



Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Odontología
Centro de Investigación y Estudios Avanzados en
Odontología “Dr. Keisaburo Miyata”

“Efecto antibacteriano de nanotubos a base de haloisita precargados con clorhexidina sobre *Streptococcus mutans* incorporados a ionómeros de vidrio tipo I.”

Tesis de Investigación

Para obtener el grado de
Maestro en Ciencias Odontológicas.

Presenta:

E. en O. Ana Cecilia Cruz Mondragón.

Director de tesis:

Dr. En P.M.B. Víctor Hugo Toral Rizo.

Co-director:

Dr. En C.S. Elías Nahum Salmerón Valdés.

Tutor externo:

Dra. en C.B.B.M. Leticia Verónica Jiménez Rojas



2017-2021

Toluca, Estado de México, Mayo 2022.

ÍNDICE.

I. Resumen.....	1
II. Introducción.....	2
III. Antecedentes.....	4
Nanomateriales.	7
Biocompatibilidad de haloisita.	8
Modificación de la haloisita.	9
Función de nanotubos de haloisita.	10
<i>Uso odontológico.</i>	10
<i>Sorbentes para contaminantes.</i>	11
<i>Carga / liberación de drogas desde la haloisita.</i>	12
Clorhexidina.	13
<i>Características químicas.</i>	13
<i>Espectro de acción</i>	14
<i>Mecanismo de acción.</i>	14
<i>Tiempo de acción.</i>	15
<i>Efectos adversos y contraindicaciones.</i>	15
<i>Uso odontológico.</i>	15
Ionómero de vidrio.	16
<i>Composición.</i>	17
<i>Compatibilidad biológica.</i>	17
<i>Liberación de fluoruro.</i>	17
<i>Clasificación de los cementos de ionómero de vidrio.</i>	18
1. <i>De acuerdo a su uso.</i>	18
2. <i>De acuerdo con su composición.</i>	19
<i>Ionómero de vidrio en Ortopedia/Ortodoncia.</i>	21
IV. Planteamiento del problema.....	24
V. Justificación.....	26
VII. Objetivos.....	29
VIII. Diseño Metodológico.	30
IX. Resultados y discusión.....	42
X. Conclusiones.....	43

XI. Referencias..... 44
XII. Anexos..... 52

I. Resumen.

El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto antibacteriano de nanotubos de halloysita precargados con clorhexidina incorporados a un ionómero de vidrio. Material y métodos: La muestra consta de 200 bloques de ionómero de vidrio, 100 bloques de ionómero convencional y 100 bloques de ionómero de vidrio modificado con resina. Se tomaron 5 bloques de 3mm de diámetro de ionómero de vidrio con carga de clorhexidina al 5% y 10% y sin carga, se dispensaron a las cajas de Petri sembradas con *S. mutans*, se incubaron durante 24 horas a 37°C en una atmósfera de anaerobiosis, se identificaron las zonas de inhibición de crecimiento, las zonas de inhibición se interpretaron de acuerdo al ionómero probado. Resultados: El promedio de los halos de inhibición para cada grupo, fue para Ketac Cem con carga de nanotubos con clorhexidina al 10%= 13.20mm; seguido del grupo Fuji Ortho con carga de nanotubos con clorhexidina al 10%= 12.45mm; grupo Fuji Ortho con carga de nanotubos con clorhexidina al 5%= 11.45mm y por último el grupo de Ketac Cem con carga de nanotubos con clorhexidina al 5%= 11.35mm; existiendo diferencias entre los grupos que fueros cargados al 5% con los que fueron cargados al 10%. Conclusión: Los grupos cargados con nanotubos y clorhexidina al 10% tuvieron un halo de inhibición mayor, similar a otros estudios en los que la concentración de clorhexidina fue pura lo que puede ser una base para probarse a mayores concentraciones en futuras investigaciones y comprobar la eficacia de los nanotubos de halloysita.

II. Introducción.

La caries dental es una enfermedad de evolución lenta y crónica más extendida a nivel mundial y constituye un gran reto en salud pública; los datos actuales muestran que la caries no tratada en dientes permanentes tiene una prevalencia global del 40% (promediando todas las edades).¹

Algunos estudios mencionan que, a pesar de la eliminación de caries y la restauración de la cavidad con resinas compuestas o ionómero de vidrio, requiere un cambio después cierto tiempo de vida, debido a la acumulación de placa dentobacteriana y la recidiva de caries alrededor de la misma, lo que sugiere que los materiales dentales pueden ser mejorados con ciertos agentes antibacterianos para fortalecer sus propiedades ayudando en el proceso de reducir las lesiones cariosas.²

De igual manera en pacientes que son sometidos a tratamientos ortodóncicos se ha buscado la mejor opción para disminuir la desmineralización dental y como consecuencia la formación de caries incipiente, ya que se ha demostrado que el *Streptococcus mutans* es el microorganismo que se encuentra con mayor frecuencia alrededor de las bandas ortodóncicas y al no contar con un agente cementante que pueda proveer una protección antibacteriana correcta, no se podrá evitar este tipo de problemas.

Los ionómeros de vidrio son cementos de primera elección por sus propiedades como: biocompatibilidad, el coeficiente de expansión térmica, acción bacteriostática y bactericida, adherencia al esmalte y dentina, además de la poca solubilidad ante la saliva, también son excelentes materiales para la adhesión de bandas de ortodoncia en tratamiento convencionales de ortopedia. Aunque existen estudios sobre la influencia y capacidad antibacteriana de las restauraciones ionoméricas sobre el *Streptococcus mutans*, hasta ahora no se ha logrado una disminución en la recidiva de caries.³

Algunos agentes antibacterianos entre ellos el fluoruro, triclosán, clorhexidina y xilitol han sido incorporados a los diversos materiales dentales para mejorar las propiedades de estos, pero a pesar de estos esfuerzos no se ha logrado eliminar el problema, ya que presentan limitaciones en sus características.

La clorhexidina es el agente antibacteriano que actúa sobre el *Streptococcus mutans* y otras bacterias de manera eficaz, es utilizado para combatir la caries y la gingivitis, además de que se incorpora fácilmente a materiales dentales y mejora las propiedades de los mismos.⁴

Recientemente, el uso de la nanotecnología se ha convertido en un área de oportunidad para potencializar o mejorar las propiedades de algunos materiales, por lo que su introducción al área odontológica la convierte en una herramienta para buscar una mejor alternativa a los tratamientos y prevención. La nanotecnología ha venido a cambiar el panorama del cuidado de la salud, ha llegado a tener importantes aplicaciones en odontología como ser inhibidores de caries, proporcionar resinas mejoradas con propiedades antimicrobianas, así como agentes remineralizantes, administración dirigida de fármacos, cementos restauradores, vidrios bioactivos, acondicionadores de tejidos entre otras aplicaciones importantes, teniendo una variedad de formas y estructuras que mejoran la eficacia de los tratamientos que se pueden ofrecer al paciente.⁵

En los últimos años, se han utilizado enfoques biomiméticos para desarrollar nanoestructuras incluyéndolos en una variedad de productos para la salud oral con el objetivo de contrarrestar la caries; entre ellos se encuentran los nanotubos de haloisita que debido a su alta resistencia mecánica, estabilidad térmica, biocompatibilidad y bajo costo tienen una serie de aplicaciones potenciales interesantes en nanocompuestos de polímeros mejorando su resistencia a la tracción, presentan una flexión altamente incrementada y además debido a la estructura que presentan, su interior puede ser cargado con fármacos los cuales son entregados lentamente mediante el nanoporo presente en sus extremos, permitiendo que mejoren su tiempo de acción.⁶

Se ha encontrado que los nanotubos de haloisita cargados con ciertos agentes antibacterianos son un tratamiento exitoso cuando se incorporan a algunos materiales dentales para potencializar sus efectos; dichos materiales promueven la actividad antibacteriana, la deposición mineral y alta resistencia.⁶

Debido a lo planteado anteriormente, en el presente trabajo se pretende determinar el efecto antibacteriano de nanotubos de haloisita precargados con clorhexidina incorporados a ionómeros de vidrio tipo I.

III. Antecedentes.

Estudios previos han demostrado que los nanotubos de haloisita (HNTs) exhiben propiedades notablemente mejoradas, como un rendimiento mecánico superior, por lo que se han incorporado a nanocompuestos de polímero para ser utilizados en la liberación controlada y sostenida de nano reactores, debido a esta situación los nanotubos poseen perspectivas prometedoras en la preparación de materiales novedosos estructural y funcionalmente.⁴

De igual manera se han utilizado los nanotubos de haloisita para el tratamiento ambiental sobre su base de estructura tubular, mostrando en sus resultados que los HNTs son prometedores para aplicaciones en la descomposición, así como en la eliminación de varios contaminantes en el aire y el agua.⁷

La haloisita debido a la variedad de condiciones de cristalización además de la formación geológica adopta diferentes morfologías, se pueden encontrar en forma de partículas irregulares, tubulares, esferoidales o similares a placas. Sin embargo, la estructura tubular es la más común y valiosa, por ser un mineral cilíndrico de bajo costo, por lo anterior es principalmente empleado como nanotubo.⁷

Diversos estudios han mostrado que los nanotubos no sólo mejoran las propiedades mecánicas, sino que también prolongan la tasa de liberación de los fármacos, además de que presentan una excelente biocompatibilidad.⁸

Massaro *et. al.*⁹ estudiaron la citotoxicidad citogenética de HNTs para determinar su actividad en contra de los linfocitos periféricos de humanos por medio de un ensayo de índice mitótico; obtuvieron resultados destacados en los que mostraron que los HNTs son materiales seguros y pueden ser usados en varios fármacos orales para entregarlo al sistema particularmente como material diluyente, en relleno de tabletas, cápsulas o suspensiones sin causar toxicidad en el sitio de absorción y el primer órgano de acumulación.

Por otro lado, en una investigación realizada por Lvov *et. al.*¹⁰ en donde los nanotubos de haloisita fueron comprimidos para formar una tableta excipiente para la entrega y control de lanzamiento de nifedipino, se demostró que dicha formulación asegura que el agente activo de la sustancia se liberara hasta por 20 horas, además de que se

redujo la fotodegradación propia del medicamento, propiciando un tiempo de acción prolongado.

Mingxian *et. al.*¹¹ han definido a los nanotubos de haloisita como un novedoso nanomaterial que tiene una composición única de proporción grande, disponibilidad natural, rica funcionalidad, buena biocompatibilidad y alta resistencia mecánica, además de tener bajo costo; mencionan también que se pueden mezclar con casi todos los polímeros utilizando instrumentos y enfoques más comunes.

Con respecto al uso de HNTs en la odontología, a la fecha se han realizado algunos estudios en los que se han incorporado los nanotubos de haloisita a adhesivos dentales como nanotransportadores de fármacos; entre ellos se encuentra el realizado por Feitosa *et. al.*¹², quienes comprobaron la viabilidad celular de un adhesivo dental comercial modificado con nanotubos de haloisita precargados con Doxiciclina. Este estudio, es el antecedente para pruebas adicionales de fármacos inhibidores de bacterias encapsulados que pueden mejorar la síntesis de los adhesivos, aumentando la longevidad de las capas híbridas y el rendimiento clínico general de las restauraciones de resina compuesta.

