



Universidad Autónoma del Estado de México

Facultad de Enfermería y Obstetricia

Doctorado en Ciencias de la Salud

**OBTENCIÓN DE UN BIONANOCOMPOSITO CON
NANOPARTICULAS BIOGÉNICAS DE PLATA, PARA SER
UTILIZADO COMO HILO DE SUTURA**

TESIS

Para Obtener el Grado de:
Doctora en Ciencias de la Salud

Presenta:

M. en C.O. Saraí Carmina Guadarrama Reyes

Comité Tutorial:

Dr. en O. Rogelio José Scougall Vilchis
Tutor Académico

Dr. en C.M. Raúl Alberto Morales Luckie
Tutor Interno

Dr. en Q. Víctor Sánchez Mendieta
Tutor Externo



Toluca, Estado de México, Abril de 2018

VOTOS APROBATORIOS



Universidad Autónoma del Estado de México

Facultad de Enfermería y Obstetricia

Doctorado en Ciencias de la Salud

Fecha: 02 de Abril de 2018

DICTAMEN DE VOTOS APROBATORIOS TESIS

Los docentes que integran el **COMITÉ DE TUTORES** de la maestro (a): Sarai Carmina Guadarrama Reyes, egresada del programa del Doctorado en Ciencias de la Salud de la generación 2013- 2016, quien realizó el trabajo de tesis titulado: "OBTENCIÓN DE UN BIONANOCOMPOSITO CON NANOPARTICULAS BIOGÉNICAS DE PLATA, PARA SER UTILIZADO COMO HILO DE SUTURA", bajo la Tutoría Académica del Dr. en O. Rogelio J. Scougall Vilchis, ha sido dirigido, revisado y discutido, por lo que se ha considerado **DICTAMINARLO COMO APROBADO**, ya que reúne los requisitos que exige el Artículo 75 del Reglamento de Estudios Avanzados de la Universidad Autónoma del Estado de México.

ATENTAMENTE
PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO

"2018, Año del 190 Aniversario de la Universidad Autónoma del Estado de México"

Dr. Rogelio J. Scougall Vilchis
Tutor Académico

Dr. en C.M. Raúl Alberto Morales
Luckie
Tutor Interno

Dr. en Q. Víctor Sánchez Mendieta
Tutor Externo

Paseo Tolloca s/n esq. Jesús Carranza
col. Moderna de la Cruz. C.P. 50180
Toluca, Estado de México
Tel. (722) 2706270 / 2702357
feyo@uacemex.mx



ÍNDICE

	Pág.
Introducción	5
1. Antecedentes	6
2. Planteamiento del problema	29
3. Justificación	30
4. Hipótesis	31
5. Objetivos: General y específicos	32
6. Diseño metodológico	34
6.1 Diseño del estudio	34
6.2 Universo y Muestra	34
6.3 Procedimientos	34
6.4 Criterios de inclusión	40
6.5 Criterios de exclusión	40
6.6 Variables de estudio	41
6.7. Instrumentos	42
6.8 Recolección de datos	42
6.9 Análisis de datos	42
6.10 Aspecto ético	42
7. Resultados	44
7.1 Artículo y/o capítulo de libro aceptado	44
7.1.1 Título del artículo y/o capítulo de libro aceptado	44
7.1.2 Página frontal (portada) de la publicación del artículo o capítulo de libro	44
7.1.3 Carta de aceptación	45
7.1.4 Resumen	45
7.1.5 Apartados del artículo	46
Introducción	46
Metodología	47
Resultados	48

Discusión de resultados	52
Conclusiones	53
Referencias	54
7.2 Artículo y/o capítulo de libro enviado	57
7.2.1 Título del artículo y/o capítulo de libro enviado	57
7.2.2 Carta de envío y/o recepción del artículo	57
7.2.3 Resumen	58
7.2.4 Apartados del artículo	59
Introducción	59
Métodos	60
Resultados	61
Discusión	65
Conclusiones	66
Referencias	66
8. Resultados adicionales en su caso	70
9. Discusión general	86
10. Conclusiones generales	91
11. Perspectivas del tema	93
12. Bibliohemerografía utilizada	95
13. Anexos	106

Introducción

La ocurrencia de infecciones por la utilización de hilos de sutura a base de fibras naturales, representa en la actualidad, un riesgo evidente a la salud humana, especialmente los hilos de sutura multifilamento, en donde se ha encontrado una acumulación importante de comunidades bacterianas.

Además de cuidar los procedimientos durante el acto quirúrgico, y la elección del material adecuado, es importante contar con sustancias o productos que posean un efecto antiséptico, que disminuya el riesgo a contaminación post quirúrgica.

Uno de los requisitos más importantes que un material de sutura debe reunir, es el hecho de poseer propiedades físicas, mecánicas, de manejo, biocompatibilidad y efecto antibacteriano.

La nanotecnología representa una alternativa para la creación de materiales avanzados que coadyuven a la práctica quirúrgica bucomaxilofacial.

El presente trabajo propone la creación de un bionanocomposito que posea un efecto inhibitorio sobre microorganismos patógenos y que sea producido bajo condiciones eco-amigables para aminorar el daño ocasionado a la salud y el impacto ambiental.

1. Antecedentes

CAPÍTULO I. GENERALIDADES DE LOS MATERIALES DE SUTURA

Antecedentes históricos de la cirugía oral

Desde la antigüedad, el ser humano ha procurado por todos los medios la conservación de la salud, lo que lo ha llevado a la búsqueda de alternativas para mantener su salud oral en un estado óptimo. Un ejemplo claro de esta búsqueda, ha sido la especialización de métodos diagnósticos y técnicas de rehabilitación en distintas áreas, como la cirugía bucal y maxilofacial.

Los inicios del arte dental fueron sin duda los mismos que los de la medicina en general, ya que es evidente que en los tiempos primitivos, cuando el arte de curar estaba todavía en su etapa rudimentaria, pudieran no haber existido divisiones entre ellas.

Es necesario volver la mirada hacia los inicios de la práctica quirúrgica estomatológica, que es hoy considerada como una ciencia, y que comenzó en tiempos antiguos como un arte, mediante el simple intento de reparar lo que se encontraba dañado y que poco a poco ha ido relacionando diferentes elementos histórico-culturales, característicos de cada período de la historia, hasta ser considerada hoy como una parte importante de la Ciencia Odontológica y de la Medicina en general.

PREHISTORIA

Los registros históricos se remontan hacia las primeras culturas, (período prehistórico), en donde gracias a investigaciones realizadas sobre maxilares del período neolítico, se tiene registro de la avulsión dentaria, como el primer acto quirúrgico practicado en la cavidad bucal.^{1,2}

En Egipto, en los papiros como el de Ebers que data del 3700 a 1500 aC, aparecen referencias específicas acerca de distintas enfermedades de origen dental, así como tumores que eran tratados mediante el cuchillo, se menciona la aplicación del cauterio enrojecido al fuego para detener hemorragias, así como operaciones rudimentarias de catarata.¹

Fuera del área mediterránea la cirugía tuvo gran desarrollo con los Hindúes y los Árabes. Alrededor del año 600 aC, el médico Hindú Sushirata realizó tratamientos para la luxación mandibular.³

El médico árabe Albukasim 936 aC, fue uno de los primeros personajes en desarrollar métodos para examinar algunas cavidades del cuerpo.⁴

Una de las civilizaciones más antiguas y con grandes aportes a las ciencias médicas, es la civilización China, ellos utilizaban agujas de oro y plata para afrontar bordes de heridas.³

La medicina como ciencia, cuyo representante más antiguo es Hipócrates (460-377 aC), fue precedida por la cooperación, por muchos siglos, de la medicina sacerdotal y por la medicina popular.⁵

Los historiadores han encontrado escrituras acerca del tratamiento de heridas e infecciones, y han considerado a Hipócrates como el padre de la medicina, él escribió en el *Corpus hippocraticum* acerca del tratamiento de las fracturas e infecciones, también de las reimplantaciones dentarias mediante ligaduras. Indicó la importancia de mantener las heridas limpias con cambios frecuentes de vendajes.^{3,6}

Con la expansión del Imperio Romano, se encuentran los más valiosos tratados de medicina que establecieron los principios de la cirugía como ciencia. Cornelio Celso en el siglo I, en su tratado “*de arte medica*” hace amplias referencias a la cirugía bucal y la anatomía.

EDAD MEDIA

Tras la caída del Imperio Romano y con llegada de la Revolución Inglesa, la cirugía fue ejercida en un principio por los religiosos, hasta el siglo XII cuando se les prohibió y fue cultivada por las escuelas de Medicina, como la de Salerno en Italia (1210-127) y la de Córdoba en España.^{1,7,8}

A finales de la época se inicia un período de decadencia, las prácticas quirúrgicas, que eran propias de hombres cultos, pasaron a manos de empíricos con habilidad técnica y poco o nulo conocimiento teórico, de allí que los barberos empezaran a practicar las actividades propias de la Odontología.^{3,9}

EDAD MODERNA

Comprende desde 1640 a 1871, en este período el conocimiento y la experiencia acumulada sobre la teoría y la práctica estomatológica comienza a divulgarse en diversas publicaciones.^{1,3,5}

De acuerdo a algunos historiadores, la cirugía moderna nace en la primera mitad del siglo XIX. Simón Hullihen (1860), fue un médico-dentista de Estados Unidos, quien fue considerado históricamente como el fundador de la cirugía bucal y maxilofacial.¹

ACTUALIDAD

Hoy en día, la ciencia odontológica se ha ido especializando gracias a un conocimiento cada vez más preciso de la biología y a la incorporación de la ingeniería y los biomateriales. Prueba de esto, es la variedad de materiales tanto naturales como sintéticos, que coadyuvan al cirujano a brindar alternativas a los pacientes, que en la época de los pioneros de la medicina, no existían.

Antecedentes de los materiales de sutura

Resulta pertinente mencionar que en Egipto aparecen algunos de los primeros antecedentes acerca de los diversos materiales empleados en procedimientos quirúrgicos.¹⁰ En aquella época se hablaba de la importancia de preservar las heridas mediante la aproximación de sus bordes, debido a esto, en el papiro de Edwin Smith, año 1550 aC, las heridas de cara eran tratadas con grasa, miel y carne fresca. Tuvieron que transcurrir 650 años para que se comenzara a utilizar diferentes materiales para el cierre de heridas; en el 900 aC, en Arabia comienza a utilizarse el “Kitgut” para cerrar heridas de cavidad abdominal. Se cree que el vocablo “Kit” hace referencia a las cuerdas de violín fabricadas a partir de intestino vacuno. Es posible que de aquí derive la palabra “catgut” como deformación del lenguaje.^{11, 12}

Hacia el año 600 aC el célebre médico Hindú Sushruta, recomendó el uso de algodón, bandas de cuero, tendones de animales, fibras de corteza de los árboles y la crin de caballo.¹³ Se hacían coincidir los bordes de una herida y se colocaban hormigas negras para que mordieran la herida, y después se les seccionaba el cuerpo para que la cabeza permaneciera como una grapa.¹¹

Italia tuvo importantes contribuidores en el área de los materiales de sutura; Galeno (131-201) se refiere por primera vez al “Catgut”, por considerarlo poco putrescible. En el siglo VII se usó cabello humano y en el XVII el alambre de oro y el lino tratado con goma tractano. En 1840 en Padua se comenzó a usar el catgut, y se le consideraba fuerte y homogéneo.^{13, 14}

En la edad media (476-1453) se utilizaron suturas de seda, sin embargo, la tradición quirúrgica más importante de ese tiempo fue el de la Escuela de Salerno (siglo XII-XIII), y uno de sus representantes Rogerio de Salerno, escribió el libro “*Práctica Chirúrgica*”, en donde menciona: “...si la herida está localizada en la cara, en la nariz, en los labios o en otra parte del cuerpo, y ha de ser cosida, primero hemos de acercar las dos partes lo más delicadamente que podamos; solemos coser la misma superficie de la piel, hasta donde pueda resistir, con una aguja delgada e hilo de seda...”¹¹

El también Italiano, Hugo Borgognani, recomendó no sólo el cuidado en la elección del material de sutura, sino una desinfección de la herida, mediante la colocación de vino. En tomos posteriores de los libros “Chirurgia”, se hace referencia a la necesidad de colocar cera sobre el hilo retorcido, para no cortar la carne.¹¹

En este periodo la seda, el algodón y el catgut eran ampliamente utilizados, este último experimentó algunos cambios, pues Lister en 1860 obtuvo por primera vez para uso quirúrgico, lo que se llamó catgut carbólico de Lister y recomienda más tarde, en 1869; agregarle sales de cromo, y tras 12 años de estudios, finalmente logró una desinfección parcial. En 1906, Kuhn logró realmente la esterilización con iodo y se une a Braun en la industrialización del producto.^{11,14} Sin embargo, gracias a la recomendación de William Halstead (Baltimore 1900) la seda era el material de sutura más comúnmente utilizado, él recomendaba el cierre con seda a la par de una homeostásis exhaustiva.¹¹

En 1931, durante la primera guerra mundial, en Alemania se obtiene la primera sutura sintética reabsorbible; las poliamidas en 1939, los poliésteres en 1950 y el ácido poliglicólico y polipropileno en 1970.^{11, 13-17}

Los materiales de sutura de origen sintético han ido desplazando hoy día a las suturas naturales tan conocidas como el catgut, la seda y el algodón. Gran parte de los cirujanos prefieren materiales sintéticos, sean reabsorbibles o no, pues en ocasiones los consideran con mayores ventajas. Debido a este hecho, se vuelve imprescindible lograr un conocimiento amplio sobre las características y propiedades físicas de cada material de sutura.

Materiales empleados en el acto quirúrgico

Actualmente se emplean una variedad de instrumentos y materiales, durante el acto quirúrgico, estos tienen diversos propósitos; algunos son empleados para la apertura de los tejidos, mientras que otros son utilizados para el cierre de los mismos. Los hilos de sutura son materiales utilizados para la aproximación de los tejidos y se les conoce como biomateriales textiles, naturales o sintéticos, ampliamente empleados para el cierre de las heridas

quirúrgicas, son también comúnmente utilizados para ligar vasos o aproximar los tejidos. ¹⁸⁻²²

Básicamente, las suturas son estructuras fibrosas, las cuales cuentan con una aguja metálica unida a un extremo de la fibra. ¹⁸

En la actualidad, se encuentran a disposición del cirujano, diversas alternativas para el cierre de heridas, como lo son los pegamentos, las grapas, adhesivos y fibrina. ^{9, 23-25}

Clasificación de los hilos de sutura

Existen diversas clasificaciones para los hilos de sutura, sin embargo, es posible agruparlas de la siguiente manera:

a) Según su origen:

1.- Natural y 2.- Sintético

1. Natural

Origen animal: catgut, colágeno y seda. Crin de Florencia, tendón de canguro, fascia lata, membrana no adhesiva.

Origen vegetal: lino, algodón, henequén.

Origen mineral: acero, plata, oro, titanio y tantalio.

2.- Sintético

Poliamidas, poliéster, ácido poliglicólico, poliglactin 910, polidioxanona, polipropileno, polietileno, polibutester, poliglecaprona 25, lactómero copolimero, poliéter poliuretánico, polivinil denfluoruro (PVDF), poliglicolido-co-e-caprolactona.

b) Según su capacidad de lesionar los tejidos:

1.- Traumática y 2.- Atraumática

1. Traumática: sin aguja o con aquellas que tienen agujas no cortantes, cilíndricas y de punta roma (sin filo).

2. Atraumática: sin aguja.

c) Según su permanencia en los tejidos:

1.- Reabsorbibles y 2.- No reabsorbibles

1. Reabsorbibles: catgut, colágenos, ácido poliglicólico, poliglactin 910, polidioxanona, poliglecaprona 25, lactómero copolímero, poliglicolido-caprolactona
2. No reabsorbibles: algodón, crin de Florencia, lino, henequén, acero y otras metálicas, seda, poliamida, poliéster, poliéter, poliuretánico, polipropileno, polietileno, polibuterter, polivinildenfluoruro.

d) Según su acabado industrial:

1.- Monofilamento, 2.- Multifilamento y 3.- Trenzado

1. Monofilamento: polidioxanona, poliéster, polivinildenfluoruro, poliéter poliuretánico, polipropileno, poliamida, metálicas (acero-titanio), seda, ácido poliglicólico, poliglecaprona 25, poliglactin 910, polibutester, lactomer copolímero, poli glicólicoecaprolactona.

2. Multifilamento: torcidos, catgut, colágeno, lino, algodón, seda, acero, poliamida.

3. Trenzado: seda, lino, algodón, poliéster, poliamida, ácido poiglicólico, tantalio, poliglactin 910.^{1, 13, 14, 18, 26-32}

Características de un hilo de sutura

Uno de los requisitos más importantes que un material de sutura debe reunir, es el hecho de poseer propiedades físicas, mecánicas, de manejo, biocompatibilidad y efecto antibacteriano. La elección del tipo de material es determinante en el proceso de cicatrización.³³⁻³⁵

Las propiedades físicas de un hilo de sutura son aquellas que pueden ser medidas y evaluadas. La farmacopea de Estados Unidos (*United States Pharmacopeia- USP*) es el ente oficial que proporciona las definiciones y descripciones de las propiedades físicas de los materiales de sutura.¹⁸

Sin embargo, debido a que no existe todavía la sutura ideal para todos los propósitos, el cirujano debe seleccionar una sutura que sea tan cercana a la ideal como sea posible. Algunas

de las principales características deseables en un material de hilo de sutura, se muestran a continuación:

1. Calibre
2. Fuerza tensil
3. Capilaridad
4. Memoria
5. Propiedades de absorción
6. Extensibilidad
7. Reacción tisular
8. Número de hebras

Tabla 1. Muestra las propiedades de una sutura ideal. ^{13, 14, 18, 29-32}

Propiedades de un hilo de sutura ideal

La selección del material de sutura dependerá de una variedad de factores. El aspecto final de una cicatriz depende de varios aspectos como el empleo de una técnica atraumática, la situación de la cicatriz en la misma dirección de los pliegues cutáneos, la edad del paciente y la existencia de infección o alteraciones de la biología cutánea. ³⁰

Algunos autores, como Raspall indican que la elección del hilo de sutura ideal debe responder a ciertos aspectos, entre los que se pueden destacar los siguientes: naturaleza del tejido, la ubicación, el acceso y las características de la herida; la evolución postoperatoria esperada y los objetivos estéticos principalmente. ³⁶

Después de hacer una revisión a algunos de los aspectos que influyen en la correcta cicatrización, se describen las propiedades que un hilo de sutura debe reunir, para ser considerado como ideal, y se pueden agrupar de la siguiente forma (si se pudiera crear un material ideal de sutura debería ser):

- Adecuado para todos los propósitos, compuesto de material que pueda utilizarse en cualquier procedimiento quirúrgico (las variables serían el calibre y la fuerza de tensión).
- Estéril.
- No electrolítico, no capilar, no alergénico y no carcinogénico.
- No ferromagnético, como es el caso de las suturas de acero inoxidable.
- Fácil de manejar.
- Con mínima reacción tisular y sin propensión al crecimiento bacteriano.
- Capaz de resistir cuando se anuda sin deshilacharse o cortarse.
- Resistente al encogimiento de los tejidos.
- Absorbible y con mínima reacción tisular después de cumplir su propósito.¹³

Fisiología y patología del acto quirúrgico

El procedimiento de suturar, también conocido como síntesis o sinéresis,²⁶ representa según Raspall el paso final de la técnica operatoria.³⁶ La síntesis tiene como propósito el cierre de la herida o solución de continuidad de los tejidos blandos, a través de hilos quirúrgicos. Busca mantener unidos los bordes hasta que se complete el proceso de cicatrización.^{30, 37}

Un objetivo fundamental de la cirugía bucal es conseguir que la reparación de la herida se produzca de una manera efectiva y acompañada del menor número de complicaciones. En este sentido, una técnica quirúrgica depurada y un correcto tratamiento de la herida son factores determinantes, se dice que uno de los aspectos que permite calificar la labor del cirujano es el estado final de la herida operatoria.³⁷

Es pertinente tener presente algunos elementos que están implicados en la sutura de los tejidos bucales y que la hacen única si se compara con otras regiones del cuerpo humano, es importante tener en cuenta que se realiza en un área con limitaciones de espacio y visibilidad, por lo que requiere de una técnica refinada y de gran destreza por parte del cirujano.^{23, 26}

Entre los objetivos del cierre quirúrgico, se pueden señalar: la coaptación, la hemostasia y la cicatrización de los tejidos.^{1, 23, 38}

Complicaciones derivadas de actos quirúrgicos

En la cavidad bucal, a diferencia de la piel, el aspecto funcional es más importante que el resultado estético, por lo tanto el objetivo principal de la sutura es lograr una reparación correcta y sin alteraciones en el tejido. Sin embargo, las suturas son agentes extraños al organismo y provocan reacciones tisulares. La inflamación es la respuesta del organismo ante la agresión de cualquier agente externo.²⁶

La secuencia normal de la reacción tisular de un material de sutura consta de tres etapas: en los primeros cuatro días se produce infiltración celular compuesta de linfocitos, monocitos y leucocitos polimorfonucleares. Durante la segunda etapa, desde el cuarto día hasta el séptimo, aparecen macrófagos y fibroblastos. Después del séptimo día se observa una inflamación crónica del tejido fibroso.²⁹

Uno de los pilares de la cirugía se basa en realizar un procedimiento quirúrgico en un campo lo más aséptico posible, por lo que es imprescindible poner en práctica todos los medios para alcanzarlo, al respecto, el uso de sustancias antisépticas resulta efectivo para disminuir la carga bacteriana; además el instrumental debe estar esterilizado y los equipos quirúrgicos en óptimo funcionamiento. Estos aspectos reducen el peligro de una infección posterior a la herida. El afrontar los bordes de la herida de una manera correcta, también es un medio para disminuir posibles complicaciones. Se sabe que al no realizar un cierre efectivo, se crean espacios muertos que favorecen la acumulación de hematomas, lo que puede producir una infección futura, al ser un sustrato óptimo para la proliferación bacteriana.⁹

Con las suturas no absorbibles, la reacción de inflamación es mínima, mientras que con las absorbibles es mucho más marcada, pudiendo persistir a pesar de que la sutura haya sido absorbida o expulsada. Las suturas pueden favorecer también la formación de infección en la herida, en caso de que se produzca una contaminación bacteriana. Los materiales de tipo multifilamento, incrementan el riesgo de infección, ya que las bacterias se introducen en los intersticios de la sutura.²⁹

En la cavidad oral, las suturas se colocan dentro de tejidos de alta vascularización, en un ambiente rico en bacterias y humedad. Al realizar procedimientos quirúrgicos con suturas naturales, como catgut o hilos de multifilamentos, como la seda, el riesgo de infección puede aumentar porque las bacterias se alojan en los intersticios.³⁹ Por lo tanto, la elección del tipo de material para el cierre de heridas quirúrgicas es primordial. Catgut, una sutura hecha de la capa submucosa de los intestinos de los animales, ha sido prohibida en Europa y Japón, debido a problemas de salud.^{40, 41} La seda es una fibra de proteína natural creada por el gusano de seda *Bombyx mori*. Es bien conocida por su absorción de agua, que puede favorecer el crecimiento bacteriano.⁴² Aunque ambos tipos de suturas tienen propiedades de uso adecuadas, como biocompatibilidad, flexibilidad y resistencia, y están diseñadas para satisfacer diferentes necesidades, hoy en día, más cirujanos optan por el uso de materiales de sutura sintéticos.⁴³

Otras de las complicaciones en el cierre de heridas son las cicatrices amplias, la dehiscencia, necrosis, el seroma o el hematoma. Como se mencionó con anterioridad, es importante que los tejidos sean manejados con suavidad, minimizando la exposición al aire para evitar la deshidratación y el trauma, evitar la tensión excesiva que puede conducir a la necrosis. Es importante controlar la hemorragia o la acumulación de líquidos orgánicos que sirvan de medio de cultivo. Las células necróticas también pueden servir de medio de cultivo a los gérmenes. El simple efecto de compresión de una pinza de disección, traumatiza, tanto las células como los vasos sanguíneos, dando como resultado, la pérdida de materia protoplasmática, sangre y linfa en los espacios intersticiales. Las células destruidas forman el lecho sobre el cual se multiplicarán los microorganismos para desencadenar una sepsis.¹⁰

Debido a lo anterior, es imperativo poseer un conocimiento preciso de los materiales de sutura, así como de las técnicas quirúrgicas pertinentes, sin dejar a un lado la práctica cuidadosa de las medidas higiénicas que pudieran ser clave para evitar el desarrollo de infecciones que obstaculicen la correcta reparación de los tejidos intervenidos. Aunado a esto, el cirujano bucal y en especial el maxilofacial deben estar ampliamente familiarizados con las bacterias que habitan, no solo en la boca, si no con aquellas presentes en la piel, pues pueden afectar gravemente el proceso de reparación y cicatrización si se presentara una infección. Por ello es

importante describir en el siguiente capítulo a algunos de los agentes patógenos involucrados en este proceso.

Capítulo II. MICROBIOLOGÍA

Principales microorganismos que intervienen en el proceso infeccioso

Se sabe que la cavidad oral se encuentra colonizada por una diversa comunidad de bacterias. La mayoría de las bacterias existentes en la boca, se presentan como agregados complejos, conocidos como *biofilm*, biopelícula o película dental, que se encuentra adherida sobre la superficie de los dientes.⁴⁴

La biopelícula se define como la población o comunidad de bacterias, que viven en estructuras organizadas, en una interfase entre el líquido y el sólido. Las bacterias del *biofilm* viven en microcolonias encapsuladas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares.⁴⁵

Los estudios de Loesche y Von Houte en los años 80, permitieron comprender que existe un grupo de bacterias formadoras de placa, responsables de la instalación de la caries y de los procesos infecciosos; desde entonces se ha relacionado al grupo *Streptococci* no sólo como una amenaza odontológica,⁴⁶ sino como los principales colonizadores de la cavidad bucal. El grupo *Streptococci* es el primero en colonizar la superficie de la cavidad oral y puede consistir en el 70% de las bacterias cultivables de la placa.^{44, 47-53}

Es importante conocer, además de los agentes relacionados con el inicio de la caries, a aquellos que de manera secundaria contribuyen a la proliferación de infecciones en la boca y en la piel. Un importante patógeno que con el tiempo ha ganado mayor resistencia contra los antibióticos, también es un coco, pero forma parte de la familia *Staphylococci*.

Staphylococcus aureus

La sepsis ocasionada por *Staphylococcus aureus*, es ampliamente reconocida por la comunidad médica en general como un problema relacionado con la salud. La aparición de cepas resistentes a antibióticos ha añadido preocupación significativa a nivel hospitalario, debido a la aparición de infecciones. Existe una amplia variedad de manifestaciones de infecciones invasivas graves causadas por *S. aureus*, factor relevante en los procesos postquirúrgicos.^{54, 55}

Fenotipo y genotipo

Staphylococcus aureus forma parte de los cocos Gram positivos de 1µm, se presenta dispuesto en racimos aunque también se le puede evidenciar en cadenas cortas o diplococos. Es inmóvil y no forma esporas. Es anaerobio facultativo y crece en agar sangre a 37°C. Es blanco o en ocasiones dorado. Se identifica con las pruebas de la coagulasa, manitol y termonucleasa, para las cuales es positivo. Algunas pruebas se basan en su susceptibilidad a algunos virus bacteriófagos específicos. Es reconocido por su gran capacidad para producir productos extracelulares. Es uno de los microorganismos más resistentes, incluso pese a no formar esporas. Puede mantenerse viable por 6 a 14 semanas en pus y se necesitan 15 minutos de exposición a alcohol de 70° para su eliminación. La tintura de yodo es mucho más activa y requiere sólo 1 minuto.⁵⁶

Localización

Por lo general coloniza la mucosa nasal en los seres humanos. Forma parte de la flora normal de muchos sitios del organismo como piel, nasofaringe y tracto gastrointestinal, causando diversas manifestaciones clínicas.⁵⁷

Transmisión

S. aureus, microorganismo del reino protista, ampliamente distribuido en el ambiente, coloniza al hombre y animales. Estas bacterias patógenas causan una variedad de enfermedades adquiridas en los hospitales, incluyendo abscesos de piel, intoxicación alimentaria, neumonía, sepsis, y síndrome de choque tóxico. Entre un 20% y un 40% de los adultos sanos, son portadores asintomáticos. La adquisición puede ser exógena o endógena. La transmisión exógena puede llevarse a cabo a través de cualquier tejido traumatizado como heridas o quemaduras.^{57, 58}

Virulencia

La resistencia de *S. aureus* a la meticilina, implica que existe un sitio diana alterado debido a una proteína de unión a la penicilina, adquirida (PBP 2a) con una disminución en la afinidad a β -lactámicos.⁵⁹ Estudios recientes proponen que esto es debido al gen “mecA” que codifica esta proteína y se encuentra en un cromosoma móvil, confiriéndole resistencia para la mayoría de los antibióticos β -lactámicos.^{59, 60}

Los factores de virulencia que presenta *S. aureus*, pueden ser productos extracelulares o propios de la célula bacteriana.

Escherichia coli

En 1885 Theodore Escherich, un pediatra alemán, describió por primera vez una bacteria encontrada en las heces de neonatos y niños sanos, la cual denominó *Bacterium coli commune*. Posteriormente, en 1919 Castellani y Chalmers la denominaron *Escherichia coli* en su homenaje y desde entonces ha sido uno de los seres vivos más estudiados, de hecho gran parte de los conocimientos sobre la biología celular fueron adquiridos en estudios con este microorganismo.⁶¹

Fenotipo y genotipo

Según el Manual Bergey de bacteriología sistemática son bacterias Gram negativas cilíndricas con 1,1 – 1,5µm de diámetro por 2,0 – 6,0µm de largo que se disponen aisladas o en parejas. Conforme a la definición general de la familia *Enterobacteriaceae* a la que pertenecen, son bacterias quimioheterótrofas facultativas teniendo los metabolismos fermentativo y respiratorio, no forman esporas, están desprovistas de oxidasa, producen catalasa y β-galactosidasa, pueden ser móviles por flagelos peritricos, o inmóviles y normalmente reducen nitrato a nitrito.⁶²

Localización

E. coli es la especie predominante de la microbiota aerobia y facultativa del tracto gastrointestinal de los animales de sangre caliente y se elimina por las heces al exterior. A pesar de ser el microorganismo facultativo predominante representa una muy pequeña proporción del contenido total de bacterias en este sitio anatómico.^{62, 63}

Transmisión

Por lo general las cepas de *E. coli* patógenas utilizan múltiples mecanismos de manera similar a las otras bacterias que infectan mucosas, con las etapas de adhesión y colonización de la mucosa, evasión de los mecanismos de defensa, multiplicación y daño tisular.⁶³

El tipo de interacción resultante entre microorganismo y hospedero, permite clasificar las cepas de *E. coli* como comensales virulentos, como patógenos oportunistas o altamente especializados, que, de acuerdo con el tipo de enfermedad que causan y por el conjunto de factores de virulencia, difieren por su capacidad patogénica.⁶³

Virulencia

E. coli es una especie bacteriana de considerable importancia científica, económica y médica. Están incluidas en esta especie cepas no patógenas y otras que son capaces de causar enfermedades entéricas y diversos tipos de infecciones extraintestinales en humanos y animales. ^{63, 64}

La mayoría de las cepas intestinales de *E. coli* no son patógenas y coexisten en armonía con el hospedador, algunas incluso lo benefician sintetizando cofactores y hasta lo protegen de la invasión por microorganismos patógenos. ⁶⁴

Una vez que se reconocen las principales características de los microorganismos, es importante considerar a las nuevas tendencias tecnológicas, de las que dispone la ciencia médica, para combatir a estos agentes patógenos de una manera efectiva e innovadora.

