

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA

TESIS:

**“CARACTERIZACIÓN Y MODIFICACIÓN DE IONÓMERO DE VIDRIO CON
NANOESTRUCTURAS PARA MEJORAR LAS PROPIEDADES ANTIBACTERIANAS”**

PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN ESTOMATOLOGÍA CON OPCIÓN TERMINAL EN PEDIATRÍA

PRESENTA:

LE. García Castellanos Brenda

MATRÍCULA: 218450009

DIRECTORA DE TESIS:

D. en C.S. Moyaho Bernal María de los Angeles

ID. 100289266

DIRECTOR METODOLÓGICO:

M. en S.P. Carrasco Gutiérrez Rosendo Gerardo

ID. 100008655

ASESOR BIOMÉDICO

M. en O. Soberanes de la Fuente Ester Luminosa

ID. 100071055

ASESOR EXTERNO

D. en I. Rubio Rosas Efraín

ID. 100409122

LECTOR:

D. Samano Valencia Carolina

ID. 100526470

Abril 2020

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA

SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESIS RECEPCIONAL

Para obtener el Grado de: **Maestra en Estomatología con opción terminal En Pediatría**
Registro CIFE: 2018081 Fecha: 14 de abril de 2020

Título de la Tesis: CARACTERIZACIÓN Y MODIFICACIÓN DE IONÓMERO DE VIDRIO CON NANOESTRUCTURAS PARA MEJORAR LAS PROPIEDADES ANTIBACTERIANAS

Domicilio: PRIVADA LA MAGUEYERA #6 2° BARRIO HUEJOTZINGO PUEBLA

Nombre del alumno: BRENDA GARCÍA CASTELLANOS


Matrícula: 218450009

Tel: 2223066051


Fecha de ingreso a la Facultad: diciembre 2018

Firma: 


Director de tesis: Moyaho Bernal María de los Ángeles Grado académico: **Doctora en Ciencias de la Salud** Adscripción: **Facultad de Estomatología** ID: **100289266** Tel: **2222788841**

Firma: 


Director metodológico: Carrasco Gutiérrez Rosendo Gerardo Grado académico: **Maestro En Salud Publica** Adscripción: **Facultad de Estomatología** ID: **100008655** Tel: **2225053084**

Firma: 


Asesor biomédico: Soberanes de la Fuente Ester Luminosa Grado académico: **Maestría** Adscripción: **Facultad de Estomatología** ID: **100071055** Tel: **2222177314**

Firma: 

Asesor externo: Rubio Rosas Efrain Grado académico: **Doctorado** Adscripción: **Dirección de Innovación y Transferencia del Conocimiento (DITCO)** ID: **100409122** Tel: **2221529980**

Firma: 

Lector: Samano Valencia Carolina Grado académico: **Doctorado** Adscripción: **Facultad de Estomatología** ID: **100526470** Tel: **4448191822**

Firma: 

Nombre y firma de aprobación Responsable de la Maestría en Estomatología con Opción terminal en

MEP. José Alberto Hachity Ortega

Firma: 

Pediatría

La Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología, autoriza la impresión de la Tesis.

MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez

Fecha: 14 de abril de 2020

Sello





BUAP

Oficio No. FESIEP/097/2020

C. Brenda García Castellanos
Matrícula: 218450009
Alumno de la Maestría en Estomatología Con
opción Terminal en Pediatría
De la Facultad de Estomatología
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla P R E S E
N T E.

El que suscribe, MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez, Secretario de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, por este medio me permito informar a usted que esta Secretaría aprueba la impresión de la Tesis titulada " Caracterización y modificación de ionomero de vidrio con nanoestructuras para mejorar las propiedades antibacterianas ", misma que presentará para realizar su examen profesional y obtener el grado de Maestro en Estomatología con Opción Terminal en Pediatría.

Sin más por el momento, deseándole lo mejor, le reitero mi distinguida consideración.

Atentamente

"Pensar bien, para vivir mejor"

H. Puebla de Z., a 14 de abril de 2020.

MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez
Secretario de Investigación y Estudios de Posgrado Facultad
de Estomatología



AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por darme salud, fuerza y fé para permitirme cumplir mis sueños, por darme las oportunidades y la sabiduría para aprovecharlas, y sobre todo por siempre cuidarme y guiarme en cada paso de mi vida.

Agradezco a mis padres Berna y Mar por siempre motivarme, impulsarme y apoyarme en todos mis deseos y metas, por creer en mi y por formarme como la mujer y profesionista que soy, siempre cuidándome y confiando en mi, siendo un gran ejemplo a seguir. A Jacque y Joel por tenerme paciencia, por apoyarme en todos los aspectos y por ser unos buenos hermanos comprensivos e inteligentes. Con el amor y paciencia de mi familia esto fue posible.

A Héctor por darme ánimos, escucharme y tolerarme con cariño. Por apoyarme en medida de lo posible y creer en mis capacidades. Junto con mis buenos amigos hacer esta etapa divertida y ayudarme a crecer junto a ellos, impulsándome a continuar en cada momento.

A los doctores Carrasco, Gabriel, Lumi, Bety, Beto, Moni, Rincón y a todos quienes con mucho cariño me instruyeron durante esta etapa profesional, creyeron en mi y me dejaron enseñanzas no solo académicas. Mi respeto y admiración para estos grandes seres humanos.

A la doctora Moyaho por ser mi guía y maestra durante este proyecto, por ayudarme e impulsarme a hacerlo cada día mejor, y porque gracias a ella desarrolle habilidades y enfrente miedos, obteniendo resultados gratificantes.

A los doctores Efrain, Gerardo, Ricardo y todo el equipo de profesionistas que aportaron de sus conocimientos y talento para la realización de esta investigación, reiterando que el trabajo en equipo siempre suma.

A mis amigas Marianita, Miri, Montse y Ofe, que más que amigas se convirtieron en compañeras de aventuras y confidentes durante esta etapa, sin ustedes no hubiera sido igual, y confió en que atesoraran cada experiencia vivida juntas.

Confió en un futuro de felicidad y éxito para cada uno de ustedes. Muchas gracias.

“Casi todo lo que realice será insignificante, pero es muy importante que lo haga” M. Gandhi.