Mohammed *et. al.*¹³ estudiaron los nanotubos como un agente para reforzar unión de los sistemas adhesivos de dentina, en donde demostraron que los nanotubos de haloisita pueden infiltrarse en los túbulos dentinarios junto con la resina, lo cual fue confirmado con micrografías SEM.

Asi mismo, Degrazia *et. al.*⁶ encontraron que los nanotubos de haloisita cargados con triclosán son un tratamiento exitoso cuando es incorporado a una base de resina al 20%. Dichos adhesivos promueven la actividad antibacteriana, la deposición mineral y alta resistencia.

Existen estudios recientes, donde se incorporaron nanocompuestos basados en arcilla de aluminosilicato-mesoporoso; específicamente nanotubos de haloisita cargados con triclosán a los adhesivos dentales, fueron utilizados como nano transportadores de agentes antibacterianos, se demostró que se aumentaron las propiedades de polimerización sin interferir con las propiedades de unión inmediata, además de que existió una inhibición de crecimiento bacteriano durante 24 horas e indujeron la deposición mineral después de 14 días.¹⁴

La posibilidad de modificar las superficies de los nanotubos a través de interacciones químicas supramoleculares abre la posibilidad a diversas formas de utilizar estos interesantes nanomateriales en varios campos, especialmente en el transporte y entrega de drogas.⁹

Marco Teórico.

Nanomateriales.

Los nanomateriales; se definen como materiales con una dimensión externa que va en un rango aproximado de 1- 100 nanómetros (nm). Hasta ahora, el comportamiento de algunos nanomateriales como nanotubos de carbón, nanopartículas de metal u óxido metálico (por ejemplo: oro o dióxido de titanio), puntos cuánticos, y muchos otros ya han sido estudiados, mientras que otros presentan mayores retos para la investigación.⁹

Los minerales de arcilla se han utilizado en la curación de enfermedades desde hace años; los aluminosilicatos tales como caolinita, la montmorillonita, así como la sepiolita se aplican ampliamente en las industrias, por sus propiedades y compuestos antibacterianos.¹⁵

Un nanomaterial emergente, con propiedades atractivas; es la arcilla de haloisita, compuesta de mineral tubular, es biocompatible y disponible a bajo costo, es usada como nanotubo debido a que presenta una cavidad hueca para controlar el lanzamiento de varios productos químicos. Se pueden modificar sus superficies de los nanotubos de haloisita, específicamente la nanoarquitectura que dirige a una afinidad a través de la superficie exterior para su funcionalización y el transporte de la droga (fármaco) por medio de la luz del nanotubo. El término haloisita es derivado de Omaliusd´Halloy, quien encontró el mineral en AngleurLiège, Bélgica; este mineral fue empleado por primera vez en 1826 por Berthier.⁹

La fórmula química de la haloisita es $Al_2Si_2O_5(OH)_4nH_2O$ que corresponde a caolinita, una arcilla de aluminosilicato natural, es una proporción 1:1 de octahédrico y arcilla mineral que se presenta en el suelo, es formada por la erosión de varios tipos de rocas ígneas y no ígneas se puede encontrar principalmente en un clima húmedo tropical y subtropical.^{7,9}

De acuerdo con el estado de hidratación, los HNTs se clasifican generalmente en dos grupos: HNTs hidratados con una estructura cristalina y deshidratados.⁷

La estructura cristalina típica de los nanotubos de halloysita se muestra en la figura.1

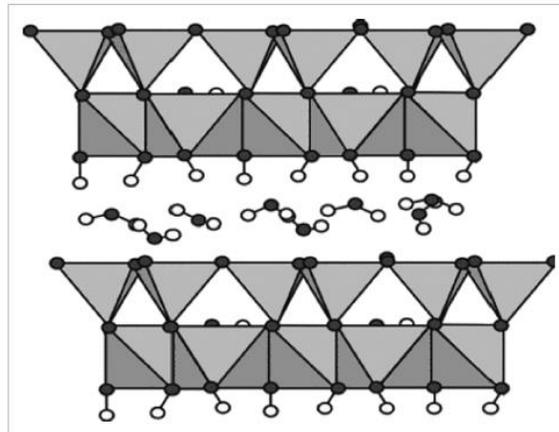


Figura 1. Estructura cristalina de HNTs.

Du M, Guo B, Jia D. Newly emerging applications of halloysite nanotubes: A review. Polym Int. 2010;59(5):574–82.

Los nanotubos de haloisita tienen un hueco de estructura tubular en un rango subnanométrico, la pared es constituida de 10-15 bicapas de aluminio y oxido de silicio, dependiendo de la cantidad de haloisita las dimensiones pueden variar. Generalmente presentan una longitud con un rango de 0.2 a 1.5 micrómetro (μm) mientras que el diámetro interior presenta un rango de 10-30nm, y el exterior es de 40-70nm.⁹

En Australia, Estados Unidos, China, Nueva Zelanda y Turquía se encuentran grandes depósitos de haloisita que permiten el suministro de cientos de toneladas del producto puro, aunque también pequeñas cantidades de nanotubos se pueden encontrar en cualquier depósito de caolín.¹⁵

Biocompatibilidad de haloisita.

El primer estudio fitotóxico sobre la haloisita fue reportado por Bellani *et. al.*¹⁶ quienes realizaron experimentos sobre la vida de una especie de planta llamada *Raphaus sativus* L; en dichos experimentos se evaluaron los modelos para predecir el impacto potencial de los HNTs sobre la vida de la planta y el desarrollo de riesgos cuantitativos. La haloisita se ha reportado como un material biocompatible en varios cultivos celulares en modelos de invertebrados. El consumo y efectos tóxicos de la haloisita

han sido investigados usando líneas celulares humanas, principalmente en células de cáncer de mama, tiroides, hígado y células epiteliales de adenocarcinoma. La toxicidad de los HNTs fue probada después de 48 horas de la incubación con fibroblastos y células de mama de humanos, esto arrojó que no es un material tóxico, además es menos perjudicial que el cloruro de sodio (sal de mesa) aunque puede penetrar en el interior de la célula y acumularse rodeando el núcleo. La haloisita es removida eficientemente del organismo por medio de macrófagos y por lo tanto es considerado un material biocompatible.⁹

Se puede subrayar que los nanotubos de arcilla con fármacos se pueden usar principalmente para el uso externo de medicamentos como: spray, tabletas orales además de materiales que no se descomponen, tales como implantes de hueso, diente o modificación de cultivos celulares y bacterias.¹⁰

Es necesario realizar investigación para establecer la seguridad de la haloisita en inyección intravenosa, debido a que tiene el potencial de ser utilizado de forma intramuscular en tumores, lo que podría ser útil para la administración de fármacos en el tratamiento de cáncer.¹⁰

Diversos países y organizaciones han desarrollado a lo largo de los años reglamentos con la información necesaria, mediante etiquetas o fichas de datos de seguridad a los usuarios de los productos químicos, los cuales sirven para conocer los peligros a los cuales pueden estar expuestos los usuarios de estas sustancias y tomar las medidas de control necesarias para prevenir accidentes de trabajo, enfermedades o afectaciones al medio ambiente.¹⁷ Según esta clasificación Massaro. *et. al.*⁹ recientemente demostraron que los HNTs pueden ser clasificados como un material de peligro clase 4 que se refiere a una sustancia de bajo peligro.

Modificación de la haloisita.

La haloisita se extrae directamente de la naturaleza; por lo tanto, las impurezas que se encuentran en el cuarzo, la caolinita, litio, feldespato y otros iones metálicos deben ser eliminadas de ellos, antes de su uso. Sin embargo, en Utah, EE. UU., se han encontrado depósitos puros y casi puros que no requieren purificación antes del uso.¹¹

La característica más atractiva los HNTs; es su luz interior, con diámetro capaz de atrapar agentes químicos, su uso es como un nano contenedor para fármacos, los cuales se cargan para su posterior lanzamiento; afortunadamente la diferencia química de las superficies interior y exterior de la haloisita permiten una funcionalización selectiva de estas, lo cual incrementa el potencial de aplicación.⁹

Los grupos de aluminol están ubicados en la superficie interna del lumen, la modificación de la superficie interna es relevante para aplicaciones de inmovilización, liberación controlada y carga de nanocompuestos.¹¹

La superficie exterior debe modificarse de forma covalente por medio de la condensación de silanos hidrolizados con la superficie de grupos hidroxilos de los nanotubos de haloisita, localizados en los bordes o sobre sus defectos superficiales.⁹

El aminopropiltriethoxisilano (APTES) es un silano que ha sido ampliamente utilizado en biosensores basados en afinidad debido a que el grupo silano se puede unir fuertemente a los sustratos de silicio o vidrio, es por ello que ha sido utilizado para la modificación de la haloisita y otros procesos de silanización.¹⁸

Función de nanotubos de haloisita.

Uso odontológico.

La haloisita puede ser cargada con diferentes combinaciones de antibióticos que pueden ser mezclados en varios cementos dentales, polimetilmetacrilato, fosfato de calcio, así como hueso para ampliar su espectro y ser eficiente en la resistencia de diferentes cepas de bacterias. Ayuda a mejorar la fuerza del cemento dental, disminuyendo la temperatura de polimerización de 64 a 51 grados centígrados, por lo tanto, el potencial de necrosis termal es minimizado.¹⁰

Debido a su alta resistencia mecánica, estabilidad térmica, biocompatibilidad y abundancia, los HNTs tienen una serie de aplicaciones potenciales interesantes en nanocompuestos de polímeros. Estos poseen una resistencia a la tracción, la flexión altamente incrementada, módulos de elasticidad y resistencia mejorada.¹¹

Los nanocompuestos de polímero con HNTs también exhiben una resistencia térmica elevada, retardo de la llama y un comportamiento de cristalización único.¹¹

Además, se ha sugerido que los nanorellenos pueden infiltrarse en los túbulos dentinarios, disminuyendo la polimerización de contracción, endurecimiento de la capa adhesiva y en última instancia el fortalecimiento de la interfaz adhesiva.¹³

Varios experimentos se han enfocado a defender la terapéutica de restauraciones en dientes afectados por caries tal como adhesivos cargados con rellenos bioactivos o agentes antibacteriales.^{6, 13}

Se ha realizado el seguimiento selectivo de la preparación de cavidades mínimamente invasivas con el uso nanotubos de haloisita cargados con sustancias antibacteriales y mezclados en una base de resina para la remineralización dentro del área de dentina previniendo caries secundaria, además los HNTs pueden promover una mejor polimerización de metacrilatos, comparados con otros rellenos de sílice.⁶

A pesar de los notables avances en ciencia sobre los adhesivos dentales y el conocimiento de la dentina, las investigaciones continúan reportando una disminución significativa en la unión resina-dentina que da como consecuencia nueva formación de caries conforme pasa el tiempo, es por eso que son una alternativa para hacer cargas de diferentes medicamentos en nanotubos de haloisita con la finalidad de mejorar esta situación.¹²

Respecto a la aparatología fija de ortodoncia, se observan a menudo grandes huecos en la interfaz adhesivo - esmalte alrededor del bracket. Estos representan el sitio más común para que ocurra la desmineralización, debido a la acumulación de bioplaca rica en especies criogénicas tal como *Streptococcus mutans*. Basado en esta información varios agentes terapéuticos tal como el fluoruro, clorhexidina y nanopartículas de plata, han sido introducidos dentro de experimentos de cementación en ortodoncia para superar estos problemas clínicos. Sin embargo, estos tienen una efectividad temprana ya que el lanzamiento del activo principal tiende a reducirse a través del tiempo.¹⁴

Sorbentes para contaminantes.