Capítulo III. GENERALIDADES DE LA NANOTECNOLOGÍA

Antecedentes de la nanotecnología

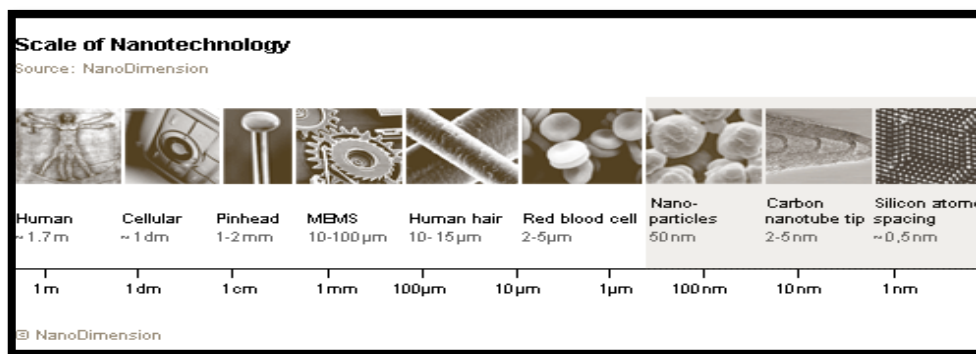
En 1959, en reunión de la Sociedad Americana de Física, Richard Feynman dictó la conferencia “There’s Plenty of Room at the Bottom”, en la cual especulaba acerca de la posibilidad de materiales a nanoescala. Propuso manipular los átomos individuales para crear nuevas y pequeñas estructuras con diferentes propiedades, estas ideas son ahora una realidad en la ciencia. En aquel tiempo, le llamaron una plática profética. Él mismo, al publicar su autobiografía: “Surely you’re joking, Mr. Feynman”, reconocía que hablaba de un mundo que para muchos, podía encontrarse en aquel momento; tan sólo en su imaginación. Es así como el ganador del premio nobel de física comenzó a difundir el concepto; Nanotecnología. ⁶⁵

El término “Nanotecnología” fue introducido formalmente por el profesor Norio Taniguchi de la Universidad de Ciencias de Tokio en un artículo publicado en 1974, titulado, “In the basic concepts of nanotechnology”. El propósito de utilizar este término fue el de describir un “mundo

pequeño” en el que las cosas sean medidas en nanómetros. Desde entonces ha progresado hacia el punto en el que el uso del término es relativamente común, pero no completamente comprendido o del todo madurado.⁶⁶⁻⁶⁸

El prefijo “nano”, en la palabra nanotecnología, deriva del término Griego “Návoς”, que significa “pequeño”. Un nanómetro equivale a la milmillonésima parte de un metro, o millonésima parte de un milímetro. Un nanómetro se representa como 1nm igual a 0.000 000 001 o 1×10^{-9} m.^{67,69}

La dimensión de un nanómetro puede compararse con el ancho de 6 átomos de carbono o 10 moléculas de agua. Un cabello humano mide aproximadamente 80,000nm de ancho, mientras que una célula roja sanguínea mide aproximadamente 7,000nm de anchura. Los átomos son más pequeños que un nanómetro. Algunas moléculas, incluyendo las proteínas, se encuentran en el rango de un milímetro de largo.⁶⁷



La nanotecnología puede definirse como la ciencia y la ingeniería involucradas en el diseño, síntesis, caracterización y aplicación de materiales y aparatos, cuya organización funcional más pequeña, al menos en una dimensión, se encuentra a escala nanométrica.^{67,69}

La nanociencia consiste en la capacidad de controlar átomos y moléculas para formar nuevas estructuras, nuevas moléculas y nuevos materiales de acuerdo con nuestras necesidades específicas, a escalas de tamaño mil millones más pequeñas que las que observamos a simple vista. Mediante la nanotecnología es posible desarrollar nuevos materiales y aparatos con precisión atómica. Los materiales a nanoescala (en el rango de 1 a 100nm) permiten obtener propiedades únicas y mejoradas, diferentes al nivel másico volumétrico.⁷⁰⁻⁷³

Ya que la nanotecnología se basa en el uso de materiales a nivel atómico para alcanzar propiedades únicas, que a su vez puedan ser manipuladas para la aplicación deseada, se debe tener en cuenta que muchos de los procesos biológicos toman lugar a nivel de la escala nanométrica y es posible aplicar la nanotecnología para revolucionar el campo de la medicina.

74

En años recientes la nanotecnología se ha convertido en uno de los más importantes campos en la ciencias física, química, ingeniería y biología, pues representa una gran promesa en el futuro cercano, que cambie la dirección de los avances tecnológicos en un sin número de aplicaciones.⁷⁵

Principales usos y aplicaciones de la nanotecnología

La nanotecnología se encuentra en constante avance y expansión en el área de la investigación, la cual ha dado ya una gran variedad de productos comerciales que se encuentran actualmente disponibles en cosméticos, lociones bronceadoras, pinturas, llantas de automóviles, limpiadores de vidrios, ropa interior, electrodomésticos y repelentes antimicrobianos. De acuerdo al proyecto “nanotecnología emergente” del 2008, el número de productos que contenían nanopartículas, en el mercado excedía de 800 y con un rápido crecimiento. En el inventario “productos nanotecnológicos consumibles”, el elemento más comúnmente mencionado en la descripción de producto, fue el carbón, incluyendo los nanotubos. El segundo elemento más referenciado fue la plata, utilizada como aditivo antimicrobiano en detergentes, alimentos y ropa interior. Otros elementos como el dióxido de titanio y óxido de zinc fueron encontrados en productos de cuidado personal, como las pastas dentales, productos de belleza y bloqueadores solares, así como en textiles.⁷⁶⁻⁷⁹

Es posible mencionar que una de las áreas que más nos atañe, en donde la nanotecnología está impactando positivamente a una parte importante de la industria dedicada al cuidado de la

salud, es la nanomedicina, que representa uno de los más importantes retos que enfrentamos en estas últimas décadas. ^{75, 80, 81}

Se dice que la nanotecnología es empleada actualmente como una herramienta para explorar “los caminos más oscuros de las ciencias médicas”. ⁷⁴ Mediante la nanomedicina y la participación de ciencias como la biología, física, química, ciencias de los materiales y la ingeniería mecánica, es posible llegar a la implantación de nanoestructuras en partes internas del cuerpo humano y mediante tomografías poder obtener imágenes *in vivo* que proporcionen diagnósticos oportunos y más precisos acerca de diversas patologías. Resulta también de suma importancia que mediante la bioingeniería, es posible crear aparatos y estructuras biológicas con componentes nanométricos que sean biocompatibles. ⁷⁹

Por otra parte, ha sido posible la creación de un sistema de “nanotransportación”, que funciona a través de “nanosensores” que llevan mensajes de una célula a otra e incluso pueden alterar los contenidos de ADN en las bacterias. ^{70, 76} Además es posible la liberación de medicamentos de manera más efectiva y prolongada en los tejidos específicos, así como acortar el tiempo en depositar medicamentos nanoestructurados o lograr una aplicación de vacunas y antígenos al sistema circulatorio. Quizá una de las mayores aportaciones de la nanomedicina ha sido el crear un sistema cuya acción en los genes permita el tratamiento de diversos tipos de cáncer. ^{70, 76, 79, 82}

Para aquellos acostumbrados a un mundo macroscópico, en el que los objetos puedan sostenerse en la mano y ser vistos por el ojo humano, el prefijo “nano” describe áreas actuales de investigación y desarrollo en donde las fuerzas electrostáticas poseen suma importancia. Esta es un área en donde la “vieja” y la “nueva” electrostática se unen gracias a la existencia de partículas de tamaño nanométrico, llamadas nanopartículas. ⁶⁸

Nanopartículas de plata (Np-Ag)

En años recientes ha crecido el interés en la preparación y el estudio de las nanopartículas, las cuales pueden formarse a partir de diferentes metales y tener diversas aplicaciones.⁸³

Las nanopartículas de plata (Np-Ag) son ampliamente utilizadas en las ciencias médicas. Son materiales nanoestructurados cuya base son las sales de plata.^{78, 79} El efecto antibacteriano de las sales de plata es conocido desde la antigüedad y actualmente la plata está siendo utilizada para inhibir el crecimiento bacteriano en una variedad de aplicaciones, incluyendo la odontología.

Las propiedades medicinales de la plata han sido conocidas desde hace 2000 años. La antigua civilización Greco-Romana utilizaba vasos de plata para mantener el agua potable. Desde el siglo XIX los compuestos a base de plata han sido ampliamente utilizados como agentes antibacterianos, especialmente para el tratamiento de quemaduras y heridas.⁸⁴

Es debido a su propiedad antimicrobiana que las nanopartículas de plata se han incorporado a los productos médicos como vendajes, suplementos alimenticios, catéteres, y en el área de la odontología se utilizan en pastas, cementos e implantes dentales.^{84, 85}

La “nanodontología” ha hecho posible mantener la salud oral mediante el uso de nanomateriales, nanobiotecnología y nanorobótica; a través de esto es posible inducir anestesia local mediante una suspensión coloidal que contenga millones de nanorobots analgésicos y partículas que pueden instalarse en la encía y una vez en contacto con la mucosa migren hacia la corona dental, alcanzando la dentina y eliminando la sintomatología dolorosa (los nanorobots entran a los túbulos dentinarios que miden de 1 a 4 μ m de diámetro).^{86, 87}

Otra de las áreas en las cuales es posible utilizar nanorobots es en la ortodoncia, en donde manipulando los tejidos periodontales, gracias a los nanorobots, es posible realizar movimientos correctivos indoloros en minutos u horas. Quizá una de las funciones más

relevantes a la cual puede contribuir la nanodontología, es el tratamiento de la hipersensibilidad dental; esto es posible mediante nanorobots reconstructivos que ocluyen túbulos dentinarios específicos en tan solo minutos, ofreciéndole al paciente una cura permanente.^{59, 81} En cuanto a la estética, es posible reemplazar las capas de esmalte perdidas, mediante su unión covalente con materiales artificiales como zafiro, o diamante, que poseen de 20 a 100 veces mayor dureza que la estructura del esmalte dental natural.⁸⁸

Por último se ha reportado el empleo de nanorobots que se establecen en la cavidad bucal liberando enjuague o pasta dental en la encía, al menos una vez al día, metabolizando la materia orgánica y eliminando el cálculo dental.⁸⁸

Propiedades y mecanismo de acción de Np-Ag

Al evaluar sus propiedades utilizando microscopio electrónico, se ha revelado una interacción entre nanopartículas y bacterias. Se sabe que ejercen un efecto antimicrobiano sobre Gram+ y Gram-, produciendo lisis en los péptidos de la membrana de los microorganismos.^{71, 74, 77, 79}

El mecanismo de acción de las Np-Ag sobre las bacterias aún no es del todo comprendido. Existen reportes que sugieren que el efecto bactericida es debido a una atracción electrostática entre la carga negativa de las células bacterianas y la carga positiva de las Np-Ag. Se cree que su alta afinidad por los grupos sulfuros o fosfóricos de la membrana celular es la clave para la propiedad bactericida, seguido además de la liberación de iones plata que contribuye a la actividad antimicrobiana. Las nanopartículas de plata se unen a la superficie de la membrana celular, interfiriendo en sus actividades principales; permeabilidad y respiración. La bacteria pierde la capacidad de replicación de su ADN y las proteínas celulares se inactivan.^{68, 71, 77, 84, 85, 89}

Se han realizado esfuerzos para explorar las propiedades de Np-Ag, una forma eficiente de proporcionar estabilidad y mejorar el efecto antibacteriano es la reducción de tamaño.^{78, 90, 91}

Se sabe que las propiedades de las nanopartículas de plata dependen de su tamaño y forma, por lo tanto, la síntesis controlada representa un desafío clave para obtener sus características más deseables.⁹² Los enfoques convencionales de la síntesis de nanopartículas utilizan sustancias químicas altamente tóxicas que producen efectos secundarios tras la administración.⁹³ Por lo tanto, se requiere un método alternativo para disminuir estos efectos tóxicos. De acuerdo con la química verde o eco-amigable, existe una necesidad creciente de que las industrias sean más sostenibles mediante el desarrollo de productos más respetuosos con el medio ambiente.^{94, 95}

Busca reducir y prevenir la contaminación desde su fuente. En 1990 se crea una ley en Estados Unidos que pretende eliminar los problemas antes de que estos ocurran.

Sus doce principios son:

- Prevenir la creación de residuos
- Diseñar productos y compuestos seguros
- Diseñar síntesis químicas menos peligrosas
- Usar materias primas renovables
- Usar catalizadores
- Evitar derivados químicos
- Maximizar la economía atómica
- Usar disolvente y condiciones de reacciones seguras
- Incrementar la eficiencia energética (reacciones a temperatura y presión ambientes)
- Diseñar productos biodegradables
- Analizar en tiempo real los procesos químicos para evitar la contaminación
- Minimizar los riesgos de accidentes.^{95, 96}

La química verde ofrece enfoques biológicos que incorporan el uso de extractos de plantas⁹⁷,⁹⁸ tales como *Heterotheca inuloides* y *Chenopodium ambrosioides*, que han mostrado actividad antimicrobiana, así como propiedades antioxidantes y citotóxicas contra bacterias orales.^{99, 100}

Existe un enorme potencial de plantas medicinales mexicanas.¹⁰¹ *Heterotheca inuloides* (Árnica) es una planta mexicana ampliamente utilizada debido a sus propiedades medicinales, ha demostrado tener efectos antiinflamatorios y analgésicos.¹⁰² La planta crece abundantemente en la región mexicana y se ha utilizado como parte de la medicina popular para el tratamiento tópico de contusiones, moretones, así como para el tratamiento de heridas y lesiones de la piel.^{103, 104}

Las propiedades citotóxicas y antioxidantes de esta planta,¹⁰⁵ ha llevado a la Organización Mundial de la Salud (OMS) a reconocer su uso en medicina.¹⁰⁶

Se han identificado varios constituyentes de *H. inuloides*, principalmente, flavonoides, sesquiterpenoides, triterpenoides y esteroides. La composición del aceite esencial también se ha descrito. Recientemente, se identificaron cuatro sesquiterpenoides de *H. inuloides* como agentes antimicrobianos.¹⁰⁷

Las flores secas de *H. inuloides* se han usado en México, para el tratamiento de la tromboflebitis posoperatoria, y externamente para el acné, hematomas y dolores musculares.¹⁰⁸

Chenopodium ambrosioides (Epazote mexicano) es nativo de la región mesoamericana, pertenece a la familia *Chenopodiaceae*. Se ha utilizado en la cocina tradicional y la medicina popular.¹⁰⁹ Epazote es una hierba aromática, que tiene diversas aplicaciones farmacológicas en el tratamiento de la gripe, resfriado y enfermedades respiratorias,¹¹⁰ se ha utilizado ampliamente contra el vómito y como antihelmíntico,¹¹¹ también en desordenes gastrointestinales y contra bacterias,¹¹² así como en curaciones de la úlceras de la piel. Se reconocen sus propiedades antiinflamatorias y antitumorales.

La gran variedad del suelo Mexicano, permite incorporar el uso de diversas plantas en los métodos de síntesis eco-amigables, por ello, en el presente estudio, se propone su utilización, como bioreductores, aprovechando las bondades de sus componentes.

2. Planteamiento del problema

La prevalencia de infecciones que ocurren por la utilización de hilos de sutura a base de fibras naturales, representa en la actualidad, un riesgo evidente a la salud humana, especialmente los hilos de sutura multifilamento, en donde se ha encontrado una acumulación importante de comunidades bacterianas.

En un intento por disminuir la presencia de procesos infecciosos, se han realizado estudios en donde se impregnaron sustancias antibióticas a los hilos de sutura para evaluar su efecto antibacteriano, un ejemplo de esto ha sido el uso de Triclosán y otros antibióticos, los cuales han logrado un efecto inhibitorio a corto plazo, sin embargo, se han reportado casos de toxicidad, así como de alergias derivadas de su uso.

Por otra parte, resulta evidente que los procesos experimentales convencionales, implican el uso de sustancias nocivas, las cuales pueden generar efectos secundarios y provocar un daño tanto a la salud humana como al medio ambiente.

Debido a la problemática planteada anteriormente, se vuelve necesario producir materiales avanzados que posean un efecto inhibitorio sobre microorganismos patógenos y que sean producidos bajo condiciones eco-amigables para aminorar el daño ocasionado a la salud y el impacto ambiental.

Pregunta:

¿El bionanocomposito utilizado como hilo de sutura, inhibe el crecimiento de microorganismos patógenos?

3. Justificación

La realización del presente trabajo de investigación, surge de la necesidad de contar con un bionanocomposito que reúna las bondades de la nanotecnología y el efecto antibacteriano de la plata, bajo los principios de la química sustentable, con la intención de que su uso, como hilo de sutura, evite o disminuya los procesos infecciosos posteriores a procedimientos quirúrgicos de cavidad bucal.

Actualmente la nanotecnología permite incursionar en terrenos antes inconcebibles, se ha posicionado firmemente en el campo de la medicina y su uso en odontología podría ser clave para evitar y prevenir procesos infecciosos. La naturaleza ofrece a la ciencia la posibilidad de combinar estos materiales químicos con agentes bioreductores ciento por ciento naturales, por ello se considera pertinente evaluar el porcentaje de inhibición de las nanopartículas de plata, sobre microorganismos de cavidad oral, mediante la realización de estudios *in vitro* que permitan encontrar resultados más favorables en la prevención o disminución de procesos infecciosos, que impidan una adecuada cicatrización post tratamientos quirúrgicos.

Hoy en día se cuenta con la posibilidad de incorporar el uso de las tecnologías emergentes en la producción de materiales avanzados que proporcionen un efecto antibacteriano y antiinflamatorio y que sean obtenidas bajo un proceso amigable con el medio ambiente.

El presente trabajo de investigación, se considera relevante, pues es necesario que el odontólogo esté informado acerca del éxito o del fracaso que puede derivarse de la utilización de los materiales dentales tradicionalmente utilizados, así como de la propuesta del uso de una nueva tecnología nanométrica al servicio de la odontología, para lograr el beneficio propio y el de los pacientes.

4. Hipótesis

Hi: El bionanocomposito utilizado como hilo de sutura inhibe el crecimiento de microorganismos patógenos.

Ho: El bionanocomposito utilizado como hilo de sutura no inhibe el crecimiento de microorganismos patógenos.

5. Objetivos

General: evaluación del efecto inhibitorio sobre microorganismos de cavidad oral de un hilo de sutura, basado en un bionanocomposito de fibras naturales con nanopartículas de plata (Np-Ag) obtenidas por bioreducción.

Específicos:

- Síntesis de nanopartículas de plata (Np-Ag) *in situ* sobre los hilos de sutura (seda y catgut), con dos diferentes agentes bioreductores: *Heterotheca inuloides*, y *Chenopodium ambrosioides*.
- Caracterización de los bionanocompositos por diferentes técnicas como: Espectrofotometría Ultravioleta-Visible (Uv-Vis), Microscopio Electrónico de Barrido (MEB), y Microscopio Electrónico de Transmisión (MET)
- Evaluación del efecto inhibitorio, de los bionanocompositos con Np-Ag reducidas por *Heterotheca inuloides* o por *Chenopodium ambrosioides*, sobre microorganismos patógenos.

Metas

1. Obtener nanopartículas de plata menores a 70 nm, impregnadas sobre los hilos de sutura.
2. Encontrar las condiciones óptimas de síntesis del bionanocomposito, modificando las siguientes variables:

- Concentración del precursor metálico
 - Tiempo de inmersión en el precursor
 - Concentración del reductor
 - Tiempo de reducción
3. Preparar las muestras para su caracterización mediante:
- Uv Vis: extracción de nanopartículas por ultrasonido
 - MEB: recubrir nanocompositos con oro
 - MET: extracción y preparación de la rejilla
4. Realizar pruebas microbiológicas con los agentes más representativos de los grupos Gram positivo y Gram negativo, (*E. coli* y *S. aureus*). Mediante la preparación de agares específicos, la siembra de Gram positivos y Gram negativos y la determinación de los halos inhibitorios.

6. Diseño metodológico

6.1 Diseño del estudio

Tipo de estudio: Se trata de un estudio experimental

6.2 Universo y Muestra

Universo: No existe un procedimiento de muestreo (no hay población de estudio, de referencia, ni existe método de muestreo) CEPAS ATCC

Método de muestreo: No aplica.

Tamaño de muestra: Repeticiones

Se incluyen todas las muestras necesarias para el experimento, verificando que cumplieran con los estándares de acuerdo a los manuales de microbiología, los cuales indican que se debe trabajar por triplicado.

6.3 Procedimientos

Etapa 1: síntesis de nanopartículas de plata por 2 métodos eco-amigables

Etapa 2: caracterización de Np-Ag

Etapa 3: microbiología

Etapa 1: síntesis de nanopartículas de plata por 2 métodos eco-amigables

Heterotheca inuloides y *Chenopodium ambrosioides* fueron adquiridos de los campos circundantes, se lavaron y secaron a la sombra a temperatura ambiente durante 24 horas. Las hojas se trituraron y mezclaron para obtener una muestra homogénea de polvo. Realizando para cada agente bioreductor, el siguiente procedimiento de manera independiente:

1 gramo de cada polvo se sumergió en 100 ml de agua destilada y se sometió a un proceso de ebullición. Después, la solución se filtró a través de un papel de filtro. Se preparó una solución de nitrato de plata 10 mM (AgNO_3 , Sigma-Aldrich). Ambas soluciones se mezclaron en una relación de 1: 2,5 para generar Np Ag.



a. Bioreductor



b. Ebullición



c. Filtración



d. AgNO_3



e. pesaje en balanza analítica



f. disolución en matraz aforado



g. incorporación de AgNO_3 y bioreductor



h. formación de Np-Ag



i. Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEM-UNAM.
Laboratorio de nanotecnología fuente directa

Etapa 2: caracterización de Np-Ag y formación de bionanocompositos

Para seguir la formación de nanopartículas, el análisis de espectrofotometría UV-Vis se llevó a cabo cada hora, durante seis horas después de preparar cada solución. Después de este tiempo, los hilos de sutura (Silk y Catgut USP 3-0, Atramat®) se sumergieron totalmente en la solución durante 1 hr, luego se extrajeron y se secaron a temperatura ambiente.

Las mediciones del espectro UV-Vis se registraron en un espectrofotómetro de barrido Cary 5000 UV-Vis-NIR usando una celda de cuarzo, con un intervalo de longitud de onda de 300 a 600 nm.

La evaluación de los hilos de sutura impregnados de Np-Ag se realizó a través de microscopía electrónica de barrido (MEB) y análisis de espectroscopia de energía dispersiva (EDS) en un microscopio JSM-6510-LV (JEOL) a 20 kV de aceleración y utilizando electrones secundarios.

Las muestras se recubrieron con una película delgada de oro (aproximadamente 20nm) usando un equipo de pulverización catódica Denton Vacuumm DESK IV.

La forma y el tamaño de la solución de nanopartículas de plata se evaluó con un microscopio electrónico de transmisión (TEM, JEOL JEM-2100-Tokio, Japón). Las muestras se sonicaron durante 4hrs para separar las nanopartículas de las fibras. Las muestras para la observación TEM se prepararon colocando una gota de la solución de muestra sobre una rejilla de cobre (300mesh) recubierta con una película de carbono y se dejó secar a temperatura ambiente. Se utilizó un voltaje de aceleración de 200 kiloelectronvoltios en el modo Brightfield y de alta resolución.

Etapa 3: microbiología

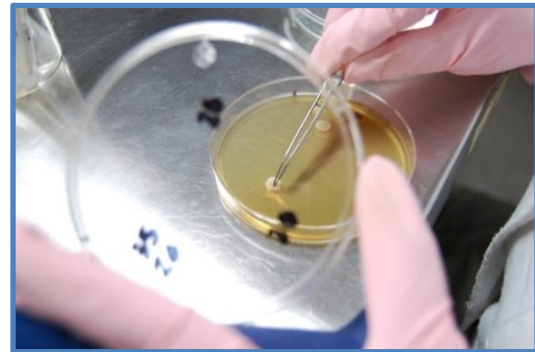
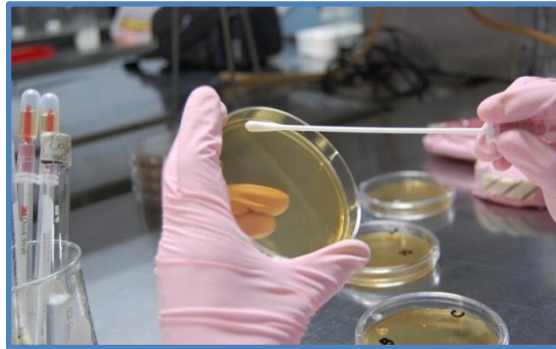
Las cepas de *Streptococcus aureus* y *Escherichia coli* se obtuvieron del Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Se caracterizaron por pruebas bioquímicas apropiadas, y se cultivaron mediante el método de difusión de agar, primero, en agar selectivo; manitol-sal, agar o eosina-azul de metileno agar (EMB), respectivamente, y luego en placas de agar Muller Hinton.



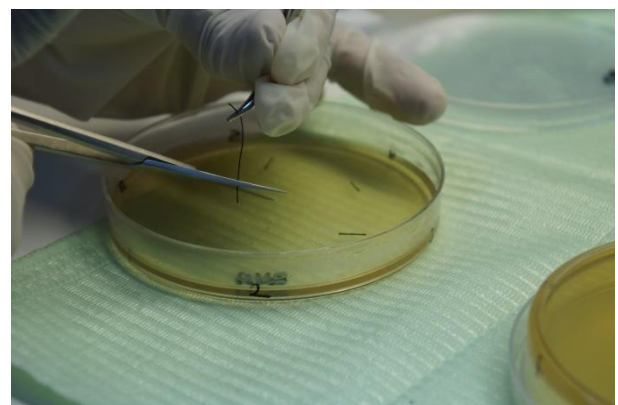
j. Estudios de Posgrado. UNAM

Para determinar el efecto antibacteriano, los discos de papel se colocaron en placas de Petri. En cada placa, se colocaron tres discos de papel diferentes, impregnados con la solución de nanopartículas de plata, se usó un disco de papel que contenía la infusión de *Heterotheca inuloides* o *Chenopodium ambrosioides* como control, y se usó un disco de papel sin revestir como control en blanco. Cada plato fue preparado por triplicado.

Los hilos de sutura de seda y catgut se cortaron en trozos de aproximadamente 10 mm de longitud y se colocaron en las placas de Petri, preparadas como se describió previamente. Cada placa contenía: un hilo de sutura (seda y catgut por separado) incrustado en la solución de nanopartículas de plata, y un hilo de sutura de seda (seda y catgut por separado), sin Np Ag, utilizado como control en blanco. Cada plato fue preparado por triplicado. Las placas se incubaron a 37° C en una incubadora Felisa® durante 24-48 h. Después del lapso de incubación, el diámetro de la zona bacteriana de inhibición se midió en milímetros.



k. Se depositan Np-Ag sintetizadas por dos agentes reductores ecoamigables y colocación de los discos en las cajas de Petri para ambas cepas



l. Colocación de hilos de sutura en las cajas sembradas

6.4 Criterios de inclusión

Hilos de sutura (seda y catgut) preparados como bionanocomposito

6.5 Criterios de exclusión

Criterios exclusión: hilos de sutura (seda y catgut) sin preparar (comerciales)

Criterios eliminación: cajas de Petri que hayan sido contaminadas, o mal sembradas de acuerdo a la técnica de estría.

6.6 Variables de estudio

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de medición
INDEPENDIENTES					
1. CONCENTRACIÓN DEL PRECURSOR	Concentración molar de sales de nitrato de plata como precursor en los procesos químicos de reducción	Cantidad de Np-Ag con concentraciones molares: 1×10^{-2} y 1×10^{-3}	Independiente cuantitativa	Discreta	Nanómetros
2. TIEMPO DE INMERSIÓN EN EL PRECURSOR	Intervalo de tiempo que permanecen los hilos de sutura en el precursor de nitrato de plata	Intervalo de tiempo en minutos	Independiente cuantitativa	Discreta	Minutos
3. TIPO DE REDUCTOR	Bioreductor: elemento de origen natural, que permite la reducción de sales de nitrato de plata para la síntesis de Np-Ag	Utilización de <i>Chenopodium ambrosioides</i> como bioreductor	Independiente cualitativa	Discreta	-
4. TIPO DE REDUCTOR	Bioreductor: elemento de origen natural, que permite la reducción de sales de nitrato de plata para la síntesis de Np-Ag	Utilización de <i>Heterotheca inuloides</i> como bioreductor	Independiente cualitativa	Discreta	-
5. TIEMPO DE REDUCCIÓN	Intervalo de tiempo que transcurre para la reducción de Np-Ag	Intervalo de tiempo en minutos	Independiente cuantitativa	Discreta	Minutos
DEPENDIENTE					
1. Efecto inhibitorio del hilo de sutura impregnado con Np-Ag, sintetizadas por <i>Heterotheca inuloides</i> o por <i>Chenopodium ambrosioides</i> sobre <i>S. aureus</i> y sobre <i>E. coli</i>	<i>Heterotheca inuloides</i> y <i>Chenopodium ambrosioides</i> : plantas pertenecientes a especies, cuyas hojas y brotes se utilizan para elaborar infusiones ¹⁰⁶	Medición de los milímetros que abarca la zona de inhibición producida por el hilo de sutura impregnado con Np-Ag sintetizadas por <i>Heterotheca inuloides</i> o por <i>Chenopodium ambrosioides</i> . Cuento de UFC	Dependiente cuantitativa	Continua	Halos inhibitorios : en milímetros UFC: en número de colonias sobre mililitros

6.7. Instrumentos

Bitácora de registro de los tipos de síntesis.

Bitácora con el registro de los resultados de la caracterización.

Formatos en Excel con los resultados de la microbiología.

6.8 Recolección de datos

Se registran las mediciones de los halos inhibitorios mediante cuadros de excel.

6.9 Análisis de datos

Mediante el programa estadístico STATA 14 con comparación de medias para cada grupo.

6.10 Aspecto ético

La investigación guía al hombre hacia el conocimiento, y debe estar enfocada a mejorar la salud de los individuos. En el área odontológica, no se debe violentar los derechos de las personas que participan.¹¹³ En el reglamento de la Ley General de Salud, capítulo I, artículo 17: se considera como riesgo de investigación a la probabilidad de que el sujeto de investigación sufra algún daño como consecuencia inmediata o tardía del estudio. Para efectos de este reglamento, la presente investigación se clasifica en la siguiente categoría: I.- Investigación sin riesgo: Son estudios que emplean técnicas y métodos de investigación en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de individuos.

