituir, modificar o corregir la función del órgano a ser tratado. En este grupo se pueden mencionar los:

1. Materiales restauradores: a) materiales restauradores directos: como la amalgama de plata, resinas compuestas, adhesivos, ionómero de vidrio, oxifosfato de zinc, policarbonato, óxido de zinc y eugenol. b) Materiales restauradores indirectos, donde están las aleaciones coladas, forjadas, resina acrílica, porcelana.
2. Materiales que estimulan la formación de tejidos: como el hidróxido de calcio, la hidroxiapatita, suturas, etc.

3. Materiales de relleno: como la gutapercha, selladores y pastas de endodoncia. (14)

La nanotecnología ha sido una excelente opción para desarrollar diversos biomateriales con efecto antimicrobiano entre los que podemos mencionar las superficies de titanio nanoestructuradas para implantes dentales las cuales tienen un efecto antimicrobiano eficaz, se han agregado nanopartículas de plata a materiales como la resina acrílica para dotarlo de un efecto antifúngico y antimicrobiano. Asimismo, en ortodoncia y odontología restauradora en adhesivos como ionómeros de vidrio modificados con resina, los adhesivos compuestos, y elastómeros como las ligas para reprimir el crecimiento de biopelícula. (2)

Los alginatos de última generación poseen un efecto antimicrobiano ya que se le ha añadido clorhexidina y/o nanopartículas de plata para darles esta propiedad. Podemos hablar también del hidróxido de calcio y el óxido de zinc y eugenol debido a que gracias a sus diversas características químicas como lo es el pH hacen que obtenga la propiedad antimicrobiana.

3.2 Mecanosíntesis

Una manera de desarrollar nuevos biomateriales antimicrobianos es sintetizando y/o agregando nanopartículas con propiedades antibacterianas. Una técnica para desarrollar estas nanopartículas es la mecano-síntesis; esta consiste en aplicar una acción mecánica sobre los reactivos que permite llevar a cabo una reacción química, que hace posible obtener nuevos compuestos nanométricos. En general, 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.
(5)

4. Infecciones asociadas a *Enterococcus faecalis*

La mayoría de las infecciones nosocomiales en todo el mundo son causadas por enterococos. Son resistentes a la mayoría de los antibióticos y pueden provocar enfermedades como faringitis, otitis, meningitis, endocarditis, bacteriemia, infecciones del tracto urogenital, de piel, de tejidos blandos, intraabdominales, en neonatales y pediátricos e incluso enfermedades sépticas.

4.1 Características morfológicas de *Enterococcus faecalis*

Una bacteria se define como microorganismos procariotas unicelulares, presentan un tamaño diverso que abarcan de 0,5 y 5 μm , incluye diversas formas como son esferas, bastones y espirales (15), son vitales para los ecosistemas del planeta.

Entre los diferentes géneros de bacterias existentes contamos con los enterococos estos son células esféricas u ovoides, cocos gram positivos, se encuentran aislados, de a pares, o formando cadenas cortas, son catalasa negativa, anaerobios facultativos con metabolismo fermentativo(16) y son capaces de crecer en situaciones extremas, estos habitan en el interior del tracto gastrointestinal así como en el tracto urinario y saliva.

En la última década, estos organismos han adquirido cada vez más importancia como patógenos nosocomiales, a pesar de su baja virulencia.(17)

El género enterococcus cuenta con ciertas características: a) es resistente a varios antibacterianos de uso frecuente, b) la resistencia antimicrobiana le permite su supervivencia en un medio ambiente con alto uso de antibacterianos; c) puede contaminar el medio ambiente hospitalario y sobrevivir en él por períodos prolongados (18)

Estos microorganismos forman parte del microbiota comensal en el ser humano, se les consideraba de baja patogenicidad, sin embargo, en los últimos años se ha reportado un problema de salud pública debido a la resistencia que las bacterias presentan a los antibióticos, pudiendo causar infecciones severas.

Las especies de enterococos clínicamente importante son: *E faecalis*, *E faecium*, *E durans*, *E avium*, *E gallinarum*, *E casseliflavus*, *E raffinosus*, *E malodoratus*, *E hirae*, *E mundtii*, *E solitarius*, *E pseudoavium*.