Debido a las estructuras nanotubulares, también se espera que los HNTs posean la capacidad de absorción de sustancias específicas; recientemente, se han informado aplicaciones de HNTs en la adsorción de contaminantes y otras sustancias. Se ha

aplicado un nuevo biofiltro que contiene una bentonita orgánica y HNTs para la eliminación de contaminantes microbianos del aire de una planta de incubación industrial. La investigación mostró que el biofiltro es efectivo en la eliminación de bacterias, polvo y endotoxinas potencialmente patógenas del aire de la planta de incubación.⁷

Carga / liberación de drogas desde la haloisita.

Los nanotubos de haloisita; debido a su estructura tubular y los nanoporos que presentan en sus extremos, promueven la entrega de los fármacos lentamente, prolongando su tiempo de acción. Se puede utilizar como encapsulación de fármacos dentro de la luz del tubo, o alternativamente; el fármaco podría estar químicamente unido a la superficie exterior de los tubos.^{9, 10}

Se ha mostrado que los HNTs disueltos en agua, hacen que las moléculas; al hacer esta interacción muestren un lanzamiento mucho más largo, lo que supone que el nanoporo controla la difusión del fármaco. Usualmente el tiempo de acción incrementa de pocos minutos hasta 20 horas después en presencia de la haloisita.⁹

El extremo del tapón del tubo optimiza la difusión del fármaco, habilitando una entrega impresionante y una tarifa de lanzamiento de hasta 12 días después, permitiendo un largo y perdurable efecto antimicrobiano.¹⁰

Los pioneros como Price, Graber y Lvov sugieren que la carga de la luz de los nanotubos de haloisita se realice utilizando la solución del fármaco saturada (ejemplo: antibióticos) o derretir el fármaco para que la solubilidad sea baja y permita ser introducido en los nanotubos con ayuda de agua.¹⁰

Por otro lado, Lvov *et. al.*¹⁹ mencionan que, para atrapar moléculas hidrófilas, la haloisita se mezcla como un polvo seco con una solución saturada del agente activo elegido en agua, etanol u otro disolvente.

Para materiales altamente solubles, se puede reducir la velocidad de liberación al mezclarlos con materiales poliméricos viscosos compatibles con el agente activo. Los materiales con bajo punto de fusión pueden cargarse en su forma líquida.¹⁹

Clorhexidina.

La clorhexidina es una biguanida que corresponde a una molécula catiónica, fue descubierta accidentalmente en Inglaterra en 1954; presenta una alta actividad antibacteriana, las investigaciones hechas sobre la clorhexidina reportó baja toxicidad en mamíferos, buena afinidad con la piel, membranas y mucosas.²⁰

La clorhexidina ha estado en uso por casi 60 años en más de 60 productos farmacéuticos y dispositivos médicos, comercializado como antiséptico general en el año 1950.²¹

Características químicas

La estructura molecular de la clorhexidina es simétrica, presenta dos anillos, cuatro grupos clorofenil y dos biguanidas, se encuentran conectados por una cadena central de dexametileno ²², la figura 2 muestra su estructura química.

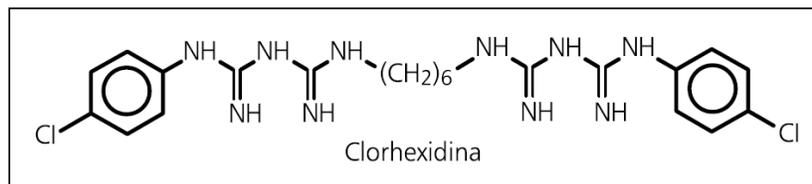


Figura 2. Molécula de clorhexidina.

Diomedi A, Chacón E, Delpiano L, Hervé B, Jemenao MI, Medel M, et al. Hospital Clínico de la Mutual. Rev Chil Infectol [Internet]. 2017;34(2):19. Available from: www.sochinf.cl

Se encuentra compuesta por sales como diacetato, diclorhidrato y digluconato que son más solubles en alcohol que en agua; no presenta color ni olor, su sabor es amargo, es estable a temperatura ambiente y presenta un pH entre 5 a 8, otra característica importante es que se inactiva en presencia de materia orgánica. En la tabla 1 muestran las características de los antisépticos más comúnmente utilizados para la prevención de infecciones.²³

Compuesto	Mecanismo de Acción	Efecto Residual	Inactivación por material orgánico*	Inicio de acción	Toxicidad*
Alcohol	Desnaturalización de las proteínas	Ninguno	Intermedio	Muy rápido	Produce resequedad. Es volátil. Es inflamable
Clorhexidina	Disrupción de la membrana celular	Prolongado	Mínimo	Intermedio	Ototoxicidad. Queratitis. Dermatitis
Yodoforos	Oxidación/ Sustitución	Mínimo	Marcado	Intermedio	Absorción a través de la piel con posible toxicidad sistémica. Dermatitis de contacto

Tabla 1. Características de los antisépticos para la prevención de infecciones asociadas al cuidado de la salud.

José Maya J, Jamil Ruiz S, Pacheco R, Liliana Valderrama S, Virginia Villegas M. ASOCIACIÓN COLOMBIANA DE INFECTOLOGÍA Papel de la clorhexidina en la prevención de las infecciones asociadas a la atención en salud Role of chlorhexidine in the prevention of health care related infections. Infectio. 2011;15(2):98–107.

Espectro de acción

Su efecto bactericida es intermedio, presenta una gran actividad contra bacterias grampositivas, gramnegativas, anaerobias facultativas, aerobias y con un menor efecto contra hongos y levaduras.²²

Presenta características importantes tales como su actividad *in vitro* contra virus con envoltura como son el herpes simple, VIH, citomegalovirus e influenza, presentando menor actividad antiviral contra virus sin envoltura como son el rotavirus, poliovirus y adenovirus.²²

Mecanismo de acción.

El mecanismo de acción de la clorhexidina es por medio de actividad bacteriostática, la unión que tiene a la membrana celular de las bacterias produce un aumento de la permeabilidad lo que permite que actúe eficientemente.²⁴

La absorción de la clorhexidina se realiza por medio de difusión pasiva a través de las membranas celulares, actuando durante los primeros los 20 segundos, sobre todo en bacterias y levaduras. Cuando se utiliza a concentración mínima, ocasiona un cambio en la permeabilidad osmótica de la membrana y debido a esto ocasiona una inhibición de enzimas del espacio periplásmico; por otra a concentraciones elevadas ocasiona la precipitación de proteínas y ácidos nucleicos dentro del espacio periplásmico.²²

Tiempo de acción.

Presenta un intervalo de acción medio, el tiempo de inicio de acción en base alcohólica es de 30 segundos; dependiendo de la zona en la cual se aplique varía su inicio de acción; si es zona de piel se puede prolongar hasta una hora. Dependiendo de la marca comercial que se esté utilizando varía el inicio de acción, algunas recomendaciones de los distintos fabricantes es esperar tres minutos antes de realizar cualquier procedimiento invasor. Cabe mencionar que una de las características importantes de la clorhexidina es que presenta una actividad residual de hasta seis horas; la cual se va liberando gradualmente durante ocho a doce horas de forma activa.^{22, 24}

Efectos adversos y contraindicaciones.

Las reacciones alérgicas debido a la clorhexidina han sido mínimas, presentándose más frecuentemente en la piel y mucosas de manera irritativa, también se ha presentado fotosensibilidad; es importante tener precaución al aplicarla debido a que en concentraciones elevadas pueden ocasionar irritación dérmica.²²

Uso odontológico.

La clorhexidina presenta notables propiedades como antiséptico en piel y mucosas, proporcionando grandes beneficios por lo que su uso odontológico ha sido estudiado proporcionando excelentes resultados.²²

Se ha analizado el tiempo de vida de las restauraciones dentales posterior al uso de clorhexidina, debido a sus propiedades tiene la capacidad de inhibir la actividad proteolítica de varias enzimas que se encargan de degradar fibras colágenas de la capa híbrida, de esta manera se aumenta la suficiencia de adhesión de la restauración.²²

Es por eso que la clorhexidina actualmente es el antiséptico más utilizado en odontología, sobre todo para enjuagues bucales (0.12-0.2 %) y dentífricos (0.5-1 %) es un valioso antiséptico contra la placa y la gingivitis por su sustantividad, que se refiere a la persistencia de la sustancia en la superficie dental, así como encías debido a la fijación inicial y liberación lenta.²⁵

Por regla general, la desinfección con clorhexidina solo debe usarse cuando sea necesario, es decir cuando el efecto beneficioso sea mayor y que la concentración efectiva sea la más baja posible para evitar reacciones alérgicas. Se ha utilizado en el

tratamiento de infecciones de orofaringe y en la desinfección de prótesis dentales además como en aparatología ortodóncica.^{24, 26}

Existen algunas bacterias presentes en la placa dental resistentes a los enjuagues de clorhexidina como *Chryseobacterium culicis*, *Chryseobacterium indologenes*, *Acinetobacter johnsonii*, *Enterobacter ludwigii*, *Pseudomonas stutzeri* y *Streptococcus salivarius* por lo que es importante estudiar sus efectos en otras presentaciones.²⁷

Los barnices presentan un efecto antibacteriano frente a la flora causante de caries dental.²⁴ Al compararse la efectividad de las presentaciones de la clorhexidina con respecto al tiempo, concluyeron que su presentación en barniz redujo los niveles de *Streptococcus mutans* después de tres meses; además, de mostrar mayor eficacia tras ser aplicado en un tratamiento intensivo de tres dosis en un período de días, lográndose una significativa reducción de los *Streptococcus mutans* ($p < 0.01$); de igual modo se afirmó que las aplicaciones constantes de la clorhexidina en barniz son más eficaces al aplicarse cada cierto tiempo para disminuir la incidencia de caries.²⁰

Ionómero de vidrio.