De acuerdo al título cuarto, capítulo I; en el artículo 75 y 78 se encuentran los lineamientos para el manejo de microorganismos, así como la capacitación para el personal que trabaja en el laboratorio de microbiología. Por otra parte se dan bases para la autorización de las instituciones y las instalaciones adecuadas requeridas en la realización del proyecto de experimentación.

Del artículo 76 al 87 se detallan los puntos que se refieren no sólo al correcto manejo de los microorganismos y las instalaciones, sino al tipo de riesgo dentro de esta investigación.¹¹⁴

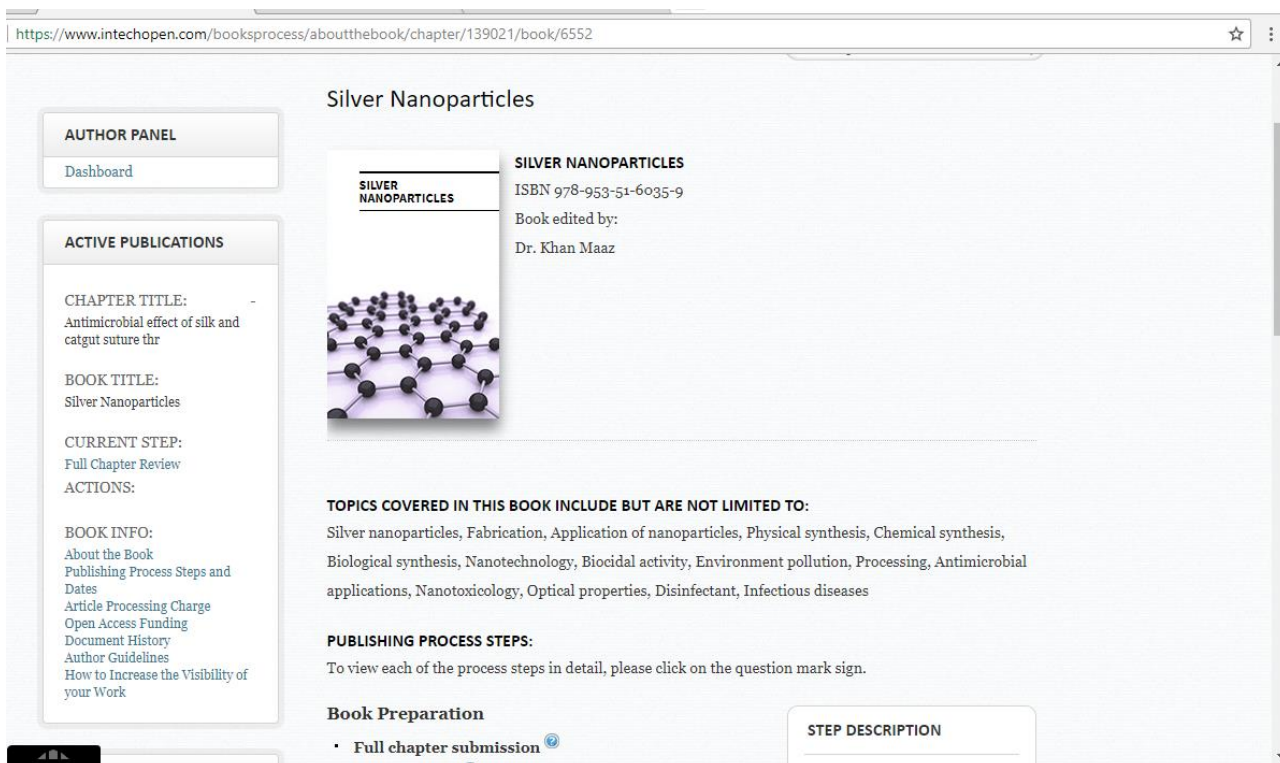
Resultados

7.1 Capítulo de libro aceptado

7.1.1 Título del capítulo de libro aceptado

Antimicrobial effect of silk and catgut suture threads coated with biogenic silver nanoparticles

7.1.2 Página frontal (portada) de la publicación del capítulo de libro



The screenshot shows the IntechOpen website interface for the book 'Silver Nanoparticles'. The browser address bar displays the URL: <https://www.intechopen.com/booksprocess/aboutthebook/chapter/139021/book/6552>. The page layout includes a sidebar on the left with sections for 'AUTHOR PANEL' (containing a 'Dashboard' link), 'ACTIVE PUBLICATIONS' (listing chapter and book titles, current step, and actions), and 'BOOK INFO' (listing various links like 'About the Book', 'Publishing Process Steps and Dates', etc.). The main content area features the book title 'Silver Nanoparticles', a cover image showing a molecular structure, and key details: ISBN 978-953-51-6035-9 and editor Dr. Khan Maaz. Below this, there are sections for 'TOPICS COVERED IN THIS BOOK INCLUDE BUT ARE NOT LIMITED TO:' (listing various synthesis and application topics) and 'PUBLISHING PROCESS STEPS:' (with a note to click on question mark signs for details). At the bottom, a 'Book Preparation' section lists 'Full chapter submission' with a question mark icon, and a 'STEP DESCRIPTION' box is partially visible.

7.1.3 Carta de aceptación

De: virag@intechopen.com <virag@intechopen.com>

Enviado: lunes, 30 de octubre de 2017 8:31

Para: Victor Sanchez Mendieta

Asunto: InTechOpen - Notification of Acceptance - "Nanofiltration"

Dear Dr. Victor Sanchez Mendieta,

On behalf of the Book Editor/s it is my pleasure to inform you that your chapter proposal "Antimicrobial effect of silk and catgut suture threads coated with biogenic silver nanoparticles," has been accepted in the book under the working title "Silver Nanoparticles."

Your next step is to write the full chapter. After the full chapter review, you will receive the notification regarding the definitive acceptance of your work in the book.

NEXT STEP:

Submit your full chapter (14 - 20 pages) by: December 20, 2017

For the preparation of your chapter please use the Template Guidelines that can be found by signing in to your Author Panel under the Quick Links section.

To sign in to your Author Panel please use the following link:

<http://www.intechopen.com/dashboard>

All chapters are published under the CC Attribution 3.0 Unported License. By submitting your manuscript you accept the terms and conditions set forth in our Copyright Agreement and acknowledge and accept the Open Access Article Processing Charge policy. You can find more information in the Quick Links section on your Author Panel.

If you have any additional questions or concerns, do not hesitate to contact me.

Cordially,
Julian Virag
Publishing Process Manager

InTech - open science | open minds
Email: virag@intechopen.com
Website: www.intechopen.com

7.1.4 Resumen

Dos bionanocompositos de hilos de sutura; seda y catgut impregnados con AgNPs, se prepararon a través de una metodología de química verde usando *Chenopodium ambrosioides* (Epazote mexicano) como agente reductor. La espectrofotometría UV-Vis (UV-Vis), la Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y la Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM), se utilizaron para su caracterización. UV-Vis confirmó la síntesis de nanopartículas de plata. Las micrografías mostraban Ag-NPs polidispersas, en su mayoría esféricas, unidas a ambos hilos de sutura. Las propiedades antimicrobianas de los bionanocompuestos se evaluaron a través de cultivos y pruebas de zonas de inhibición. Los bionanocompuestos sintetizados por *Chenopodium ambrosioides* han demostrado tener un efecto antibacteriano contra *S. aureus* y *E. coli* en ambas suturas (seda y catgut) y podrían ser potencialmente útiles para la cirugía oral o periodontal. No hubo diferencias estadísticamente significativas en la inhibición de *Staphylococcus aureus* versus *Escherichia coli*.

Antimicrobial effect of silk and catgut suture threads coated with biogenic silver nanoparticles

Saraí C. Guadarrama-Reyes¹, Rogelio J. Scougall-Vilchis¹, Raúl A. Morales-Luckie^{2*}, Víctor Sánchez-Mendieta,² Rafael López-Castañares²

¹ School of Dentistry. Autonomous University of the State of Mexico. Toluca, State of Mexico, Mexico.

² Joint Center for Research in Sustainable Chemistry (CCIQS). Autonomous University of the State of Mexico. Toluca, State of Mexico, Mexico.

*Corresponding author E-mail: ramoralesl@uaemex.mx

Abstract

Two bionanocomposites based on suture threads, silk-silver nanoparticles (Ag NPs) and catgut-Ag NPs, were prepared through a green chemistry methodology using *Chenopodium ambrosioides* (Mexican Epazote) as reducing agent. UV-Vis spectrophotometry (UV-Vis), Scanning Electron Microscopy (SEM) and Transmission Electron Microscopy (TEM), were used for their characterization. UV-Vis confirmed the synthesis of silver nanoparticles. Micrographs showed polydisperse, mostly spherical, Ag-NPs attached to both suture threads. The bionanocomposites antimicrobial properties were evaluated through cultures and inhibition zones tests. The *Chenopodium ambrosioides*-assisted synthesized bionanocomposites have proved antibacterial effect against *S. aureus* and *E. coli* in both sutures (silk and catgut) and could be potentially useful for oral or periodontal surgery. There was no significant difference statistically in inhibition of *Staphylococcus aureus* versus *Escherichia coli*.

Keywords: Nanotechnology, silver nanoparticles, antimicrobial suture, oral microorganisms, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

1. Introduction

In recent years, nanotechnology has become an issue of major importance because of its wide range of applications in different disciplines [1]. Rapid advances in medicine and biomaterials have become evident [2]. Nanomedicine support the diagnosis, monitoring, prevention and treatment of diseases [3, 4]. Silver nanoparticles have been widely used because they have proven to have significant antimicrobial activity [5, 6, 7]; therefore, they play a significant role in the field of biological systems, and in modern medicine [8-11].

It is known that properties of silver nanoparticles depend on their size and shape, consequently, their controllable synthesis represents a key challenge to achieve their more desirable characteristics [12]. The conventional approaches of nanoparticle synthesis use highly toxic chemicals which result in toxic side effects upon administration [13]. Hence, an alternative method is required to overcome these toxic effects. According to green chemistry, there is an increasing necessity for industries to become more sustainable through developing of more environmentally friendly products [14, 15]. Green chemistry offers biological approaches incorporating the use of plant extracts for the synthesis of silver nanoparticles [16, 17]. *Chenopodium ambrosioides* (Mexican Epazote) is native to the Mesoamerican region, belongs to the *Chenopodiaceae* family. It has been utilized in traditional cuisine and folk medicine [18]. Epazote is an aromatic herb, which has diverse pharmacological applications in the treatment of influenza, cold and respiratory ailments, [19], it has been widely used as vomiting and antihelmintic [20], also in gastrointestinal problems and worms [21], and healing of skin ulceration, and anti-inflammatory and antitumor properties. Therefore, accordingly to our previous experience, the biomolecules present in epazote may act as reducing reagents of silver ions and as passivation agents of the biogenic silver nanoparticles.

Sutures used in oral surgery should avoid or limit bacterial colonization to those parts exposed to oral fluids [22]; nevertheless, they offer adhesion in their surface to bacteria, increasing the susceptibility to postoperative infections [23, 24]. Suture knots are believed to be the principal site of bacterial colonization [25]. Silk and catgut have been used for the closure of wounds with acceptable results. However, a suture based on natural fibers may increase the risk for the development of infectious processes [26]. Once suture material becomes colonized, local mechanisms to avoid infection become ineffective [27], in addition some of the oral pathogens are antibiotic resistant [28-30]. Thus, efforts have been made to add some antiseptics to sutures, such as triclosan and chlorhexidine [31], a few cases have confirmed allergies to chemical substances, though [32-35]. Current trends suggest that the direct drug delivery from the suture to the surgical site can improve recovery and patient comfort [36].

The aim of this study was to evaluate the antimicrobial effect of two natural suture threads coated with biogenic silver nanoparticles, against two main representative microorganisms of the Gram-positive and Gram-negative groups: *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

2. Experimental

2.1 Synthesis of Ag NPs

Chenopodium ambrosioides was acquired from the surrounding fields, and washed and dried in the shade at room temperature for 24 hours. The leaves were mashed to a powder and mixed to obtain a homogeneous sample. *Chenopodium ambrosioides* powder was used as a green-reducing agent. 1 gram of each powder was immersed in 100 mL of distilled water, and underwent a boiling process. Afterwards, the solution was filtered through a filter paper. A 10 mM silver nitrate solution (AgNO_3 , Sigma-Aldrich) was prepared. Both solutions were mixed in a 1:2.5 ratio to generate Ag NPs.

2.2 Formation of bionanocomposites

To follow the nanoparticles formation, UV-Vis analysis was carried out every hour, during six hours after preparing each solution (*vide supra*). After this time, suture threads (Silk and Catgut USP 3-0, Atramat®) were totally immersed in the solution for 1 h, then taken out and dried at room temperature.

2.3 Characterization of Ag NPs and bionanocomposites

2.2.1 UV-Vis spectroscopy

UV-Vis spectra measurements were recorded on a Cary 5000 UV-Vis-NIR Scanning Spectrophotometer using a quartz cell and the wavelength range from 300 to 600 nm.

2.2.2 SEM analysis

Assessment of Ag NPs impregnated suture threads was performed through scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive spectroscopy (EDS) analysis in a JSM-6510-LV microscope (JEOL) at 20 kV of acceleration and using secondary electrons.

The samples were coated with a thin film of gold (c.a. 20 nm) using a Denton Vacuum DESK IV sputtering equipment.

2.2.3 TEM analysis

Shape and size of silver nanoparticles solution were evaluated with a Transmission Electron Microscope (TEM, JEOL JEM-2100-Tokyo, Japan). The specimens were sonicated during 4 h to detach the nanoparticles from the

fibers. Samples for the TEM observation were prepared by placing a drop of the sample solution on a copper grid (300mesh) coated with carbon film and let it dry at room temperature. A 200 kiloelectronvolt-accelerating voltage, was used in Brightfield mode, and high resolution.

2.3 Determination of the antibacterial activity of bionanocomposites

Streptococcus aureus and *Escherichia coli* strains were obtained from the Biochemistry Laboratory of the School of Dentistry, at the National Autonomous University of Mexico (UNAM). They were characterized by appropriate biochemical tests, and cultured by the agar well diffusion method, first, on a selective agar; mannitol salt agar or eosin methylene blue agar (EMB) respectively, and then in Muller Hinton agar plates.

To determine the antibacterial effect, paper discs were put on Petri plates. In each plate, three different paper disks were placed, embedded in the silver nanoparticles solution, a paper disc containing the infusion of *Chenopodium ambrosioides* was used as a control, and a bared paper disc was used as a blank control. Each plate was prepared in triplicate.

Silk and Catgut suture threads were cut into pieces of approximately 10 mm of length and put on the Petri plates, prepared as previously described. Each plate contained: one suture thread (silk and catgut separately) embedded in the silver nanoparticles solution, and a silk suture thread (silk and catgut separately), without Ag NPs, used as blank control. Each plate was prepared in triplicate. The plates were incubated at 37°C in a Felisa® incubator for 24-48 h. After incubation lapse, the diameter of the bacterial zone of inhibition was measured in millimeters.

3. Results

A characteristic and well-defined plasmon-band for silver nanoparticles was obtained at around 455 nm, as shown in Figure 1. Ag-NPs synthesized by *Chenopodium ambrosioides* produced polydisperse and stable nanoparticles.

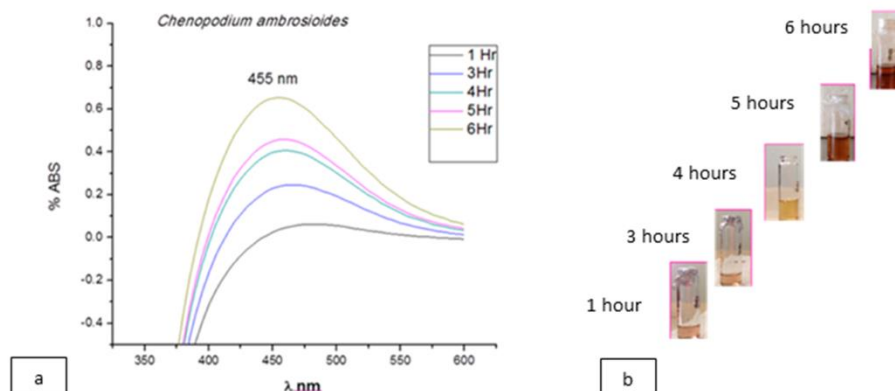


Figure 1. a) UV-Vis Spectra showing that the surface plasmon resonance wavelength lies around 455nm in Ag-NPs synthesized by *Chenopodium ambrosioides*. b) The flasks show the color change upon formation of silver nanoparticles; the solution changed from a light yellow to a light brown.

Transmission electron microscopy (TEM) study demonstrated the size and the spherical or quasi-spherical shape of biogenic Ag NPs (Figure 2). The average particle size was determined to be around 8 nm, as shown on Figure 2.

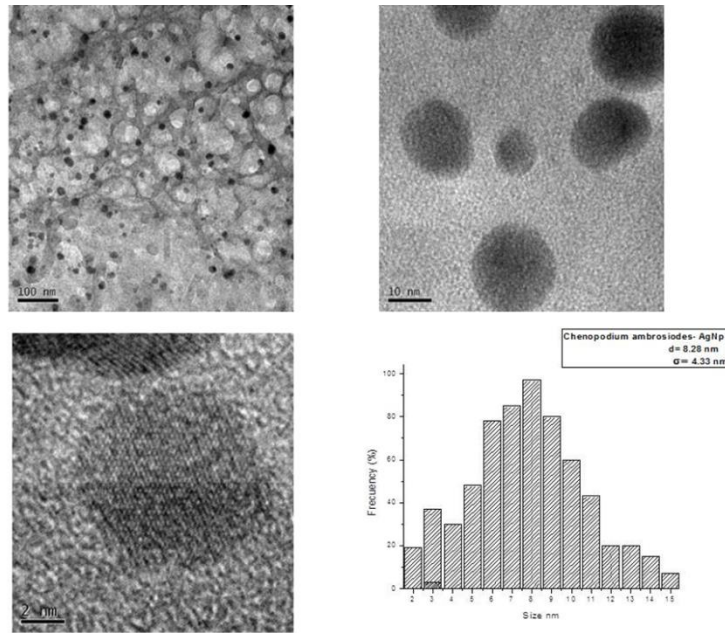


Figure 2. TEM images show that Ag NPs have a spherical shape; and the particle size distribution histogram shows that Ag NPs synthesized by *Chenopodium ambrosioides* have a mean diameter of approximately 8 nm.

Scanning electron microscopy (SEM) micrographs revealed that Ag NPs were formed on the surface of both suture threads, silk and catgut (Figure 3). It is possible to assume that the cavities in the suture threads can act as nanoreactors to attach, firstly, the silver ions to subsequently form the nanostructures when the reducing agent acts.

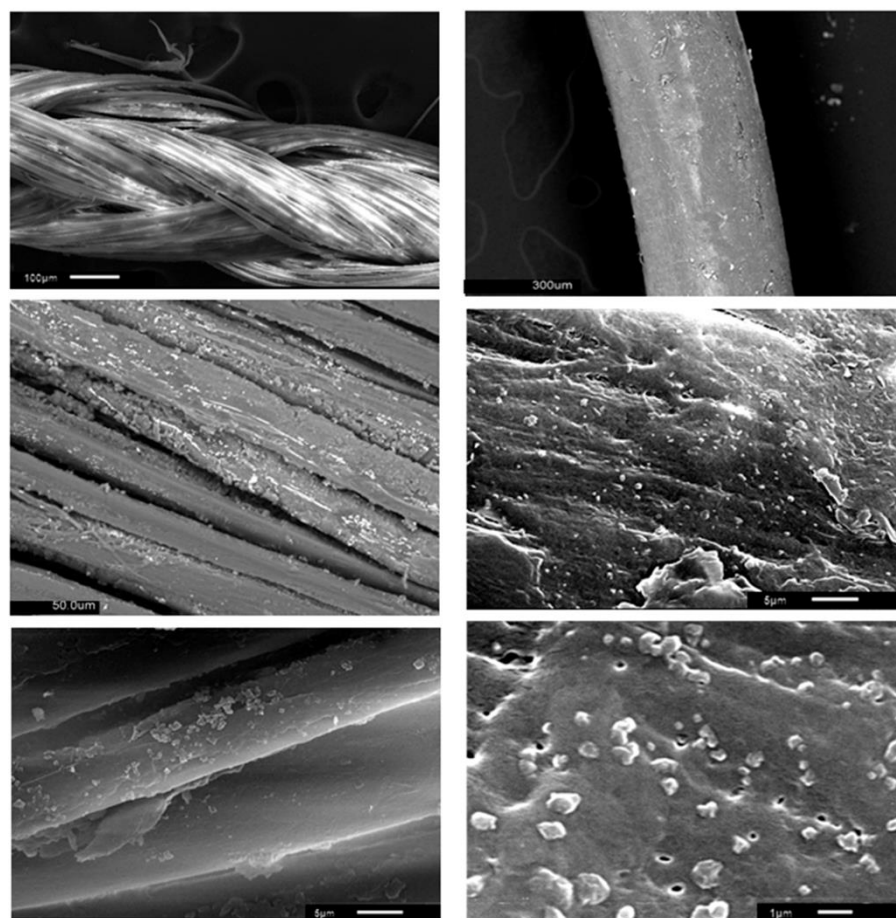


Figure 3. SEM micrographs showing Ag NPs embedded on silk (left images) and on catgut (right images) suture threads.

The antimicrobial activity of the biogenic Ag NPs, generated using *Chenopodium ambrosioides* infusion as reducing and capping agent, against *Staphylococcus aureus*, can be seen in Figure 4. The antibacterial effect of these biogenic Ag NPs can be observed clearly by the inhibition halo formed around the disk impregnated with the nanoparticles solution.

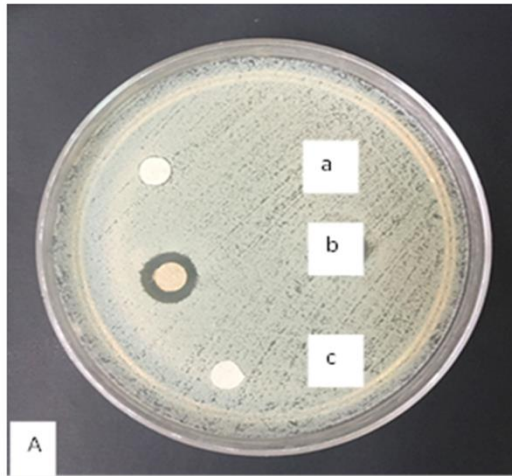


Figure 4. Ag NPs against *Staphylococcus aureus*: (a) blanc disc, (b) disc containing Ag NPs synthesized by *Chenopodium ambrosioides*, (c) disc with *Chenopodium ambrosioides* infusion as a control.

In figure 5 the antimicrobial activity of both bionanocomposites against *S. aureus* and *E. coli* is observed. The suture threads (silk and catgut) were cut into small pieces and put on the Petri dishes, as mentioned in the experimental section. Some suture threads samples were used as blank.

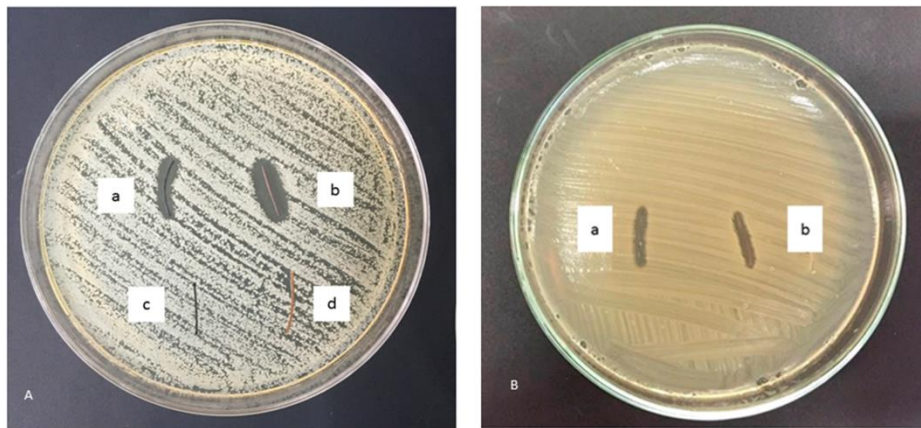


Figure 5. (A) Antibacterial effect of bionanocomposites against *Staphylococcus aureus*. (a) silk suture thread-Ag NPs; (b) catgut suture thread-Ag NPs; (c) silk suture thread (d) catgut suture thread. (B) Antibacterial effect of bionanocomposites against *Escherichia coli*. (a) silk suture thread-Ag NPs; (b) catgut suture thread-Ag NPs

The inhibition growth of bacteria by the biogenic Ag NPs and the two bionanocomposites are shown in Table 1, revealing a strong antimicrobial effect of silver nanoparticles embedded in the corresponding suture threads against Gram-positive and Gram-negative bacteria.

Discs and sutures	Staphylococcus aureus				Escherichia coli					
	n	Mean (SD)		Minimum Value	Maximum Value	n	Mean	SD	Minimum value	Maximum value
AgNP C.a.	4	2.75 (0.5)%		2	3	4	2.5	0.577	2	3
Control C.a.	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0
Blank control	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0
Silk AgNP C.a.	15	2.533	0.516	2	3	15	2.467	0.516	2	3
Catgut AgNP C.a.	15	2.667	0.488	2	3	15	2.467	0.516	2	3

As can be seen in Table 1, the growth inhibition of *Staphylococcus aureus* by disks impregnated with biogenic Ag NPs was on average 2.75 mm, compared to its control (*Chenopodium ambrosioides* infusion with the same concentration). Also, the growth inhibition of *Escherichia coli* was on average 2.5 mm, compared to its control (*Chenopodium ambrosioides* infusion with the same concentration). With the use of silk impregnated with biogenic Ag NPs the growth inhibition of *Staphylococcus aureus* was on average 2.53 mm, compared to the control solution. When silk impregnated with biogenic Ag NPs was used, the growth inhibition of *Escherichia coli* was on average 2.46 mm, compared to its control solution. For catgut impregnated with biogenic Ag NPs, the growth inhibition of *Staphylococcus aureus* was on average 2.6 mm; and the growth inhibition of *Escherichia coli* was on average 2.46 mm. There was not growth inhibition with blank or control discs, neither with silk and catgut blank sutures, as can be seen in Figures 4 and 5. All the measurements were replicated three times for each treatment. Minimum and maximum value for each Petri sample is shown. The effect on both type of bacteria was similar. No statistically significant differences were found in both sutures with Ag NPs embedded.

4. Discussion

Periodontal and oral surgical procedures, in combination with the presence of foreign materials, may develop infectious processes when bacteria lodge on the suture material invading the suture track [22]. In the oral cavity, sutures are placed within high vascularity tissues, in a moist bacteria rich environment. When performing surgical procedures using natural sutures, such as catgut or multifilament threads, as silk, the risk of infection may increase because bacteria are housed in the interstices [23]. Therefore, the choice of the kind of material for the closure of surgical wounds is paramount. Catgut, a monofilament suture made from the submucosa layer from the intestines of animals has been banned in Europe and Japan, due to health concerns [24, 25]. Silk is a natural protein fiber created by the *Bombyx mori* silk worm. It is well known for its water absorbency, which may favor bacterial growth [26]. Although both types of sutures have suitable properties for use, such as biocompatibility, flexibility and endurance, and sutures are designed to meet different needs, nowadays, more surgeons are opting for the use of synthetic suture materials [27]. We believe that the use of a suture thread bionanocomposite could prevent the colonization of pathogenic microorganisms. In this context, Ag NPs were selected in this study for decorating conventional sutures. It has been proved that the use of chemical elements such as silver is an alternative against multiple microorganisms. Silver is a nontoxic, safe inorganic antibacterial agent that can kill about 650 types of disease-causing microorganisms; silver nanoparticles can inhibit bacterial growth [5, 28]; therefore, they are currently being used in a variety of potential applications in pharmaceuticals, medicine [6, 29] and we have recognized its use in dentistry [30, 31].

Although the precise antibacterial action of silver nanoparticles is not completely understood, it is believed that electrostatic attraction between negatively charged bacterial cells and positively charged nanoparticles is

important for their antibacterial activity [32]. Ag NPs can interact with disulfide bonds of the glycoprotein/protein contents of microorganisms such as viruses, and bacteria, exerting an antimicrobial effect on Gram-positive and Gram-negative producing lysis in the peptides of the membrane of microorganisms. Certain studies have proposed that Ag NPs prompt neutralization of the surface electric charge of the bacterial membrane and change its penetrability, leading to bacterial death [33, 34]. On the other hand, the size of bacteria is measured in microns, three orders of magnitude greater than the nanoparticles obtained by green synthetic methods; therefore, the probability that the nanoparticles meet bacteria is higher when the size of Ag NPs is smaller. As it is known, the properties of Ag NPs depend on their size and shape, consequently, their controllable synthesis represents a key challenge to achieve their more desirable characteristics [13]. The development of reliable, eco-friendly processes for the synthesis of nanomaterials is an important aspect of nanotechnology [35]. The synthesis of Ag NPs by eco-friendly agents represents an environmental and economically sustainable biological method that minimizes the costs and provides the benefits and properties of native plants and herbs such as *Chenopodium ambrosioides*. We have studied that there is huge potential of Mexican medicinal plants [36], among them, *Chenopodium ambrosioides* (Mexican Epazote) has been utilized in traditional cuisine and folk medicine since ancient times [18], it has demonstrated diverse pharmacological applications, it is also useful for healing of skin ulceration, and shows anti-inflammatory and antitumor properties [19, 37]. It is difficult to assign a single component of being responsible for the bio-reduction; however, it is considered that the main chemical constituents involved in this process are mainly monoterpenoids, sesquiterpenoids and flavonoids, among others [38].

To understand the way by which the nanoparticles adhere to the suture threads, it is necessary to describe the composition of the threads. Catgut was the first bioabsorbable suture made from animal intestines braided together to constitute a single strand, consisting mainly of collagen [39]. The collagen helix is a type of secondary structure protein consisting of amino groups. It is well known that silk is formed by two main proteins (sericin and fibroin). Fibroin consists mainly of recurrent aminoacids sequence, containing carboxylic functional groups besides amino groups. Both show affinity to metallic atoms and cations, also, possess reducing properties. For this reason, carboxylic and amino groups could be responsible for the stabilization and capping of the silver nanoparticles [40].

It is important to consider that by electrostatic attraction the silver nanoparticles remain adhered to the threads, ensuring that there are not released into the oral environment. Besides, high surface area to volume ratio, allows Ag NPs to be effective in very small amounts [41], thus, we consider that the use of these type of bionanocomposites is an alternative approach to combat the bacterial resistance towards conventional antibiotics [42, 43], reducing as much as possible, the exaggerated prescription antibiotic schemes, affecting the systemic health of the patient; nonetheless, *in vivo* studies are required.

5. Conclusions

One of the pillars of oral surgery is based on a surgical procedure in an aseptic field, so it is essential to implement all means to achieve it, the bionanocomposites here presented can be effective for the treatment of periodontal surgery, being a useful tool against resistant bacteria. In this study, *Chenopodium ambrosioides* turns out to be an appropriate reducing agent for coating natural suture threads with Ag NPs. The formed bionanocomposites possess important antibacterial activity against *S. aureus* and *E. coli*. This is an option that may help to reduce the harmful effect of the major pathogens, while representing an attractive option as part of the eco-friendly materials, which would result not only in less expensive drugs, but also in substances with a minor risk to human health and the environment.