En los humanos, la especie más frecuente es *E. faecalis* pues causan, entre ambos, aproximadamente del 60% al 90 % de los aislamientos clínicos de enterococos.(19)

E. faecalis se encuentra presente en cavidad bucal, en el interior del tracto gastrointestinal y el sistema urinario. (20)

Su reciente alerta no radica solo en el incremento en las infecciones nosocomiales, sino también por su resistencia a penicilinas, cefalosporinas y a la adquisición de altos niveles de resistencia a los aminoglucósidos, especialmente a la vancomicina, el antibiótico que ha sido usado para tratar las infecciones causadas por los cocos grampositivos. Esto es el resultado de su habilidad para bloquear el sitio de unión de la droga a la pared celular.(21)

Esto hace que debamos ser muy cuidadosos con esta bacteria, además de las diversas características que posee:

- a) Es capaz de unirse para formar una delgada capa creando una biopelícula que es capaz de adherirse firmemente a una superficie.
- b) Puede sobrevivir un gran periodo de tiempo sin una fuente nutricional
- c) Sobrevive a ambientes con pH ácidos o alcalinos.
- d) Proteínas de unión a la penicilina (PBP) : Estas proteínas hacen que *E. faecalis* sea naturalmente resistente a la penicilina. (22)

E. faecalis es un coco grampositivo, dispuestos en pares o cadenas cortas, cuenta con una pared celular constituida por peptidoglicanos y ácido teicoico, son anaerobios facultativos con metabolismo fermentativo, que poseen la capacidad de crecer en la presencia o ausencia de oxígeno. (23)

Crecen en un rango de temperatura de 10 a 45°C, sobreviven a entornos extremos que incluyen altas concentraciones de alcalinidad (pH de 9.6) y salinidad, resisten detergentes, sales biliares, etanol, metales pesados.(24)

Metabolizan carbohidratos, glicerol, lactato, malato, citrato, arginina, agmatina y muchos cetoácidos, produce ácido láctico a partir de la fermentación de glucosa. (23)

Su virulencia está determinada por su capacidad para adherirse a las superficies de acogida y formar biopelículas, así como por su alta resistencia a los antibióticos. Se sabe que la proteína de superficie del entococo (esp) aumenta la adherencia y la colonización de células y superficies abióticas. La gelatinasa (gelE) es una metaloproteasa extracelular, capaz de hidrolizar gelatina, colágeno y hemoglobina, contribuye a la adherencia bacteriana y formación de biopelículas. La sustancia agregada (AS) se encontró que estaba involucrada en el apego microbiano e invasión de células eucariotas,

y contribuyen a la formación de biopelículas. La hialuronidasa (hyl) se ha asociado con la virulencia de enterococos en la invasión del tejido del huésped. Y finalmente, citolisina(cyl, beta-hemolisina) es una potente bacteriocina que exacerba infecciones por enterococos en humanos. Es capaz de lisar muchas células procariotas, así como eritrocitos y otras células eucariotas. (25)

4.2 *Enterococcus faecalis* en sistema de conductos radiculares.

La literatura ha reportado una prevalencia de *E. faecalis* proveniente de infecciones endodónticas y su presencia en otros sitios de la boca, como el surco gingival, la lengua y tonsilas, se sugiere que estos sitios anatómicos se convierten en un reservorio que facilita la invasión de este microorganismo hacia los conductos radiculares.

Enterococcus faecalis está asociada a infecciones persistentes que son difíciles de tratar como lo son periimplantitis infecciones pulpares como periodontitis apical crónica.

La presencia frecuente de *E.faecalis* en canales radiculares donde el tratamiento de endodoncia ha fracasado propone que es un patógeno oportunista cuya persistencia en los canales representa un problema terapéutico significativo. La eliminación bacteriana del conducto radicular se consigue mediante la acción mecánica de los instrumentos y el riego, así como los efectos antibacterianos de las soluciones irrigadoras. *Enterococcus faecalis* se ha encontrado en los retratamientos endodónticos (26).