Los ionómeros de vidrio son materiales de obturación cuyo nombre se debe a que pueden formar enlaces iónicos con vidrio. El objetivo de la formulación y el desarrollo de los cementos de ionómero de vidrio fueron ideados por Wilson y Kent en 1969. Son materiales de obturación basados en sílice, polvos de aluminio- silicato de calcio y soluciones homopolímeros y copolímeros del ácido acrílico se suministran en forma de polvo y líquido, el líquido suele ser una solución al 47% de copolímero de ácido poliacrílico e itacónico. El polvo del cemento es formado por la fusión de sus componentes principales, de sílice (SiO_2), alúmina (Al_2O_3) y fluoruro de calcio (CaF_2).²⁸⁻³⁰

El objetivo de la formulación y desarrollo de los cementos de ionómero de vidrio se basó en la unión del polvo del cemento de silicato con el cemento de policarboxilato de zinc. Los cementos de silicato tienen propiedades anticariogénicas debido a la liberación de flúor, mientras que el cemento de policarboxilato de zinc tiene la capacidad de adherirse a la estructura dental y causar poca irritación pulpar.^{31, 32}

Composición.

El polvo del cemento de ionómero de vidrio es formado por la fusión de sus componentes principales de sílice, alúmina y fluoruro de calcio. Los primeros dos componentes son responsables de la resistencia del material ya que el fluoruro de calcio participa en la reacción de endurecimiento. El líquido suele ser una solución al 47% de copolímero de ácido poliacrílico e itacónico, pero existen materiales en el mercado a base de otros ácidos (maleico, tartárico). El grupo carboxilo (-COOH) es el responsable de la unión química de naturaleza iónica con las partículas de vidrio y el calcio de la hidroxiapatita del esmalte y de la dentina parte de la estructura dental.^{33, 34} El ionómero de vidrio presenta un tamaño de partícula aproximado de 20 a 50 μm cuando el material es utilizado para obturaciones y de menos de 25 μm cuando se usa como cemento.²⁸

Compatibilidad biológica.

Numerosas investigaciones han demostrado la inocuidad del ionómero de vidrio para el tejido pulpar, cuando se coloca en el complejo dentino-pulpar como liner, base o como relleno. Si bien el pH inicial de la mezcla es ácido, en pocos minutos se alcanza un pH cercano a la neutralidad, lo que asegura una adecuada protección pulpar. Los cementos de ionómero de vidrio no experimentan degradación, desintegración ni pérdida de masa por la liberación de fluoruro; sin embargo, debe notarse que en presencia de pH ácido en la cavidad bucal (pacientes con disfunciones digestivas, o que reciben determinadas medicaciones, entre otros múltiples factores y condiciones clínicas) los ionómeros pueden experimentar alteraciones superficiales por la erosión ácida e incrementar su solubilidad y desintegración.^{28, 29, 33-35}

Liberación de fluoruro.

El flúor liberado por el ionómero de vidrio se incorpora a los tejidos mineralizados del diente, tornándolos más resistentes a los ciclos de desmineralización, además de actuar remineralizando lesiones incipientes del esmalte y dentina alrededor del material o en las proximidades de los dientes adyacentes, debido a que al entrar en contacto con el esmalte y la dentina, el fluoruro que se encuentra en el ionómero de vidrio lleva a cabo un intercambio iónico con la hidroxiapatita del diente, formando fluorapatita, la

cual es más dura y menos soluble en los ácidos, fenómeno que es aprovechado también en su uso como sellador de fosas y fisuras, debido a que el flúor es uno de los elementos que queda débilmente unido a la estructura superficial del material y por lo tanto es fácilmente liberado. Un cemento de ionómero de vidrio de aluminio-silicato tiene aproximadamente 23% de iones de flúor; sin embargo, apenas de 12 al 18% son liberados en forma de NaF en la mayor parte y su donación parece ser medida principalmente por la cantidad de sodio sin perjudicar las propiedades mecánicas del material. La liberación de fluoruro es elevada en las primeras 24 a 48 horas y permanece constante durante largos periodos de tiempo, por lo que es eficiente para la prevención o detención del proceso de caries.^{33, 36, 37}

Clasificación de los cementos de ionómero de vidrio.

1. De acuerdo a su uso.

Los cementos se pueden clasificar de acuerdo con su uso, como se muestra (Tabla 2).

TIPO	USO
Tipo I	Para cementación
Tipo II	Restauración
Tipo III	Para Sellador de fosas y fisuras
Tipo IV	Para protector y bases cavitarias
Tipo V	Para reconstrucción de muñones y en odontopediatría

Tabla 2. Clasificación de los cementos de ionómero de vidrio.

Cedillo Valencia J de J. Ionómero de Vidrio de alta densidad como base en la técnica restauradora de Sandwich.
Rev la Asoc Dent Mex. 2011;68(1):39-47.

2. De acuerdo con su composición.

- Cementos de ionómero de vidrio convencionales o vítreos: Están constituidos por un polvo que es un cristal conocido como fluoraluminosilicato; y por un líquido que es el ácido poliacrílico. Endurecen solo por una reacción ácido-base y el fraguado es sólo químico por lo tanto no se activan con luz.^{33, 38}
- Cementos de ionómero de vidrio reforzado con metal: Están reforzados mediante la incorporación física de una aleación de plata al polvo de vidrio. A esta fórmula se le conoce como “*cermet*”, en una proporción del 12 al 14% por volumen. Dentro de las propiedades mejoradas de estos ionómeros están la resistencia al desgaste y una mayor resistencia a la compresión. Están indicados principalmente como base de obturaciones oclusales pequeñas, reconstrucción de muñones, obturación de dientes temporales, pilares de sobre dentaduras.^{28,39}
- Cementos de ionómero de vidrio modificados con resinas o híbridos: Aparecieron a finales de los años 80. Son materiales a los que en su matriz se agrega una resina hidrofílica. Existen 2 sistemas ionómero/resina estos son autopolimerizables y fotopolimerizables, dichos materiales al igual que los ionómeros puros pueden ser utilizados como agentes de cementación, bases o fondos cavitarios, reconstrucción de muñones, selladores de fosas y fisuras y como materiales de obturación radicular retrograda. El polvo del cemento de ionómero de vidrio autopolimerizable contiene fluoraluminosilicato y un sistema catalizador microencapsulado de persulfato potásico y ácido ascórbico; sin embargo, el líquido está constituido por ácido policarboxílico modificado con grupos metacrilatos polimerizables unidos a él, se le ha incorporado 10% de éster vinílico de BisGMA, HEMA y ácido tartárico. Los ionómeros fotopolimerizables contiene en el polvo de vidrio fluoraluminosilicato y en el líquido un copolímero de ácido acrílico y maleico, HEMA, agua, canforoquinonas y un activador. La reacción de fraguado ácido-base se complementa con la fotopolimerización, debido a que se garantiza un endurecimiento inicial más rápido aumentando sus propiedades físicas y disminuyendo la absorción del agua.⁴⁰⁻⁴³

Fundamentalmente las ventajas de los ionómeros de vidrio modificados con resina son:

- a) Adhesión física y química al diente.
- b) Biocompatibilidad.
- c) Liberación de flúor.
- d) Excelentes propiedades mecánicas.
- e) Buenos protectores termoeléctricos.
- f) Endurecimiento inicial rápido.
- g) Radiopacidad.
- h) Mejora en la translucidez.^{44, 45}

Por otro lado, es importante saber que estos materiales presentan algunas limitaciones:

- 1.- Aumentan de tamaño debido a que presentan una expansión higroscópica importante relacionada con la formación de una deficiente red polimérica.
- 2.- Cambian de color debido a una polimerización incompleta, absorción de agua o desecación.
- 3.- Vida media corta (Aproximadamente 2 o 3 años)
- 4.- Alto costo.^{44, 45}

- Copolímeros. Es una resina fotoactivada que una vez polimerizada adquiere alguna de las propiedades de los ionómeros vítreos específicamente la capacidad de liberar fluoro y mantener la reacción ácido-básica en presencia de saliva. Se componen por partículas de vidrio de silicato, fluoruro sódico y monómero modificado con un poliácido sin nada de agua. Los copolímeros se presentan en forma de pasta envasada en jeringas, cómpules o dispensadores unitarios.^{33, 45}
- Nano ionómeros: Representan el último avance del cemento de ionómero de vidrio modificado con resina comercializados desde el 2007. Este material cuenta con nanorellenos de los cuales contiene fluoraluminiosilicato, ácido policarboxílico y monómeros de metacrilato miscibles en agua. La adición de nanopartículas provee mejor pulido y mejores características ópticas.^{46, 47}

Ionómero de vidrio en Ortopedia/Ortodoncia.

Las bandas de ortodoncia son utilizadas en algunas situaciones, sobre todo en casos ortopedia convencionales, se colocan alrededor de las coronas de los dientes posteriores para proporcionar una unión estable.⁴⁸ En la dentición primaria o mixta es muy común la pérdida de la circunferencia de la arcada dentaria debido a la pérdida prematura de los molares temporales, esta reducción de la circunferencia de la longitud del arco puede comprometer la erupción de los dientes sucesivos. Un enfoque consiste en controlar el espacio creado por la pérdida prematura de los dientes temporales mediante la provisión de un aparato mantenedor de espacio. Los mantenedores de espacio pueden ser aparatos fijos o removibles; los aparatos fijos son adaptados por medio de bandas a la superficie del deben ser asistidos por un buen cemento dental.⁴⁹

Dado que las bandas se colocan en la región posterior, están sometidas a las mayores fuerzas de cizallamiento y tracción de masticación o trauma; por lo tanto, su retención es crucial para que un tratamiento de ortodoncia sea exitoso. De manera óptima, la fuerza de retención de las bandas proporcionada por el adhesivo debe ser suficiente para evitar que se despegue.⁴⁸

Se sabe que el uso de bandas puede provocar acumulación de placa dentobacteriana y provocar una desmineralización del esmalte durante el tratamiento, se han probado distintos cementos dentales con la finalidad de mejorar esta situación. Los cementos de ionómero de vidrio se utilizan como materiales adhesivos convencionales en el tratamiento de ortodoncia, que fueron introducidos por primera vez en 1971 por Wilson y Kent, debido a la baja solubilidad en la saliva, mayor resistencia a la compresión y a la tracción en comparación con el fosfato de zinc, los ionómeros de vidrio a través de una reacción ácido-base en el esmalte y la dentina para formar un enlace químico que lo hace un potencial de liberador de fluoruro.⁴⁸

El cemento de ionómero de vidrio modificado con resina está compuesto de partículas de vidrio, ácidos, iniciadores, aditivos y un sistema resinoso de monómeros orgánicos; este material ha sido cada vez más utilizado por los ortodontistas para cementar bandas de ortodoncia, debido a las propiedades físicas y químicas favorables capaces

de proporcionar una buena capacidad de retención, capacidad de liberación de flúor y su uso práctico.⁵⁰

La adhesión de ionómeros de vidrio a la superficie del diente depende de los compuestos a partir de poli (ácido acrílico) o polímeros que se encuentran relacionados con la adhesión. Muestran un grado de bioactividad desarrollando una capa de intercambio iónico interfacial con el diente, y de esta manera presenta alta durabilidad de su adhesión a la superficie del diente, libera fluoruro durante un período de tiempo considerable y esto lo hace un producto generalmente beneficioso.⁵¹

Microscopio Electrónico de Barrido.