Acknowledgments

We are indebted to Dr. Gloria Gutierrez-Venegas, Head of the Department of Biochemistry, Faculty of Dentistry, National Autonomous University of Mexico, for her guidance in the antimicrobial studies.

Conflict of Interest

The authors declare that they have not conflict of interest.

References

- [1] Faramarzi MA, Sadighi A. Insights into biogenic and chemical production of inorganic nanomaterials and nanostructures. *Adv. Colloid Interface Sci.* 2013;189-190:1-20. DOI: 10.1016/j.cis.2012.12.001
- [2] Zeeshan S, Kiran U, Ishtiaq M, Jamal A, Hameed A, Ahmed S, Ali N. Combine efficacy of biologically synthesized silver nanoparticles and different antibiotics against multidrug-resistant bacteria. *International Journal of Nanomedicine.* 2013;8:3187-3195. DOI:10.2147/IJN.S49284
- [3] Coccia M, Wang L. Path-breaking directions of nanotechnology-based chemotherapy and molecular cancer therapy. *Technological forecasting and social change.* 2015;94:155-69. DOI: 10.1016/j.techfore.2014.09.007
- [4] Falzarano M, Flesia C, Cavalli R, Guiot C, Ferlini. Nanodiagnostics and nanodelivery applications in genetic alterations. *Curr Pharm Des.* 2018 Jan 10. DOI: 10.2174/1381612824666180110151318
- [5] Ibrahim HMM. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using banana peel extract and their antimicrobial activity against representative microorganisms. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences.* 2015;8:265-275. DOI: 10.1016/j.jrras.2015.01.007
- [6] Nurit Beyth, Yael Houry-Haddad, Avi Domb, Wahid Khan, Ronen Hazan. Alternative Antimicrobial Approach: Nano-Antimicrobial Materials. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2015; 2015: 246012. DOI: 10.1155/2015/246012
- [7] Najafi-Taher R, Ghaemi B, Kharazi S, Rasoulikoochi S, Amani A. Promising Antibacterial Effects of Silver Nanoparticle-Loaded Tea Tree Oil Nanoemulsion: a Synergistic Combination Against Resistance Threat. *AAPS PharmSciTech.* 2017 Dec 7. DOI: 10.1208/s12249-017-0922-y.
- [8] Kora AJ, Sashidhar R.B. Biogenic silver nanoparticles synthesized with rhamnogalacturonan gum: Antibacterial activity, cytotoxicity and its mode of action. *Arabian Journal of Chemistry.* 2014. DOI: 10.1016/j.arabjc.2014.10.036
- [9] Mat Zain N., Stapley AGF, Shama G. Green synthesis of silver and copper nanoparticles using ascorbic acid and chitosan for antimicrobial applications. *Carbohydrate Polymers.* 2014;112:195–202. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.05.081
- [10] Murugan K, Balakrishnan S, Senbagam D, Al-Sohaibani S. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Acacia leucophloea* extract and their antibacterial activity. *International Journal of Nanomedicine.* 2014;9:2431–2438. DOI: 10.2147/IJN.S61779
- [11] Ramesh PS, Kokila T, Geetha D. Plant mediated green synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles using *Emblica officinalis* fruit extract. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.* 2015;142:339–343. DOI: 10.1016/j.saa.2015.01.062
- [12] Shinde NM, Lokhande AC, Lokhande CD. A green synthesis method for large area silver thin film containing nanoparticles. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology.* 2014;136:19–25. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2014.04.011
- [13] Roy N, Gaur A, Jain A, Bhattacharya S, Rani V. Green synthesis of silver nanoparticles: An approach to overcome toxicity. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 2103;36:807-812. DOI: 10.1016/j.etap.2013.07.005
- [14] Bindhu MR, Umadevi M. Antibacterial and catalytic activities of green synthesized silver nanoparticles *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 2015;135:373–378. DOI: 10.1016/j.saa.2014.07.045.
- [15] Anastas P. *Green Chemistry: Theory and Practice.* Oxford University Press; 2000. 135 p. ISBN: 9780198506980

- [16] Kumar K, Anand H, Mandal BK. Activity study of biogenic spherical silver nanoparticles towards microbes and oxidants. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2015;135:639–645. DOI: 10.1016/j.saa.2014.07.013
- [17] Liu L, Liu T, Tade M, Wang S, Li X, Liu S. Less is more, greener microbial synthesis of silver nanoparticles. *Enzyme and microbial technology*. 2014;67:53-58. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2014.09.003
- [18] Blanckaert I, Paredes-Flores M, Espinosa-Garcia FJ, Piero D, Lira R. Ethnobotanical, morphological, phytochemical and molecular evidence for the incipient domestication of Epazote (*Chenopodium ambrosioides* L.: *Chenopodiaceae*) in a semi-arid region of Mexico. *Genet. Resour. Crop Evol.* 2012;59:557–573. DOI 10.1007/s10722-011-9704-7
- [19] Barros L, Pereira E, Calhelha R, Dueñas M, Carvalho AM, Santos-Buelga C, Ferreira I. Bioactivity and chemical characterization in hydrophilic and lipophilic compounds of *Chenopodium ambrosioides* L. *Journal of Functional Foods*. 2013;5:1732-1740. DOI: 10.1016/j.jff.2013.07.019
- [20] Carrillo-López L, Zavaleta-Mancera H, Vilchis-Nestor A, Soto-Hernández M, Arenas-Alatorre J, Trejo-Téllez L, Gómez-Merino F. Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using *Chenopodium ambrosioides*. *Journal of Nanomaterials*. 2014, Article ID 951746, 9 pages DOI: 10.1155/2014/951746
- [21] Kiuchi F, Itano Y, Uchiyama N, Honda G, Tsubouchi A, Nakajima-Shimada J, Aoki T. Monoterpene hydroperoxides with trypanocidal activity from *Chenopodium ambrosioides*. *J. Nat. Prod.* 2002;65:509-512. DOI: 10.1021/np010445g
- [22] Banche G, Roana J, Mandras N, Amasio M, Gallesio C, Allizond. *et al.* Microbial adherence on various intraoral suture materials in patients undergoing dental surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007 Aug;65(8):1503-7.
- [23] Leknes KN, Selvig KA, Bøe OE, Wikesjö UM. Tissue reactions to sutures in the presence and absence of anti-infective therapy. *J Clin Periodontol.* 2005;32(2):130-138. DOI: 10.23736/S0026-4970.17.03966-8
- [24] Niaounakis M. *Biopolymers: Applications and Trends*. *Plastics Design Library series*, Elsevier; 2015. 604 p. ISBN: 9780323353991
- [25] Frost & Sullivan Market Insight. Does the Suture have a Future? [Internet]. 2002. Available from: <http://www.frost.com/prod/servlet/market-insight-print.pag?docid=MBUT-5FGQ8S> [Accessed: 2017-12-01]
- [26] Srisuwan Y, Srisaard M, Sittiwet Ch, Baimark Y, Narkkong N-A, Butiman Ch. Preparation and characterization and characterization of nanocomposite and nanoporous silk fibroin films. *J. Applied Sci.* 2008;8(12):2258-2264. DOI: 10.3923/jas.2008.2258.2264
- [27] Srinivasulu KN, Dhiraj K. A review on properties of surgical sutures and applications in medical field. *International Journal of Research in Engineering & Technology*. 2014;2:85-96. ISSN(P): 2347-4599
- [28] Jayshree A, Thangaraju N. Green synthesis of silver nanoparticles: characterization and determination of antibacterial potency. *Appl Nanosci.* 2016;6:259–265. DOI: 10.1007/s13204-015-0426-6
- [29] Jannathul M, Firdhouse L. Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Its Applications. *Journal of Nanotechnology*. 2015; Article ID 829526, 18 pages. DOI:10.1155/2015/829526
- [30] García-Contreras R, Argueta-Figueroa L, Mejía-Rubalcava C, Jiménez-Martínez R, Cuevas-Guajardo S, Sánchez-Reyna P, Mendieta-Zerón H. Perspectives for the use of silver nanoparticles in dental practice. *International Dental Journal*. 2011; 61: 297-301. DOI: 10.1111/j.1875-595X.2011.00072.x
- [31] Mattos-Corrêa J, Mori M, Lajas-Sanches M, Dibo da Cruz A, Edgard Poiate Jr E., Venturini-Pola-Poiate A. Silver nanoparticles in dental biomaterials. *International Journal of Biomaterials*. 2015; Article ID 485275, 9 pages. DOI:10.1155/2015/485275
- [32] Guzmán M, Dille J, Godet S. Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine*. 2012; 8: 37-45. DOI: 10.1016/j.nano.2011.05.007

- [33] Dakal TC, Kumar A, Majumdar RS, Yadav V. Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles. *Frontiers in Microbiology*. 2016;7:1831. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01831.
- [34] Wang L, Hu C, Shao L. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *International Journal of Nanomedicine*. 2017;12:1227-1249. DOI:10.2147/IJN.S121956.
- [35] Vilchis-Nestor AR, Sanchez-Mendieta V, Camacho-Lopez MA, Gomez-Espinosa RM, Camacho-Lopez MA, Arenas-Alatorre JA. Solventless synthesis and optical properties of Au and Ag nanoparticles using *Camellia sinensis* extract. *Materials Letters*. 2008;62:3103-3105. DOI: 10.1016/j.matlet.2008.01.138
- [36] Rosas-Piñóna Y, Mejía A, Díaz-Ruiz G, Aguilar MI, Sánchez-Nieto S, Rivero-Cruz JF. Ethnobotanical survey and antibacterial activity of plants used in the altiplane region of Mexico for the treatment of oral cavity infections. *Journal of Ethnopharmacology*. 2012;141:860–865. DOI: 10.1016/j.jep.2012.03.020
- [37] Carrillo-López L, Zavaleta-Mancera H, Vilchis-Nestor A, Soto-Hernández M, Arenas-Alatorre J, Trejo-Tellez L, Gómez-Merino F. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Chenopodium ambrosioides*. *Journal of Nanomaterials*. 2104;ID 951746, 9 pages. DOI: 10.1155/2014/951746
- [38] Hou S-Q, Li Y-H, Huang X-Z, Li R, Lu H, Tian K. Polyol monoterpenes isolated from *Chenopodium ambrosioides*. *Journal of Natural Product Research*. 2017;31:2467-2472. DOI: 10.1080/14786419.2017.1314278
- [39] Vilchis-Nestor AR, Nolasco-Arizmendi V, Morales-Luckie RA, Sánchez-Mendieta V, JP Hinnestroza JP, Castro-Longoria E. Formation of silk-gold nanocomposite fabric using grapefruit aqueous extract. *Textile Research Journal*. 2012;83(12)1229-1235. DOI: 10.1177/0040517512461697
- [40] Zhang D, William G, Hong T, Lin H, Yuyue. In situ synthesis of silver nanoparticles on silk fabric with PNP for antibacterial finishing. *J Mater Sci*. 2012;47:5721. DOI: 10.1007/s10853-012-6462-7
- [41] Mahendra R, Ranjita S. *Metal Nanoparticles in Pharma*. Springer; 2017. 493 p. ISBN: 978-3-319-63790-7
- [42] Tillotson GS, Theriault N. New and alternative approaches to tackling antibiotic resistance. *F1000Prime Reports*. 2013;5:51. DOI:10.12703/P5-51.
- [43] Richter K, Van den Driessche F, Coenye T. Innovative approaches to treat *Staphylococcus aureus* biofilm-related infections. *Essays Biochem*. 2017 Mar 3;61(1):61-70. DOI: 10.1042/EBC20160056.

7.2 Capítulo de libro enviado

7.2.1 Título del capítulo de libro enviado

Antibacterial effect of silver nanoparticles *versus* Clorhexidine against *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus casei*.

7.2.2 Carta de aceptación

Dear Dr. Morales Luckie,

Your chapter in the book under the working title "Silver Nanoparticles," ISBN 978-953-51-6035-9 is ready for proof corrections.

NEXT STEP: Proof Corrections
DEADLINE: 09 April, 2018

Please log into your Author Panel:
<https://mts.intechopen.com/booksprocess/index/chapter/135862> to access the Typeset Proof of your chapter.

At this stage you are asked to download and go through the Typeset Proof of your chapter and note down all the corrections in the Proof Corrections Form. Please note that making changes to the content at this stage is not possible.

If you have any questions, feel free to contact me by phone or email.

Cordially,

Mr. Julian Virag
Publishing Process Manager

InTech - open science | open minds
Email: virag@intechopen.com
Website: www.intechopen.com
Phone: +385 51 688 994
Fax: +385 51 686 166

[Janeza Trdine 9](#)
51000 Rijeka, Croatia

The information contained in this document are confidential and are intended only for the recipient. The contents may not be disclosed publicly. If you are not the intended recipient(s), any use, disclosure, copying, or distribution is prohibited and may be unlawful. If you have received this document in error, please notify us by e-mail at info@intechopen.com then delete the document and any copies thereof. This communication is part of IN TECH publishing activity and is not intended for unauthorized use or distribution.

7.2.3 Resumen

El propósito del estudio fue evaluar el efecto antibacteriano de las nanopartículas de plata (Ag-NPs) frente a clorhexidina (CHX) contra *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus casei*.

Se usaron tres agentes reductores diferentes para la síntesis y caracterización de Ag-NPs; borohidruro de sodio (NaBH₄), un método químico y dos métodos ecológicos; *Heterotheca inuloides* (*Hi*) y *Camellia sinensis* (*Cs*). La sustancia sintetizada fue depositada en dientes deciduos. Su comportamiento en tejidos dentales se evaluó a través de un análisis EDS, utilizando un microscopio electrónico de barrido (SEM). La caracterización de Ag-NPs en términos de forma, tamaño y polidispersidad se realizó mediante espectrofotometría de luz ultravioleta visible (UV-Vis), así como mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM). El aislamiento y cultivo de cepas *S. mutans* y *L. casei* permitieron realizar el análisis microbiológico.

En las cajas de Petri, los discos de papel que contenían diferentes concentraciones de Ag-NPs (sintetizados por *Hi* y por *Cs*) se depositaron y probaron junto con discos de papel que contenían CHX. Su efecto antibacteriano contra ambas bacterias se evaluó mediante la prueba de zonas de inhibición.

Mediante el análisis UV-Vis y TEM, se pudo observar que *Heterotheca inuloides* produjo nanopartículas más pequeñas y estables, también en mayores cantidades (17,5 nm) en comparación con *Camellia sinensis*. El análisis de EDS a través de SEM mostró una absorción promedio de 6.47% de plata en peso (0.97% en peso atómico), en los tejidos dentales. El análisis microbiológico reveló una mayor zona de inhibición cuando las bacterias estuvieron en contacto con 20 µl de Ag-NPs, sintetizados por *Hi*; siendo estadísticamente significativo ($p < 0.05$) en comparación con las zonas de inhibición del crecimiento producidas por *Cs* contra ambas cepas.

Podemos concluir que los métodos eco-amigables produjeron Ag-NPs con un importante efecto antibacteriano en ambas cepas.

7.2.4 Apartados del capítulo

InTechOpen Book Chapter Template

Antibacterial effect of silver nanoparticles versus Chlorhexidine against *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus casei*.

Authors: Raúl A. Morales-Luckie¹, Rafael Lopez-Castañares¹, Rogelio J. Scougall-Vilchis², Saraí C. Guadarrama-Reyes², Víctor Sánchez-Mendieta¹

¹ Joint Center for Research in Sustainable Chemistry (CCIQS). Autonomous University of the State of Mexico. Toluca, State of Mexico, Mexico.

² School of Dentistry. Autonomous University of the State of Mexico. Toluca, State of Mexico, Mexico.

*Corresponding author E-mail: ramoralesl@uaemex.mx

Abstract

The purpose of the study was to evaluate the antibacterial effect of Silver nanoparticles (Ag-NPs) versus Chlorhexidine (CHX) against *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus casei*.

Three different reducing agents were used for the synthesis and characterization of Ag-NPs; sodium borohydride (NaBH₄) a chemical method, and two eco-friendly methods; *Heterotheca inuloides* (Hi) and *Camellia sinensis* (Cs). The synthesized substance was deposited in deciduous teeth. Its behavior in dental tissues was evaluated through an EDS analysis, using a Scanning Electron Microscope (SEM). The characterization of Ag-NPs in terms of shape, size, and polydispersity was performed through Spectrophotometry of Visible Ultraviolet Light analysis (UV-Vis), as well as by Transmission Electron Microscopy. Isolation and culture of strains *S. mutans* and *L. casei* allowed performing the microbiological analysis.

In Petri dishes, paper discs containing different concentrations of Ag-NPs (synthesized by Hi, and by Cs) were deposited and tested along with paper discs containing CHX. Their antibacterial effect against both bacteria was evaluated by the inhibition zones test.

By means of UV-Vis and TEM analysis, it was possible to observe that *Heterotheca inuloides* produced smaller and more stable nanoparticles, also in greater quantities (17.5 nm) when compared to *Camellia sinensis*. EDS analysis through SEM, showed a 6.25 average absorption of Silver in dental tissues. The microbiological analysis revealed a greater zone of inhibition when the test bacteria were in contact with 20 µl of Ag-NPs, synthesized by Hi; being statistically significant (p<0.05) compared to the growth inhibition zones produced by Cs against both strains.

We can conclude that eco-friendly methods produced Ag-NPs with an important antibacterial effect in both strains.

Keywords: Silver nanoparticles, Chlorhexidine, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei*, eco-friendly chemistry.

1. Introduction

While the *S. mutans* plays an important role in the initiation of dental caries, *L. casei*, on the other hand, is considered an important secondary invader; both microorganisms are actively involved in the process of tooth decay. [1-5] Dental practitioners recognize that Chlorhexidine has been the gold standard for more than 3 decades, [6-8] it is considered a potent agent against *mutans Streptococci*. Nevertheless *L. casei*, which dominates among oral *Lactobacilli*, is relatively resistant. [9] The main concern about its use is its limited period of substantivity (which is

the ability of chlorhexidine to bind to tissues and release slowly for a longer time), and some reported cytotoxicity cases. [10, 11]

Therefore, we consider it important to use substances with a potent antibacterial effect but with a minor impact on human health and the environment. [12]

In recent years, nanotechnology has become an important discipline in the field of biology. [13] A considerable achievement, is the ability to form atoms and molecules to form new structures, (*id est*; one-billion times smaller than what can be observed with the naked eye). Therefore the new materials and devices can be developed with high atomic precision. Nanoscience involves the use of nanoparticles in a range between 1 and 100 nm to obtain unique and improved properties. [14-20] Nanomedicine is an extremely useful tool, because most of the body's natural processes occur at an almost imperceptible level. [21, 22]

Due to the above, the interest in the study and synthesis of nanoparticles has grown recently. Silver nanoparticles (Ag-NPs) are broad spectrum microbicide agents widely used in health sciences; [23] they are nanostructured materials based on Silver salts. Silver is currently being used to inhibit bacterial growth in a variety of applications, including dentistry. [17, 24] Efforts have been made to explore the properties of Ag-NPs, an efficient way to provide stability and improve antibacterial effect is the reduction in size. [25, 26] It is known that Ag-NPs exert an antimicrobial effect on Gram+ and Gram- producing lysis in peptides of the membrane of microorganisms. [27]

“Eco-friendly” chemistry seeks to reduce waste, and eliminate pollution and environmental damage; promotes the creation of products that are environmental and economically sustainable. [12] Different forms of syntheses have been sought, in which natural and renewable reducing agents are used during the chemical processes. The principles of green chemistry are oriented to the search for new ways of synthesizing substances, not only minimizing the costs but also the damage to human health and reduce environmental pollution, while taking advantage of the benefits and properties of some plants such as *Heterotheca inuloides* (*Hi*) and *Camellia sinensis* (*Cs*), which have shown antimicrobial and inhibitory activity, as well as antioxidant and cytotoxic properties against oral bacteria. [28, 29]

There is an enormous potential of Mexican medicinal plants. [30] *Heterotheca inuloides* (Arnica) is a Mexican plant widely used due to its medicinal properties, it has shown anti-inflammatory and analgesic effect and. [31] The plant grows abundantly in the Mexican region, it has been used as part of folk medicine for the topical treatment of contusions, bruises as well as for the treatment of skin wounds and injuries. [32, 33]

This medicinal herb has been reported to exhibit antimicrobial activity, cytotoxic and antioxidative properties, [34] which has led the World Health Organization (WHO) to recognize its use in medicine. [35]

Several constituents of *H. inuloides* have been identified, mainly, flavonoids, sesquiterpenoids, triterpenoids and sterols. The composition of the essential oil has also been described. Recently, four sesquiterpenoids of *H. inuloides* were identified as antimicrobial agents. [36]

The dried flowers of *H. inuloides* have been used for the treatment of postoperative thrombophlebitis and pathicuse, and externally for acne, bruises and muscle aches in Mexico. Previously, sesquiterpenoids, 7-hydroxy-3,4-dihydrocadalin and 7-hydroxycadalin, were characterized as antibacterial agents from the dried flower of *H. inuloides*. The flavonoids, quercetin, kaempferol and their glycosides were also isolated from the same source and showed tyrosinase inhibitory activity. [37]

2. Experimental

2.1 Synthesis of Silver nanoparticles

Ag-NPs were synthesized from silver nitrate salts with the use of Sodium Borohydride (NaBH₄), (a conventional chemical reducing agent). Pursuing the same purpose; two eco-friendly agents, were separately used as green reducers; *Heterotheca inuloides* and *Camellia sinensis*.

For chemical synthesis; NaBH₄ (in a concentration of 1×10⁻²) was weighed on an analytical balance (Explorer Pro, model EP213C, OHAUS, USA), then dissolved in a flask with distilled water.

A 10 mM silver nitrate solution (AgNO₃, Sigma-Aldrich) was prepared and mixed along with the NaBH₄ solution, in a 1: 2.5 ratio to generate Ag NPs.

The resulting solution was placed in a beaker on a heating grate, (Thermo Scientific Cimarec). Using a magnetic stirrer the incorporation of powder was achieved. The mixture was centrifuged with filter paper, allowing obtaining the smallest particles (ie. nanoscale).

Water (H₂O) and alcohol (ETOH), were separately used, as diluents.

The ecofriendly synthesis was performed collecting dried flowers of *Hi* and *Cs*.

The leaves were mashed to a powder and mixed to obtain a homogeneous sample, (both powders were used separately for the synthesis). 1 gram of each powder was immersed in 100 mL of distilled water, and underwent a boiling process. Afterwards, the solution was filtered through a filter paper.

2.2 Characterization of Ag NPs

Following Ag-NPs formation, UV-Vis analysis was carried out every hour, for the next six hours. UV-Vis spectra measurements were recorded on a Cary 5000 UV-Vis-NIR Scanning Spectrophotometer using quartz cells. The wavelength range from 300 to 600 nm.

To observe the size and shape of solutions; TEM analysis was also carried out with a JEOL JEM-2100-Tokyo, Japan Microscope.

SEM analysis was performed in a JSM-6510-LV microscope (JEOL) at 20 kV of acceleration, using secondary electrons.

The two eco-friendly substances were deposited in 20 deciduous teeth to analyze, through EDS (energy dispersive spectroscopy) the behavior of silver in dental tissues.

2.3 Microbiological analysis.

Strains of *S. mutans* and *L. Casei*, were isolated and cultivated in specific mediums for their growth (Gold mitis salivarius and Rogosa). Petri dishes contained discs embedded with Ag-NPs synthesized by the two eco-friendly reducing agents, at different concentrations; 10µl, 20µl and 30µl. Some discs were used as blank control, and others were embedded with 2% CHX (Consepsis Ultradent products Inc). Petri dishes were incubated at 37°C for 48 hours. The inhibitory halos of each substance were measured in millimeters to compare the antibacterial effect at different doses.

3. Results

The synthesis with H₂O provided more stable Ag-NPs, because the chemical polarity of a molecule of water is greater than that of ETOH, and through the boiling process (applying heat to the mixture); the active ingredients are extracted from the infusions. UV-Vis analysis determined, through the formation of the Plasmon (maximum peak where light is absorbed), that Ag-NPs synthesized by *Hi* showed more stable and smaller nanoparticles in greater quantities compared to *Cs* but bigger than NaBH₄, because this is a more drastic reducing agent. (Figure 1)

UV-Vis showing that the plasmon wavelength lies between 440nm and 456nm in Ag-NPs synthesized by *Heterotheca inuloides* A). While the plasmon wavelength lies between 355nm and 448nm in Ag-NPs synthesized for *Camellia sinensis* B); which, unambiguously, indicates the presence of silver nanoparticles under the specific conditions of each synthesis. The plasmon wavelength lies between 385 nm and 401 nm in Ag-Np synthesized by Sodium Borohydride because this is a more drastic reducing agent C).

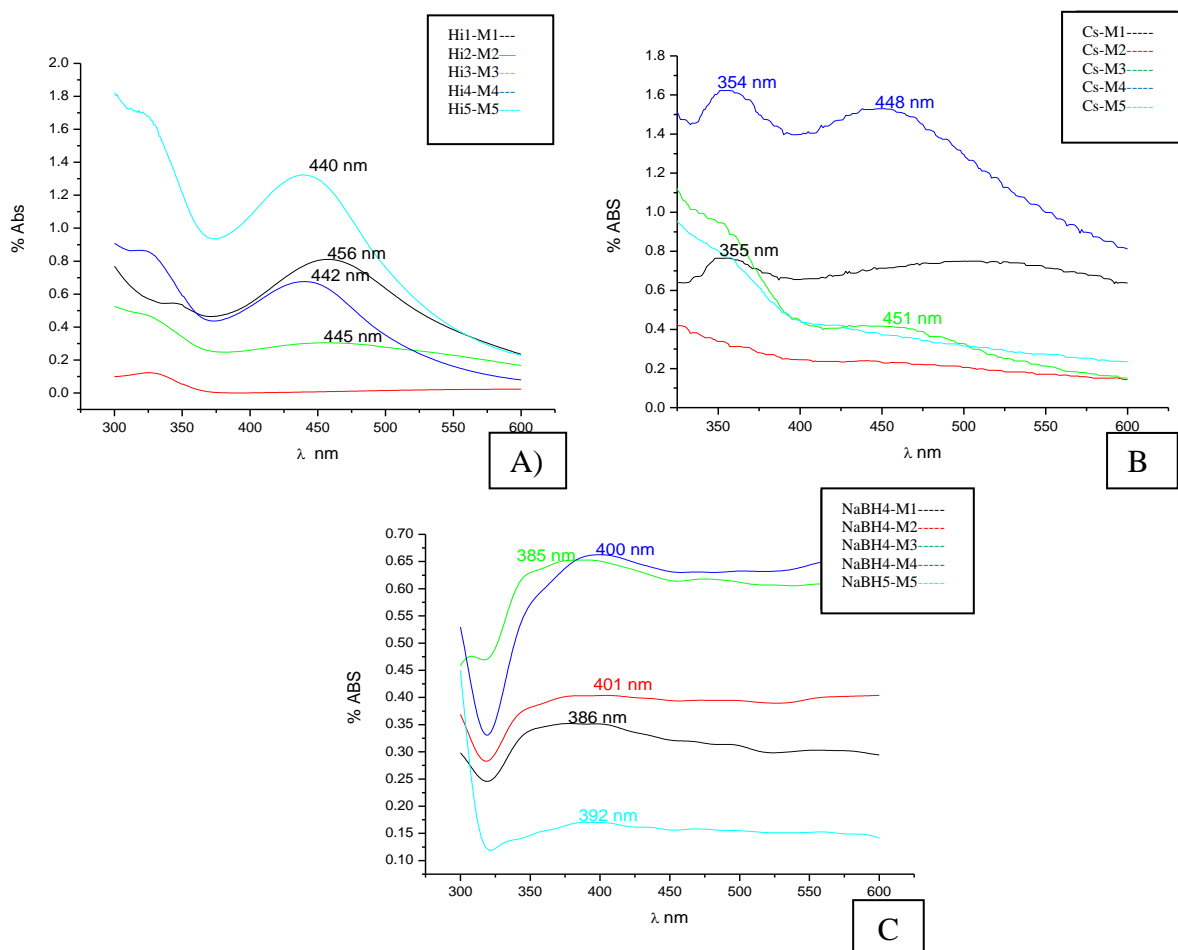


Figure 1. UV- Visible Spectroscopy Analysis of Ag-Np synthesized by A) *Heterotheca inuloides*, B) *Camellia sinensis* and C) Sodium Borohydride.

TEM allowed us to see that *Hi* showed smaller nanoparticles than *Camellia sinensis* while Sodium borohydride were smaller. (Figure 2)

Characterization of Ag-Np by TEM

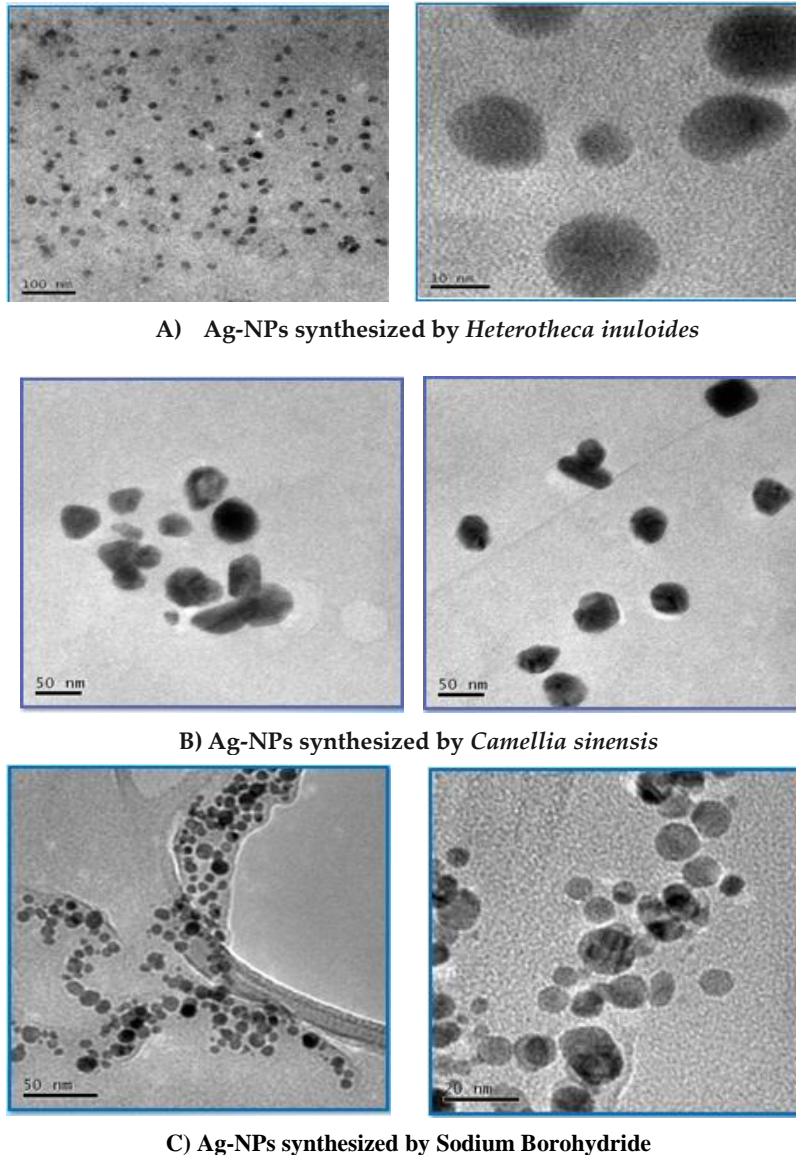
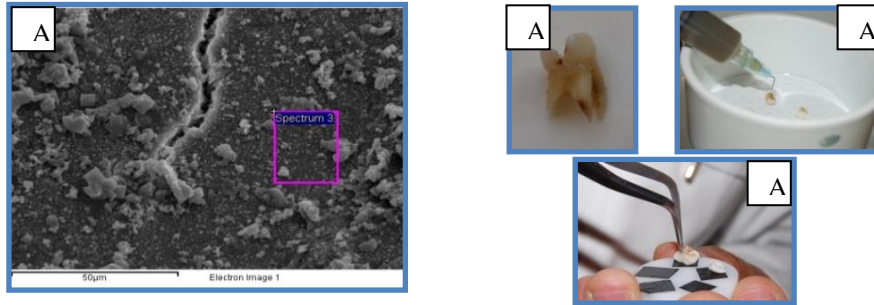


Figure 2. The size of Silver nanoparticles synthesized by two ecofriendly reducing agents is shown, A) *Heterotheca inuloides* (17.5nm) and B) *Camellia sinensis* (48.2nm) and C) Sodium Borohydride (8 nm) .