Pinheiro et al.(27) encontró *E. faecalis* en el 52,94% de los conductos con crecimiento bacteriano. Este microorganismo ha demostrado su capacidad para sobrevivir en un medio en el que existen nutrientes disponibles y en el que la comensalidad con otras bacterias es mínima. *Enterococcus faecalis* es

el microorganismo más comúnmente detectado por reinfecciones persistentes y endodónticas,

Stuart et al.(28) Identificó que su prevalencia oscila entre el 24% y el 77%. *E. faecalis* posee varios factores de supervivencia y virulencia que la convierten en una bacteria resistente.

Gomes et al.(29) obtuvieron muestras microbianas de 50 dientes con pulpas necróticas no tratadas (infección primaria) y de 50 dientes con retratamiento endodóntico (infección secundaria). La detección por PCR identificó *E. Faecalis* en 41 (82%) en infecciones primarias y 38 (76%) en retratamientos de 50 dientes analizados respectivamente.

Los factores de virulencia más citados de *E. faecalis* que pueden estar relacionados con la infección endodóntica y la respuesta inflamatoria periradicular son la sustancia de agregación, las adherencias superficiales, el ácido lipoteicoico, la producción de superóxido extracelular, las enzimas líticas gelatinasa e hialuronidasa y la toxina citolisina(30).

Cada uno de ellos puede estar asociado con diversas etapas de una infección endodóntica, así como con la inflamación periapical. Mientras que algunos productos de la bacteria pueden estar directamente relacionados con el daño de los tejidos perirradiculares, una gran parte del daño tisular es probablemente mediada por la respuesta del huésped a la bacteria y sus productos(31).

5. Estrategias utilizadas de medicación intraconducto para infecciones endodónticas.

Uno de los pasos fundamentales de la terapia endodóntica es la eliminación de las bacterias y sus productos del interior de los conductos radiculares. La mayoría de las bacterias infectantes pueden ser removidas por los procedimientos endodónticos de rutina, tales como la instrumentación e irrigación del espacio pulpar; sin embargo, en algunos casos la instrumentación químico-mecánica sola, es incapaz de desinfectar completamente el sistema de conducto radicular (32). Además de las variaciones y complejidades anatómicas que presenta la cámara pulpar por lo cual debemos usar un medicamento intraconducto con actividad antimicrobiana antes de la obturación del conducto.

Existen diversos medicamentos intraconducto entre los que podemos mencionar:

- a) Hidróxido de calcio: El hidróxido de calcio Ca(OH)_2 es, actualmente, la medicación intracanal más empleada, la literatura reporta que el pH del hidróxido de calcio puro es de 14 a 15, y en virtud de este alto pH es considerado un óptimo bactericida.(33) El hidróxido de calcio es actualmente considerado como la medicación intracanal de primera opción porque además de promover la reparación de los tejidos periapicales es barato y de fácil manejo. Sin embargo, su profundidad de penetración en los túbulos dentinarios es desconocida y varias especies bacterianas, incluyendo *Enterococcus faecalis* son resistentes a él, (34) por ello en los últimos años se han realizado investigaciones con el uso de nanotecnología para potenciar la actividad antimicrobiana del hidróxido de calcio.

- b) Clorhexidina: El efecto antimicrobiano de la clorhexidina es intermediado por diversos mecanismos. Esta sustancia se une electrostáticamente a sitios de cargas negativas de la bacteria, causando desequilibrio osmótico, daños a la bomba de sodio y potasio además de bloquear el transporte de calcio y magnesio. Atacando la membrana citoplasmática bacteriana, la CHX causa pérdida del balance osmótico resultando en daño al material intracelular.(35)
- c) Paramonoclorofenol: es un compuesto fenólico ampliamente usado como medicación intracanal, tiene fuerte efecto antibacteriano in vitro pero in vivo no ha mostrado ser efectivo. El PMNF es volátil, su acción es a distancia y cuando aplicado en bolita de algodón en la cámara pulpar es rápidamente perdido especialmente cuando entra en contacto con los fluidos de los tejidos. Si el PMNF no es efectivo en este período, las bacterias sobreviven y pueden, multiplicarse dentro de los sistemas de canales radiculares. En un estudio clínico el PMN fue menos efectivo que el hidróxido de calcio y la clorhexidina además de mostrar que su actividad es dosis-dependiente. (35)

Recientemente se ha demostrado que existe actividad antimicrobiana por parte de las nanopartículas de plata al desinfectar el sistema de conductos radiculares.