ÍNDICE

1. Resumen	2
2. Antecedentes generales	4
a. Cemento de ionómero de vidrio	5
b. Nanotecnologías	13
c. Bacterias	16
3. Antecedentes específicos	17
4. Planteamiento del problema	21
a. Pregunta de investigación	22
5. Justificación	23
6. Hipótesis	25
7. Objetivos	27
a. Objetivo general	28
b. Objetivos específicos	28
8. Material y método	29
a. Diseño del estudio	30
b. Población	30
c. Muestra	30
d. Ubicación espacio-temporal	30
e. Criterios de selección	30
9. Variables	31
10. Procedimiento	33
a. Preparación de la muestra	34
b. Procedimiento para la preparación de los medios para determinar la capacidad antibacteriana de los materiales	38
c. Procedimiento para la determinación de la liberación de fluoruro de los materiales.	40
d. Procedimiento para la determinación de la porosidad de los materiales mediante Microtomografía computarizada de Rayos X.	40
11. Instrumentos	41
a. Microscopio Electrónico de Barrido	

b. Espectroscopía de Rayos X por Dispersión de Energía	42
c. Microtomografía Computarizada de Rayos X	42
d. Difracción por Rayos X	42
12. Diagrama de flujo	43
13. Análisis estadístico	46
14. Implicaciones bioéticas	48
15. Resultados	50
a. Caracterización de las nanoestructuras mediante el Microscopio Electrónico de Barrido	51
b. Análisis Químico Elemental de las nanoestructuras mediante Espectroscopia de Dispersión de Energía de Rayos X	55
c. Identificación de las fases cristalinas de las nanoestructuras por Difracción de Rayos X	57
d. Determinación de las propiedades antibacterianas de los materiales mediante la medición de halos de inhibición.	60
e. Determinación de la liberación de fluoruro	64
f. Determinación de la porosidad mediante la microtomografía computarizada de Rayos X (Micro CT)	66
16. Discusión	67
17. Conclusión	75
18. Alcances del estudio	77
19. Bibliografía	79
20. Anexos	85
a. Ficha técnica del Ionómero de Vidrio (GC Gold Label Light-Cured Universal Restorative).	86
b. Pautas para regulaciones sobre nanotecnologías para impulsar la competitividad y proteger el medio ambiente, la salud y la seguridad de los consumidores.	89

**“CARACTERIZACIÓN Y MODIFICACIÓN DE IONÓMERO
DE VIDRIO CON NANOESTRUCTURAS PARA MEJORAR
LAS PROPIEDADES ANTIBACTERIANAS”**

RESUMEN

La odontología restauradora contemporánea se encuentra en continua evolución con el desarrollo de nuevos materiales, técnicas y conceptos. El cemento de ionómero de vidrio (CIV) es uno de los materiales en constante innovación, que surge tras la reacción de polvo de vidrio de silicato y ácido polialquenoico. En un primer momento, este cemento dental pretendía ser para uso en restauraciones estéticas para dientes anteriores, especialmente para cavidades de clase III y V. Pero al ver su adhesión a la estructura dentaria y su aplicación específica para la prevención e intervención temprana de la caries, se extendió para otros usos como: agente cementante, sellador de fosas y fisuras, recubrimiento pulpar y restauraciones inmediatas que son las de mayor uso en odontología pediátrica.

La característica principal de estos materiales es la formación de uniones químicas a la estructura del diente, son biocompatibles, liberan iones fluoruro para su absorción en esmalte y dentina, además son capaces de absorber iones flúor de dentífricos, enjuagues bucales y soluciones aplicadas tópicamente.

Sin embargo, la literatura ha puesto en evidencia el hecho de que el fluoruro liberado no es lo suficientemente potente para combatir los efectos de la destrucción bacteriana, además de que existe una limitada durabilidad clínica de estos materiales; debido a que presentan fragilidad y deficiente resistencia al desgaste por lo que son propensos a fracturarse, así como propiedades superficiales inadecuadas. Actualmente han surgido materiales innovadores para contrarrestar estos efectos indeseables y mejorar las propiedades antibacterianas

El propósito de esta investigación fue incorporar y, por lo tanto, modificar con nanoestructuras un cemento de ionómero de vidrio comercial para mejorar la actividad antibacteriana del material, y con esto reducir la frecuencia y severidad de la caries secundaria.

ANTECEDENTES GENERALES

CEMENTO DE IONOMERO DE VIDRIO (CIV)

El primer antecedente que se tiene de estos cementos fue el oxiclورو de zinc inventado por Sorel en 1855. Este cemento fue pionero en odontología en 1858, pero no tuvo éxito clínico.¹ Luego surgió el cemento de fosfato de zinc en 1878, y más tarde fue modificado por Fleck en 1902.² El tercer cemento en este grupo fue el cemento de silicato. De los tres cementos, éste último fue el de mayor importancia clínica y fue fundamental para el desarrollo del cemento de ionómero de vidrio. A pesar de su éxito, fue un material que presentó severas deficiencias y por lo tanto no tuvo un buen éxito clínico.³ Finalmente, los cementos de ionómero de vidrio fueron inventados por Wilson y Kent en 1969,⁴ han sido ampliamente utilizados en odontología como materiales de restauración debido a su adhesión química a la estructura dental,⁵ favorable coeficiente de expansión térmica lineal, emisión dinámica de ion fluoruro⁶ y baja citotoxicidad.⁷

Propiedades físicas

A lo largo del tiempo, los componentes de los cementos de ionómero de vidrio han presentado diversas modificaciones. Las propiedades físicas de los silicatos dentales varían con la relación polvo/líquido; la mezcla se hizo mediante la incorporación gradual del polvo para minimizar el efecto de la reacción exotérmica entre los componentes del cemento. Las propiedades de los cementos⁸ resultantes se muestran en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Propiedades de los primeros ionómeros de vidrio convencionales	
Gama de Propiedades	Valores
Tiempo de trabajo, 23°C / min	1.3-3.8
Tiempo de fraguado, 37°C / min	2.75-4.7
Resistencia a la compresión, 24 h / MPa	140-195
Resistencia a la tracción diametral, 24 h / MPa	9.0-19.3
Resistencia a la flexión, 24 h / MPa	8.9-30.0
Creep, 24 h / %	0.17-0.33
Material lixiviable en agua, 1 h / %	0.13-0.70
Opacidad, C0.7	0.44-0.85