Assessment of Ag NPs impregnated teeth was performed through EDS (Energy Dispersive Espectroscopy) analysis. A 6.26 weight percent mean absorption of Silver to dental tissues was found among the total percent; meaning: Ag-NPs are compatible with deciduous teeth. A statistical analysis at a confidence level of 95% was set. Figure 3 (A and B)

Elemental chemical analysis through EDS by SEM.



A) Lower deciduous molar through

	Lower Deciduous Molar	Weight percent	Atomic percent
B	C	43.70	59.11
	O	30.99	31.47
	P	6.76	3.54
	Ca	12.09	4.90
	Ag	6.47	0.97
B	TOTAL	100	100

B) Absorption of Silver to teeth through EDS

Figure 3. Weight percent of elements on deciduous teeth showing the absorption of silver

Student t test for unknown variances was used to establish the average inhibition of bacterial growth. A higher antibacterial effect of Ag-NPs synthesized with Hi, followed by Cs was observed, compared with CHX, particularly at the dose of 20µl. The effect on both bacteria was similar. The results were statistically significant to a confidence level of 95%. (Figure 4 and table 1)

In vitro analysis of antibacterial effect of Ag-NPs synthesized by two ecofriendly reducing agents versus Chlorhexidine.

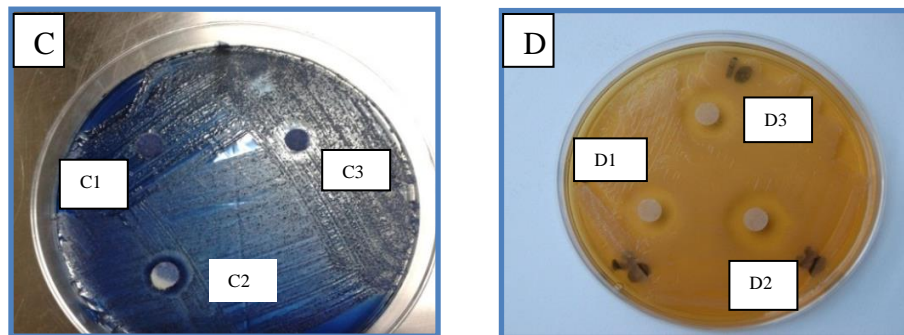


Figure 4. Petri dishes showing inhibitory halos of the discs rinsed with Ag-NPs by two reducing agents (Hi and Cs) versus Chlorhexidine against *S. mutans* and *L. casei*.

C1. Blank disc. C2. Disk containing Chlorhexidine. C3. Disk containing Ag-NPs synthesized by *Hi* versus *S. mutans*.

D1. Disk containing 30µL of Ag-NPs synthesized by *Hi*. D2. Disk containing 20µL. D3. Disk containing 10µL versus *L. casei*.

Values of inhibitory halos of Ag-NPs with two eco-friendly reducing agents and Chlorhexidine T

Doses	Against <i>S. mutans</i>				Against <i>L. casei</i>			
	Mean	S.D	Minimum value	Maximum value	Mean	S.D	Minimum value	Maximum value
10 microliters								
Ag-Np reduced by Camellia sinensis	6.20	0.264	5.9	6.4	6.26	0.404	5.8	6.5
Ag-Np reduced by Heterotheca inuloides	5.43	0.404	5.0	5.8	5.43	0.153	5.3	5.6
Chlorhexidine	5.60	0.264	5.3	5.8	5.56	0.493	5.0	5.9
20 microliters								
Ag-Np reduced by Camellia sinensis	6.38	0.252	6.6	7.1	7.00	0.264	6.8	7.3
Ag-Np reduced by Heterotheca inuloides	6.93	0.416	6.6	7.4	6.93	0.231	6.8	7.2
Ag-Np reduced by Chlorhexidine	6.06	0.305	5.8	6.4	5.83	0.568	5.2	6.3
30 microliters								
Ag-Np reduced by Camellia sinensis	6.03	0.252	5.8	6.3	6.30	0.458	5.8	6.7
Ag-Np reduced by Heterotheca inuloides	6.56	0.737	6.0	7.4	6.50	0.781	6.0	7.4
Chlorhexidine	5.83	0.252	5.6	6.1	5.70	0.700	5.0	6.4

T en mm. SD. Standar deviation

Table 1. As can be seeing on the experimental data; with the agents used at different concentrations, the inhibitory halos' size ranged from 5.0mm to 7.4mm. The highest growth inhibition means were observed at doses of 20µl. The greater variability in the size of halos was observed with Ag-NPs synthesized with *Hi*.

4. Discussion

We consider it important that dental science, look for treatment alternatives incorporating products of natural origin, such as green plants. Mexico's varied vegetation, allow to implement traditional medicine, as an alternative treatment for various diseases, including dental caries. Eco-friendly chemistry may propose a dental practice that is environmentally and economically sustainable. Nanotechnology has moved rapidly towards the improvement of health. The incorporation of silver salts in dental materials allows the dentist to ensure a longer lasting effect against pathogenic microorganisms.

As it is known, the size of bacteria is measured in microns, three orders of magnitude greater than the nanoparticles obtained by any of the three methods used, therefore the probability that nanoparticles come into contact with bacteria is higher when the size of Ag-NPs is smaller, hence *Hi* turns out to be the best eco-friendly reducing agent.

L. casei has shown some resistance to Chlorhexidine. [9] In this study it is shown that green-Ag-NPs inhibited both *L. casei* and *S. mutans*. Ag-NPs at a concentration of 1×10^{-2} showed acceptable antibacterial effect when compared to 2% CHX (containing 20mg of Chlorhexidine gluconate). The concentration used in Ag-NPs is minimal (nm) compared with the various concentrations shown in different presentations of CHX. [6, 7], [38-42]

The knowledge of nanoscience and the emergence of new technologies in the medical practice can transform the traditional way of attending a patient and promote a new paradigm based not only on clinical experience, but on the use of technological tools.

Having not found in our country, a study where Ag-NPs were in contact with deciduous teeth, in order to observe its behavior, the authors would like to propose deeper research in this matter.

The study of tissues from a nanoscale perspective; at molecular and cellular levels, leads to a better understanding of the structure function-physiological relationship of oral structures, making it possible that diseases can be better understood and thereby prevented. [43]

Ag-NPs have demonstrated efficacy to inhibit the main microorganisms causing tooth decay, so the authors consider relevant continuing research in this area. Ag-NPs can be used in various fields of treatment as an effective antibacterial agent, as an example, we can mention, the area of Periodontology, where its action as a mouthwash agent can reduce gingival conditions. It is also possible to prepare toothpastes combining the antibacterial effect of silver and the benefits of green plants. In other areas of dental practice; Ag-NPs can be added to traditional dental cements or surgical materials and thereby diminish the risk of a possible postoperative infection.

From the visionary talk "There's Plenty of Room at the Bottom", given by physicist Richard Feynman in the American Physical Society meeting at Caltech in the late fifties, from the "nanorobots" used in medicine; Nanodentistry can really improve dental practice, and treat common problems, such as dental hypersensitivity, implant placement, provide more durable and biocompatible restorations, more precise orthodontic treatments and reduce the appearance of gum and bone diseases. [44]

5. Conclusions

Interpretation of the UV-Vis spectra and images obtained through TEM showed that the formation of silver nanoparticles is more effective when the active ingredients are extracted from the bioreducing agents in the boiling process. Indicating that the polarity of the active ingredients is similar to that of water; and that temperature plays an important role by increasing solubility and antibacterial effect. It is also concluded that nanoparticles obtained by Hi have a very good size (17nm) in sufficient quantity and with a narrow particle size distribution.

Ag-NPs can be an alternative for treatment, not only against the Dental Caries, but also to prevent the formation of pathogenic bacteria affecting the balance of the oral cavity. They may be an option to reduce the harmful effect of the major pathogens, to diminish postoperative infectious processes, while representing an attractive option as part of the eco-friendly substances, which would result not only in less costly drugs, but also in substances with a minor risk to human health and the environment.

Conflict of Interest

The authors declare that they have not conflict of interest.

References

- [1] Allah A. Ibrahim M. Al-atrouny A. Effect of black tea on some cariogenic bacteria. *World Appl. Sci. J.* 2011; 12 (4): 552-558
- [2] Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev.* Dec 1986; 50(4): 353-380.
- [3] Li M., Lai G., Wang J. The prevalence of virulent clonal strains of *mutans streptococci* in vivo and co-culture succession of the strains in vitro. *J. of Stomatology* 2011; 1: 18-24

- [4] Loesche W., Rowan J., Straffon L., Loops P. Association of Streptococcus mutans with human dental decay. *Infect Immun.* 1975; 11: 1252-1259.
- [5] Yonglin D, Wei W, Meng F, Zhongchun T, Rong K, WenKai J, Longxing N. Antimicrobial and anti-biofilm effect of Bac8c on major bacteria associated with dental caries and Streptococcus mutans biofilms. *Peptides* 52 (2014) 61–67.
- [6] Macias J, Arreguin V, Munoz J, Alvarez JA, Mosqueda JL, Macias AE. Chlorhexidine is a better antiseptic than povidone iodine and sodium hypochlorite because of its substantive effect. *American Journal of Infection Control.* 2013; 41: 634-7.
- [7] Mathur S., Mathur T., Srivasta R., Khatri R. Chlorhexidine: The gold standard in chemical plaque control. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology* 2011; 1 (2): 45-50
- [8] Jones c. Chlorhexidine: is it still the gold standard? *Periodontol* 2000 1997; 15: 55-62
- [9] Emilson C. Potential efficacy of Chlorhexidine against Mutans Strepctocci and Human dental caries. *J Dent Res* 1999; 73 (4): 682-691
- [10] Yi-Ching Li, Yu-Hsiang Kuan, Tzu-Hsin Lee, Fu-Mei Huang, Yu-Chao Chang. Assessment of the cytotoxicity of chlorhexidine by employing an in vitro mammalian test system. *Journal of Dental Sciences* 2014; 9,130-35
- [11] T.-H. Lee, C.-C. Hu, S.-S. Lee, M.-Y. Chou, Y.-C. Chang. Cytotoxicity of chlorhexidine on human osteoblastic cells is related to intracellular glutathione levels. *International Endodontic Journal.* doi:10.1111/j.1365-2591.2010.01700.x
- [12] Anastas P., Autor J. *Green Chemistry: Theory and Practice.* Oxford University Press, 2000 pp. 1- 135
- [13] Poole C, Owens F. *Introduction to Nanotechnology.* Wiley Ed. 2003 USA pp. 1-387
- [14] Sahoo S., Parveen S., Panda J. The present and future of nanotechnology. *Nanomedicine: Nanotechnology, biology and medicine* 2007; 3: 20-31
- [15] Cobo L., Akyildiz I. Bacteria-based communication in nanonetworks. *Nanocomunication Network* 2010; 1: 244-256.
- [16] Editorial. The future of Nanotechnologies. *Technovation* 32(2012)157–160.
- [17] García-Contreras R., Argueta-Figueroa L., Mejía-Rubalcava C., Jiménez- Martínez R., Cuevas-Guajardo S., Sánchez-Reyna P., Mendieta- Zerón H. Perspectives for the use of silver nanoparticles in dental practice. *International Dental Journal* 2011; 61: 297-301.
- [18] Sánchez F, Sobolev K. Nanotechnology in concrete- A review. *Construction and Building materials* 2010; 24: 2060-2071.
- [19] Beer C., Foldbjerg R., Hayashi Y., Sutherland D., Autrup H. Toxicity of silver nanoparticles-nanoparticle or silver ion? *Toxicology letters* 2012; 208: 286-292.
- [20] Siddhartha S, Tanmay B, Arnab R, Gajendra S, Ramachandrarao P, Debabrata D, Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. *IOP Nanotechnology* 2007; 18 (22): 1-9

- [21] Sung J., Kuk E., Yu K., Kim J., Park A., Lee H., Kim S., Park Y., Hwang C., Kim Y., Lee Y., Jeong D., Cho M. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine* 2007; 3: 95-101.
- [22] Caruthers S, Wickline S, Lanza G. Nanotechnological applications in medicine. *Current Opinion in Biotechnology* 2007, 18:26–30.
- [23] Parveen S, Misra, R, Sahoo SK. Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 2012; 8: 147–66
- [24] Guzmán M., Dille J., Godet S. Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine* 2012; 8: 37-45.
- [25] Wu Q., Cao H., Luan Q., Zhang J., Wang Z., Warner J. Watt A. Biomolecule-assisted synthesis of water-soluble Silver Nanoparticles and their biomedical applications. *Inorg Chem* 2008; 47: 5882-5888
- [26] Rajan S, Acharya S, Saraswathy V. Nanodentistry. *Indian J.Sci.Res.* 2013; 4(2): 233-38
- [27] Fayaz AM, Balaji K, Girilal M, Yadav R, Kalaichelvan PT, Venketesan R. Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 2010; 6 (1): 103-9
- [28] Delgado G., Olivares M., Chávez M., Ramírez T., Linares E., Bye Robert., Espinosa-García F. Antiinflammatory Constituents from *Heterotheca inuloides*. *J. Nat. Prod* 2000; 64: 861-864
- [29] Jalayer N., Niakan M., Kharazi F., Zardi S. Antibacterial activity of Iranian green and black tea on *Streptococcus mutans*: an in vitro study. *Journal of Dentistry* 2011; 8 (2): 55-59
- [30] Ethnobotanical survey and antibacterial activity of plants used in the Altiplane region of Mexico for the treatment of oral cavity infections Yazmín Rosas-Piñóna,¹ Alicia Mejíaa, Gloria Díaz-Ruizb, María Isabel Aguilara, Sobeida Sánchez-Nietoc, J. Fausto Rivero-Cruza,* *Journal of Ethnopharmacology* 141 (2012) 860– 865
- [31] Antioxidant activity of *Heterotheca inuloides* extracts and of some of its metabolites. Elvia Coballase-Urrutia, José Pedraza-Chaverri, Rafael Camacho-Carranza, Noemí Cárdenas-Rodríguez, Bernardino Huerta-Gertrudis, Omar Noel Medina-Campos, Myrna Mendoza-Cruz, Guillermo Delgado-Lamas, J. Javier Espinosa-Aguirre. *Toxicology* 276 (2010) 41-48.
- [32] Delgado G., Olivares M., Chávez M., Ramírez T., Linares E., Bye Robert., Espinosa-García F. Antiinflammatory Constituents from *Heterotheca inuloides*. *J. Nat. Prod* 2000; 64: 861-864
- [33] Hepatoprotective effect of acetonic and methanolic extracts of *Heterotheca inuloides* against CCl₄-induced toxicity in rats Elvia Coballase-Urrutia a,b, José Pedraza-Chaverri, Noemí Cardenas-Rodríguez, Bernardino Huerta-Gertrudis, recedes Edna Garcia-Cruz, Aline Ramirez-Morales, Dolores Javier Sanchez-Gonzalez, Claudia Maria Martinez-Martinez, Rafael Camacho-Carranza, Jesús Javier Espinosa-Aguirre. *Experimental and Toxicologic Pathology* 63(2011)363–370

- [34] Antioxidative constituents in *Heterotheca inuloides*. Haraguchi Hiroyuki, Ishikawa Harumi, Sánchez Yolanda, Ogura Tetsuya, Kubo Yumi, Kubo Isao. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. Vol 5. No. 5, 865-71. 1997.
- [35] World Health Organization. "General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine". 2000
- [36] Gene R, Segura L, Adzet T, Marin E, Iglesias J. *Heterotheca inuloides*: Anti-inflammatory and analgesic effect. *Journal of Ethnopharmacology* 60 (1998) 157–162
- [37] Haraguchi H, Ishikawa H, Sanchez Y, Ogura T, Kubo Y, Kubo I. Antioxidative Constituents in *Heterotheca inuloides*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Vol. 5, No. 5, pp 865-871, 1997 Elsevier Science Ltd All rights reserved. Printed in Great Britain PII: S0968-0896(97)00029-1 0968-0896/97.
- [38] Komorowski R, Grad H, Yu Wu X, Friedman S. Antimicrobial Substantivity of Chlorhexidine-Treated Bovine Root Dentin. *Journal of Endodontics*. 2000; 26 (6): 315-317.
- [39] Mc. Coy L., Wehler C., Rich S., García R., Miller D., Jones J. Adverse events associated with chlorhexidine use: Results from the Department of Veterans Affairs Dental Diabetes study. *JADA* 2008; 139 (2): 178-183
- [40] Singh H., Kapoor P., Meshram G., Warhadpande M. Evaluation of substantivity of chlorhexidine to human dentin and its application in adhesive dentistry-an in vitro analysis. *Indian Journal of Dentistry* 2011; (2): 8-10
- [41] Zanatta F., Antoniazzi R., Rosing C. The effect of 0.12% Chlorhexidine gluconate rinsing on previously plaque-free and plaque-covered surfaces: a randomized, controlled clinical trial. *J Periodontol* 2007; 78 (11): 2127-2134
- [42] Saliba CF, Oliveira HF, Breder J, Dario R, Córtes ME. Evaluation of the substantivity of clorhexidine in association with sodium fluoride in vitro. *Pesqui Odontol Bras* 2003; 17 (1): 78-81
- [43] Preeti-Satheesh Kumar, Satheesh-Kumar, Ravindra S, and Jins J. Nanodentistry: A Paradigm Shift-from Fiction to Reality. *J Indian Prosthodont Soc*. 2011 Mar; 11(1): 1–6. DOI: 10.1007/s13191-011-0062-0
- [44] Nature nanotechnology. VOL 4. DECEMBER 2009. www.nature.com/naturenanotechnology.
- [45] Ozak ST, Ozkan P. Nanotechnology and dentistry. *European Journal of Dentistry*. 2013;7(1):145-151.

8 Resultados adicionales

Al ser la seda, y catgut, suturas de origen natural y materiales multifilamentosos que pueden favorecer la acumulación de bacterias en sus intersticios, resulta importante hacer notar que ambas suturas fueron preparadas siguiendo el mismo protocolo, y se encontró que las nanopartículas de plata, se impregnan adecuadamente a los hilos de sutura, dando como resultado 2 bionanocompositos.

Mediante imágenes de SEM, es posible observar la morfología de la superficie de las muestras, de manera tridimensional, mediante las interacciones de electrón-materia.

A continuación se muestran micrografías de seda impregnadas con Np-Ag sintetizadas por ambos bioreductores de manera independiente.

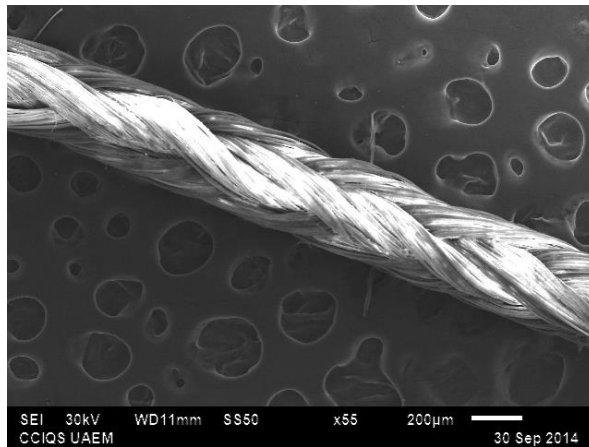


Figura 2. Seda impregnada con Np-Ag sintetizadas por *Heterotheca inuloides*. Fuente CCIQS

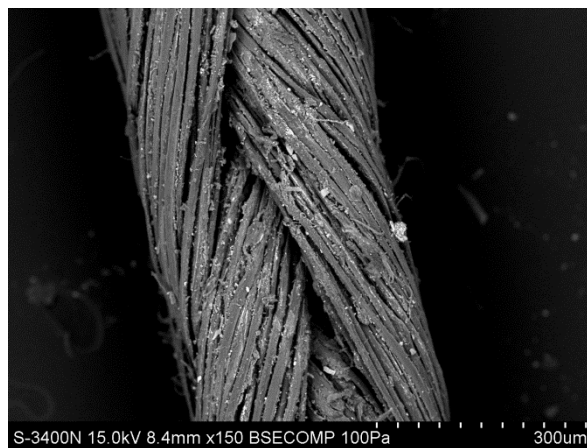


Figura 3. Seda impregnada con Np-Ag sintetizadas por *Heterotheca inuloides*.

Fuente CSUB (California State University at Bakersfield)

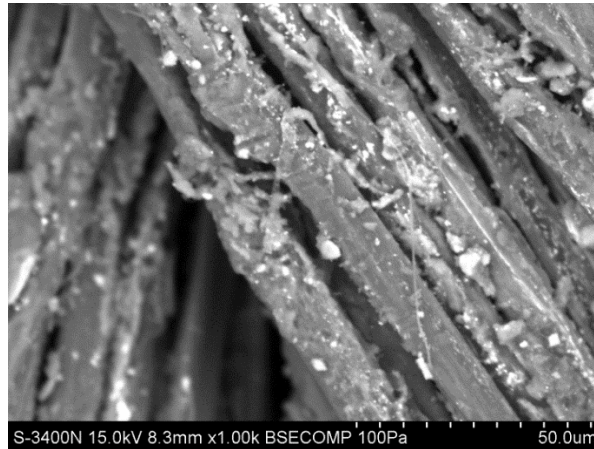


Figura 4. Seda impregnada con Np-Ag sintetizadas por *Heterotheca inuloides*.

Fuente CSUB (California State University at Bakersfield)

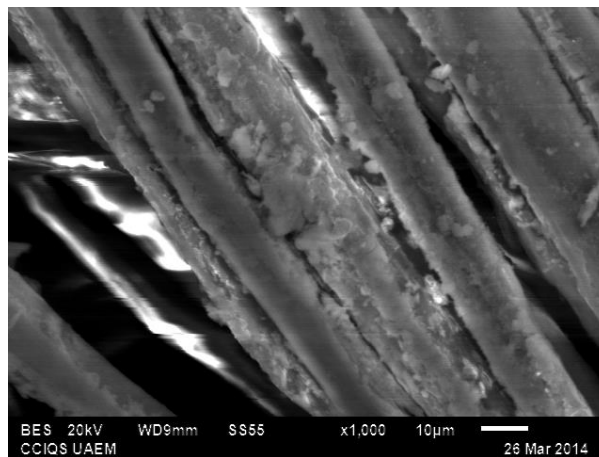


Figura 5. Seda impregnada con Np-Ag sintetizadas por *Heterotheca inuloides*. Fuente CCIQS

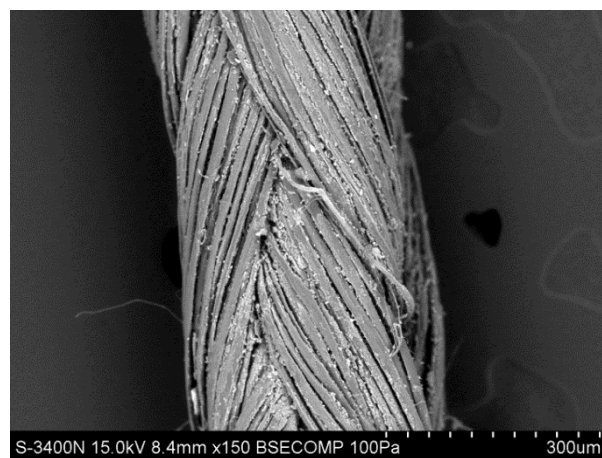


Figura 6. Seda impregnada con Np-Ag sintetizadas por *Chenopodium ambrosioides*.

Fuente CSUB (California State University at Bakersfield)

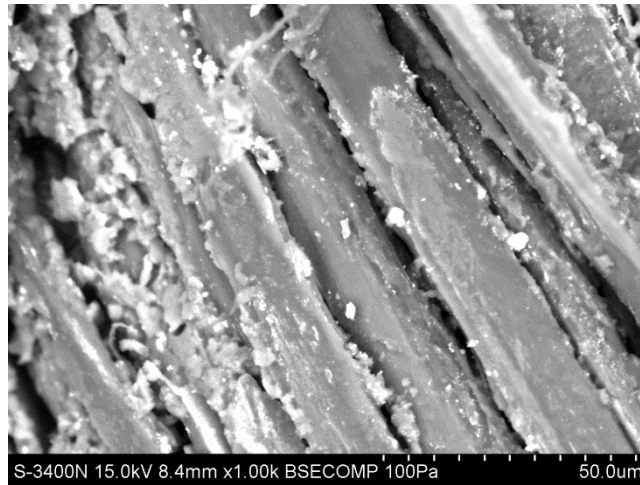


Figura 7. Seda impregnada con Np-Ag sintetizadas por *Chenopodium ambrosioides*.
Fuente CSUB (California State University at Bakersfield)

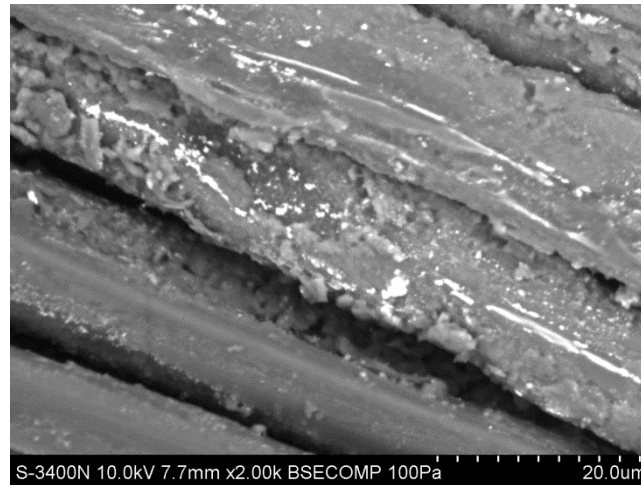


Figura 8. Seda impregnada con Np-Ag sintetizadas por *Chenopodium ambrosioides*.
Fuente CSUB (California State University at Bakersfield)

A continuación se muestran micrografías de catgut impregnadas con Np-Ag sintetizadas por ambos bioreductores de manera independiente.

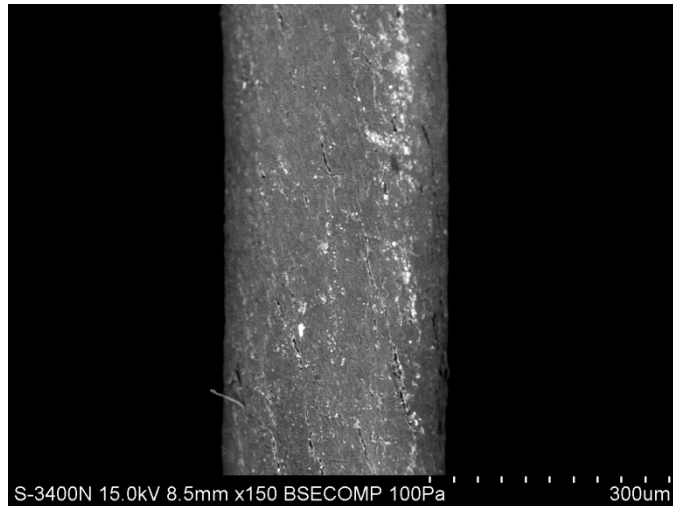


Figura 8. Catgut impregnada con Np-Ag sintetizadas por *Heterotheca inuloides*.
Fuente CSUB (California State University at Bakersfield)

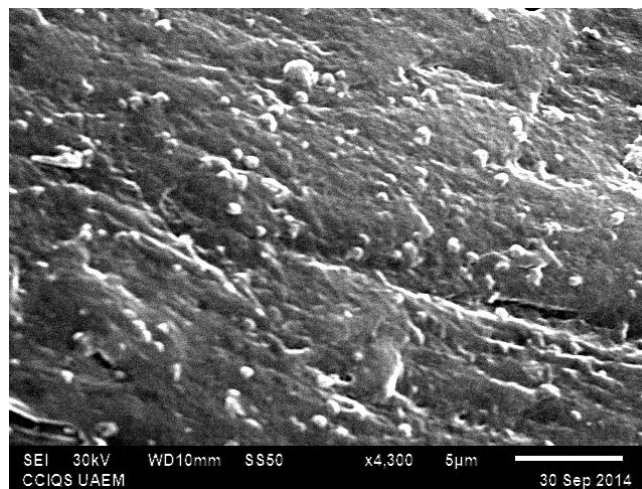


Figura 9. Catgut impregnada con Np-Ag sintetizadas por *Heterotheca inuloides*.
Fuente CCIQS UAEM.

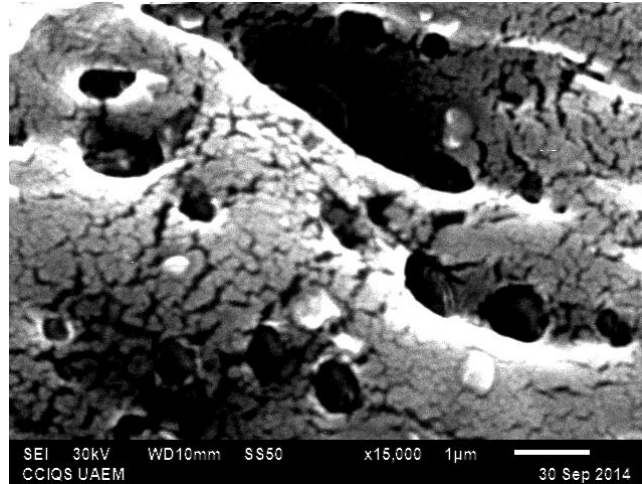


Figura 10. Catgut impregnada con Np-Ag sintetizadas por *Heterotheca inuloides*.

Fuente CCIQS UAEM.