Las nanopartículas de plata tienen la habilidad de anclarse a la pared celular bacteriana y subsecuentemente entrar en su interior, de modo que causan cambios estructurales en la membrana celular como su permeabilidad y muerte. (35) Por lo que en los últimos años se ha buscado añadir nanopartículas de plata a diversos medicamentos intraconducto con el fin de potenciar el efecto antimicrobiano que estos poseen.

Sin embargo, se ha reportado que una de las desventajas de las NPs de plata es su efecto tóxico específico en una variedad de órganos incluyendo

los pulmones, riñones, cerebro, órganos reproductores y el hígado, siendo este último el órgano principal de acumulación de las AgNPs, la toxicidad está determinada por la vía de exposición, absorción, transporte, distribución, acumulación en el organismo y el tipo de mecanismo de entrada a nivel celular. (35) Cuando las AgNPs son administradas por contacto dérmico, vía oral, inhalación o circulación sanguínea, pueden tener un nivel de toxicidad que depende de los iones de plata liberados, el tamaño, forma, solubilidad, la carga superficial y el estado de aglomeración que tengan. Sin embargo, se requieren aún estudios integrales para entender mejor la toxicidad asociada con la exposición de las AgNPs. (36)

II. Justificación y planteamiento del problema

En la actualidad la resistencia bacteriana es considerada un problema de salud pública, en los últimos años se ha reportado un incremento en la aparición de cepas resistentes o multirresistentes de bacterias. En el campo odontológico, las infecciones por *Enterococcus faecalis*, demandan alternativas de tratamiento más efectivas para la medicación intraconducto. Es por ello que los nanomateriales ofrecen una opción potencial para que sean utilizados como agentes antimicrobianos eficaces y ofrecer nuevas alternativas que inhiban el crecimiento bacteriano con técnicas que permitan el uso de estos biomateriales nanoestructurados.

III. Hipótesis

Las nanopartículas de MgO tienen efecto antibacteriano en dos cepas de *Enterococcus faecalis*.

IV. Objetivo

- Sintetizar, caracterizar y evaluar el efecto antibacteriano NPs de MgO en dos cepas de *Enterococcus faecalis*

V. Materiales y Metodología.

5.1 Mecanosíntesis de NPs de MgO

Tipo de estudio descriptivo, experimental, cualitativo, prolectivo transversal:
Mecanosíntesis de NPs - MgO

En este caso se llevó a cabo la obtención de las nanopartículas de magnesio a través del proceso de mecano-síntesis, moliendo hidróxido de magnesio ($Mg(OH)_2$) por 30 minutos cada muestra, siendo un total de 6 muestras, el resultado se calcinó en aire a $800^\circ C$ durante 2 horas en una mufla Thermolyne marca Thermo Scientific modelo FB1414M para la calcinación de productos orgánicos y el secado del producto. Posteriormente se lavó con agua y después con acetona, este ciclo se realizó primero 3 veces con agua y posteriormente 3 veces con acetona, separando en cada ocasión por una centrifugadora de mesa de 6 tubos para la eliminación de materiales orgánicos.



Figura 1 Esquema general de la metodología llevada a cabo para obtener diferentes nanoestructuras de óxidos metálicos.

5.2 Caracterización de nanopartículas de MgO

Todas las nanopartículas se caracterizaron por la difracción de rayos X (DRX). Se usó un difractómetro en el cual se irradia con un haz de rayos X monocromático con el cual se permitió conocer las diferentes fases cristalográficas formadas de los compuestos en estudio. Por último se usó la microscopía electrónica de transmisión (TEM). El TEM está compuesto por la columna que genera el haz de electrones, un sistema de alto vacío, un sistema de enfriamiento, corrientes de alimentación y un sistema de registro de la imagen. La imagen formada por los electrones es proyectada en dos dimensiones sobre una pantalla fluorescente y de una cámara digital en una computadora. (37)

5.3 Evaluación antibacteriana de NPs de MgO

Para el estudio de la susceptibilidad antibacteriana se empleó estrictamente el método del NCCLS (por sus siglas en inglés del Comité Nacional de Estándares de Laboratorio de los Estados Unidos): M07-A8: Métodos de dilución para determinar la sensibilidad a los antimicrobianos de bacterias aerobias. (NCCLS). Se emplearon dos cepas del American Type Culture: *Enterococcus faecalis* (ATCC 51299) y *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). Como control del extracto a probar se utilizaron diluciones de ampicilina (Cuadro 1).