Tomado de Prosser *et al.*, 1984.⁵¹

Reacción química de los cementos de ionómero de vidrio

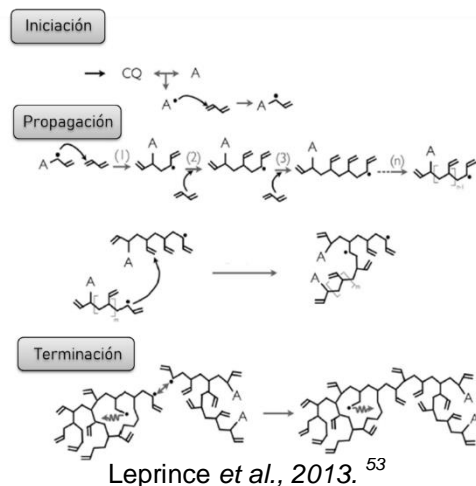
Los cementos de ionómero de vidrio (CIV), la mayoría presentan una composición polvo-líquido, el polvo actúa como base y, está compuesto por un vidrio de calcio-flúor-alumino silicato. Al ser mezclado con el líquido que contiene los poliácidos se produce la reacción ácido-base que conduce al endurecimiento del material mediante un sistema de intercambio iónico.⁸

Cuadro 2. Composición del Cemento de Ionómero de Vidrio

Polvo	Líquido
Sílice	Ácido poliacrílico
Óxido de aluminio	Ácido itacónico
Fluoruro de aluminio	Ácido maleico
Fluoruro de calcio	Ácido tartárico
Fluoruro de sodio	Agua

Tomado de Anusavice *et al.*, 1998.⁵²

Esta reacción de fraguado inicia cuando el líquido entra en contacto con el polvo. Los iones de H⁺ atacan las partículas de vidrio y liberan Ca, Al y F que se descomponen en el vidrio por acción del ácido, con la formación de un gel de sílice. A continuación, el Ca reacciona con los poliácidos y el Al. Esta sal metálica de poliacrilato empieza a precipitar y se inicia la quelación hasta el endurecimiento. El agua es importante en el fraguado ya que actúa como plastificante que reduce la rigidez, durante su colocación en el diente no debe desecarse ya que puede contribuir a un material quebradizo y el exceso de agua favorece a su disolución.⁹



Propiedades del cemento de ionómero de vidrio

Las propiedades físicas están influenciadas por la forma en que se prepara el cemento, incluye la relación polvo: líquido, la concentración del poliácido, el tamaño de partícula del polvo de vidrio y la fecha de elaboración de los materiales. Por lo tanto, es necesario tener cuidado al hacer generalizaciones sobre las propiedades de estos materiales.⁹

La Organización Internacional de Normalización (ISO, por sus siglas en inglés), la norma actual para los cementos de ionómero de vidrio¹⁰ proporciona los valores mínimos para ciertas propiedades físicas. Estos valores, que se muestran en el cuadro 3, son los aceptables para que un material sea permitido en el mercado.

Cuadro 3. Requerimientos ISO para cementos de ionómero de vidrio de uso clínico		
Propiedad	I.V. de cementación	I.V de restauración
Tiempo de fraguado/ min	2.5-8	2-6
Fuerza compresiva MPa	70 (mínima)	100(mínima)
Erosión acida (máxima)/mmh ⁻¹	-	0.05
Opacidad, C _{0.70}	-	0.35-0.90
As soluble en acido/mg kg ⁻¹	2	2
Pb soluble en acido/mg kg ⁻¹	100	100

Tomado de la Norma ISO 9917-1¹⁰

Clasificación de los cementos de ionómero de vidrio

Con base en la norma 96 para cementos dentales basados en agua de la Asociación Dental Americana (Cuadro 4).

Cuadro 4. Clasificación de los cementos de ionómero de vidrio	
Tipo I	Cementación
Tipo II	Restauradores
Tipo III	Forros y bases

Tomado de las Asociación Dental Americana (ADA)¹¹

De acuerdo a Nosas y cols., los materiales a base de ionómero de vidrio pueden dividirse: según su formulación como fraguados químicos o convencionales y modificados con resina.¹²

Clasificación según su uso

Cuadro 5. Clasificación según las indicaciones para su uso		
TIPO	CARACTERÍSTICAS	USOS
Tipo I: Cementación	Gran fluidez (tamaño de partícula muy pequeño y su proporción polvo/líquido es baja (1.5:1) + Reacción de fraguado rápida.	- Coronas de acero inoxidable: material de elección para cementado de coronas. - Bandas de ortodoncia: ideal para disminuir el riesgo de descalcificaciones.
Tipo II: Restauración	Se presentan con una relación P/L de 3:1 o mayor para mejor resistencia al desgaste y a la compresión, y se indican en restauraciones en el que la carga oclusal sea baja. <hr/> Tipo II a: Quimiopolimerizables: Es aconsejable proteger su superficie con una resina fluida que proporciona el fabricante. Sólo se deben realizar los ajustes estrictamente necesarios y si es posible demorarlo 24 horas, transcurridas las cuales el material es mucho más estable. <hr/> - Tipo II b: Estéticos modificados con resina: Permiten el acabado y pulido de la restauración de inmediato. <hr/> - Tipo II c: Reforzados con metal:	- Restauración de clase I y II: -Es controversial su indicación en restauraciones de tipo I y II con carga oclusal que no sean en dentición temporal, salvo que se trate de obturaciones provisionales. - Restauración de clase III: En dentición temporal son un material idóneo por liberar flúor en el punto de contacto, en dentición permanente sólo se usan de modo "temporal". - Restauración de clase V: Se pueden usar en ambas denticiones como material de obturación y en lesiones cervicales no cariosas. - Técnica "TRA": "técnica restauradora atraumática". Implica la remoción del tejido afectado por la caries manualmente y la colocación del CIV en la cavidad con una proporción P/L más elevada para mejorar las propiedades físicas del material.
Tipo III: base / forro	Se pueden unir directamente a la estructura dentaria y material restaurador para actuar como base que absorbe la tensión causada por la contracción de polimerización y deformaciones durante la carga oclusal.	- Forro o adhesivo dentinario: Presentan una proporción P/L 1.5:1 que aumenta su fluidez y mayor cantidad de ácido de la preparación penetra en la estructura dentinaria. - Base cavitaria: "reemplazo de dentina" el CIV.
Tipo IV: Miscelánea:	Existen productos para distintos usos, por ejemplo:	- Adhesivas: grupo de materiales para eliminar las zonas retentivas de las preparaciones protésicas. - Selladores de fisuras: Alternativa en determinadas situaciones: molares permanentes que no estén completamente erupcionados o sellado "temporal".