Recientemente la microscopía electrónica de barrido ha sido utilizada en la caracterización de muestras en el área de ciencias biomédicas, ya que nos presenta las características de las muestras en alta resolución. Permite la evaluación de ciertas áreas de manera amplificada y permite evaluar zonas extensas.⁵²

La tecnología ha permitido crear nuevas máquinas de microscopía electrónica, la cual muestra ventajas de ser más pequeña e incluso de poder preparar las muestras en un solo día.⁵³

Se escanea toda la superficie de la muestra con un haz de electrón que tiene una tensión de un haz con rango de 0,5 a 30 kV y de esta manera se miden las señales de cada punto escaneado.⁵⁴

El haz de electrones recorre la superficie para lenta, tomando el tiempo necesario para poder obtener la medición y luego se dirige al siguiente punto de medición; esto evita que no exista un desenfoque de la muestra afectando el nivel de pixeles.⁵⁴

Como ya se había mencionado anteriormente, se obtiene el escanear muestras grandes esto debido a que se escanea una matriz de campos XY, los cuales permiten un montaje de una muestra suficientemente grande y esto permite correlacionar imágenes con otros estudios que no permiten obtener una resolución mayor.⁵⁴

Espectroscopia de Infrarrojo.

La espectroscopia infrarroja es un instrumento novedoso y actual que utiliza una sonda estructural lo suficientemente fuerte para mandar las señales y permitir realizar investigaciones biomédicas, ha sido utilizado en biofísica y química permitiendo la caracterización de muestras e identificación de biomoléculas realizando movimientos de manera dipolar, se caracteriza por ser rápida, conservar la muestra y no requiere una extensa preparación del espécimen a analizar.⁵⁵

Esta técnica se caracteriza por ser una espectroscopia vibratoria de entre 1000–2500nm a 10,000–4000cm⁻¹ con la que se puede realizar una evaluación cualitativa y cuantitativa de una muestra.⁵⁶

IV. Planteamiento del problema.

El problema de mayor prevalencia en salud bucal es la caries dental, una enfermedad crónica acumulativa, considerada la principal causa de dolor y pérdida de piezas dentarias en sus estadíos más avanzados y cuyas secuelas tienen impacto en el largo plazo.⁽⁵⁷⁾ En México, 69.5% de la población infantil presenta caries, mientras que la prevalencia de caries en la población adulta es de 93.2%.⁵⁸

Los ionómeros de vidrio son materiales que presentan una elevada capacidad bactericida, alta lisura superficial y un buen sellado marginal; son el resultado de numerosos estudios e intentos por mejorar el cemento de silicato el cual tiene propiedades anticariogénicas debido a la liberación de flúor, pero a pesar de los avances de la ciencia siguen existiendo problemas como la desmineralización del esmalte adyacente a los brackets y bandas que puede observarse cuatro semanas después de la colocación de aparatos fijos; se ha informado que la prevalencia de desmineralización en pacientes sometidos a tratamiento de ortodoncia con aparatos fijos es de hasta 96%.^{3, 31, 32, 44, 48, 59}

El informe global de incidencia, prevalencia y años vividos con discapacidad debido a enfermedades (agudas y crónicas) y lesiones, realizado sobre 188 países, muestra que la comorbilidad ha aumentado de una forma considerable en el período 1990-2013. El dolor dental debido a caries en dentición permanente se encontró entre las 12 enfermedades y lesiones que presentaron entre 100 millones y 1.000 millones de casos incidentales en 2013.⁵⁷

Diversos agentes terapéuticos y antimicrobianos como el fluoruro, triclosán, clorhexidina o xilitol entre otros han sido incorporados a los diversos tratamientos y materiales dentales con la finalidad de contrarrestar o detener las lesiones cariosas sin tener el éxito esperado, concluyendo en la necesidad de mejorar y potencializar las propiedades de estos agentes. La nanotecnología se ha convertido en una alternativa importante para modificar algunos biomateriales y potencializar sus efectos benéficos.⁶⁰

Los nanotubos de haloisita se han utilizado como soporte para nano rellenos en la liberación controlada de agentes activos.⁶¹ Dichos nanotubos se comportan como un agente de protección natural, inocuo y biocompatible; por estos motivos y debido a sus excelentes características pudiera ser incorporado a diversos tratamientos y materiales dentales con la finalidad de obtener mejores resultados; ya que aún existe la necesidad de contar con un material dental que prolongue su tiempo de acción y ataque a los principales agentes cariogénicos.⁶² Por lo tanto surge la pregunta de investigación: ¿Los nanotubos de haloisita precargados con clorhexidina a diferentes concentraciones, incorporados a ionómeros de vidrio tipo I presentarán un mayor efecto antibacteriano?

V. Justificación.

La caries a nivel mundial es un tema preocupante que no ha sido controlado a pesar de contar con diversos tratamientos, materiales dentales y agentes antimicrobianos que permiten combatirla y prevenir su aparición, ya que se encuentran limitados por diferentes factores como tiempo de acción corto, poca resistencia y /o baja deposición mineral. Económicamente hablando, atender a un paciente con alto índice de caries es demasiado costoso, por lo que se debe enfatizar en el área de prevención, así como en la inversión de tratamientos más eficaces que garanticen una vida útil y larga a las restauraciones.

Uno de los principales desafíos asociados con el tratamiento temprano de ortodoncia fija es la formación de lesiones de mancha blanca que pueden dar lugar a caries dental debido a la microfiltración que existe en el cementado de bandas ortodóncicas que permite el paso de bacterias y fluidos orales provocando la caries incipiente.⁶³

Se han implementado nuevas alternativas para reducir los casos incidentes, así como la recidiva de la caries; entre estos se encuentra la nanotecnología en medicina que tiene múltiples impactos sobre la investigación y la práctica, esta hace que los tratamientos sean menos costosos, más potentes y permite una capacidad de respuesta más rápida para tratar nuevas enfermedades.⁶⁴

El uso de nanocontenedores como los nanotubos de haloisita permiten transportar rellenos bioactivos o agentes antibacterianos a adhesivos dentales con el fin de remineralizar las áreas con poco mineral dentro de la interfaz resina-diente y prevenir la caries incipiente o caries secundaria, aumentando efecto antibacteriano, lo que hará que el tratamiento sea más eficaz y menos costoso.(6) Su alta resistencia mecánica, estabilidad térmica, biocompatibilidad y abundancia, los HNTs tienen una serie de aplicaciones potenciales que nos permitirán ser combinados con agentes bioactivos como la clorhexidina y potencializar sus propiedades.¹¹

La incorporación de nanotubos precargados con clorhexidina a los diferentes ionómeros de vidrio podría beneficiar y potencializar el efecto antibacteriano de estos materiales, lo que les permitiría actuar como una barrera química que logre impedir la

formación de caries y la recidiva de la misma; debido a que los recientes avances de la ciencia no han logrado disminuir la prevalencia desmineralización dental, ocasionando manchas blancas y/o caries dental.

VI. Hipótesis.

Hipótesis de trabajo.

Los nanotubos de haloisita precargados con clorhexidina e incorporados a ionómeros de vidrio tipo I mostrarán un mayor efecto antibacteriano.

Hipótesis Nula.

Los nanotubos de haloisita precargados con clorhexidina e incorporados a ionómeros de vidrio tipo I no mostrarán un mayor efecto antibacteriano.

VII. Objetivos.

Objetivo General.

Determinar el efecto antibacteriano nanotubos de haloisita precargados con clorhexidina a diferentes concentraciones, incorporados a ionómeros de vidrio tipo I.

Objetivos Específicos

- Incorporar nanotubos de haloisita al 5% y 10% a los ionómeros de vidrio para utilizarlo como grupo control positivo.
- Incorporar nanotubos de haloisita precargados con clorhexidina a 5% y 10% al ionómero de vidrio convencional y al ionómero de vidrio modificado con resina.
- Comparar efecto antibacteriano de los nanotubos de haloisita precargados con clorhexidina incorporados al ionómero de vidrio convencional al 5% 10%.
- Comparar efecto antibacteriano de los nanotubos de haloisita al ser incorporados al ionómero de vidrio convencional al 5% y 10%.
- Comparar efecto antibacteriano de los nanotubos de haloisita precargados con clorhexidina incorporados al ionómero de vidrio modificado con resina al 5% y 10%.
- Comparar efecto antibacteriano de los nanotubos de haloisita al ser incorporados al ionómero de vidrio modificado con resina al 5% y 10%.

VIII. Diseño Metodológico.

Tipo y diseño de estudio.

Experimental.

Universo.

Nanotubos de haloisita.

Población.

Nanotubos de haloisita con y sin clorhexidina.

Muestra.

Se utilizaron 40 bloques de KC y FO para el grupo control. En el grupo control positivo y grupo experimental se dividieron 160 bloques que fueron distribuidos equitativamente, ver figura 3.

1. El grupo control dividido en KC y FO.
2. -El grupo control positivo el cual consta de nanotubos incorporados a ambos ionómeros de vidrio al 5% y 10% se utilizaron 40 bloques (GIC+N) y 40 bloques (RMGI+N).
3. Y el grupo experimental con carga al 5% y 10% de nanotubos con clorhexidina, dividido en GIC (GIC+NCLX) y RMGI (RMGI+NCLX).

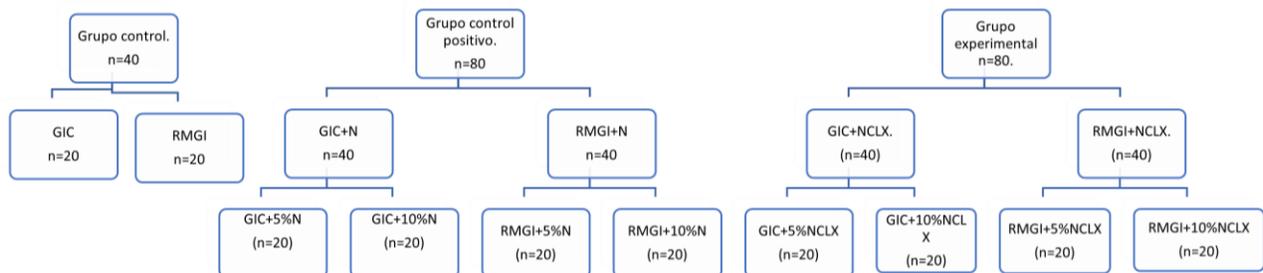


Fig. 3. Diagrama de distribución de muestras.

Fuente directa.

Operacionalización de variables.

Variable dependiente.