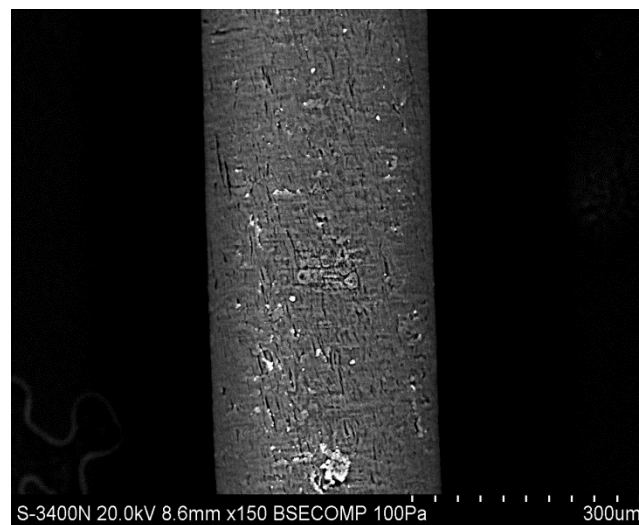


Figura 11. Catgut impregnada con Np-Ag sintetizadas por *Chenopodium ambrosioides*.

Fuente CSUB (California State University at Bakersfield)

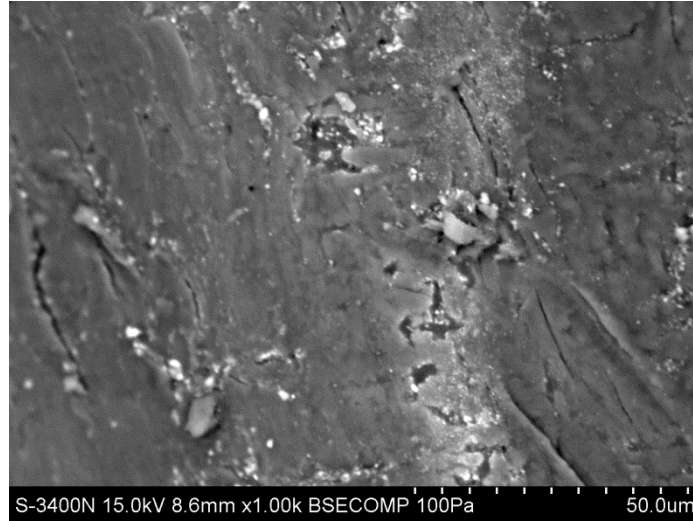


Figura 12. Catgut impregnada con Np-Ag sintetizadas por *Chenopodium ambrosioides*.
Fuente CSUB (California State University at Bakersfield)

A continuación se muestra micrografía de Catgut sin impregnar por ninguna **sustancia**.

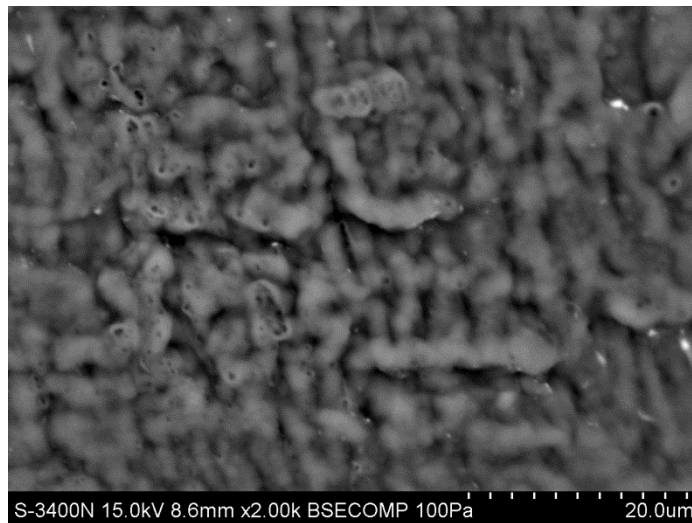
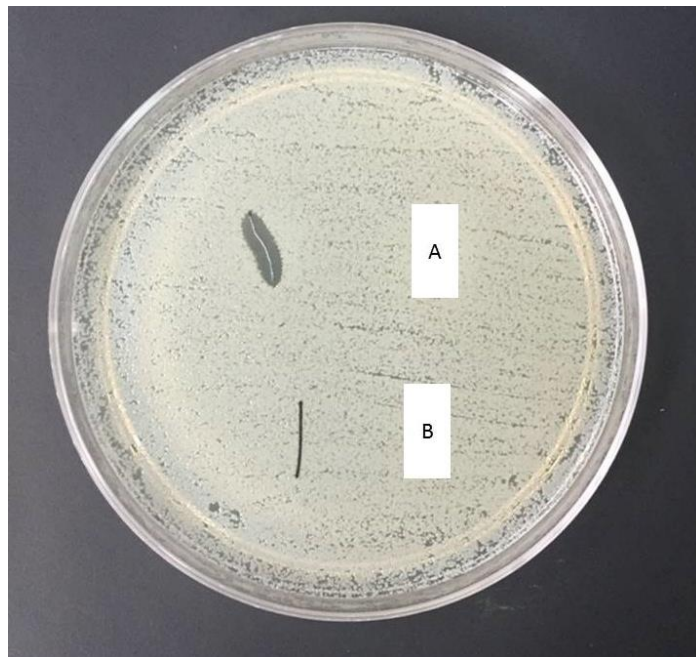


Figura 13. Catgut sin impregnar.
Fuente CSUB (California State University at Bakersfield)

Una vez obtenidos los bionanocompositos de seda y catgut, por ambos métodos ecoamigables, fue posible hacer diferentes comparaciones microbiológicas.

Es decir, se probó el hilo de seda *versus* catgut, con Np-Ag sintetizadas por los 2 agentes bioreductores de manera independiente, sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre material de suturas, ni sobre algún microorganismo.

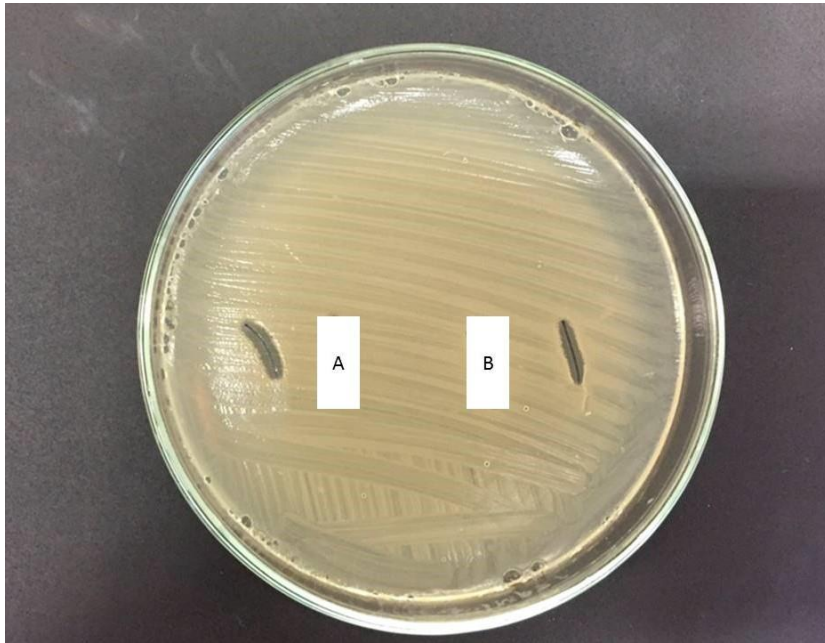
Se concluye que las Np-Ag, son efectivas cuando son sintetizadas por *Heterotheca* o por *Chenopodium*, y presentan el mismo efecto antibacteriano, tanto en seda como en catgut, contra *S. aureus* y contra *E. coli*.



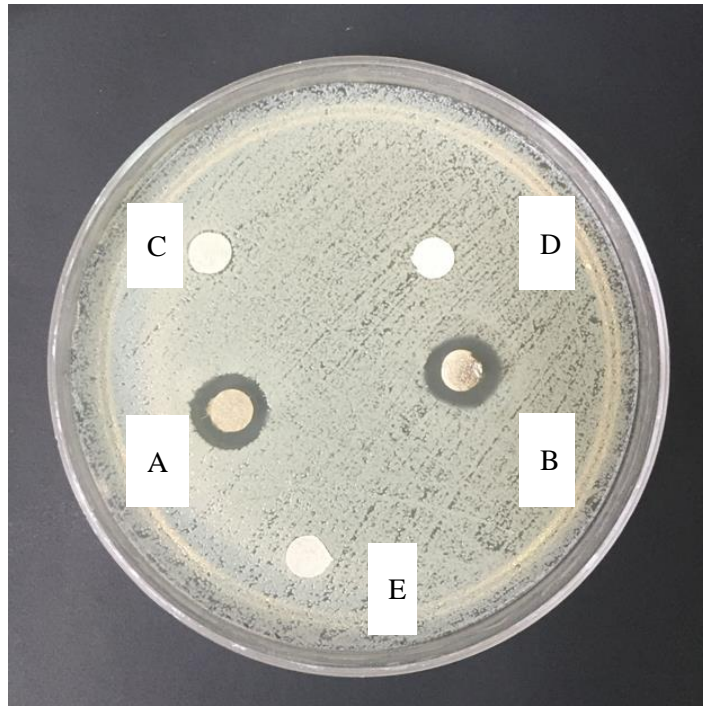
Np-Ag sintetizadas por *Chenopodium ambrosioides* sobre seda *versus* *S. aureus*.

A) Seda con Np-Ag reducidas por *Heterotheca inuloides*

B) Seda blanco. Sin impregnar



Np-Ag sintetizadas por *Chenopodium ambrosioides* sobre seda versus *E. coli*



- A) Np-Ag sintetizadas por *Heterotheca inuloides*
B) Np-Ag sintetizadas por *Chenopodium ambrosioides*
C) disco impregnado por *Heterotheca inuloides*
D) disco impregnado por *Chenopodium ambrosioides*
E) Disco en blanco.

Se realizó un comparativo entre Np-Ag sintetizadas por ambos bioreductores, (*Heterotheca* y *Chenopodium* por separado), los cuales presentaron un efecto inhibitorio similar, sin diferencia estadísticamente significativa.

Se planeó probar si la sola infusión de ambas plantas, poseía algún efecto inhibitorio. Por lo que se probaron ambas plantas sin Np-Ag. No se encontró actividad inhibitoria del crecimiento bacteriano.

Se muestra una tabla comparativa con los resultados de Np- Ag sintetizadas por *Heterotheca* y *Chenopodium*, sobre *S. aureus* y sobre *E. coli*.

	<i>Staphylococcus aureus</i>					<i>Escherichia coli</i>				
	n	Mean	ED	Min Value	Max Value	n	Mean	ED	Min Value	Max Value
Discs AgNP Hi	4	2.5	0.57	2	3	4	2.5	0.57	2	3
Discs Control Hi	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0
Discs Blank	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0
Suture AgNP Hi SILK	15	2.46	0.51	2	3	15	2.4	0.50	2	3
Suture AgNP Hi CATGUT	15	2.26	0.45	2	3	15	2.2	0.45	2	3

Tabla 1. Muestra la zona inhibitoria de Np-Ag sintetizadas por *Heterotheca inuloides*

	<i>Staphylococcus aureus</i>					<i>Escherichia coli</i>				
	N	Mean	ED	Min Value	Max Value	n	Mean	ED	Min Value	Max Value
Discs AgNP Ca	4	2.75	0.5	2	3	4	2.5	0.57	2	3
Discs Control Ca	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0
Discs Blank	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0
Suture AgNP Ca SILK	15	2.53	0.51	2	3	15	2.46	0.51	2	3
Suture AgNP Ca CATGUT	15	2.66	0.48	2	3	15	2.46	0.51	2	3

Tabla 2. Muestra la zona inhibitoria de Np-Ag sintetizadas por *Chenopodium ambrosioides*.

PRUEBAS EN DISCOS

2. Es diferente la inhibición sobre *Staphylococcus aureus* que sobre *Escherichia coli*, usando *Heterotheca*?

```
. ttest Sdisco_NpHi == Edisco_NpHi, unpaired
```

Two-sample t test with equal variances

Variable	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf. Interval]	
Sdis~pHi	4	3.5	.2886751	.5773503	2.581307	4.418693
Edis~pHi	4	3.25	.25	.5	2.454388	4.045612
combined	8	3.375	.1829813	.5175492	2.942318	3.807682
diff		.25	.3818813		-.6844299	1.18443

diff = mean(Sdisco_NpHi) - mean(Edisco_NpHi) t = 0.6547
Ho: diff = 0 degrees of freedom = 6

Ha: diff < 0 Ha: diff != 0 Ha: diff > 0
Pr(T < t) = 0.7315 Pr(|T| > |t|) = 0.5370 Pr(T > t) = 0.2685

NO HAY DIFERENCIA ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA

3. Usando *Chenopodium*, es diferente la inhibición sobre *Staphylococcus aureus* que *Escherichia coli*?

```
. ttest Sdisco_NpCa == Edisco_NpCa, unpaired
```

Two-sample t test with equal variances

Variable	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf. Interval]	
Sdis~pCa	4	3.25	.25	.5	2.454388	4.045612
Edis~pCa	4	3	0	0	3	3
combined	8	3.125	.125	.3535534	2.829422	3.420578
diff		.25	.25		-.361728	.861728

diff = mean(Sdisco_NpCa) - mean(Edisco_NpCa) t = 1.0000
Ho: diff = 0 degrees of freedom = 6

Ha: diff < 0 Ha: diff != 0 Ha: diff > 0
Pr(T < t) = 0.8220 Pr(|T| > |t|) = 0.3559 Pr(T > t) = 0.1780

NO HAY DIFERENCIA ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA

4. *Heterotheca* contra *Chenopodium*, sobre *Staphylococcus aureus*

```
. ttest Sdisco_NpHi == Sdisco_NpCa, unpaired
```

```
Two-sample t test with equal variances
```

Variable	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf. Interval]	
Sdis~pHi	4	3.5	.2886751	.5773503	2.581307	4.418693
Sdis~pCa	4	3.25	.25	.5	2.454388	4.045612
combined	8	3.375	.1829813	.5175492	2.942318	3.807682
diff		.25	.3818813		-.6844299	1.18443
diff = mean(Sdisco_NpHi) - mean(Sdisco_NpCa)					t =	0.6547
Ho: diff = 0					degrees of freedom =	6
Ha: diff < 0		Ha: diff != 0		Ha: diff > 0		
Pr(T < t) = 0.7315		Pr(T > t) = 0.5370		Pr(T > t) = 0.2685		

NO HAY DIFERENCIA ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA

5. *Heterotheca* contra *Chenopodium*, sobre *Escherichia coli*

```
. ttest Edisco_NpHi == Edisco_NpCa, unpaired
```

```
Two-sample t test with equal variances
```

Variable	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf. Interval]	
Edis~pHi	4	3.25	.25	.5	2.454388	4.045612
Edis~pCa	4	3	0	0	3	3
combined	8	3.125	.125	.3535534	2.829422	3.420578
diff		.25	.25		-.361728	.861728
diff = mean(Edisco_NpHi) - mean(Edisco_NpCa)					t =	1.0000
Ho: diff = 0					degrees of freedom =	6
Ha: diff < 0		Ha: diff != 0		Ha: diff > 0		
Pr(T < t) = 0.8220		Pr(T > t) = 0.3559		Pr(T > t) = 0.1780		

NO HAY DIFERENCIA ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA

PRUEBAS EN HILOS

1. *Heterotheca* contra *Chenopodium*, seda sobre *Staphylococcus aureus*

```
. ttest Sseda_NpHi == Sseda_NpCa, unpaired
```

```
Two-sample t test with equal variances
```

Variable	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf. Interval]	
Sseda~i	15	2.733333	.1181874	.4577377	2.479847	2.98682
Sseda~Ca	15	2.666667	.1259882	.48795	2.396449	2.936884
combined	30	2.7	.0850963	.4660916	2.525959	2.874041
diff		.0666667	.1727463		-.287188	.4205213

```
diff = mean(Sseda_NpHi) - mean(Sseda_NpCa)          t = 0.3859
Ho: diff = 0                                         degrees of freedom = 28
```

```
Ha: diff < 0           Ha: diff != 0           Ha: diff > 0
Pr(T < t) = 0.6488     Pr(|T| > |t|) = 0.7025           Pr(T > t) = 0.3512
```

NO HAY DIFERENCIA ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA

2. *Heterotheca* contra *Chenopodium*, en catgut, contra *Staphylococcus aureus*

```
. ttest Scatgut_NpHi == Scatgut_NpCa, unpaired
```

```
Two-sample t test with equal variances
```

Variable	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf. Interval]	
Scatgu~i	15	3.466667	.1652319	.6399405	3.112279	3.821054
Scatg~Ca	15	3.266667	.1817027	.7037316	2.876953	3.65638
combined	30	3.366667	.1220828	.6686751	3.116979	3.616354
diff		.2	.2455961		-.3030809	.7030809

```
diff = mean(Scatgut_NpHi) - mean(Scatgut_NpCa)      t = 0.8143
Ho: diff = 0                                         degrees of freedom = 28
```

```
Ha: diff < 0           Ha: diff != 0           Ha: diff > 0
Pr(T < t) = 0.7888     Pr(|T| > |t|) = 0.4223           Pr(T > t) = 0.2112
```

NO HAY DIFERENCIA ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA

3. *Heterotheca* contra *Chenopodium*, en seda, sobre *Escherichia coli*

```
. ttest Scatgut_NpHi == Scatgut_NpCa, unpaired
```

Two-sample t test with equal variances

Variable	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf. Interval]	
Scatgu~i	15	3.466667	.1652319	.6399405	3.112279	3.821054
Scatg~Ca	15	3.266667	.1817027	.7037316	2.876953	3.65638
combined	30	3.366667	.1220828	.6686751	3.116979	3.616354
diff		.2	.2455961		-.3030809	.7030809

diff = mean(Scatgut_NpHi) - mean(Scatgut_NpCa) t = 0.8143
 Ho: diff = 0 degrees of freedom = 28

Ha: diff < 0 Ha: diff != 0 Ha: diff > 0
 Pr(T < t) = 0.7888 Pr(|T| > |t|) = 0.4223 Pr(T > t) = 0.2112

NO HAY DIFERENCIA ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA

4. *Heterotheca* contra *Chenopodium*, en catgut sobre *Escherichia coli*

```
. ttest Eseda_NpHi == Ecatgut_NpHi, unpaired
```

Two-sample t test with equal variances

Variable	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf. Interval]	
Eseda~i	15	2.466667	.1333333	.5163978	2.180695	2.752638
Ecatgu~i	15	2.8	.2225395	.8618916	2.3227	3.2773
combined	30	2.633333	.1311605	.7183954	2.36508	2.901587
diff		-.3333333	.2594255		-.8647424	.1980757

diff = mean(Eseda_NpHi) - mean(Ecatgut_NpHi) t = -1.2849
 Ho: diff = 0 degrees of freedom = 28

Ha: diff < 0 Ha: diff != 0 Ha: diff > 0
 Pr(T < t) = 0.1047 Pr(|T| > |t|) = 0.2094 Pr(T > t) = 0.8953

NO HAY DIFERENCIA ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA

5. *Heterotheca* en seda, *Staphylococcus aureus* contra *Escherichia coli*

```
. ttest Sseda_NpHi == Eseda_NpHi, unpaired
```

Two-sample t test with equal variances

Variable	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf. Interval]	
Sseda~i	15	2.733333	.1181874	.4577377	2.479847	2.98682
Eseda~i	15	2.466667	.1333333	.5163978	2.180695	2.752638

```

combined |      30          2.6   .0909718   .4982729   2.413942   2.786058
-----+-----
diff |          .2666667   .1781742          -0.0983066   .6316399
-----+-----
diff = mean(Sseda_NpHi) - mean(Eseda_NpHi)          t = 1.4967
Ho: diff = 0          degrees of freedom = 28

Ha: diff < 0          Ha: diff != 0          Ha: diff > 0
Pr(T < t) = 0.9272          Pr(|T| > |t|) = 0.1457          Pr(T > t) = 0.0728

```

NO HAY DIFERENCIA ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA

6. **Heterotheca en catgut, Staphylococcus contra Escherichia coli**

```
. ttest Scatgut_NpHi == Ecatgut_NpHi, unpaired
```

Two-sample t test with equal variances

```

-----+-----
Variable |      Obs      Mean   Std. Err.   Std. Dev.   [95% Conf. Interval]
-----+-----
Scatgu~i |      15   3.433333   .1495844   .8193072   3.112379   3.754287
Ecatgu~i |      15      2.8   .2225395   .8618916   2.3227   3.2773
-----+-----
combined |      30   3.133333   .1495844   .8193072   2.827399   3.439268
-----+-----
diff |          .6666667   .2771739          .0989016   1.234432
-----+-----
diff = mean(Scatgut_NpHi) - mean(Ecatgut_NpHi)          t = 2.4052
Ho: diff = 0          degrees of freedom = 28

Ha: diff < 0          Ha: diff != 0          Ha: diff > 0
Pr(T < t) = 0.9885          Pr(|T| > |t|) = 0.0230          Pr(T > t) = 0.0115

```

SI HAY DIFERENCIA ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA

7. **Chenopodium en seda, Staphylococcus contra Escherichia coli**

```
. ttest Sseda_NpCa == Eseda_NpCa, unpaired
```

Two-sample t test with equal variances

```

-----+-----
Variable |      Obs      Mean   Std. Err.   Std. Dev.   [95% Conf. Interval]
-----+-----
Sseda~Ca |      15   2.666667   .1259882   .48795   2.396449   2.936884
Eseda~Ca |      15      2.6   .1902379   .7367884   2.19198   3.00802
-----+-----
combined |      30   2.633333   .1122736   .6149479   2.403708   2.862959
-----+-----
diff |          .0666667   .2281743          -.4007271   .5340604
-----+-----
diff = mean(Sseda_NpCa) - mean(Eseda_NpCa)          t = 0.2922
Ho: diff = 0          degrees of freedom = 28

Ha: diff < 0          Ha: diff != 0          Ha: diff > 0
Pr(T < t) = 0.6138          Pr(|T| > |t|) = 0.7723          Pr(T > t) = 0.3862

```

NO HAY DIFERENCIA ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA

8. *Chenopodium* en catgut, staphylococcus contra *Escherichia coli*

```
. ttest Scatgut_NpCa == Ecatgut_NpCa, unpaired
```

```
Two-sample t test with equal variances
```

Variable	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf. Interval]	
Scatg~Ca	15	3.266667	.1817027	.7037316	2.876953	3.65638
Ecatg~Ca	15	3.066667	.2062515	.7988086	2.624301	3.509032
combined	30	3.166667	.1363172	.74664	2.887867	3.445467
diff		.2	.2748737		-.3630533	.7630533

```
diff = mean(Scatgut_NpCa) - mean(Ecatgut_NpCa)          t = 0.7276  
Ho: diff = 0                                           degrees of freedom = 28
```

```
Ha: diff < 0  
Pr(T < t) = 0.7636
```

```
Ha: diff != 0  
Pr(|T| > |t|) = 0.4729
```

```
Ha: diff > 0  
Pr(T > t) = 0.2364
```

9. Discusión general

Etapa 1: síntesis de nanopartículas de plata por 2 métodos eco-amigables

Cuando se utilizan bioreductores, el mecanismo de la reducción no se ha podido elucidar completamente, se desconoce hasta la fecha y es muy complejo. Se considera que, de las principales moléculas químicas que integran los principios activos de *Heterotheca inuloides*, cualquiera o todas podrían proporcionar el electrón al ion plata para llevar a cabo el proceso de reducción y obtener plata metálica. Otra de las funciones del bioreductor es limitar el crecimiento de las nanopartículas y esto es característico de cada bioreductor.⁹⁹

En nuestro país, Delgado *et al* en el año 2001 reportaron que *Heterotheca inuloides* mostró actividad antimicrobiana e inhibitoria, así como propiedades citotóxicas y antioxidantes, encontraron que un extracto cetónico de árnica mostró propiedades antiinflamatorias *in vivo* cuando se evaluó en edemas inducidos en ratones. Aún se siguen estudiando sus efectos antiinflamatorios y analgésicos.⁹⁹

En estudios realizados por Gene R, *et al*; se identificaron varios constituyentes de *H. inuloides*, principalmente, flavonoides, sesquiterpenoides, triterpenoides y esteroides. La composición del aceite esencial también se ha descrito. Recientemente, se identificaron cuatro sesquiterpenoides de *H. inuloides* como agentes antimicrobianos.¹⁰⁷

Por otro lado, cuando se utiliza *Chenopodium ambrosioides*, el proceso de reducción es atribuido a los polifenoles, compuestos presentes de manera abundante en este bioreductor. Algunos compuestos encontrados en *Chenopodium ambrosioides*, incluyen metabolitos secundarios: ácidos orgánicos, flavonas, flavonoides, esteroides, monoterpenoides, sesquiterpenoides y carotenoides.¹¹⁵

Konakova *et al*, reportaron que el aceite esencial de *C. ambrosioides* tiene una fuerte actividad antioxidante, es rico en P-cimeno, que se encuentra en las plantas aromáticas, y pertenece al grupo químico de los terpenos, que han mostrado actividad contra algunos microorganismos.

115

En el presente estudio se determinaron las mejores condiciones en cuanto a las siguientes variables:

- LA CONCENTRACIÓN DEL PRECURSOR
- EL TIEMPO DE INMERSIÓN EN EL PRECURSOR
- EL TIPO DE REDUCTOR
- EL TIEMPO DE REDUCCIÓN

Para la síntesis en este estudio; la concentración del precursor, (concentración molar de sales de nitrato de plata), ideal fue de 1×10^{-2}

El tiempo de inmersión, (intervalo de tiempo que permanecen los hilos de sutura en el precursor de nitrato de plata) fue de 60 minutos.

El tipo de reductor fue determinado por la utilización de *Heterotheca inuloides* y *Chenopodium ambrosioides*, como dos reductores independientes. Siendo el tiempo de reducción de 6 horas para ambos bioreductores.

Añadiendo, en relación a las condiciones de temperatura, que los métodos con incorporación de calor permiten la mejor extracción de los principios activos de los agentes ecoamigables, podemos hacer referencia a lo observado por Allah ¹¹⁶, en donde bajo condiciones de calor, se reduce el número de bacterias debido a que la temperatura puede afectar el crecimiento y la multiplicación de los microorganismos orales. ¹¹⁷

Por lo que, consideramos que las condiciones óptimas para la reducción, es mediante la infusión del precursor, alcanzando el punto de ebullición.

Etapa 2: caracterización de Np-Ag

En el presente estudio, se realizó un análisis de espectrofotometría UV-Vis para ambos bioreductores, analizando las muestras cada hora, durante un lapso de 6 horas, trascurrido el análisis, la aparición de plasmones entre 440 nm y 456 nm, coincide con la formación de la plata.

De acuerdo a la interpretación de los espectros de Uv-Vis, se considera que la formación de nanopartículas de plata es efectiva cuando se extraen los principios activos de los bioreductores aquí utilizados.

Posterior a las 6 horas, ambos hilos de sutura fueron sumergidos por 60 minutos en las soluciones, de manera separada. Los hilos de seda y catgut, se dejaron secar a temperatura ambiente, y también fueron analizados mediante microscopía.

Mediante el análisis de MEB, aunque físicamente no se pueden observar las Np-Ag, es posible determinar que la solución fue compatible con las estructuras que conforman ambas suturas, tanto el hilo de seda como el de catgut.

Como se puede observar en las micrografías de MET, por los dos métodos de reducción, las nanopartículas tienden a la esfericidad, siendo ésta la forma geométrica más estable termodinámicamente, esta técnica nos permite obtener la distribución de tamaño de las nanopartículas y observar que la polidispersión es estrecha.

Como sabemos, el tamaño de las bacterias está en el orden de las micras, tres órdenes de magnitud mayor que las nanopartículas obtenidas por cualquiera de los dos métodos, por lo tanto la probabilidad de que las nanopartículas entren en contacto con las bacterias es mayor cuando el tamaño de las Np-Ag es menor.

De acuerdo a lo reportado en 2011; las suturas, como otros materiales, poseen una superficie no desprendible, en la cual las bacterias pueden adherirse, y predisponer al desarrollo de un sitio de infección. En el mismo estudio, refieren que idealmente, los antisépticos deben tener un espectro microbiocida rápido, potente y amplio con efectos duraderos y sin riesgo de desarrollar resistencia a los antimicrobianos. Deben ser biocompatibles con productos médicos, no alterar los procesos de curación y ser bien tolerados en heridas sin toxicidad o absorción sistémica.¹¹⁸

A la fecha, la única sustancia que se usa para impregnar en la sutura es Triclosan, sin embargo se reportan casos de alergias.¹¹⁹

Resulta relevante en nuestro trabajo; encontrar que las soluciones sintetizadas, de manera eco-amigable, son compatibles a la superficie de los hilos de sutura, y que los bionanocompositos propuestos, en este estudio, podrían representar una alternativa en el mercado de los materiales quirúrgicos.

Etapa 3: microbiología

Los procedimientos quirúrgicos periodontales y orales, en combinación con la presencia de materiales extraños, pueden desarrollar procesos infecciosos cuando las bacterias se alojan en el material de sutura.¹²⁰

En la cavidad oral, las suturas se colocan dentro de tejidos de alta vascularización, en un ambiente rico en bacterias húmedas. Cuando se realizan procedimientos quirúrgicos con suturas naturales, como catgut o hilos multifilamento, como seda, el riesgo de infección puede aumentar debido a que las bacterias se alojan en los intersticios.¹²¹

Catgut, una sutura monofilamento hecha de la capa submucosa de los intestinos de los animales ha sido prohibida en Europa y Japón, debido a problemas de salud.^{122, 123}

La seda es una fibra de proteína natural creada por el gusano de seda *Bombyx mori*. Es bien conocida por su absorbencia de agua, que puede favorecer el crecimiento bacteriano.⁴²

Aunque ambos tipos de suturas tienen propiedades de uso adecuadas, como biocompatibilidad, flexibilidad y resistencia, y las suturas están diseñadas para satisfacer diferentes necesidades, hoy en día, más cirujanos optan por el uso de materiales de sutura sintéticos.⁴³

Consideramos que el uso de un hilo de sutura bionanocompuesto podría prevenir la colonización de microorganismos patógenos. En este contexto, en el presente estudio, se seleccionaron nanopartículas biogénicas de plata para decorar suturas convencionales, resultando una alternativa aceptable y que requiere mayor investigación, *in vivo*, en el campo de la cirugía oral y maxiofacial.

10. Conclusiones generales

La interpretación de los espectros de UV-Vis y las imágenes obtenidas a través de SEM y TEM mostraron que la formación de nanopartículas de plata es más efectiva cuando los ingredientes activos se extraen de los agentes bioreductores en el proceso de ebullición. Indicando que la polaridad de los ingredientes activos es similar a la del agua.

Los métodos de biosíntesis de nanopartículas de plata con *Heterotheca inuloides* y *Chenopodium ambrosioides* produjeron plasmones entre los 440nm y 455nm, lo que indica que las nanopartículas de plata con estos agentes reductores son pequeñas, estables, de cantidad satisfactoria, de adecuada polidispersión y de una forma esférica. Se concluye que las nanopartículas obtenidas por ambos bioreductores en el presente estudio, tienen un tamaño adecuado, en cantidad suficiente y con una distribución de tamaño de partícula estrecha, además de que demostraron un efecto inhibitorio sobre los microorganismos utilizados.

Las Np-Ag, en este contexto, pueden ser una alternativa para el tratamiento, no solo contra la caries dental, sino también para prevenir la formación de bacterias patógenas que afectan el equilibrio de la cavidad oral.