	Nanopartículas (NPs MgO)
Solución madre	50 mg/ml.
Concentraciones Finales Probadas	5 mg/ml.
	2.5 mg/ml.
	1.25 mg/ml.
	0.6 mg/ml.
	0.3 mg/ml.
	0.15 mg/ml.
	0.075 mg/ml.
	0.0375 mg/ml.
	0.0187 mg/ml.
	0.0093 mg/ml.

Cuadro No. 1 Diluciones de ampicilina.

De las bacterias crecidas en los tubos Falcon, se colocó 0.2 ml en cada pozo de la microplaca de microtitulación para determinar la densidad óptica en un espectrofotómetro.

Una vez listos los inóculos, se llenaron las microplacas de la siguiente manera: Se llenó una microplaca para cada bacteria, los pozos de la fila 1 se llenó con 0.2 ml de caldo Mueller – Hinton hasta 1H, los pozos de las columnas 2 a la 10 se llenaron con los tubos de las dispersiones de las NPs de MgO.

VI. Resultados

Síntesis y caracterización de NPs-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. Los picos de difracción son muy agudos (Figura 1), lo que indica que la fase de las NPs-MgO está bien cristalizada y con alto nivel de pureza, sin registrarse otros picos que indican la presencia de otros elementos que no pertenecen a la estructura cristalina del MgO.

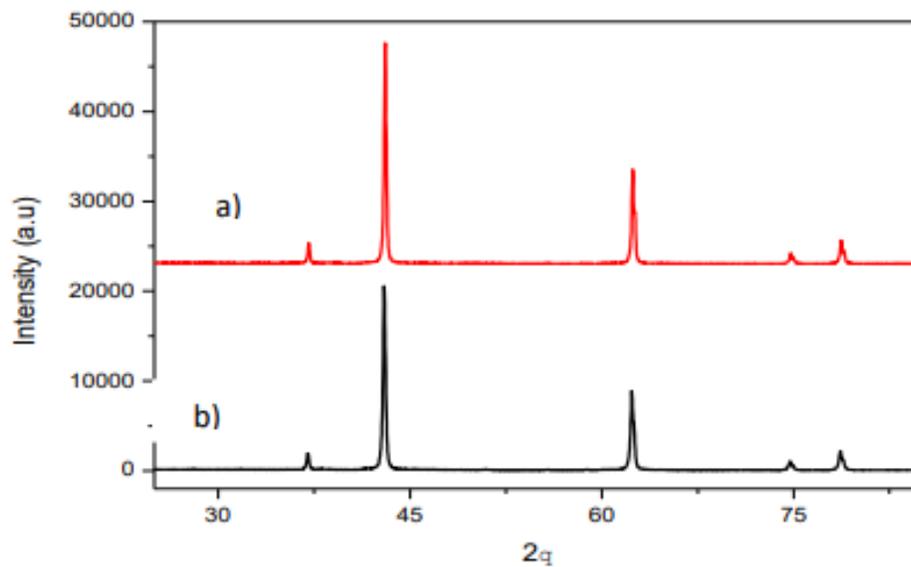


Figura 2. Patrones de difracción de a) MgO y b) NPs de MgO.

Figura No. 3 Micrografía de las NPs de MgO.

6.1 Ensayos antibacterianos *in vitro*.

En este ensayo se observó una actividad antibacteriana de las NPs-MgO sobre las bacterias evaluadas. Las concentraciones mínimas inhibitorias determinadas fueron: 0.6 mg/mL para ambas cepas.