Tomado de Nosas *et al.*, 2006¹²

Cementos de ionómero de vidrio convencionales

Es un material compuesto formado por una reacción ácido-básica entre soluciones acuosas de ácido poliacrílico y polvo de vidrio liofilizable.¹³

Los tres componentes esenciales de los cementos de ionómero son sílice, alúmina y fluorapatita, es decir, SiO_2 , Al_2O_3 y CaF_2 . En la práctica, fueron agregados componentes adicionales para mejorar propiedades como la tasa de configuración, translucidez y resistencia final.¹⁴ Estos componentes, también se han encontrado en el cemento de ionómero de vidrio moderno G338; más la incorporación de AlF_3 , NaAlF_6 y AlPO_4 .¹⁵

El tamaño de la partícula del polvo es dependiente de la aplicación. Para materiales de relleno el tamaño de la partícula es de 50 micrómetros. Mientras que para materiales de base es menor que 20 micrómetros. Estos se presentan comúnmente como una solución acuosa de ácido polimérico y un polvo de vidrio finamente dividido, que se mezclan por un método apropiado para formar una pasta.¹⁶

Cuadro 6. Ventajas y desventajas de los CIV convencionales

Ventajas	Desventajas
-Liberación de flúor que favorece una actividad bacteriostática.	-Es muy soluble a la humedad, por lo cual requiere aislamiento absoluto.
-Resistencia a la compresión mayor que el fosfato de zinc.	-Liberación de flúor por un corto periodo de tiempo.
-Biocompatibilidad.	-Tiempo de duración corto.
-El material se reabsorbe o destruye gradualmente mediante hidrólisis o procesos enzimáticos y se reemplaza por tejido recién formado.	
-Muy buena adhesión.	

Tomado de Sidhu, 2016.³

Existen diferentes marcas comerciales de cementos de ionómero de vidrio de tipo convencional, el siguiente cuadro muestra las marcas comerciales más comunes en odontología pediátrica.

Cuadro 7. Cementos de ionómero de vidrio convencional			
Marca comercial	Descripción	Composición	Propiedades
Ketac Molar easy mix	Ionómero de vidrio de alta viscosidad indicado para restauraciones posteriores de auto fraguado, y fácil mezcla	El polvo de vidrio utilizado es muy fino y radiopaco de aluminio-calciolantano de vidrio fluorosilicato. Partículas más pequeñas de 9µm y un 10% son menores a 1µm. Relación polvo-liquido 4.5: 1 Acido en el polvo 60%. Acido en el líquido 40%.	-Liberación de flúor. -Alta resistencia a la flexión, reduce el riesgo de fractura de la restauración. -Excelente adhesión a esmalte y dentina. -Alta resistencia a la compresión. -Baja erosión a los ácidos, mantiene una excelente integridad marginal. -Radiopaco. -Nueva fórmula de polvo granulada que ofrece: -Más rapidez, facilidad en la dosificación, mezcla y uso.
GC Fuji II	Cemento restaurador de ionómero de vidrio radiopaco	Polvo: vidrio de aluminosilicato Líquido: ácido poliacrílico, 2-Hidroxietilmetacrilato, Dicarbonato trimetilhexametileno.	-Mejora la estética. -Más fuerte, lo que asegura una mayor longevidad. -Radioopaco. -Biocompatible.

Reporte de las Fichas técnicas proporcionados por los fabricantes.^{17, 18}

Modificación de los cementos de ionómero de vidrio

A través del tiempo, los cementos de ionómero de vidrio han experimentado numerosos cambios con el fin de mejorar sus propiedades clínicas. Estos cementos se crearon con la finalidad de ofrecer mejor estética y estabilidad química. Para mejorar su capacidad de adhesión, se utilizó el primer o imprimador para remover el lodillo dentinario y así mejorar el ingreso del ionómero que tiene una consistencia viscosa y como resultado forma una mejor capa híbrida. Presenta dos tipos de endurecimiento, la típica reacción del ionómero de tipo ácido-base y la de las resinas fotoactivadas.¹⁶

Actualmente, los cementos de ionómero de vidrio se han modificado con diferentes materiales a base de resina,¹⁹ antibióticos^{20,21} y más recientemente el uso de nanoestructuras.²²

Cuadros 8.1 y 8.2 Ionómeros de vidrio modificados con diferentes nanoestructuras.

Cuadro 8.1 Cementos de ionómero de vidrio modificados		
GC Gold Label Light-Cured Universal Restorative	Ionómero de vidrio restaurador, reforzado, radiopaco, fotocurable.	<ul style="list-style-type: none">* Partículas pequeñas que proporcionan cualidades estéticas y un pulido excelente.* Mayor carga de relleno para una resistencia a la abrasión considerablemente mejorada.* Buena radiopacidad para facilitar el diagnóstico postoperatorio.* Autoadhesivo e hidrófilo.
Fuji PLUS (EWT)	Cemento de ionómero de vidrio modificado con resina.	<ul style="list-style-type: none">* Adhesión química a la estructura dental, asegura un sellado marginal excelente.* Solución resistente a la humedad cuando no pueda garantizarse una superficie seca.* Solución biocompatible con la pulpa y sensibilidad postoperatoria.