Variable	Definición Conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de medición.
Efecto antibacteriano de los grupos de estudio	Refiere a la capacidad de eliminar agentes bacterianos o la inhibición de su crecimiento o proliferación	Cuantificación en milímetros de la zona de inhibición bacteriana.	Cuantitativa continua.	De razón	Milímetros

Variables independientes

Variable	Definición Conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de medición
Concentración de nanotubos de halolsita precargados y sin carga de clorhexidina mezclados con el ionómero de vidrio.	Es la cantidad en que se encuentran las sustancias que se disuelven en relación a la o las sustancias que lo disuelven.	Porcentaje de nanotubos de halloysita precargados y sin carga de clorhexidina que serán incorporados al ionómero de vidrio.	Cuantitativa discreta.	De razón	5% 10%
Tipo de ionómero de vidrio	Biomaterial con un gran campo de utilización en odontología restauradora y preventiva	Dos tipos de ionómero de vidrio distintos para evaluar su efecto antibacteriano.	Cualitativa nominal.	Nominal	1. Ionómero convencional 2. Ionómero modificado con resina.
Tiempo	Período con una duración indeterminada durante el que se realiza una acción o se desarrolla un acontecimiento.	Se analizarán las cajas Petri para valorar el crecimiento de bacterias en horas.	Cuantitativa discreta	De razón	Horas 24h

Método.

Carga de nanotubos.

Se pesó un gramo de nanotubos de haloisita (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU), lo cuales fueron desecados previamente durante 12 horas para eliminar impurezas utilizando una balanza analítica y un frasco previamente esterilizado, ver figura 4.



Figura 4. Nanotubos pesados en balanza analítica.

Fuente directa.

Los nanotubos fueron inmersos en 3,560 microlitros en solución de silano al 5% (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU), llevando esta mezcla a horno de secado a una temperatura de 110 grados durante 24 horas, ver figura 5.



Figura 5. Silanización de nanotubos de haloisita.

Fuente directa.

Posteriormente los nanotubos fueron retirados del horno y se mezclaron con 10ml de clorhexidina (Ultradent, Products, INC, USA), se utilizó una parrilla de agitación durante una hora para incorporar perfectamente la mezcla, como se muestra en la figura 6.



Figura 6. Mezcla de nanotubos de haloisita con clorhexidina.

Fuente directa.

En la mezcla ya obtenida se adicionaron 10 ml de alcohol al 95% para continuar incorporando la clorhexidina a los nanotubos, utilizando una tina ultrasónica durante 1 hora, ver figura 7.

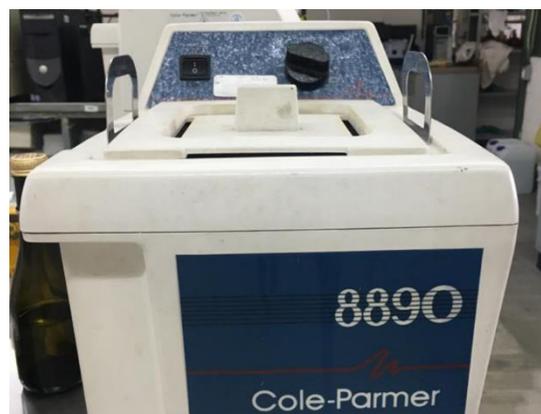


Figura 7. Tina ultrasónica para mezcla de la muestra.

Fuente directa.

Finalmente, la mezcla se sometió a desecación en un horno a 30°C durante 10 días, para la evaporación de cualquier disolvente.

Incorporación de nanotubos con y sin carga a los ionómeros de vidrio.

Se incorporó la mezcla de nanotubos de haloisita con clorhexidina, así como nanotubos puros en ambos ionómeros: Fuji Ortho (GC CORPORATION, Tokio, Japón) y Ketc Cem (3M ESPE, Minnesota, EE. UU), se pesó cada porción de ionómero de vidrio, tomando la media de cada uno y así determinar el 5% y 10% de nanotubos a incorporar respectivamente, ver figura 8. Las concentraciones de nanotubos a incorporar se muestran en la Tabla 3.



Figura 8. Determinación de la cantidad de nanotubos a incorporar a los ionómeros de vidrio.

Fuente directa.

	Fuji Ortho	Ketac Cem
Nanotubos 5%	0.0127g	0.0181g
Nanotubos 10%	0.0254g	0.0363g

Tabla 3. Concentración de nanotubos al 5% y 10 % para Fuji Ortho y Ketac Cem.

Fuente directa.

Preparación de la suspensión y estandarización del inóculo.

Las pruebas se llevaron a cabo conforme a las pautas establecidas por el M100 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) y la metodología fue validada mediante rangos de control de calidad con distintos antibióticos sobre *Streptococcus pneumoniae*; mediante el método de difusión de disco, ver figura 9 y tabla 4 en donde se presentan los resultados.



Figura 9. Siembra de *Streptococcus pneumoniae* con distintos antibióticos mediante difusión de disco.

Fuente directa.

Antibiótico	Valores determinados <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Rangos de control de calidad Método de difusión en disco.
Eritromicina	26mm	25-30 mm
Ceftriaxona	35mm	30-35 mm
Clindamicina	25mm	19-25 mm
Ampicilina	33mm	30-36 mm
Levofloxacina	21mm	20-25 mm
Linezolid	30mm	25-34 mm
Cloranfenicol	23mm	23-27 mm

Tabla 4. Halo de inhibición en milímetros de los diferentes antibióticos sobre *Streptococcus pneumoniae*.

Fuente directa.

Las cepas de *Streptococcus mutans*. (ATCC.33688), se sembraron en agar gelosa sangre de carnero al 5%, utilizando la técnica de estría cruzada, se incubaron a 37°C durante 18hr. Se revisó el crecimiento colonial verificando que no existieran contaminantes, para poder ocupar las colonias en la nueva siembra, ver figura 10.

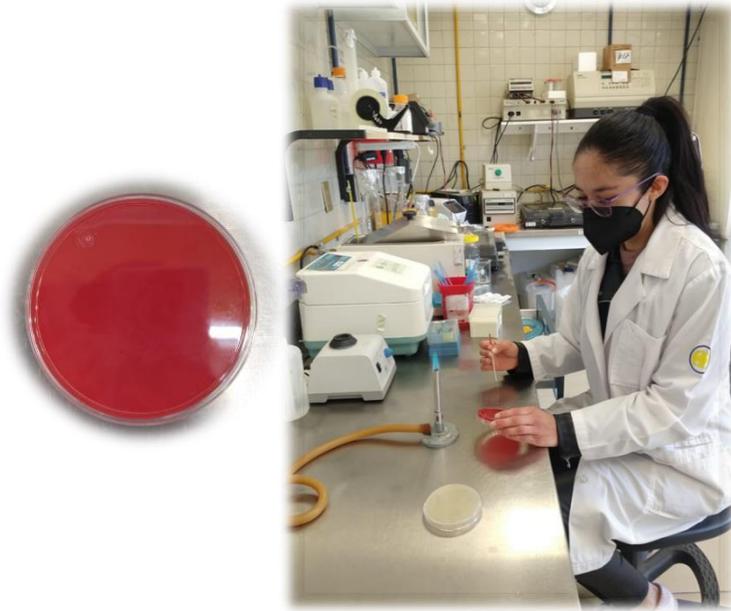


Figura 10. Siembra de *Streptococcus mutans*.

Fuente directa.

Se preparó una suspensión bacteriana con turbidez al 0.5 del nefelómetro de McFarland, que corresponde a 1.5×10^8 CFU/ml. Para ello se cosecharon 5 colonias del crecimiento bacteriano y se depositaron en tubos con solución salina, mezclando y revisando la turbidez.

Antes de que transcurrieran 15 minutos de haber ajustado el inóculo, se introdujo un hisopo de algodón estéril dentro de la suspensión bacteriana y al retirarlo se rotó varias veces contra la pared del tubo por encima del nivel del líquido con la finalidad de eliminar el exceso de inóculo.

Como se muestra en la figura 11 se inocularon las placas de Mueller-Hinton completamente, sin dejar ninguna zona libre. Esto se consiguió deslizando el hisopo

por la superficie del agar tres veces, rotando la placa unos 60° cada vez y pasándola por último por la periferia del agar para conseguir una siembra uniforme.



Figura 11. Inoculación de la placa.

Fuente directa.

Se tomaron 7 bloques de ionómero de vidrio de 3mm de diámetro y se dispensaron sobre las cajas de Petri sembradas con *S. mutans*, presionando suavemente para asegurar el contacto con el agar, mostrando la distribución en la figura 12; se incubaron durante 24 horas a 37°C en una atmósfera de anaerobiosis.



Figura 12. Disposición de los ionómeros de vidrio con y sin carga de nanotubos en las placas Mueller-Hinton.

Fuente directa.

Después de retirar la placa de la incubadora, se examinó que el crecimiento en las placas fuera uniforme, para posteriormente identificar las zonas de inhibición de crecimiento que se observaron como halos sin crecimiento bacteriano alrededor de los ionómeros. Se midieron los tamaños de los halos de inhibición con un instrumento calibrador de Vernier, dicha medición fue desde el punto en el cual exista una demarcación entre crecimiento y ausencia de éste (diámetro del halo).

Para finalizar, las zonas de inhibición se interpretaron de acuerdo con los ionómeros probados.

Caracterización de las muestras.

Las muestras fueron analizadas en un espectrofotómetro Pekin Elmer utilizando un plato de cristal de diamante/ seleniuro de zinc (ZnSe). Se realizaron 32 escaneos en cada muestra a una resolución espectral de 5 cm^{-1} en un rango de espectro infrarrojo de 4000 a 400 cm^{-1} .

Microscopia electrónica de barrido.

Los especímenes fueron montados y observados por un Microscopio Electrónico de Barrido (Hitachi SU8230) de emisión de campo frío a 1.0 keV equipado con un Bruker XFlash 6/60, figura 13.



Fig. 13. Microscopio Electrónico de Barrido Hitachi SU8230.

Fuente directa.

Aspectos bioéticos

Para la elaboración de este estudio se respetaron las disposiciones de la declaración de Helsinki, así como también en el cumplimiento del reglamento de la ley general de salud en materia de investigación para la salud, haciendo hincapié en su Título Segundo, Capítulo I, el cual estipula los siguientes artículos:

- ARTICULO 3o.- La investigación para la salud comprende el desarrollo de acciones que contribuyan:

III. A la prevención y control de los problemas de salud.

IV. Al conocimiento y evaluación de los efectos nocivos del ambiente en la salud.

Pautas de la CIOMS.

- Pauta 3: Distribución equitativa de beneficios y cargas en la selección de individuos y grupos de participantes en una investigación

Los patrocinadores, investigadores, autoridades gubernamentales, comités de ética de la investigación y otras partes interesadas deben asegurarse de que el beneficio y las cargas de la investigación se distribuyan equitativamente.

- Pauta 23: Requisitos para establecer comités de ética de la investigación y para la revisión de protocolos

Todas las propuestas para realizar investigaciones relacionadas con la salud en las que participen seres humanos deben presentarse a un comité de ética de la investigación para determinar si califican para una revisión ética y evaluar su aceptabilidad ética, a menos que califiquen para una exención a dicha revisión (que puede depender de la naturaleza de la investigación y la ley o las regulaciones pertinentes).