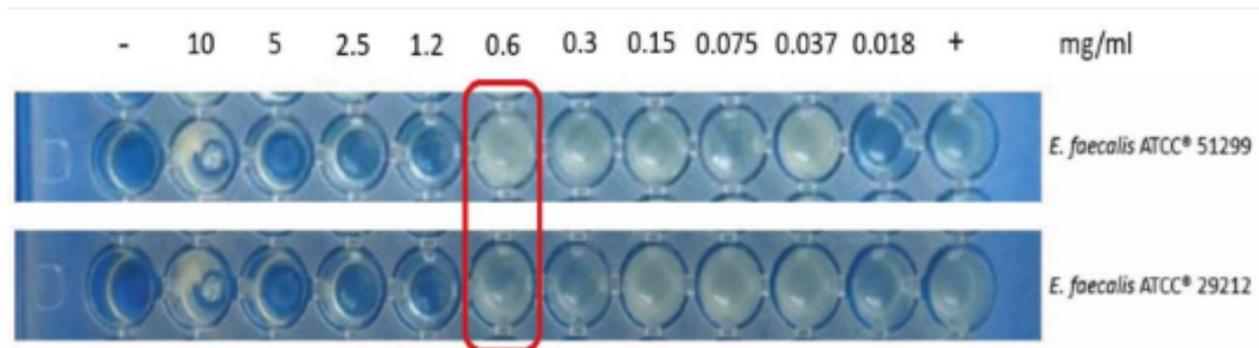


Figura No. 4 Concentraciones mínimas inhibitorias: 0.6 mg/mL

VII. Discusión.

Debido a la creciente resistencia bacteriana que es considerada un problema de salud pública, se han investigado soluciones alternativas. Se han observado resultados positivos de antimicrobianos y antibióticos con la adición de nanopartículas en diferentes materiales dentales. Esto ha alentado nuevas tecnologías como el uso de nanopartículas para la

desinfección de los conductos radiculares durante la terapia endodóntica, utilizándose en medicamentos intraconducto o irrigantes. En este trabajo se propuso poner a prueba nanopartículas de óxido de magnesio (MgO) para observar el efecto antibacteriano en dos cepas de *Enterococcus faecalis*.

Sundrarajan et al. (2012) encontró que en calcinaciones de 300°C y 500°C los patrones de XRD mostraron algunos picos no identificados, lo que señala que había presencia de impurezas pero a 700°C ya había ausencia de estos picos no identificados, en este estudio la calcinación se hizo a 800°C. Sundrarajan et al. (2012) también reportó que las NPs de MgO de menor tamaño, 30 nm- 50 nm, tienen actividades antimicrobianas tanto en grampositivos, como en gramnegativos, mientras que las nanopartículas de MgO de mayor tamaño 70 nm-130 nm tienen efecto sólo en gramnegativos aunque Iram et al. (2015) reportó que las NPs de MgO son más eficaces contra *E. faecalis* si miden ≤ 50 nm y son combinadas con antibióticos. El tamaño medio de las NPs-MgO de este estudio es 21.25 ± 2.5 similar al que reportó De Silva et al. (2017) en donde obtuvo un tamaño medio de cristalito de nanopartículas de MgO de 23 nm. Monzavi et al. (2015) reportó que no hubo diferencia estadísticamente significativa entre las colonias de *S. aureus*, *E. faecalis* y *Cándida* con las mismas concentraciones de NPs de MgO, NaOCl y CHX después de las 6 h, sin embargo el grupo de NPs-MgO mostró una disminución significativa en las unidades formadoras de colonias por mililitro 24 h después del riego y a las 72 h y 168 h posteriores al riego no se observó crecimiento bacteriano detectable, lo que indica una actividad antibacteriana a largo plazo de las NPs-MgO.

VIII. Conclusiones y Perspectivas

En este estudio evaluamos el efecto antimicrobiano *in vitro* de nanopartículas de óxido de magnesio en dos cepas de *Enterococcus faecalis* (de la cual una

es resistente a antibióticos y la siguiente cepa no presenta esta característica). Con los resultados obtenidos podemos llegar a las siguientes conclusiones:

- Las NPs-MgO presentan una actividad antibacteriana prometedora *in vitro* contra el *E. faecalis*.
- La difracción de rayos X y la microscopía electrónica de transmisión indicaron la obtención de nanopartículas de MgO con características y morfología nanoestructuradas.
- Las nanopartículas de óxido de magnesio podrían usadas como antimicrobiano en el área dental.