Cuadro 8.2 Cementos de ionómero de vidrio modificados con nanopartículas

Ketac N100-3M ESPE	Nano-ionómero restaurador de foto polimerización, en presentación clicker, pasta: pasta; para restauraciones directas.	*Primer: Agua, HEMA, Copolímero de ácido polialquenoico. Fotoiniciadores * Pasta A. Basada en Resina: Vidrio de fluoroaluminosilicato, Nanorrellenos de silano y zirconia, resinas de metacrilato y dimetacrilato. * Pasta B. Basada en Agua: Copolímero de ácido polialquenoico. Nanoclusters de zirconia, silano. Nanorrellenos de silano, (HEMA).	* Excelente estética y mejor pulido. * Rápido y fácil de mezclar * Alta liberación de flúor. * Resistencia al desgaste mejorada. * Alta resistencia flexural. * Fotopolimerización por capas. * Radiopaco.
Cementos de ionómero de vidrio modificados con antibióticos			
I.V. con clorhexidina y antibióticos	I.V. convencional (Fuji IX) modificado con antibióticos y clorhexidina	Diacetato de clorhexidina y antibióticos (ciprofloxacina, metronidazol y minociclina). I.V. comercial (Fuji IX)	* Mejores propiedades bactericidas. * Adecuada resistencia a la compresión.
Cementos de ionómero de vidrio modificados con Óxido de Zinc (ZnO)			
I.V. con ZnO	I.V. complementado con partículas de nanofilamento de óxido de zinc (ZnO) al 5% (p / p).	I.V. convencional (Fuji II) Partículas de ZnO nanosféricas (tamaño medio de 20 nm); Partículas de ZnO nanoflowers (2 nm de grosor de pétalo y 2 μ de diámetro de pétalo); Partículas de ZnO (espesor <20 nm y longitud mayor a 1 μ).	* Disminución de la dureza superficial. * Adecuado módulo flexural.
Cementos de ionómero de vidrio modificados con Óxido de Titanio (TiO₂)			
I.V. con TiO ₂	Ionómero de vidrio convencional preparado con nanopartículas de dióxido de Titanio.	* IVC FX-II, 3% o 5% (p/p) de nanopartículas de TiO ₂ , fase de anatasa, tamaño de partícula <25 nm.	* Biocompatibilidad * Efectos proinflamatorios en altas concentraciones de TiO ₂ .
Cementos de ionómero de vidrio modificados con Grafeno Fluorado (GF)			
I.V. con GF	Ionómero de vidrio convencional modificado con grafeno fluorado (GF).	Óxido de grafeno. I.V. comercial: polvo con óxido de silicio, cloruro de calcio, fluosilicato de sodio y fosfato de aluminio. Líquido con ácido poliacrílico, ácido tartárico y agua desionizada.	* Aumento de microdureza. * Aumento de la resistencia a la compresión. * Mejores propiedades bactericidas. * Liberación de ion fluoruro.

*Recuperado de Fichas técnicas de los fabricantes ^{20, 21, 23,24}

NANOTECNOLOGÍAS

Según la definición oficial de la Iniciativa Nacional de Nanotecnología (NNI, por sus siglas en inglés), la nanotecnología entraña “investigación y desarrollo tecnológico a escala atómica, molecular o macromolecular, de un orden de longitud de aproximadamente 1 a 100 nm, para acceder a una comprensión básica de los fenómenos y materiales a nanoescala y para crear y utilizar estructuras, aparatos y sistemas que revistan nuevas propiedades y funciones justamente por ser de pequeño y/o mediano tamaño”.²⁵

Óxido de Grafeno

Es un material bidimensional (2D) que contiene átomos de carbono dispuestos en una configuración geométrica del tipo hexagonal (HCP), que tiene gran parecido a un panal de abeja, se ha estudiado ampliamente para mejorar el rendimiento de otros materiales debido a sus propiedades únicas, tales como excelentes propiedades mecánicas debido a su resistencia a la rotura de 42 N / m y módulo de Young de 1.0 TPa, estabilidad química extrema, biocompatibilidad superior, buenas propiedades antibacterianas, propiedades tribológicas favorables a la fricción²⁶ y estabilidad térmica en un rango de 480-520°C.²⁷

Recientemente, se ha demostrado en la literatura científica que materiales basados en el grafeno (GM) como el óxido de grafeno (GO) han sido probados contra patógenos dentales que demuestran de esta manera, la posibilidad de ser incorporados en ciertos materiales dentales. El efecto antimicrobiano y antibiofilm de estos materiales se pueden atribuir a tres principales diferentes mecanismos originados por la interacción directa entre las células GM y las bacterias.²⁸

También se descubrió que el grafeno no es tóxico para los osteoblastos humanos y las células estromales mesenquimales, resulta ser adecuado para la adhesión y la proliferación de los osteoblastos.²⁹

Óxido de Titanio

Los nanomateriales de dióxido de titanio (TiO_2) actualmente encuentran amplias aplicaciones tecnológicas que incluyen pigmentos, cosméticos, condensadores ultradelgados, células fotovoltaicas y fotocátalisis. El compuesto tiene tres polimorfos cristalinos más comúnmente encontrados: anatase, brookita y rutilo. Las tres estructuras cristalinas están formadas por octaedros de TiO_6 distorsionados, pero de diferentes maneras. La fase de rutilo adopta una estructura tetragonal, la anatase tetragonal, en cuanto a la brookita de octaedro.³⁰

La aplicación práctica de TiO_2 depende en gran medida de la estructura cristalina, la morfología y el tamaño de los cristallitos. Cada modificación cristalina de TiO_2 tiene diferentes propiedades fisicoquímicas, como densidad, índice de refracción y reactividad fotoquímica. Rutilo tiene la densidad más alta y el índice de refracción entre las tres fases y, por lo tanto, ha sido ampliamente utilizado en las industrias de pigmentos y cosméticos. Anatasa generalmente muestra mejores rendimientos que su contraparte de rutilo en aplicaciones fotocatalíticas, probablemente debido a la mayor vida de las portadoras de hidrógeno y electrones fotosensibles en la red anatasa. La fase de brookita es la menos estudiada en muchos aspectos de sus propiedades, principalmente debido a las dificultades encontradas para obtener su forma pura. El tamaño de la partícula es de ~21 nm. El tamaño, la forma y la síntesis controlada de fase de nanocristales TiO_2 ha sido durante mucho tiempo uno de los temas principales en la investigación de TiO_2 . Chen y Mao³¹ han dado recientemente una excelente explicación de los nanomateriales de TiO_2 con respecto a síntesis, propiedad, modificación, y aplicación.

Fosfato de plata e hidroxiapatita

El fosfato de plata presenta biocompatibilidad, propiedades bactericidas debido a la liberación lenta de iones Ag^+ y actividad fotocatalítica.

Modificación usando Nano-Apatita.- Debido a que su química es similar a la del hueso mineralizado y los tejidos dentales, la hidroxiapatita se ha utilizado en muchos campos de la odontología, como la prevención de caries, ya que los cristales de nanohidroxiapatita (nHAp) pueden favorecer la remineralización del esmalte.²²

La Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) ha revelado que la adición de apatita al polvo CIV aumenta la cristalinidad del CIV, para mejorar así la estabilidad química y la insolubilidad en agua. Tales modificaciones dan como resultado mejores tasas de longevidad que los CIV disponibles comercialmente. Se espera que los CIV que contienen nano-apatita tengan una unión superior a la superficie del diente debido a la posibilidad de formación de fuertes enlaces iónicos entre los cristales / partículas de apatita en el cemento y los iones de calcio en la estructura del diente. Además, disminuir el tamaño de partícula de las apatitas de escala micrométrica a nanométrica aumenta notablemente el área de superficie y la infiltración de los cristales en la dentina desmineralizada así como poros de esmalte; esto puede mejorar la unión en la interface de ionómero dental.³²