Uno de los pilares de la cirugía oral, es basarse en un procedimiento quirúrgico en un campo aséptico, por lo que es fundamental implementar todos los medios para lograrlo, los bionanocompuestos aquí presentados pueden ser efectivos para el tratamiento de la cirugía periodontal, siendo una herramienta útil contra bacterias resistentes.

En este estudio, *Chenopodium ambrosioides* y *Heterotheca inuloides*, han demostrado ser agentes reductores apropiados para el recubrimiento de hilos de sutura natural con Np- Ag. Los bionanocompuestos formados poseen una importante actividad antibacteriana contra *S. aureus* y *E. coli*.

Esta es una opción que puede ayudar a reducir el efecto nocivo de los principales agentes patógenos, al tiempo que representa una opción atractiva como parte de los materiales ecológicos, lo que resultaría no solo en medicamentos menos costosos, sino también en sustancias con un riesgo menor para la salud humana y el medio ambiente.

11. Perspectivas del tema

Consideramos que es importante que la ciencia dental busque alternativas de tratamiento que incorporen productos de origen natural, como las plantas verdes. La variada vegetación de México, permite implementar la medicina tradicional, como un tratamiento alternativo para diversas enfermedades, incluida la caries dental. La química respetuosa con el medio ambiente puede proponer una práctica dental sostenible desde el punto de vista ambiental y económico. La nanotecnología se ha movido rápidamente hacia la mejora de la salud. La incorporación de sales de plata en los materiales dentales permite al odontólogo asegurar un efecto más duradero contra los microorganismos patógenos.

El conocimiento de la nanociencia y la aparición de nuevas tecnologías en la práctica médica pueden transformar la forma tradicional de atender a un paciente y promover un nuevo paradigma basado no solo en la experiencia clínica, sino en el uso de herramientas tecnológicas.

Al no haber encontrado en nuestro país un estudio en el que las Np-Ag estuvieran en contacto con hilos de sutura, con el fin de observar su comportamiento, los autores desean proponer una investigación más profunda en esta materia.

Las Np-Ag han demostrado eficacia para inhibir los microorganismos principales que causan la caries dental, por lo que los autores consideran la investigación continua; necesaria y relevante en esta área. Np-Ag se pueden utilizar en diversos campos de tratamiento como un agente antibacteriano eficaz, pudiendo mencionar, el área de la Periodontología, donde su acción como colutorio, puede reducir los problemas gingivales. También es posible preparar pastas dentales que combinen el efecto antibacteriano de la plata y los beneficios de las plantas verdes. En otras áreas de la práctica dental; Np-Ag pueden agregarse a cementos dentales tradicionales o materiales quirúrgicos y de ese modo disminuir el riesgo de una posible infección postoperatoria.

La nanodontología, puede mejorar la práctica dental y tratar problemas comunes, como la hipersensibilidad dental, la colocación de implantes, proporcionar restauraciones más

duraderas y biocompatibles, tratamientos de ortodoncia más precisos y reducir la aparición de enfermedades de las encías y los huesos.

Los consumidores están teniendo un mayor acercamiento a la tendencia de incorporar sustancias naturales para el cuidado de su salud; en respuesta a esto, los productores farmacéuticos están implementando el uso de productos a base de sustancias naturales en lugar de químicas. En Estados Unidos, las casas comerciales de productos dentales están utilizando extractos naturales, especialmente de plantas con propiedades antibacterianas y antioxidantes.

12. Bibliohemerografía utilizada

1. Gay-Escoda C. Fuentes de la cirugía bucal y maxilofacial y selección bibliográfica. 3ª Ed. Barcelona: Grafias Signo, 1998:15-109
2. Hadgar AJ. Evolución de una ciencia. Acta Odont Venez 1994; 32 (2): 41- 4.
3. Campanioni FA. Contribución a la historia de la Estomatología Cubana. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2000: 11-162
4. Spaner SJ, Warnock GL. A brief history of endoscopy, laparoscopy, and laparoscopic surgery. J Laparoendosc Adv Surg Tech A.1997; Dec7(6): 369-73.
5. Guerini, Vincenzo, "History of Dentistry: From the Most Ancient Times Until the End of the Eighteenth Century". Forensics. 1909. Referido en 05 de Octubre de 2013. Disponible en: digitalcommons.hsc.unt.edu > ... > FORENSICS > 9
6. Netscher DT, Lee-Valkov. Infections of the hand. 2nd. Chapter 193. Mathes Plastic Surgery. Ed. Elsevier; 2007.
7. Ustrell JM. Historia de la Odontología. Barcelona: Editorial UB, 1997:23-45,
8. Ring ME. Dentistry: an illustrated history. Abradale Press. Hanry N Abrams. New York: Inc Publishers, 1993: 137-46.
9. Guy-Escoda C, Berini L. Cirugía bucal. Madrid: Ergon, 1999: 352-8.
10. Spotnitz WD, Falstrom JK, Rodeheaver G. Surgical Clinics of North America 1997; 77(3): 651- 69.
11. Barredo C, Covaro J, Gómez F. Materiales de suturas y mallas. Enciclopedia Médica Americana. Cirugía Digestiva; 2007:1-105.
12. Las Suturas. La evolución de las Heridas Quirúrgicas. Web: Referido el 5 de Septiembre de 2013. Disponible en: <http://www.neurocirugica.com/residencia/intervenciones/suturas..htm>.
13. Ethicon. Johnson and Johnson. Curso Teórico Práctico de suturas y material quirúrgico. Ethicon 2005. Referido el 15 de Agosto de 2013. Disponible en <http://scielo.sld.cu/scieloOrg/php/reflinks.php?refpid>

14. B. Braun. Wound closure in the Operating theatre. B. Braum Melsungen A.G. Germany. 2004; pp. 12. Referido el 23 de Septiembre de 2013. Disponible en: <http://www.amc.sld.cu/amc/2009/Vol13n5/html/amc110509.html>
15. Bauche G, Roana J, Mandras N, Amasio M, Gallesio G, Allizond V. et al. Microbial adherence on various intraoral suture materials in patients undergoing dental surgery. *Maxillo Dacil Surgery* 2007; 65(8): 1503-7.
16. Le Blanc, KA. New Developments in Hernia Surgery. *Surgery* 2000 Referido en 25 de Septiembre de 2013. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scieloOrg/php/reference.php?pid>
17. <http://www.surgery.medscape.com>
18. Lee KH, CHU CC, The role of superoxide ions in the degradation of synthetic absorbable sutures. *J Biomed Mater Res* 2000 Jan;49(1):25-35.
19. Nichols S., Anderson, DE. Breaking strength and elasticity of synthetic absorbable suture materials incubated in phosphate-buffered saline solution, milk, and milk contaminated with *Streptococcus agalactiae* *American Journal of Veterinary Research* April 2007; Vol. 68(4): 441-45
20. López J. Cirugía oral. España: Interamericana, Mc Graw Hill; 1992
21. Alvarado J., Andrade E., Angulo M., Arango A., Bernal J. Manual de cirugía. Santa fe de Bogotá: Centro Editorial Javeriano; 1999
22. Broto M., Delor S., Salinas J. Instrumentación quirúrgica. Técnicas en Cirugía general. Argentina. Editorial Médica Panamericana; 2000.
23. Chu CC, Textile-based biomaterials for surgical applications, in polymeric biomaterials, 2nd Edition, Ed. Dumitriu S. Marcel Dekker, New York, pp. 167-186(2002),
24. Chu CC., The effect of pH on the in vitro degradation of poly(glycolide lactide) copolymer absorbable sutures *J. Biomed. Mater. Res.* 1982 March; 16(2): 117-24
25. von Fraunhofer JA., Sichina WJ. Characterization of surgical suture materials using dynamic mechanical analysis *Biomaterials* 1992; 13(10):715-20.
26. Donado M. Cirugía Bucal. Patología y Técnica. 2a edición. Barcelona: III Masson; 2001.
27. Naviera, L, Valero A. Técnicas de sutura (2005). Referido el 8 de Septiembre de 2013. disponible en: <http://www.fisterra.com/material/tecnicas/sutura>.

28. Felzani N. Sutura de los tejidos en el área de cirugía bucal: revisión de la literatura. *Acta Odontológica Venezolana* 2007; 45(4): 1-14
29. Edmiston CE., Seabrook GR., Goheen MP., Krepel CJ., Johnson CP., Lewis BD., Brown KR., Towne JB. Bacterial adherence to surgical sutures *J. Am Coll Surg* 2006; 203(4): 481-9
30. Hsiao WC., Young KC., Wang ST., Lin PW. Incisional hernia after laparotomy: randomized comparison between early-absorbable and late-absorbable suture materials. *World J Surg* 2000; 24 (6): 747-51.
31. Edmiston EC., Krepel CJ, Marks RM., Rossi PJ, Sanger J, Goldblatt M., et al Microbiology of Explanted Suture Segments from Infected and Noninfected Surgical Patients. *Journal of Clinical Microbiology* 2013; 51(2):417– 21
32. Vicril. Ethicon. Johnson and Johnson. Caracas, 2004. Material informativo 1-4. Referido el 20 de Agosto. Disponible en: <http://files.shareholder.com/downloads/JNJ/0x0x180977/C0E8971E-DC6F-4DB2-AF7E-00ED716010C8/jnj2003annual.pdf>
33. Chaouat M., Le Visage C., Autissier A., Chaubet F., Letourneur D. *Biomaterials* 2006; 27: 5546-53
34. Chyung-Chyung W., Ching-Hua S., Cheng-Chi C., Development of a New Polypropylene-Based Suture: Plasma Grafting, Surface Treatment, Characterization and Biocompatibility Studies. *Macromo Biosc*; 2008:1-10.
35. Lawrence T., Davis T. A Biomechanical Analysis of Suture Materials and Their Influence on a Four-Strand Flexor Tendon Repair; 2005, 30(4): 836-41
36. Raspall G. *Cirugía Oral e Implantología*. 2a edición. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2006.
37. Raspall G. *Cirugía Maxilofacial*. España: Editorial Médica Panamericana; 1997.
38. Miller B., Doods S., deMars A., Zagoreas N., Waitayawinyu T. Flexor tendon repairs: the impact of fiberwire on grasping and locking core sutures. *J Hand Surg Am*. 2007 May-Jun;32(5):591-6
39. Leknes KN, Selvig KA, Bøe OE, Wikesjö UM. Tissue reactions to sutures in the presence and absence of anti-infective therapy. *J Clin Periodontol*. 2005;32(2):130-138

40. Niaounakis M. Biopolymers: Applications and Trends. Plastics Design Library series, Elsevier; 2015. 604 p. DOI:
41. Frost & Sullivan Market Insight. Does the Suture have a Future? Published: 24 Oct 2002
42. Srisuwan Y, Srisaard M, Sittiwet Ch, Baimark Y, Narkkong N-A, Butiman Ch. Preparation and characterization and characterization of nanocomposite and nanoporous silk fibroin films. *J. Applied Sci.* 2008;8(12):2258-2264. DOI:
43. Srinivasulu KN, Dhiraj K. A review on properties of surgical sutures and applications in medical field. *International Journal of Research in Engineering & Technology.* 2014;2;85-96
44. Nascimento E., Mayer M., Pontes P., Pignatari A. Caries prevalence, level of mutans Streptococci, and gingival and plaque indices in 3.0 to 5.0 year-old mouth breathing children. *Caries Res* 2004; 38: 572-75
45. Maripandi A., Kumar A., Salaman A. Prevalence of dental caries bacterial pathogens and evaluation of inhibitory concentration effect on different tooth pastes against *Streptococcus* spp. *J. Microbiol Res* 2011; 5 (14): 1778-83.
46. Tanzer J., Livingston J., Thompson A. The microbiology of primary dental caries in humans. *Journal of Dental education* 1995; 65 (10): 1028-37
47. Fejerskov O. Changing paradigms on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Res* 2004; 38: 182-91.
48. Klein I., Florio F., Pereira A., Hofling J., Goncalves R. Longitudinal study of transmission, diversity and stability of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* genotypes in Brazilian nursery children. *J clinical Microbiol.* 2004; 42 (10): 4620-26
49. Jordan H., Laraway R., Snirch R., Marmel M. A simplified diagnostic system for cultural and enumeration of *Streptococcus mutans*. *J Dent Res* 1987; 66 (1): 57-61
50. Schaeken M., Van Der Hoven J., Franken H. Comparative recovery of *Streptococcus mutans* on five isolation media, including a new sample selective medium. *J. Dent Res* 1986; 65 (6): 906-8
51. Salonen L., Allander L., Bratthall D., Hellden L. Mutans Streptococci, oral hygiene and caries in an adult Swedish population. *J Dent Res* 1990; 69 (8): 1469-75

52. Wu H., Fan M., Zhou X., Mo A., Bian Z. Detection of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* on the permanent first molar of the Mosuo people in China *Caries Res* 2003; 203: 1-6
53. Pieralisi F., Rodrigues M., Segura V., Maciel S., Ferreira F. García J., Poli-Frederico R. Genotypic diversity of *Streptococcus mutans* in caries-free and caries-active preschool children. *International J. of Dentistry*; 2009: 1-5
54. Nimmo GR, Coombs GW, Pearson JC, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the Australian community: an evolving epidemic. *Med J Aust* 2006; 184: 384-88.
55. Johnson AP, Pearson A, Duckworth G. Surveillance and epidemiology of MRSA bacteraemia in the UK. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 455-62.
56. Manual de Bergey tomado el día 25 de Octubre de 2013 en http://www.uiweb.uidaho.edu/micro_biology/250/IDFlowcharts.pdf
57. Ulrich S., Kourbatova E., Johnson JG., Halvosa SJ., Wang YF., King MD. Emergence of Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* USA300 Genotype as a Major Cause of Health Care-Associated Blood Stream Infections. *Clinical Infectious Diseases* 2006;42:647-56
58. Berger-Bachi B, Rohrer S. Factors influencing methicillin resistance in staphylococci. *Arch Microbiol* 2002; 178:165-71.
59. Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44:1549-55.
60. Hiramatsu K. Elucidation of the mechanism of antibiotic resistance acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and determination of its whole genome nucleotide sequence. *Jpn Med Assoc J* 2004; 47:153-9.
61. Blanco J, Blanco M, Blanco JE, Mora A, Alonso MP, Gonzalez EA, Bernardez MI. Enterobacterias: características generales. Genero *Escherichia* In: *Manual de Microbiología Veterinaria*, Vadillo S, Piriz S, Mateos E, Eds., España McGraw-Hill Interamericana 2002, 301- 325.
62. Todar K. Pathogenic *E. coli* in: *Online textbook of bacteriology*. <http://textbookofbacteriology.net/e.coli.html> USA, 2008.

63. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT. Pathogenic Escherichia coli. *Nat Rev Microbiol* 2004, 2:123-140.
64. Sousa CP. The versatile strategies of Escherichia coli pathotypes: a mini review. *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis* 2006, 12: 363-73.
65. Nature nanotechnology. VOL 4. DECEMBER 2009. www.nature.com/naturenanotechnology.
66. Geoffrey A. Ozin, André C. Arsenault, Ludovico Cademartiri. *Nanochemistry: A Chemical Approach to Nanomaterials*. Royal Society of Chemistry, 2009 2nd EDITION 820 pages
67. Cobo L., Akyildiz I. Bacteria-based communication in nanonetworks. *Nanocomunication Network* 2010; 1: 244-56
68. Horenstein M. Electrostatics and nanoparticles: what's the same, what's different? *Journal of electrostatics*. 2009; 67: 384-93.
69. Sahoo S., Parveen S., Panda J. The present and future of nanotechnology. *Nanomedicine: Nanotechnology, biology and medicine* 2007; 3: 20-31
70. Braun T., Schubert A., Zsindely. *Nanoscience and Nanotechnology on the balance*. *Scientometrics* 1997; 38 (2): 321-25
71. Fabrega J., Luoma S., Tyler C., Galloway T., Lead J. Silver nanoparticles: behaviour and effects in the aquatic environment. *Environment International* 2001; 37: 517-31.
72. Beer C., Foldbjerg R., Hayashi Y., Sutherland D., Autrup H. Toxicity of silver nanoparticles-nanoparticle or silver ion? *Toxicology letters* 2012; 208: 286-92.
73. Burns G. *Solid State Physics*, Academic Press , San Diego, 1985
74. Siddhartha S, Tanmay B, Arnab R, Gajendra S, Ramachandrarao P, Debabrata D, Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. *IOP Nanotechnology* 2007; 18 (22): 1-9
75. Farokhzad O., Lnger R. Nanomedicine: developing smarter therapeutic and diagnostic modalities. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2006; 58: 1456-59.
76. Robbens J., Vanparys C., Nobels I., Blust R., Hoecke K., Janssen C., De Schamphelaere K., et al Eco-geno-and human Toxicology of bio-active nanoparticles for biomedical applications. *Toxicology* 2010; 269: 170-181.

77. Gu F., Karnik R., Wang A., Alexis F., Levy- Nissenbaum E., Langer R. Targeted nanoparticles for cancer therapy. *Nanotoday* 2007; 2 (3): 14-20.
78. Wu Q., Cao H., Luan Q., Zhang J., Wang Z., Warner J. Biomolecule-Assisted Synthesis of Water Soluble Silver Nanoparticles and their Biomedical Applications. *Inprg Chem* 2008; 47: 5882 - 5888
79. Sung J., Kuk E., Yu K., Kim J., Park A., Lee H., Kim S., Park Y., Hwang C., Kim Y., Lee Y., Jeong D., Cho M. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine* 2007; 3: 95-101.
80. Poole C, Owens F. *Introduction to Nanotechnology*. Wiley Ed. 2003 USA pp. 1-387
81. Kahru A., Dubourguier H. From ecotoxicology to nanoecotoxicology. *Toxicology* 2010; 269: 105-119.
82. Wani I., Khatoun S., Ganguly A., Ahmed J., Ganguli A., Ahmad T. Silver nanoparticles: Large scale solvothermal and optical properties. *Materialas Research Bulletin* 2010; 45: 1033-1038
83. Bawarski W., Chidlowsky E., Bharali J., Mousa S. Emerging nanopharmaceuticals. *Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine* 2008; 4: 273-282.
84. Khaydarov R., Estrin Y., Evgrafova S., Endres T., Cho S. Silver nanoparticles. *Nanomaterials* 2009; 287-297.
85. Park M., Neigh A., Vermeulen J., de la Fonteyne L.M Verharen H., Briede J et al The Effect of particle size on the cytotoxicity, inflammation, developmental toxicity and genotoxicity of Silver nanoparticles. *Biomaterials* 2011; 32: 9810 - 9817
86. Goracci G, Mori G. Micromorphological aspects of dentin. *Minerva Stomatol* 1995; 44: 377-87 124
87. Dourda AO, Moule AJ, Young WG. A morphometric analysis of the cross-sectional area of dentin occupied by dentinal tubules in human third molar teeth. *Int Endond J* 1994; 27: 184-9
88. Ozak ST, Ozkan P. Nanotechnology and dentistry. *European Journal of Dentistry*. 2013;7(1):145-151.

89. Lankveld D., Oomen A., Krystek P., Troost A., Noorlander C., Eijkeren J et al The kinetics of the tissue distribution of silver nanoparticles of different sizes. *Biomaterials* 2010; 31: 8350-8361.
90. Rajan S, Acharya S, Saraswhaty V. Nanodentistry. *Indian J.Sci.Res.* 2013; 4(2): 233-38
91. Fayaz AM, Balaji K, Girilal M, Yadav R, Kalaichelvan PT, Venketesan R. Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 2010; 6 (1): 103-9
92. Shinde NM, Lokhande AC, Lokhande CD. A green synthesis method for large area silver thin film containing nanoparticles. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology.* 2014;136:19–25. DOI:
93. Roy N, Gaur A, Jain A, Bhattacharya S, Rani V. Green synthesis of silver nanoparticles: An approach to overcome toxicity. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 2013;36:807–812. DOI:
94. Bindhu MR, Umadevi M. Antibacterial and catalytic activities of green synthesized silver nanoparticles *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 2015;135:373–378. DOI:
95. Anastas P. *Green Chemistry: Theory and Practice.* Oxford University Press; 2000. 135 p. DOI:
96. <http://www.epa.gov/greenchemistry/>
97. Kumar K, Anand H, Mandal BK. Activity study of biogenic spherical silver nanoparticles towards microbes and oxidants. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.* 2015;135:639–645. DOI:
98. Less is more, greener microbial synthesis of silver nanoparticles Lihong Liua, Tingting Liua, Moses Tadea, Shaobin Wanga, Xinyong Lib, Shaomin Liua
99. Delgado G., Olivares M., Chávez M., Ramírez T., Linares E., Bye Robert., Espinosa-García F. Antiinflammatory Constituents from *Heterotheca inuloides*. *J. Nat. Prod* 2000; 64: 861-864

100. Jalayer N., Niakan M., Kharazi F., Zardi S. Antibacterial activity of Iranian green and black tea on *Streptococcus mutans*: an in vitro study. *Journal of Dentistry* 2011; 8 (2): 55-59
101. Ethnobotanical survey and antibacterial activity of plants used in the Altiplane region of Mexico for the treatment of oral cavity infections Yazmín Rosas-Piñóna,¹, Alicia Mejía^a, Gloria Díaz-Ruiz^b, María Isabel Aguilera, Sobeida Sánchez-Nietoc, J. Fausto Rivero-Cruza,^{*} *Journal of Ethnopharmacology* 141 (2012) 860– 865
102. Antioxidant activity of *Heterotheca inuloides* extracts and of some of its metabolites. Elvia Coballase-Urrutia, José Pedraza-Chaverric, Rafael Camacho-Carranza, Noemí Cárdenas-Rodríguez, Bernardino Huerta-Gertrudis, Omar Noel Medina-Campos, Myrna Mendoza-Cruz, Guillermo Delgado-Lamas, J. Javier Espinosa-Aguirre. *Toxicology* 276 (2010) 41-48.
103. Delgado G., Olivares M., Chávez M., Ramírez T., Linares E., Bye Robert., Espinosa-García F. Antiinflammatory Constituents from *Heterotheca inuloides*. *J. Nat. Prod* 2000; 64: 861-864
104. Hepatoprotective effect of acetonic and methanolic extracts of *Heterotheca inuloides* against CCl₄-induced toxicity in rats Elvia Coballase-Urrutia a,b, José Pedraza-Chaverr, Noemí Cardenas-Rodríguez, Bernardino Huerta-Gertrudis, recedes Edna Garcia-Cruz, Aline Ramirez-Morales, Dolores Javier Sanchez-Gonzalez, Claudia Maria Martinez-Martinez, Rafael Camacho-Carranza, Jesús Javier Espinosa-Aguirre. *Experimental and Toxicologic Pathology* 63(2011)363–370
105. Antioxidative constituents in *Heterotheca inuloides*. Haraguchi Hiroyuki, Ishikawa Harumi, Sánchez Yolanda, Ogura Tetsuya, Kubo Yumi, Kubo Isao. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. Vol 5. No. 5, 865-71. 1997.
106. World Health Organization. "General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine". 2000
107. Gene R, Segura L, Adzet T, Marin E, Iglesias J. *Heterotheca inuloides*: Anti-inflammatory and analgesic effect. *Journal of Ethnopharmacology* 60 (1998) 157–162
108. Haraguchi H, Ishikawa H, Sanchez Y, Ogura T, Kubo Y, Kubo I. Antioxidative Constituents in *Heterotheca inuloides*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Vol. 5, No. 5,

pp 865-871, 1997 Elsevier Science Ltd All rights reserved. Printed in Great Britain PII: S0968-0896(97)00029-1 0968-0896/97.

109. Blanckaert I, Paredes-Flores M, Espinosa-Garcia FJ, Piero D, Lira R. Ethnobotanical, morphological, phytochemical and molecular evidence for the incipient domestication of Epazote (*Chenopodium ambrosioides* L.: Chenopodiaceae) in a semi-arid region of Mexico. *Genet. Resour. Crop Evol.* 2012;59:557–573. DOI 10.1007/s10722-011-9704-7

110. Barros L, Pereira E, Calhelha R, Dueñas M, Carvalho AM, Santos-Buelga C, Ferreira I. Bioactivity and chemical characterization in hydrophilic and lipophilic compounds of *Chenopodium ambrosioides* L. *Journal of Functional Foods.* 2013;5:1732-1740. DOI:

111. Carrillo-López L, Zavaleta-Mancera H, Vilchis-Nestor A, Soto-Hernández M, Arenas-Alatorre J, Trejo-Téllez L, Gómez-Merino F. Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using *Chenopodium ambrosioides*. *Journal of Nanomaterials.* 2014, Article ID 951746, 9 pages DOI: 10.1155/2014/951746

112. Kiuchi F, Itano Y, Uchiyama N, Honda G, Tsubouchi A, Nakajima-Shimada J, Aoki T. Monoterpene Hydroperoxides with Trypanocidal activity from *Chenopodium ambrosioides*. *J. Nat. Prod.* 2002;65:509-512. DOI:

113. Declaración de Helsinki adoptada por la 18ª Asamblea Médica Mundial .Helsinki, Finlandia, Junio 1964

114. Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud. Diario oficial de la federación. Últimas Reformas DOF 27-04-2010

115. Kokanova-Nedialkova Z, Nedialkov PT, Nikolov SD. The genus *Chenopodium*: Phytochemistry, ethnopharmacology and pharmacology. *Phcog Rev* 2009;3:280-306

116. Allah A., Ibrahim M., Al-atrouny A. Effect of black tea on some cariogenic bacteria. *World Appl. Sci. j.* 2011; 12 (4): 552-558

117. Shukla M., Singh R., Reddy C., Jha B. Synthesis and characterization of agar-based silver nanoparticles and nanocomposite film with antibacterial applications. *Bioresource Technology* 2012; 107: 295-300

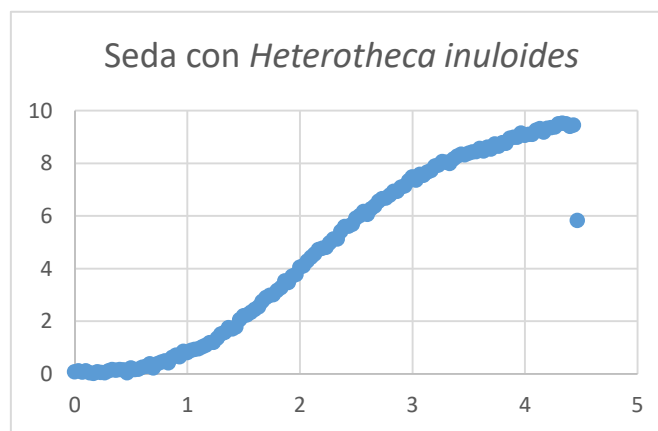
118. Antimicrobial Sutures: New Strategy in Surgical Site Infections Chatchai Mingmalairak. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances.* A. Méndez-Vilas (Ed.) Formatex 2011.

- 119 Triclosan: A Potential Allergen in Suture-Line Allergic Contact Dermatitis. Letter to the Editor. American Society for Dermatologic Surgery, Inc. Published by Wiley Periodicals, Inc. ISSN: 1076-0512 Dermatol Surg 2009;35:888–889 DOI: 10.1111/j.1524-4725.2009.01151.x
120. Banche G, Roana J, Mandras N, Amasio M, Gallesio C, Allizond. et al. Microbial adherence on various intraoral suture materials in patients undergoing dental surgery. J Oral Maxillofac Surg. 2007 Aug;65(8):1503-7.
121. Leknes KN, Selvig KA, Bøe OE, Wikesjö UM. Tissue reactions to sutures in the presence and absence of anti-infective therapy. J Clin Periodontol. 2005;32(2):130-138. DOI: 10.23736/S0026-4970.17.03966-8
122. Niaounakis M. Biopolymers: Applications and Trends. Plastics Design Library series, Elsevier; 2015. 604 p. ISBN: 9780323353991
123. Frost & Sullivan Market Insight. Does the Suture have a Future? [Internet]. 2002. Available from: <http://www.frost.com/prod/servlet/market-insight-print.pag?docid=MBUT-5FGQ8S> [Accessed: 2017-12-01]

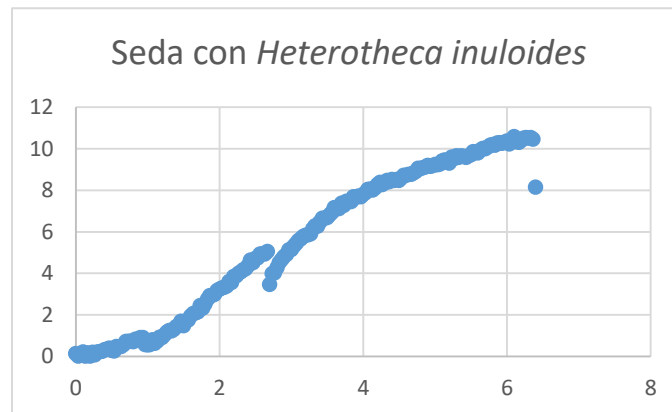
13. Anexos

Se presentan los análisis realizados en la Universidad de California, en Bakersfield, en donde se realizaron pruebas de resistencia sobre los hilos de sutura, antes y después de ser impregnados por Np-Ag, para determinar si existe algún cambio o deformación en la suturas, que pudiese ser atribuido a la presencia de Np-Ag. Así como el análisis de la resistencia a la tensión.

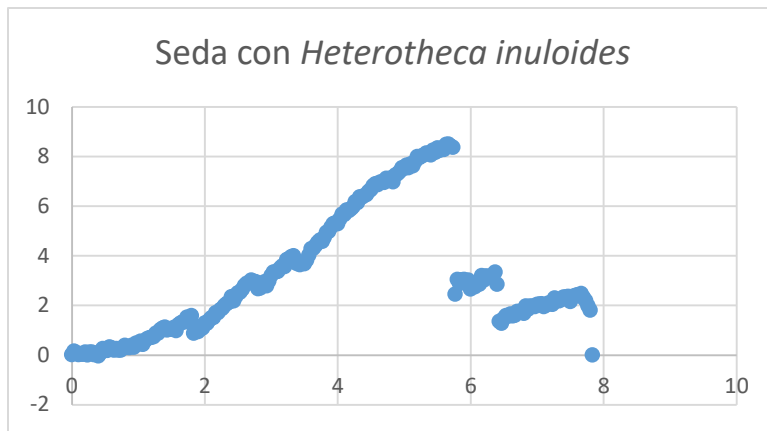
Anexo 1. Se muestran los resultados obtenidos para seda.



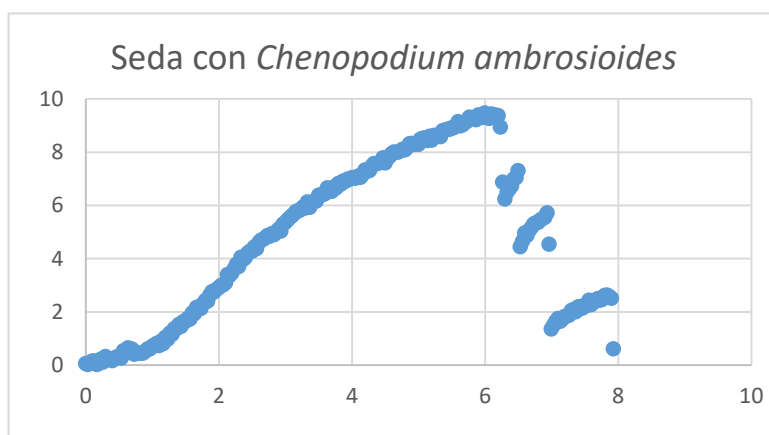
- a) Muestra la curva que indica que la resistencia del hilo de seda, no disminuye al ser impregnado, y que alcanza un punto suficiente de resistencia, antes de su ruptura.