Referencias

1. Betancur CP, Hernández V, Buitrago R. Nanopartículas para materiales antibacterianos y aplicaciones del dióxido de titanio. Rev Cuba Investigación . diciembre de 2016;35:387-402.
2. Moons P, Michiels CW, Aertsen A. Bacterial interactions in biofilms. Crit Rev Microbiol. 2009;35(3):157-68.
3. Chaple-Gil A. Propiedades anti-placa dental bacteriana de los principales materiales dentales empleados en consultas estomatológicas. Rev Cubana Estomatol [Internet]. 2015 ; 52 (4) Disponible en: <http://www.revestomatologia.sld.cu/index.php/est/article/view/901>
4. Caballero JS. Efecto de la morfología de nanocompuestos HA/MgO/Pt en sus propiedades antibacterianas bajo activación fotocatalítica. 2017 Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/60236>

5. He Y, Ingudam S, Reed S, Gehring A, Strobaugh TP, Irwin P. Study on the mechanism of antibacterial action of magnesium oxide nanoparticles against foodborne pathogens. *J Nanobiotechnology*. 2016;14(1):54.
6. Espinoza de Leal M, La nanotecnología: ¿Un camino a la esperanza?. *Salus*. 2011;15(3):3-4. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=375939018001>
7. Castañeda LA, Palacios J. Nanotecnología: fuente de nuevos paradigmas. *Mundo Nano Rev En Internet*. 2014;7(12):49-65.
8. Cantón L M, Vilos O C, Suazo G I. Nano Odontología: el Futuro de la Odontología Basada en Sistemas Nanotecnológicos. *Int J Odontostomatol*. 2010;4:127-32.
9. AlKahtani RN. The implications and applications of nanotechnology in dentistry: A review. *Saudi Dent J*. 2018;30(2):107-16.
10. Lizarazo CG, González- EE, Arias CY, Guarguati J. Nanomateriales: un acercamiento a lo básico. *Med Segur Trab*. junio de 2018;64:109-18.
11. Fages Santana E. INVESTIGACIÓN DE FIBRAS DE POLIPROPILENO ADITIVADAS CON NANOPARTÍCULAS DE PLATA PARA LA MEJORA DE PROPIEDADES BIOACTIVAS EN EL SECTOR TEXTIL [Tesis doctoral]. Riunet. Universitat Politècnica de València; 2013 . Disponible en: <https://riunet.upv.es/handle/10251/21065>
12. Qasim SB, Rehman IU, Jackson MJ, Ahmed W, . Application of Nanomaterials in Dentistry. En: *Micro and Nanomanufacturing Volume II* . Cham: Springer International Publishing; 2018. p. 319-36. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-319-67132-1_12
13. Apaza C G, Bustamante G. PROPIEDADES FÍSICAS DE LOS BIOMATERIALES EN ODONTOLOGÍA. *Rev. Act. Clin. Med* 2013. Disponible en:

http://www.revistasbolivianas.ciencia.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2304-37682013000300001&lng=pt..

14. Marcano D. El lado positivo de las bacterias. INHRR . 2008 Dic; 39(2): 63-65. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772008000200009&lng=es.

15. Acosta G, Silvia I. Manual de control de infecciones y epidemiología hospitalaria. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud; 2011.

16. Moellering RJ. Emergence of Enterococcus as a significant pathogen. Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 1992;14,6. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/clinids/14.6.1173>

17. Huycke M, Sahm DF, Gilmore MS. Multiple-drug resistant enterococci: the nature of the problem and an agenda for the future. 2000;239-49.

18. Porte T L, Herve E, Prat M S, Chanqueo C L. Enterococcus sp Parte I. Rev chil. 2007;24(3): 231-231. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182007000300010&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182007000300010>.

19. Ardila CM, Maggiolo S, Dreyer E, Armijo J, Silva N. Enterococcus faecalis en dientes con periodontitis apical asintomática. 2014. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552014000400007&lng=es.

20. Pérez M, Martínez C, Zhurbenko R. Aspectos fundamentales sobre el género Enterococcus como patógeno de elevada importancia en la actualidad.

Rev Cuba Hig Epidemiol. 48(2). Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032010000200006&lng=es.