BACTERIAS

Las bacterias orales pertenecen a una comunidad compleja de numerosas especies que participan en la formación de la placa bacteriana (biofilm o biopelícula) con todas sus funciones, interacciones y propiedades. Varios microorganismos se incluyen en la patogénesis de la caries dental (*Streptococcus* del grupo *mutans*, *Lactobacillus spp* y *Actinomyces spp*) de los cuales, *Streptococcus mutans* es el agente más importante asociado a ella. La caries y la periodontitis son causadas por un desequilibrio en las poblaciones bacterianas de biopelículas que se forman naturalmente y ayudan a mantener el estado normal de la cavidad oral.³³

Streptococcus mutans

El *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) es un patógeno etiológico principal de la caries. Es un coco gram positivo, dispuesto en cadena, no móvil, catalasa negativa, productor rápido de ácido láctico con capacidad de cambiar un medio de pH 7 a pH 4.2, aproximadamente en 24 horas. Fermentador de glucosa, lactosa, rafinosa, manitol, inulina y salicina con la producción de ácido. Normalmente no desamina la arginina para producir amoniaco. El hábitat natural de *S. mutans* es la boca humana. En cavidad oral, las colonias se adhieren muy cerca de la superficie del diente e igualmente se puede recuperar en lesiones cariosas.^{33, 34}

ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

Diferentes reportes en la literatura han evaluado la síntesis de los ionómeros de vidrio con el uso de diferentes sustancias como los antibióticos. Yesilyurt et al.,²⁰ evaluaron los efectos antibacterianos, propiedades físicas y de adhesión. Los resultados, demostraron que los ionómeros de vidrio que contienen mezclas de antibióticos son efectivos para inhibir las bacterias asociadas con la caries.

Marti et al.,²¹ evaluaron el efecto de diferentes concentraciones de digluconato de clorhexidina (CHX) en la actividad antimicrobiana contra *S. mutans* y *L. acidophilus*, observaron que la adición de CHX promovió la formación de un halo de inhibición en ambas cepas bacterianas para todas las concentraciones.

Por otra parte, Mittal et al.,³⁵ evaluaron la eficacia antimicrobiana y la resistencia a la compresión del ionómero de vidrio convencional con clorhexidina y antibióticos a diferentes concentraciones. Sintetizaron el ionómero de vidrio con diacetato de clorhexidina y antibióticos (ciprofloxacina, metronidazol y minociclina) incorporándolos al CIV comercial (Fuji IX). Inocularon las muestras en *S. mutans*, y concluyeron su eficacia en la inhibición de las bacterias.

Estudios han incorporado diferentes nanopartículas al cemento del ionómero de vidrio para evaluar otras propiedades, como el módulo flexural y la resistencia mecánica, Weng et al.,³⁶ realizaron la síntesis y caracterización de un ionómero de vidrio compuesto por poli (ácido acrílico-co-ácido itacónico) en forma de estrella fotocurable, realizaron también pruebas de resistencia mecánica. Concluyeron que los poliácidos en forma de estrella mostraron viscosidades significativamente más bajas en agua en comparación con los poliácidos lineales.

Gupta et al.,²² prepararon una mezcla de biomateriales ZnO y HAP en un nanocompuesto que se puede incorporar directamente en el ionómero de vidrio restaurador para mejorar sus propiedades mecánicas y antibacterianas. Investigaron también, las propiedades antimicrobianas para *E. Coli* DH5 y *S. mutans*; observaron, que el material compuesto retardaba significativamente la actividad microbiana.

Chen et al.,³⁷ realizaron un estudio para sintetizar las partículas de fosfato de calcio agregadas al metal para probar las propiedades antibacterianas del ionómero de vidrio convencional, además de su fuerza compresiva, concluyeron que la incorporación de Ag-DCPA y Ag-HA al 10% o 20% podrían mejorar las propiedades antibacterianas del I.V, para mantener sus propiedades físicas.

Paiva et al.,¹³ desarrollaron la fotorreducción en un paso de nanopartículas de plata (AgNP) en el ionómero de vidrio convencional con actividad antibacteriana; y también evaluaron su manejo y propiedades mecánicas. Concluyeron que la preparación de nanopartículas de plata en una solución de poliacrilato permite la producción de cementos bioactivos con parámetros adecuados para su uso clínico y gran potencial de aplicación biomédica.

El- Wassefy et al.,³⁸ estudiaron el efecto de la incorporación de nanopartículas de plata en concentraciones de 0, 3 y 5% al cemento de ionómero de vidrio en la biopelícula *Staphylococcus aureus*; observando la limitación de dicha biopelícula, con un efecto insignificante en las propiedades mecánicas y una influencia notable en su coloración, que restringen su uso en áreas donde la estética no es motivo de preocupación.

García et al.,³⁹ investigaron la posible citotoxicidad y efecto proinflamatorio de ionomero de vidrio convencional preparado con nanopartículas de dióxido de Titanio (TiO₂), y se comprobaron sus efectos pro-inflamatorios en altas concentraciones de TiO₂.

Actualmente han surgido nuevas modificaciones al cemento de ionómero de vidrio convencional con la incorporación de nanopartículas; tal es el caso de Panahandeh et al.⁴⁰ incorporaron nanopartículas de óxido de zinc con tres morfologías diferentes a un cemento de ionómero de vidrio convencional, y evaluaron sus propiedades mecánicas en busca de mejoras; concluyeron que la incorporación de dichas nanopartículas de óxido de zinc disminuyeron la dureza superficial del cemento del ionómero de vidrio convencional y no produjeron cambios en su módulo flexural.

Sun et al.,²⁶ incorporaron grafeno fluorado (GF); un material que tiene amplio auge en la tecnología actual por sus múltiples propiedades benéficas al ser incorporado a los materiales. Dicha modificación se realizó en el cemento de ionómero de vidrio convencional, en el que lograron el aumento de la microdureza de Vickers y la resistencia a la compresión. El recuento de colonia contra *S. aureus* y *S. mutans* disminuyó con el aumento del contenido de GF. Y la tasa antibacteriana de *S. mutans* fue de 85.2% cuando el contenido de GF fue de 4% en peso. Además, la propiedad de liberación de ion fluoruro y la solubilidad no mostraron diferencias significativas entre I.V. no reforzados y reforzados con GF.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El ionómero de vidrio es uno de los materiales de mayor uso en el área de estomatología pediátrica; por su aplicación en la intervención temprana de caries desempeña un papel importante en el manejo de los pacientes con alto riesgo.