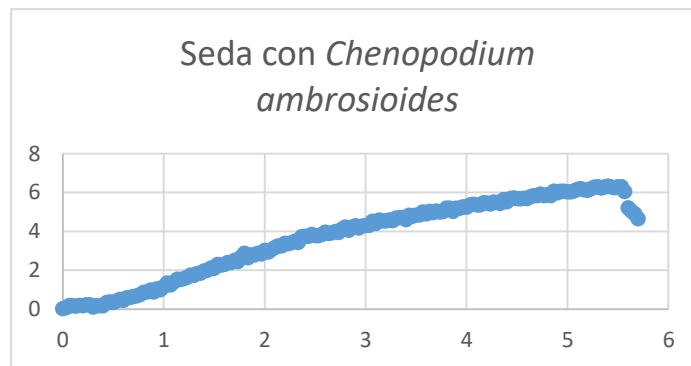
- b) Muestra la curva que indica el punto exacto en el que la resistencia del hilo de seda, comienza a disminuir y que alcanza un punto de resistencia mayor, antes de su ruptura.



- c) Muestra la curva que indica el punto exacto en el que la resistencia de la seda comienza a disminuir, alcanzando un punto de resistencia mayor, antes de su ruptura.

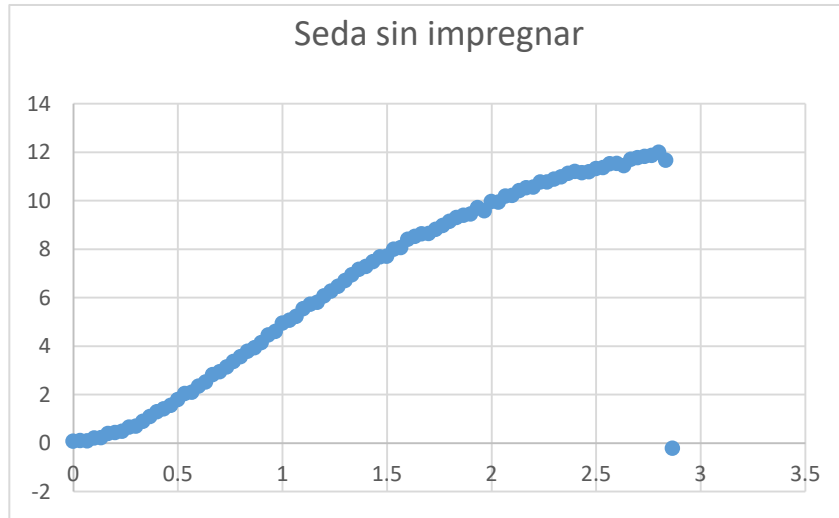


- d) Muestra la curva que indica el punto exacto en el que la resistencia de la seda, comienza a disminuir, alcanzando un punto de resistencia mayor, antes de su ruptura.



- e) Muestra la curva que indica el punto exacto en el que la resistencia de seda, comienza a disminuir, alcanzando un punto de resistencia mayor, antes de su ruptura.

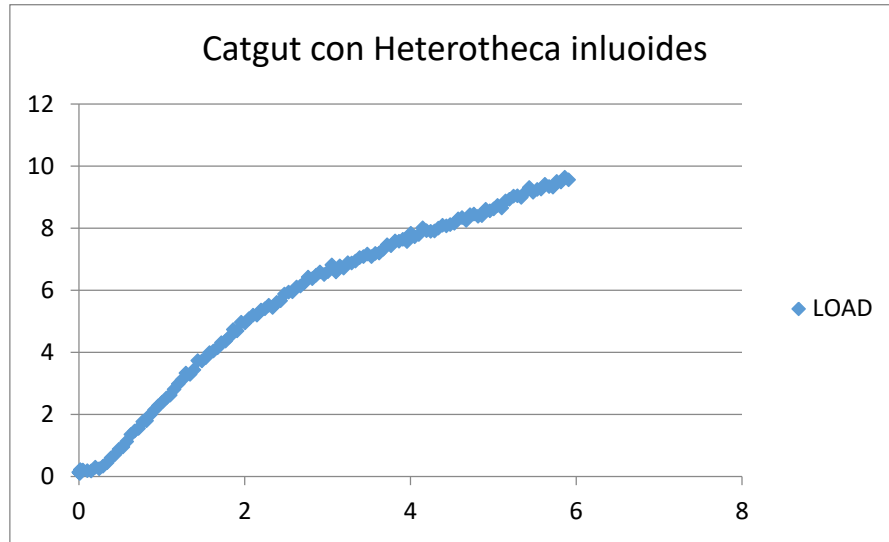
Se muestra a continuación el análisis de seda sin ser impregnadas por ningún bioreductor, es decir, el hilo de sutura que ofrece el fabricante.



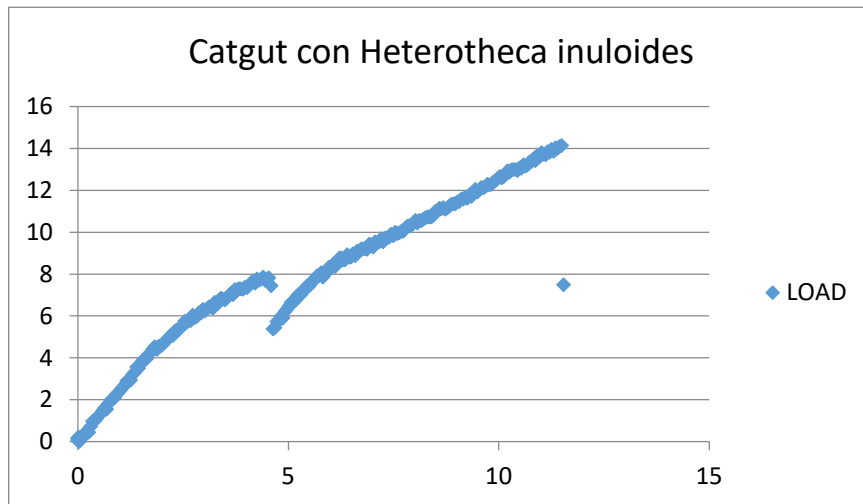
- a) Muestra la curva que indica el punto exacto en el que la resistencia de seda comienza a disminuir, alcanzando un punto de resistencia similar a los hilos impregnados. Incluso podemos presumir que pareciera que le bionanocomposito permite alcanzar un punto de resistencia mayor antes de su ruptura.

Anexo 2. Se muestran los resultados obtenidos para catgut.

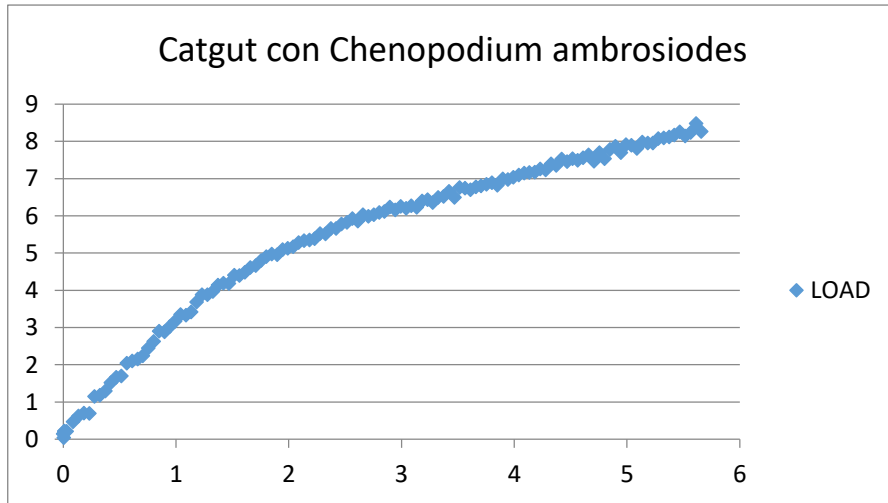
- a) Muestra la curva que indica que la resistencia del hilo de catgut, no disminuye al ser impregnado, y que alcanza un punto suficiente de resistencia, antes de su ruptura.



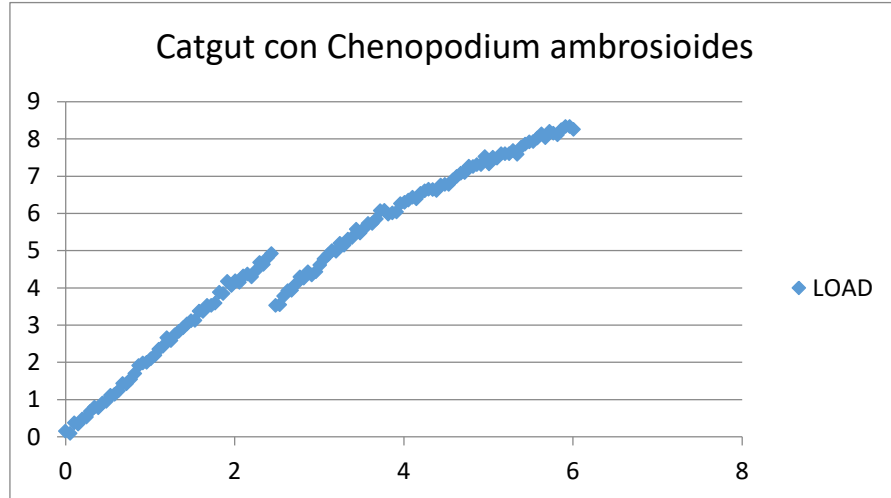
- b) Muestra el punto en el que el hilo comienza a desgarrarse, y disminuir su tensión, hasta alcanzar el punto de ruptura, el cual, es mayor que otras muestras.



- c) Muestra la curva que indica el punto exacto en el que la resistencia de catgut, comienza a disminuir, hasta el punto de ruptura.

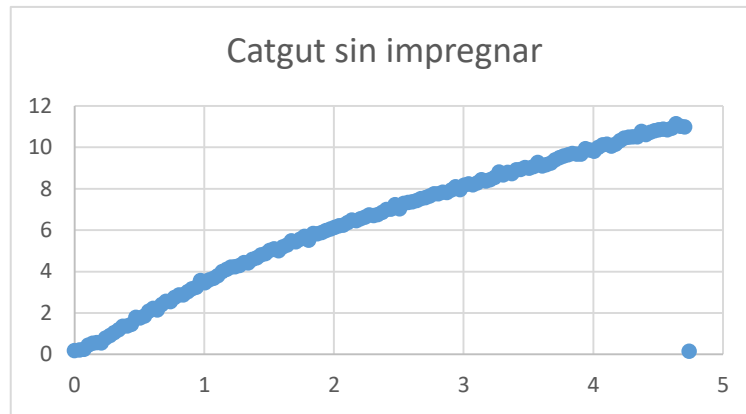


- d) Muestra el punto en el que el hilo comienza a desgarrarse, y disminuir su tensión, hasta alcanzar el punto de ruptura.

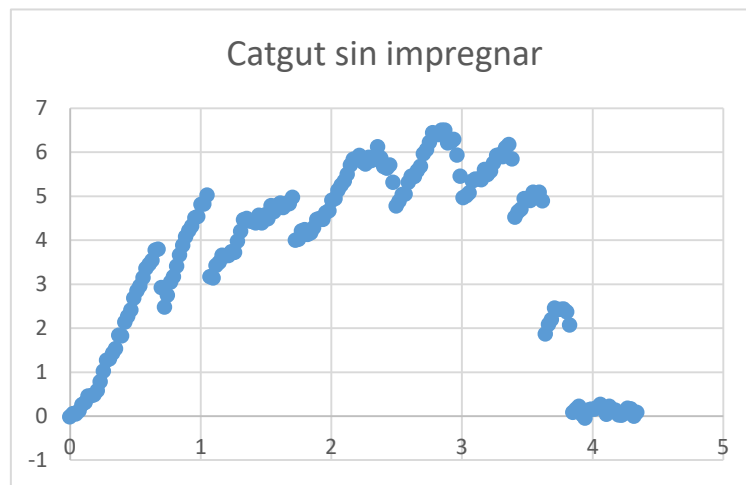


Se muestra a continuación el análisis de seda sin ser impregnadas por ningún biolector, es decir, el hilo de sutura que ofrece el fabricante.

- e) Muestra la curva que indica el que la resistencia de catgut hasta alcanzar un punto de resistencia similar a los hilos impregnados.



- f) Muestra la curva que indica el que la resistencia de catgut comienza a disminuir desde el principio, hasta alcanzar un punto de resistencia menor a los hilos impregnados.



Anexo 3.

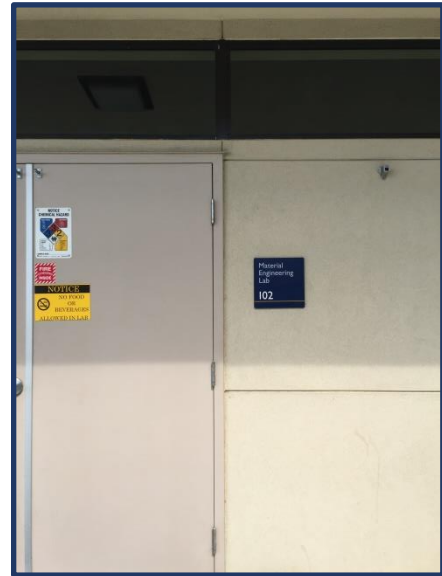
a) California State University en Bakersfield.



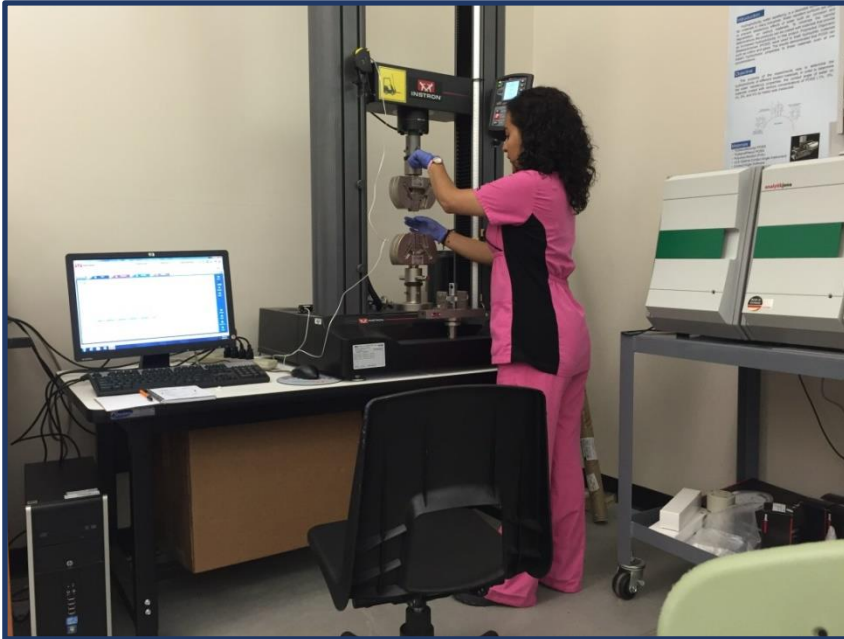
b) Escuela de Ciencias Naturales, Matemáticas e Ingeniería.



c) Laboratorio de Ingeniería de Materiales



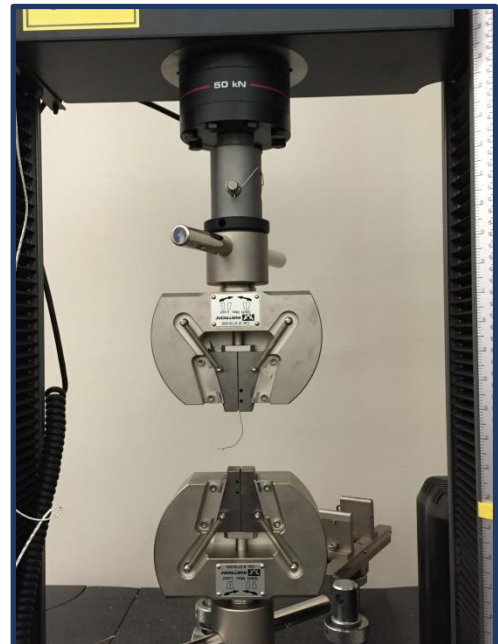
d) Máquina Instron



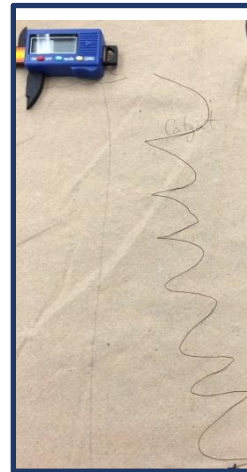
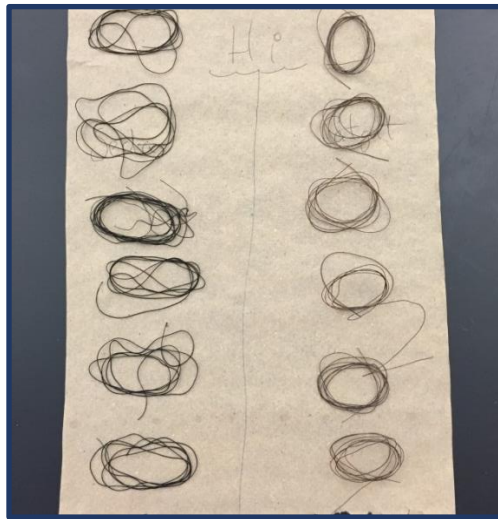
e) Pruebas de resistencia en los hilos



f) Bionanocompositos de Seda y Catgut.



g) Hilo de seda tras ruptura



- h) Hilos de seda y catgut después de ser impregnados por *Heterotheca inuloides*
- i) El hilo de catgut después de ser impregnado, pareciendo que la solución, le confiere mayor dureza.



j) Dr. Luis Cabrales



La Universidad Autónoma del Estado de México a través de la
Facultad de Odontología
y el Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Odontología
otorga la presente

Constancia

A: *Guadarrama Reyes Sarai Carmina, Scougall Vilchis Rogelio José,
Morales Luckie Raúl Alberto, Sánchez Mendieta Víctor*

Por su valiosa participación con el trabajo de investigación titulado
**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE UN BIONANOCOMPOSITO
CON NANOPARTÍCULAS DE PLATA BIOGÉNICAS;
PARA SER UTILIZADO COMO HILO DE SUTURA**

XVI Coloquio de Investigación del
Doctorado en Ciencias de la Salud
Toluca, Estado de México, 24 de Noviembre de 2014



M. en C.S. Julio B. Robles Navarro
Director
Facultad de Odontología





UAEM | Universidad Autónoma del Estado de México

a través de la Facultad de Odontología otorga el presente

Reconocimiento



A: Saraí Carmina Guadarrama Reyes, Rogelio Scougall Vilchis, Víctor Sánchez Mendieta, Raúl Alberto Morales Luckie

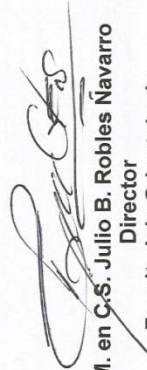
Por su valiosa participación con el trabajo de investigación titulado

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE UN BIONANOCOMPOSITO CON NANOPARTÍCULAS DE PLATA BIOGÉNICAS; PARA SER UTILIZADO COMO HILO DE SUTURA

VI Coloquio Nacional de Investigación en Salud Bucal

Toluca, Estado de México, 5 de Febrero de 2015




M. en C.S. Julio B. Robles Navarro
Director
Facultad de Odontología





Dra. en O. Rosalía Contreras Bulnes
Líder del Cuerpo Académico
Salud-Enfermedad Bucal

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS
AVANZADOS EN ODONTOLÓGIA



Facultad de Odontología

VI Coloquio Nacional de Investigación en Salud Bucal
Cuerpo Académico Salud Enfermedad Bucal
9 de febrero - 2015 - 8:00 a 15:00 hrs.



D03 SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE UN BIONANOCOMPOSITO CON NANOPARTÍCULAS DE PLATA BIOGÉNICAS; PARA SER UTILIZADO COMO HILO DE SUTURA

Saraí Carmina Guadarrama Reyes¹, Rogelio Scougall Vilchis², Víctor Sánchez Mendieta³, Raúl Alberto Morales Luckie⁴

¹ Doctorado en Ciencias de la Salud. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma del Estado de México
² Centro de Investigación y Estudios Avanzados. Facultad de Odontología. UAEMex.
³ Facultad de Química. Universidad Autónoma del Estado de México.
⁴ Centro de Investigación en Química Sustentable. Universidad Autónoma del Estado de México

Introducción: la sinéresis de tejidos, (afrostrar y mantener unidos los bordes de una herida quirúrgica, hasta que se complete el proceso de cicatrización), se realiza con suturas que pueden favorecer la infección en la herida. Los hilos multifilamento, incrementan el riesgo de infección, ya que las bacterias se introducen en los intersticios de la sutura.


La nanotecnología brinda a la medicina, la posibilidad de obtener materiales, con propiedades mejoradas y prolongadas. Las nanopartículas de plata (Np-Ag) generan sustancias con acción antibacteriana prolongada, que inhiben el crecimiento de microorganismos. La síntesis de Np-Ag utilizando métodos eco-amigables, disminuye el daño ocasionado al medio ambiente y al organismo.

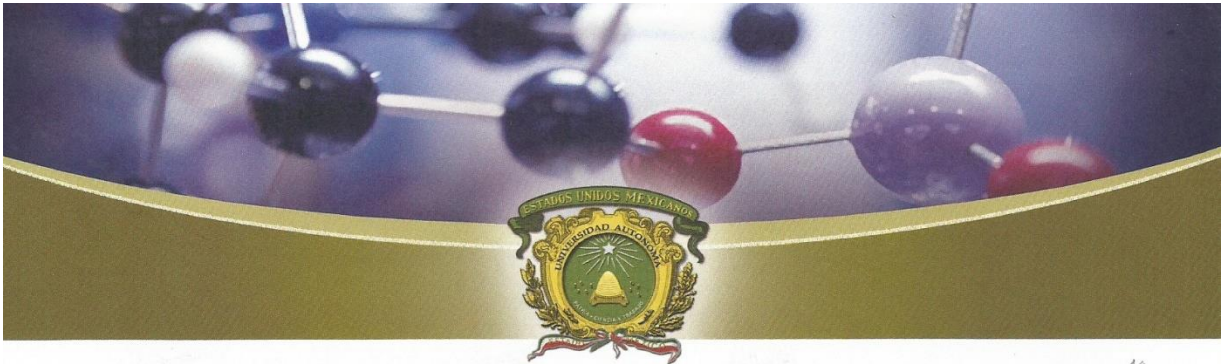
Objetivo: sintetizar nanopartículas de plata con 2 bioreductores: *Heterotheca inuloides* y *Chenopodium ambrosioides*, bajo condiciones eco-amigables. Caracterizar un "hilo inteligente" con efecto antibacteriano, llamado bionanocomposito para ser utilizado como hilo de sutura.

Metodología: Estudio experimental. Se utilizaron reductores eco-amigables; para la síntesis de Np-Ag. Ambas soluciones fueron impregnadas en 2 hilos de sutura: seda y catgut. Se realizó caracterización bajo espectrofotometría y microscopía electrónica.

Resultados: mediante espectroscopía de luz ultravioleta (UV-Vis) observamos plasmones (pico más alto de la curva) que indican la formación de Np-Ag estables y de forma esférica para ambos reductores eco-amigables. Con el análisis de Microscopía Electrónica es posible comprobar la adhesión de la plata en las fibras de las suturas.

Conclusiones: la utilización de ambos bioreductores, permitió la síntesis de Np-Ag en forma, tamaño y número adecuados, lo cual comprueba un éxito en los procedimientos eco-amigables. Aunado a esto, fue posible comprobar la adhesión de Np-Ag a los hilos de sutura, lo que muestra la posibilidad de fabricar un bionanocomposito que reúna los beneficios de la nanotecnología, las bondades de las plantas naturales y finalmente, se espera un efecto antibacteriano prolongado.





19

UAEM | Universidad Autónoma
del Estado de México

Secretaría de Investigación y Estudios Avanzados
Centro de Investigación en Ciencias Médicas

Otorga la presente

Constancia

SARAÍ CARMINA GUADARRAMA REYES, ROGELIO SCOUGALL VILCHIS, VÍCTOR
SÁNCHEZ MENDIETA, RAÚL ALBERTO MORALES LUCKIE

Por su participación en la presentación en cartel del trabajo:

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE UN BIONANOCOMPOSITO CON
NANOPARTÍCULAS DE PLATA BIOGÉNICAS; PARA SER UTILIZADO
COMO HILO DE SUTURA

7º Congreso Internacional de Investigación
en Salud "Evidencia de Impacto Social"

que se llevó a cabo los días 28, 29 y 30 de abril de 2015

PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO

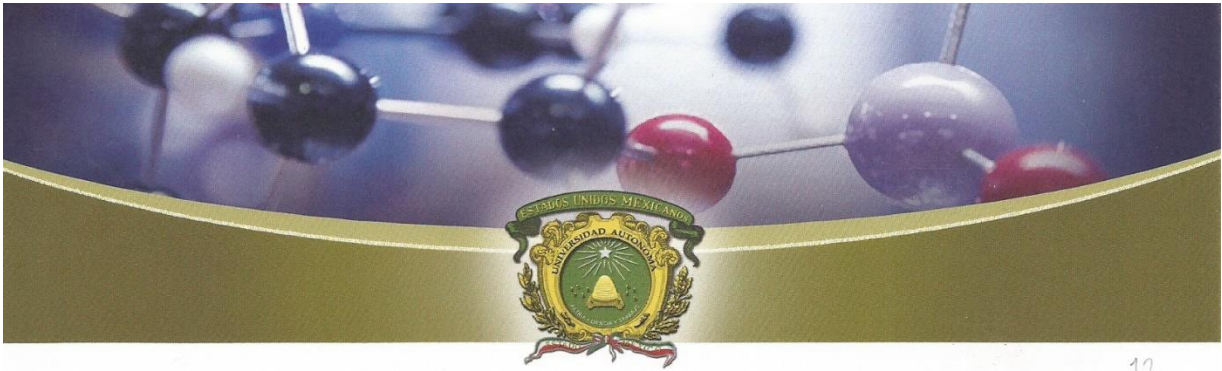
"2015, Año del Bicentenario Luctuoso de José María Morelos y Pavón"

Toluca, México, abril de 2015



M. en ED. J. Amado López Arriaga
Coordinador





12.

UAEM | Universidad Autónoma del Estado de México

Secretaría de Investigación y Estudios Avanzados
Centro de Investigación en Ciencias Médicas

Otorga la presente

Constancia

DE SEGUNDO LUGAR DE TRABAJOS LIBRES A:

**SARAÍ CARMINA GUADARRAMA REYES, ROGELIO SCOUGALL VILCHIS,
VÍCTOR SÁNCHEZ MENDIETA, RAÚL ALBERTO MORALES LUCKIE**

Por su participación en la presentación en cartel del trabajo:

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE UN BIONANOCOMOSITO CON
NANOPARTÍCULAS DE PLATA BIOGÉNICAS; PARA SER UTILIZADO COMO
HILO DE SUTURA**

**7º Congreso Internacional de Investigación
en Salud "Evidencia de Impacto Social"**

que se llevó a cabo los días 28, 29 y 30 de abril de 2015

PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO
"2015, Año del Bicentenario Luctuoso de José María Morelos y Pavón"
Toluca, México, abril de 2015



J. Amado López Arriaga
Centro de Investigación en Ciencias Médicas
UAEM

M. en ED. J. Amado López Arriaga
Coordinador





UAEM Universidad Autónoma del Estado de México

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS MÉDICAS

Otorga la presente

CONSTANCIA

A: Sarai Carmina Guadarrama Reyes, Rogelio José Scougall Vilchis,
Raúl Alberto Morales Luckie, Víctor Sánchez Mendieta

Por su brillante participación como **PONENTE** con el tema:
Obtención de un bionanocomposito de fibras naturales con nanopartículas biogénicas de plata y evaluación de su actividad antibacteriana como hilo de sutura
en el marco del **XVII COLOQUIO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS DE LA SALUD**, realizado el día 27 de Mayo de 2015.

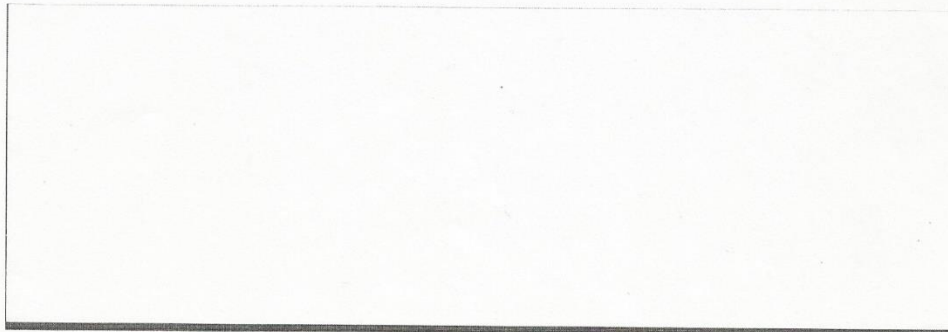
M. en A.S.S. María Juana Gloria Toxqui  
DIRECTORA DE LA FACULTAD DE ENFERMERÍA Y OBSTETRICIA

M. en Ed. J. Amado López Arriaga  
COORDINADOR DEL CIMED



Cuerpos Académicos participantes:

Fac. Odontología Salud-Enfermedad Fac. Medicina Neurociencias, Salud ambiental física médica, Investigación Biomédica Fac. Enfermería y Obstetricia. Cuidado Profesional de Enfermería Fac. Ciencias de la Conducta Socialización, Juventud y Estilos de Crianza; Cultura y Personalidad. Centro de Investigaciones en Ciencias Médicas: Bioética y Salud Mental y Salud del Universitario.





La Universidad Autónoma del Estado de México
a través de la Facultad de Ciencias de la Conducta

otorgan la presente

CONSTANCIA

A

Saraí Carmina Guadarrama Reyes

Por su participación como **PONENTE** con el trabajo intitulado: **“Obtención de un bionanocomposito de fibras naturales con nanoparticulas biogénicas de plata, y evaluación de su actividad antibacteriana como hilo de sutura”**; en el marco del “XVIII Coloquio de Investigación en Ciencias de la Salud”; llevado a cabo el día 26 de Mayo del presente año, en las instalaciones de nuestra facultad.

Avalado por el H. Consejo Académico en sesión Ordinaria del 25 de Abril de 2016

Toluca, México; Mayo de 2016

Patria, Ciencia y Trabajo
“2016, Año del 60 Aniversario de la Universidad Autónoma del Estado de México”
“2016, Año de Leopoldo Flores Valdés”



Dr. en Inv. Psic. Manuel Gutiérrez Romero
Director
FACULTAD DE CIENCIAS
DE LA CONDUCTA
DIRECCION