21. Vázquez A. Efecto antimicrobiano del láser contra *Enterococcus faecalis* en sistema de conductos radiculares [(Tesis de Licenciatura)]. Universidad Nacional Autónoma de México, México;2017. Disponible en:
<https://repositorio.unam.mx/contenidos/210973>

22. Charles SH. "Enterococcus faecalis: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. J Endod. 2006;32(2).

23. Furumura MT, Figueiredo PMS, Carbonell GV, Darini AL da C, Yano T. Virulence-associated characteristics of *Enterococcus faecalis* strains isolated from clinical sources. Braz J Microbiol. 2006;37:230-6.

24. Radeva E, Karayashva D. Importance of Enterococci (*Enterococcus faecalis*) for Dental Medicine – Microbiological Characterization, Prevalence and Resistance. International Journal of Science and Research (IJSR) . 2017;6. Disponible en:
https://www.researchgate.net/profile/Elka-Radeva/publication/319135740_Importance_of_Enterococci_Enterococcus_faecalis_for_Dental_Medicine_-_Microbiological_Characterization_Prevalence_and_Resistance/links/59a109070f7e9b0fb899592b/Importance-of-Enterococci-Enterococcus-faecalis-for-Dental-Medicine-Microbiological-Characterization-Prevalence-and-Resistance.pdf

25. Alvear J , Perez J, Marrugo P, Evaluación de la actividad antimicrobiana del hidróxido de calcio combinado con diferentes concentraciones de omeprazol frente a *enterococcus faecalis*. Rev Salud Uninorte. diciembre de 2018;34:551-7.

26. Borzini L, Condò R, De Dominicis P, Casaglia A, Cerroni L Root Canal Irrigation: Chemical Agents and Plant Extracts Against *Enterococcus faecalis*. The Open Dentistry Journal . 2016; 10: 692 - 703. doi: 10.2174 / 1874210601610010692.

27. Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, Sousa EL, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int. J. Endod.* 2003; 36 (1): 1-11. doi: 10.1046 / j.1365-2591.2003.00603.x
28. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. Enterococcus faecalis: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment. *J Endod.* 2006; 32 : 93-8.
29. Gomes B. PFA. Enterococcus faecalis in dental root canals detected by culture and by polymerase chain reaction analysis. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology* 2006 , Volume 102 , Issue 2 , 247 – 253.
30. Portenier I, Waltimo T, Haapasalo, M. Enterococcus faecalis– the root canal survivor and ‘star’ in post-treatment disease. *Endodontic Topics*, 2003, 6, 135-159.
31. Vázquez A. "Efecto antimicrobiano del láser contra Enterococcus faecalis en sistema de conductos radiculares". (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, México. 2017 Recuperado de <https://repositorio.unam.mx/contenidos/210973>
32. Maíquez S, Premoli de Percoco G, González A. Evaluación del Hidróxido de Calcio en la Prevención del Dolor Endodóntico Intercitas en Pulpas Necróticas. *Rev Cuba Estomatol-A.* 2001;38:19-24.
33. Pardi G, Guilarte C, Cardozo E. Detección de enterococcus faecalis en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. *Acta Odontológica Venez.* marzo de 2009;47:110-21.
34. Teixeira KIR, Cortés ME. Estado actual de la indicación de antimicrobianos para la medicación intracanal. *Acta Odontológica Venez.* mayo de 2005;43:177-80.
35. Acevedo A, Acosta L, Morales C, Castaño V. Citotoxicidad y efecto antifúngico de nanopartículas de plata para uso odontológico. *MN*

2014;5(9).Disponible en:
<http://www.mundonano.unam.mx/ojs/index.php/nano/article/view/45235>

36. Ávalos A, Haza A, Morales P. Nanopartículas de plata: aplicaciones y riesgos tóxicos para la salud humana y el medio ambiente. Rev. complut. cienc. vet. 2013;7(2):1-23. Disponible en:
https://doi.org/10.5209/rev_RCCV.2013.v7.n2.43408

37.Duxtan AJ, Peña EM. Síntesis y caracterización de nanoestructuras tipo cobre selenio obtenidas mediante las técnicas de microondas y mecano-síntesis. Rev. Soc. Quím. Perú. 2020; vol.86, n.4, pp.386-411. Disponible en:
<http://dx.doi.org/10.37761/rsqp.v86i4.310>