Las principales ventajas que ofrecen estos materiales son: liberación de flúor que favorece una actividad antimicrobiana, resistencia a la compresión mayor que otros materiales además de ser biocompatibles.

Sin embargo, algunos reportes de la literatura han demostrado que el tiempo de fotopolimerizado y las características finales de los compuestos (HEMA) producen alteraciones en la estructura del material. Esto genera mayor rugosidad en la superficie del material y favorece la colonización bacteriana además de que presentan varios inconvenientes: fragilidad debido a que son propensos a fracturarse, deficiente resistencia al desgaste y propiedades superficiales inadecuadas, también son sensibles a la humedad en la cavidad oral al ser colocados. Estos aspectos mencionados restringen su uso para muchas situaciones clínicas.³² Es por ello que surge la siguiente pregunta de investigación:

¿El ionómero de vidrio modificado con nanoestructuras incrementa las propiedades antibacterianas del ionómero de vidrio modificado con resina?

JUSTIFICACIÓN

Los sistemas de cemento de ionómero de vidrio se han convertido en importantes materiales de restauración para uso en preescolares, niños y adolescentes.

Sin embargo, la literatura ha demostrado que son materiales de poca durabilidad en cavidad bucal así como con una gran susceptibilidad a la adherencia bacteriana; lo que conlleva a la aparición de caries secundaria, la cual es una de las razones más comunes para el reemplazo de este tipo restauraciones.

Por lo que resulta importante incorporar nanoestructuras a estos materiales, con el objetivo de incrementar, mejorar y modificar el ionómero de vidrio para reducir la frecuencia y severidad de la caries secundaria debido a la adherencia bacteriana y poca durabilidad de estos materiales en boca. El impacto clínico que surgirá a partir de estas nuevas tecnologías será la mejora en las propiedades antibacterianas del material modificado.

HIPÓTESIS

H1. El ionómero de vidrio modificado con nanoestructuras presenta **mayores** propiedades antibacterianas que el ionómero de vidrio modificado con resina.

H0. El ionómero de vidrio modificado con nanoestructuras presenta propiedades antibacterianas **similares** a las del ionómero de vidrio modificado con resina.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Caracterizar y modificar un ionómero de vidrio con nanoestructuras para mejorar las propiedades antibacterianas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar las nanoestructuras de óxido de grafeno, óxido de titanio y fosfato de plata e hidroxiapatita mediante el Microscopio Electrónico de Barrido.
- Analizar las nanoestructuras de óxido de grafeno, dióxido de titanio y fosfato de plata e hidroxiapatita mediante el análisis químico elemental por Espectroscopia de Dispersión de Energía de Rayos X.
- Identificar las fases cristalinas de las nanoestructuras por Difracción de Rayos X.
- Determinar las propiedades antibacterianas de los materiales mediante la medición de halos de inhibición.
- Determinar la liberación de fluoruro del CIV modificado con fosfato de plata e hidroxiapatita.
- Determinar la porosidad del CIV modificado con fosfato de plata e hidroxiapatita mediante Microtomografía computarizada de Rayos X (Micro CT).

MATERIALES Y MÉTODOS

- a) **DISEÑO DE ESTUDIO:** Experimental, *in vitro*.
- b) **POBLACIÓN:** Ionómeros de vidrio (GC Fuji II LC), Ionómeros de vidrio modificados con óxido de grafeno, dióxido de titanio, fosfato de plata e hidroxiapatita.
- c) **MUESTRA:** Muestreo no probabilístico por conveniencia.
- d) **UBICACIÓN ESPACIO-TEMPORAL:** Dirección de Innovación y Transferencia del Conocimiento (DITCO), área de laboratorio de Microbiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. En el periodo mayo 2018 a diciembre 2019.
- e) **CRITERIOS DE SELECCIÓN:**
- Criterios de inclusión:
 - Muestras que presenten superficie homogénea.
 - Incorporación adecuada de las diferentes nanoestructuras.
 - Criterios de exclusión:
 - Muestras que presenten algún daño durante su preparación.
 - Criterios de eliminación:
 - Todas aquellas muestras que se hayan contaminado con alguna otra partícula.
 - Muestras que se rompan.

VARIABLES

Cuadro 9. Variables del estudio

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala y Categoría	Tratamiento estadístico
Nanoestructuras (Independiente)	Es una estructura de tamaño intermedio entre las estructuras moleculares y microscópicas.	Se incorporó al polvo del IV convencional a diferentes concentraciones 5, 10 y 20%.	Cualitativa, nominal, policotómica	No aplica
Caracterización de las nanoestructuras	Descripción de las diferentes nanoestructuras	Se caracterizaron las nanoestructuras mediante SEM sobre una muestra de cada grupo.	Cualitativa	No aplica
Composición química de las nanoestructuras	Cuantificación del porcentaje atómico de los elementos químicos encontrados en las diferentes nanoestructuras	Se cuantificó el porcentaje atómico de los elementos químicos.	Cuantitativa, por razón continua (Porcentaje)	No aplica
Cristalinidad de las nanoestructuras	Describir las fases cristalinas presentes en las nanoestructuras	Se determinaron las fases cristalinas presentes por cada nanoestructura	Cualitativa	No aplica
Capacidad antibacteriana	Determinar la capacidad antimicrobiana frente a <i>Streptococcus mutans</i> en ionómeros de vidrio que han sido modificados con nanoestructuras.	Se midió la distancia en milímetros del halo de inhibición de crecimiento de la bacteria empleada.	Cuantitativa, por razón, continúa. (Distancia en mm. del halo)	Media y DE. Kruskal Wallis
Liberación de fluoruro	Cuantificar la liberación de fluoruro mediante un potenciómetro.	Se cuantificó la liberación durante 55 días en IV modificados con nanoestructuras.	Cuantitativa, por razón continua (ppm)	T para una muestra
Porosidad	Determinar la presencia de poros de diferentes tamaños en los IV modificados.	Se determinó la porosidad mediante Microtomografía computarizada de Rayos X (Micro CT).	Cualitativa	No aplica

PROCEDIMIENTO

Previo al procedimiento definitivo, se realizaron diferentes pruebas piloto con la finalidad de evaluar las diferentes características propias de cada nanoestructura, así como también para observar su incorporación y homogeneidad en el cemento de ionómero de vidrio (GC Fuji II LC). Se confeccionaron unos moldes de acrílico, diámetro de 6 mm, grosor 1.8 mm, posteriormente, se realizó la estandarización del investigador principal para la manipulación de las diferentes nanoestructuras, así como la incorporación de estas en el cemento de ionómero de vidrio convencional.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Se obtuvo el peso original del cemento del ionómero de vidrio (GC Fuji II LC) con el empleo de una balanza analítica (Adventurer Ohaus). A partir del cemento de ionómero (GC Fuji II LC), todas las muestras fueron del mismo lote para evitar variaciones en los compuestos de este. Fig. 1.