- Pauta 24: Rendición pública de cuentas sobre la investigación relacionada con la salud

La rendición pública de cuentas es necesaria para hacer realidad el valor social y científico de una investigación relacionada con la salud. Por consiguiente, los investigadores, patrocinadores, comités de ética de la investigación, financiadores, y directores y editores de publicaciones tienen la obligación de cumplir con la ética de la publicación establecida para la investigación y sus resultados.

Declaración de Helsinki.

- Principio 8.

En la publicación de los resultados de su investigación, el médico está obligado a preservar la exactitud de los resultados obtenidos. Los informes sobre experimentos que no estén en consonancia con los principios expuestos en esta Declaración no deben ser aceptados para su publicación.

Análisis estadístico.

Se realizó estadística descriptiva y estadística inferencial mediante las pruebas no paramétricas Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney con un nivel de significancia $p \leq 0.05$ mediante el software estadístico SPSS.

IX. Resultados y discusión.

← [Nanomaterials] Manuscript ID: nanomaterials-1753250 - Submission Received



Editorial Office <nanomaterials@mdpi.com>

Para: Usted

CC: Ana Cecilia Cruz-Mondragón; Víctor Hugo Toral-Rizo; Leticia Veronica Jiménez-Rojas **y 6 más**



Mar 17/05/2022 07:59 PM

Dear Professor Salmerón-Valdés,

Thank you very much for uploading the following manuscript to the MDPI submission system. One of our editors will be in touch with you soon.

Journal name: Nanomaterials

Manuscript ID: nanomaterials-1753250

Type of manuscript: Article

Title: Antibacterial activity and characterization of orthodontic glass ionomer cements reinforced with chlorhexidine-modified nanotubes.

Authors: Ana Cecilia Cruz-Mondragón, Víctor Hugo Toral-Rizo, Leticia Veronica Jiménez-Rojas, Rodrigo Correa-Prado, Edith Lara-Carrillo, Adriana Alejandra Morales-Valenzuela, Lia Hoz-Rodríguez, Ulises

Velásquez-Enríquez, Wael Hegazy- Hassan, Elías Nahum Salmerón-Valdés *

Received: 17 May 2022

E-mails: fodontologia@uaemex.mx, toralrizo@hotmail.com, verozenemij@gmail.com, c.d.rodrigocorreaprado@gmail.com, laracaedith@hotmail.com, alemova8@gmail.com, liahoz@comunidad.unam.mx, ulisesvelazqu@hotmail.com, hegazi_wael@yahoo.com, salmeron81@hotmail.es

Submitted to section: Biology and Medicines,

https://www.mdpi.com/journal/nanomaterials/sections/biology_medicines

X. Conclusiones.

La incorporación al 10% de nanotubos de haloisita precargados con clorhexidina a los ionómeros de vidrio, demostró ser más eficiente respecto al efecto antibacteriano sobre *S. mutans* que aquellos que solo fueron cargados al 5%, aunque este último parece ser una formulación satisfactoria, ya que demostró en el análisis FTIR un mejor acoplamiento al ionómero de vidrio, sin necesidad de saturarlo, logrando propiedades antibacterianas considerables.

En ambos casos el tener agentes cementantes con propiedades antimicrobianas mejoradas, representan un método importante para la mejora de los materiales dentales.

XI. Referencias.

1. Hescot P. El desafío de las enfermedades bucodentales. Atlas la Salud Bucodental FDI. 2015;4(1):30–1.
2. De Oliveira FJD, da Silva Filho PSF, Costa MJF, Caldas MRGR, Borges BCD, de Araújo DFG. A comprehensive review of the antibacterial activity of dimethylaminohexadecyl methacrylate (DMAHDM) and its influence on mechanical properties of resin-based dental materials. *Jpn Dent Sci Rev.* 2021;57:60–70.
3. Gil Barreda AA, García Calero OB. Actividad antibacteriana de tres ionómeros de vidrio Ion Z®, Ketac Molar Easymix® y Fuji IX GP® sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) y *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366).
4. Kalpavriksha AJ, Siddaiah SB, Bilichodmath S, Prabhakara S, Rao HHM. Comparative Evaluation of Antibacterial Effect of GIC Containing Chlorhexidine and Miswak on *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in Early Childhood Caries Children: A PCR Study. *Int J Clin Pediatr Dent.* 2021;14(2):229.
5. Sharan J, Singh S, Lale S V, Mishra M, Koul V, Kharbanda OP. Applications of nanomaterials in dental science: A review. *J Nanosci Nanotechnol.* 2017;17(4):2235–55.
6. Degrazia FW, Leitune VCB, Takimi AS, Collares FM, Sauro S. Physicochemical and bioactive properties of innovative resin-based materials containing functional halloysite-nanotubes fillers. *Dent Mater [Internet].* 2016;32(9):1133–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2016.06.012>
7. Du M, Guo B, Jia D. Newly emerging applications of halloysite nanotubes: A review. *Polym Int.* 2010;59(5):574–82.
8. Qi R, Guo R, Shen M, Cao X, Zhang L, Xu J, et al. Electrospun poly(lactic-co-glycolic acid)/halloysite nanotube composite nanofibers for drug encapsulation

- and sustained release. *J Mater Chem*. 2010;20(47):10622–9.
9. Massaro M, Lazzara G, Milioto S, Noto R, Riela S. Covalently modified halloysite clay nanotubes: synthesis, properties, biological and medical applications. *J Mater Chem B* [Internet]. 2017 [cited 2019 Jun 17];5(16):2867–82. Available from: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C7TB00316A>
 10. Lvov YM, DeVilliers MM, Fakhrullin RF. The application of halloysite tubule nanoclay in drug delivery. *Expert Opin Drug Deliv*. 2016;13(7):977–86.
 11. Liu M, Jia Z, Jia D, Zhou C. Recent advance in research on halloysite nanotubes-polymer nanocomposite. *Prog Polym Sci* [Internet]. 2014;39(8):1498–525. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2014.04.004>
 12. Feitosa SA, Palasuk J, Kamocki K, Geraldeli S, Gregory RL, Platt JA, et al. Doxycycline-encapsulated nanotube-modified dentin adhesives. *J Dent Res*. 2014;93(12):1270–6.
 13. Alkathერი MS, Palasuk J, Eckert GJ, Platt JA, Bottino MC. Halloysite nanotube incorporation into adhesive systems—effect on bond strength to human dentin. *Clin Oral Investig*. 2015;19(8):1905–12.
 14. Degrazia FW, Genari B, Leitune VCB, Arthur RA, Luxan SA, Samuel SMW, et al. Polymerisation, antibacterial and bioactivity properties of experimental orthodontic adhesives containing triclosan-loaded halloysite nanotubes. *J Dent* [Internet]. 2018;69(July):77–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2017.11.002>
 15. Stavitskaya A, Batasheva S, Vinokurov V, Fakhrullina G, Sangarov V, Lvov Y, et al. Antimicrobial Applications of Clay Nanotube-Based Composites. *Nanomaterials*. 2019;9(5):708.
 16. Bellani L, Giorgetti L, Riela S, Lazzara G, Scialabba A, Massaro M. Ecotoxicity of halloysite nanotube-supported palladium nanoparticles in *Raphanus sativus* L. *Environ Toxicol Chem*. 2016;35(10):2503–10.

17. Castro Afanador DC. Implementación de un Sistema de Evaluación, Identificación y Comunicación de los riesgos y controles asociados a las Sustancias Químicas. 2017;
18. Hsiao VKS, Waldeisen JR, Zheng Y, Lloyd PF, Bunning TJ, Huang TJ. Aminopropyltriethoxysilane (APTES)-functionalized nanoporous polymeric gratings: Fabrication and application in biosensing. *J Mater Chem.* 2007;17(46):4896–901.
19. Lvov YM, Price RR. Halloysite Nanotubules, a Novel Substrate for the Controlled Delivery of Bioactive Molecules. *Bio-inorganic Hybrid Nanomater Strateg Synth Charact Appl.* 2008;419–41.
20. Ayala G, Álvarez M, Nuñez M. Efecto de la combinación de clorhexidina y fluoruro de sodio sobre *Streptococcus mutans* en preescolares con manchas blancas. *Rev Estomatológica Hered.* 2017;26(3):132.
21. Vishnu Prasanna SG, Lakshmanan R. Characteristics, Uses and Side effects of Chlorhexidine-A Review. *IOSR J Dent Med Sci e-ISSN [Internet].* 2016;15(6):57–9. Available from: www.iosrjournals.org
22. Diomedi A, Chacón E, Delpiano L, Hervé B, Jemenao MI, Medel M, et al. Hospital Clínico de la Mutual. *Rev Chil Infectol [Internet].* 2017;34(2):19. Available from: www.sochinf.cl
23. José Maya J, Jamil Ruiz S, Pacheco R, Liliana Valderrama S, Virginia Villegas M. ASOCIACIÓN COLOMBIANA DE INFECTOLOGÍA Papel de la clorhexidina en la prevención de las infecciones asociadas a la atención en salud Role of chlorhexidine in the prevention of health care related infections. *Infectio.* 2011;15(2):98–107.
24. Hoyos JU, Pérez EP, Cobos MR, Barreto AV. Características de las soluciones de clorhexidina al 2% y al 0, 2% en preparaciones cavitarias en odontología: una revisión. *Duazary.* 2018;15(2):181–94.

25. Al ALY, Preparaciones EN, En C, Revisión OUNA, Corto T, Las CDE, et al. Cavitation Preparations in Dentistry : a Review. Duazary. 2018;15(2):181–94.
26. Opstrup MS, Jemec GBE, Garvey LH. Chlorhexidine Allergy: On the Rise and Often Overlooked. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2019;19(5):23.
27. Saleem HGM, Seers CA, Sabri AN, Reynolds EC. Dental plaque bacteria with reduced susceptibility to chlorhexidine are multidrug resistant. *BMC Microbiol.* 2016;16(1):214.
28. Cova Natera JL. Biomateriales dentales. *Colomb Amalea.* 2004;279–81.
29. Villalobos YC, Llanes MÁ, Mariño MG, Rivero YC. En busca del cemento adhesivo ideal: los ionómeros de vidrio. *Arch Médico Camagüey.* 2010;14(1).
30. Souza-Gabriel AE, Chimello-Sousa DT, Palma-Dibb RG, Pécora JD, Corona SAM. Morphologic assessment of dental surface/glass ionomer cement interface: influence of Er: YAG laser pretreatment. *RSBO Rev Sul-Brasileira Odontol.* 2012;9(4):382–7.
31. Mathis RS, Ferracane JL. Properties of a glass-ionomer/resin-composite hybrid material. *Dent Mater.* 1989;5(5):355–8.
32. Barcelo Santana FH, Palma Calero JM. *Materiales dentales: conocimientos básicos aplicados.* 2003.
33. Joubert R. *Odontología adhesiva y estética.* Madrid: Ripano. 2010;30–3.
34. Reis A, Loguercio A. *Materiales dentales directos de los fundamentos a la aplicación clínica.* Sao Paulo Santos. 2012.
35. Sánchez LAF, Ortega JPR. Ionómeros de vidrio restauradores: valoración de acuerdo a la Norma 96 de la ADA. *Rev la Asoc Dent Mex.* 2010;67(2):72–7.
36. Craig RG, Ward ML. *Materiales de odontología restauradora.* Harcourt Brace Madrid; 1998.
37. Muñoz CRD, Ortega JPR, Nagano AY. Liberación de fluoruro de dos cementos

- de ionómero de vidrio: estudio in vitro. *Rev odontológica Mex.* 2014;18(2):84–8.
38. Barata T, Bresciani E, Mattos MC, Lauris JR, Ericson D, Navarro MF. Comparación de la longevidad de restauraciones con cemento de ionómero de vidrio en dos métodos mínimamente invasivos: resultados a corto plazo de un estudio piloto. *J Minim Interv Dent.* 2009;2(1):194–204.
 39. Cosio H, Zuñiga G, Zvietcovich M. Comparación in vitro de las propiedades físico-químicas de un ionómero de vidrio convencional, un cermet y un ionómero de vidrio modificado con aleación para amalgamp. *Cienc Desarro.* 2015;18(2):13–8.
 40. Anusavice KJ. *Phillips ciencia de los materiales dentales.* Elsevier Madrid; 2004.
 41. Karimi AZ, Rezabeigi E, Drew RAL. Glass ionomer cements with enhanced mechanical and remineralizing properties containing 45S5 bioglass-ceramic particles. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2019;97:396–405.
 42. de Casalino DP, Pinedo ML. Los cementos ionómeros de vidrio y el mineral trióxido agregado como materiales biocompatibles usados en la proximidad del periodonto. *Rev estomatológica Hered.* 2006;16(1):59.
 43. Berzins DW, Abey S, Costache MC, Wilkie CA, Roberts HW. Resin-modified glass-ionomer setting reaction competition. *J Dent Res.* 2010;89(1):82–6.
 44. Hatrick CD. *Materiales dentales: Aplicaciones clínicas.* Manual Moderno; 2012.
 45. Cedillo Valencia J de J. Ionómero de Vidrio de alta densidad como base en la técnica restauradora de Sandwich. *Rev la Asoc Dent Mex.* 2011;68(1):39–47.
 46. Uysal T, Yagci A, Uysal B, Akdogan G. Are nano-composites and nano-ionomers suitable for orthodontic bracket bonding? *Eur J Orthod.* 2010;32(1):78–82.
 47. Bishara SE, Ajlouni R, Soliman MM, Oonsombats C, Laffoon JF, Warren J. Evaluation of a new nano-filled restorative material for bonding orthodontic brackets. *World J Orthod.* 2007;8(1).

48. Heravi F, Omidkhoda M, Koohestanian N, Hooshmand T, Bagheri H, Ghaffari N. Retentive Strength of Orthodontic Bands Cemented with Amorphous Calcium Phosphate-Modified Glass Ionomer Cement: An In-Vitro Study. *J Dent (Tehran)*. 2017;14(1):13.
49. Shankar P, Venkatesan R, Senthil D, Trophimus J, Arthilakshmi CU, Princy P. Microleakage patterns of glass ionomer cement at cement-band and cement-enamel interfaces in primary teeth. *Indian J Dent Res*. 2020;31(2):291.
50. Mesquita JA, Lacerda-Santos R, Sampaio GAM, Godoy GP, Nonaka CFW, Alves PM. Evaluation in vivo of biocompatibility of different resin-modified cements for bonding orthodontic bands. *An Acad Bras Cienc*. 2017;89(3):2433–43.
51. Sidhu SK, Nicholson JW. A review of glass-ionomer cements for clinical dentistry. *J Funct Biomater*. 2016;7(3):16.
52. Hyams TC, Mam K, Killingsworth MC. Scanning electron microscopy as a new tool for diagnostic pathology and cell biology. *Micron*. 2020;130:102797.
53. Nomura E, Sujino T, Hosoe N, Yoshimatsu Y, Tanemoto S, Takabayashi K, et al. Characteristics of the Mucosal Surface on Scanning Electron Microscopy in Patients with Remitting Ulcerative Colitis. *Dig Dis Sci*. 2021;66(9):3141–8.
54. Boyde A. Scanning electron microscopy of bone. In: *Bone research protocols*. Springer; 2012. p. 365–400.
55. Wiercigroch E, Szafraniec E, Czamara K, Pacia MZ, Majzner K, Kochan K, et al. Raman and infrared spectroscopy of carbohydrates: A review. *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc*. 2017;185:317–35.
56. Beć KB, Grabska J, Huck CW. Near-infrared spectroscopy in bio-applications. *Molecules*. 2020;25(12):2948.
57. Fort A, Fuks AJ, Napoli AV, Palomba S, Pazos X, Salgado P, et al. Distribución de caries dental y asociación con variables de protección social en niños de 12 años del partido de Avellaneda, provincia de Buenos Aires. *Salud Colect*.

2017;13:91–104.

58. Mejía-González AM, Rodríguez-González KG, Lomelí-Buyoli G. Resultados del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales Sivepab 2015. Ciudad México Sivepab. 2015;70.
59. Sánchez CC. Materiales restauradores con desprendimiento de fluoruro y la reincidencia de caries Parte II: Conceptos actuales. Rev ADM. 2008;65(6).
60. Londoño ME. Nanotecnología y nanomedicina: avances y promesas para la salud humana. Biomédica. 2015;35(4).
61. Ruiz Flores PA, Sepúlveda Guzmán S, González González VA. Síntesis de nanopartículas de oro empleando halloysita como soporte tubular activo. Ingenierías. 2012;15(54):21–7.
62. Jawwad Saif M, Muhammad Asif H, Naveed M. PROPERTIES AND MODIFICATION METHODS OF HALLOYSITE NANOTUBES: A STATE-OF-THE-ART REVIEW.
63. Heravi F, Bagheri H, Rangrazi A. Evaluation of Microleakage of Orthodontic Bands Cemented With CPP-ACP-Modified Glass Ionomer Cement. J Adv Oral Res. 2019;10(2):128–31.
64. Arellano HEG, Salazar JAC, Zambrano EOG. La Nanotecnología farmacéutica es una realidad. Dominio las Ciencias. 2017;3(2):526–38.
65. Teubner S, Schmidlin PR, Menghini G, Attin T, Baumgartner S. The impact of orthodontic bands on the marginal periodontium of maxillary first molars: A Retrospective cross-sectional radiographic analysis. Open Dent J. 2018;12:312.
66. Bourouni S, Dritsas K, Kloukos D, Wierichs RJ. Efficacy of resin infiltration to mask post-orthodontic or non-post-orthodontic white spot lesions or fluorosis—A systematic review and meta-analysis. Clin Oral Investig. 2021;25(8):4711–9.
67. Kamber R, Meyer-Lückel H, Kloukos D, Tennert C, Wierichs RJ. Efficacy of sealants and bonding materials during fixed orthodontic treatment to prevent

enamel demineralization: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2021;11(1):1–10.

68. Tasios T, Papageorgiou SN, Papadopoulos MA, Tsapas A, Haidich A. Prevention of orthodontic enamel demineralization: A systematic review with meta-analyses. *Orthod Craniofac Res.* 2019;22(4):225–35.
69. Greene LE, Bearn DR. Reducing white spot lesion incidence during fixed appliance therapy. *Dent Update.* 2013;40(6):487–92.
70. Prabhakar AR, Balehosur D V, Basappa N. Comparative evaluation of shear bond strength and fluoride release of conventional glass ionomer with 1% ethanolic extract of propolis incorporated glass ionomer cement–invitro study. *J Clin Diagnostic Res JCDR.* 2016;10(5):ZC88.
71. Pradiptama Y, Purwanta M, Notopuro H. Antibacterial Effects of Fluoride in *Streptococcus mutans* Growth in Vitro. *Biomol Heal Sci J.* 2019;2(1):1–3.
72. Boaro LCC, Campos LM, Varca GHC, Dos Santos TMR, Marques PA, Sugii MM, et al. Antibacterial resin-based composite containing chlorhexidine for dental applications. *Dent Mater.* 2019;35(6):909–18.
73. Haghgoo R, Mehran M, Afshari E, Zadeh HF, Ahmadvand M. Antibacterial effects of different concentrations of *Althaea officinalis* root extract versus 0.2% chlorhexidine and penicillin on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* (in vitro). *J Int Soc Prev Community Dent.* 2017;7(4):180.
74. Takahashi Y, Imazato S, Kaneshiro A V, Ebisu S, Frencken JE, Tay FR. Antibacterial effects and physical properties of glass-ionomer cements containing chlorhexidine for the ART approach. *Dent Mater.* 2006;22(7):647–52.



B



**La Sociedad Nacional de Investigadores en Odontología A.C
y la Universidad Autónoma de Yucatán**

A través de la
Facultad de Odontología

OTORGA EL PRESENTE

RECONOCIMIENTO

A: E. en Ort. **Ana Cecilia Cruz Mondragón** Dr. en P.M.B. Víctor Hugo Toral Rizo, Dr.
en C.S. Elías Nahúm Salmerón Valdés.

Por su participación con el trabajo de investigación

EFFECTO ANTIBACTERIANO DE NANOTUBOS A BASE DE HALLOISITA PRECARGADOS CON CLORHEXIDINA SOBRE
STREPTOCOCCUS MUTANS INCORPORADOS A UN IONÓMERO DE VIDRIO CONVENCIONAL

Durante el marco del **XXIX Encuentro Nacional y XX Iberoamericano de
Investigación en Odontología.**

Celebrado los días 17, 18, y 19 de noviembre del 2021.

Dr. Fernando Javier Aguilar Ayala
Director de la Facultad de Odontología de
la Universidad Autónoma de Yucatán

Dr. Amaury de Jesús Pozos Guillen
Presidente de la Sociedad Mexicana de
Investigadores en Odontología



La Sociedad Nacional de Investigadores en
Odontología A.C. y la Universidad Autónoma
del Estado de México

A través de la
Facultad de Odontología

OTORGA EL PRESENTE

RECONOCIMIENTO A

Ana Cecilia Cruz Mondragón, Víctor Hugo Toral Rizo, Elías Nahúm
Salmerón Valdés.

por su **presentación oral** del tema:

ANÁLISIS ESTRUCTURAL DE NANOTUBOS A BASE DE HALLOYSITA
PRECARGADOS CON CLORHEXIDINA.

Durante el marco del XXVIII Encuentro Nacional y XIX
Iberoamericano de Investigación en Odontología.

Celebrado los días 18, 19 y 20 de noviembre de 2020.



DRA. EN C.S. EDITH LARA CARRILLO
DIRECTORA DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



CDR. AMAURY DE JESÚS POZOS GUILLEN
PRESIDENTE DE SNIO