Después se formaron cuatro grupos con diferente nanoestructura. Grupo 1: control, grupo 2: óxido de grafeno, grupo 3: dióxido de titanio y grupo 4: fosfato de plata e hidroxiapatita a tres diferentes concentraciones 5, 10 y 20%. Cuadro 10

Grupo 1. Grupo control: el procedimiento fue realizado de acuerdo con las especificaciones del fabricante (Anexo 1).

Grupo 2. Se pesaron de acuerdo con los porcentajes (5, 10 y 20%) de polvo de las nanopartículas del óxido de grafeno, y se complementó con el polvo del ionómero de vidrio comercial (GC Fuji II LC), hasta obtener la cantidad de 0.21 gramos que corresponde a una porción de la marca comercial.

Grupo 3. Se pesaron de acuerdo con los porcentajes (5, 10 y 20%) de polvo de las nanopartículas del dióxido de titanio (ALDRICH, Chemistry), tamaño de nanopartícula ~21 nm, metales base de $\geq 99.5\%$, (Lot# MKBL0267V) y se complementó con el polvo del ionómero de vidrio comercial (GC Fuji II LC), hasta obtener la cantidad de 0.21 gramos que corresponde a una porción de la marca comercial.

Grupo 4. Se pesaron de acuerdo con los porcentajes (5, 10 y 20%) de polvo de las nanopartículas de fosfato de plata e hidroxiapatita y se complementó con el polvo del ionómero de vidrio comercial (GC Fuji II LC), hasta obtener la cantidad de 0.21 gramos que corresponde a una porción de la marca comercial.

Cuadro 10. Preparación de muestras de ionómero de vidrio con incorporación de nanopartículas

Fuente propia: ionómero de vidrio.

Proporciones:

- 1 cucharada de polvo/ 2 gotas de líquido.
- 0.21 g. de polvo/ 57 μ l de líquido.

Porcentaje	Polvo (0.21 g.)		Líquido (57 μ l)
5	Nanopartículas:	0.0105 g.	57 μ l
	I.V.	0.1995 g	
10	Nanopartículas:	0.021 g.	~ 70 μ l
	I.V.	0.189 g.	
20	Nanopartículas:	0.042 g.	~ 70-75 μ l
	I.V.	0.168 g.	

Se hizo el dispensado del polvo y líquido, en el que la relación recomendada de polvo/líquido es de 3.2/1.0 g. (1 cuchara rasa de polvo por 2 gotas de líquido). Posteriormente se colocó 0.21 g. de polvo y 57 microlitros de líquido sobre el bloque de papel encerado y se dividió el polvo en dos mitades. Con una espátula de plástico se esparció el líquido en una capa fina de 3 cm, se introdujo una mitad del polvo en el líquido y se mezcló con trazos frotantes (como los materiales de impresión) durante 10-15 segundos, finalmente se agregó el polvo restante y se mezcló perfectamente hasta obtener una consistencia brillante. No se excedió de los 20-25 segundos de tiempo total de mezclado.

La mezcla se colocó en un molde de acero inoxidable, estandarizados a (6 mm de diámetro y 1.8 mm de grosor); se fotopolimerizó por ambos lados de la muestra durante 20 segundos cada lado a distancia cero, se cubrió cada lado de la muestra con una banda celuloide durante el fotopolimerizado.

El ionómero de vidrio modificado con resina (GC Fuji II LC, número de lote: 1611161) (Fig. 1) se mezcló en varias proporciones al 5, 10 y 20%, con las diferentes nanopartículas. Se pesaron las nanopartículas en polvo y del ionómero de vidrio convencional en una escala digital (balanza analítica Adventurer Ohaus) (Fig. 2) Con una precisión de 0,0001 g.



Figura 1. CIV Fuji II LC
Ionómero de vidrio modificado con resina.

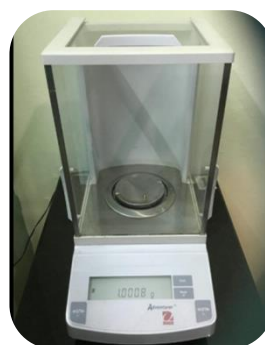


Figura 2. Balanza analítica
Calibración de balanza analítica (Adventurer Ohaus) utilizada para el pesado de polvo.

El polvo y las nanopartículas se mezclaron con el uso de una espátula de plástico en un papel de mezcla. Se realizaron los cálculos necesarios para lograr cada concentración con un equivalente de 0.21g al 100%. (ANEXO 2) Se utilizó la relación polvo / líquido recomendada (P / L) de 2.7 / 1 g. para GC Fuji II LC en todas las muestras preparadas.

Se emplearon diferentes moldes de acero inoxidable con un diámetro de 6 mm de diámetro, grosor de 1.8 mm para cada uno de los grupos, que fueron etiquetados de la siguiente manera: **Grupo1:** control, **Grupo 2A:** óxido de grafeno al 5%,

Grupo 2B: óxido de grafeno al 10%, **Grupo 2C:** óxido de grafeno al 20%, **Grupo 3A:** dióxido de titanio al 5%, **Grupo 3B:** dióxido de titanio al 10%, **Grupo 3C:** dióxido de titanio al 20%, **Grupo 4A:** fosfato de plata e hidroxiapatita al 5%, **Grupo 4B:** fosfato de plata e hidroxiapatita al 10%, **Grupo 4C:** fosfato de plata e hidroxiapatita al 20%, con la finalidad de evitar contaminación cruzada entre las diferentes nanoestructuras (Fig. 3).

Se realizó el pesado de polvo de las diferentes concentraciones (Fig. 4a). La medición del líquido se llevó a cabo con una micropipeta (Pipet4u) (Fig. 4b).

Los moldes se llenaron con el material y se cubrieron con una banda celuloide que se presionó suavemente para eliminar las burbujas de aire del cemento de ionómero de vidrio modificado (Fig. 4c). Se fotopolimerizó con la lámpara (Bluephase N100) por ambos lados de la muestra durante 20 segundos cada lado a distancia cero, se cubrió cada lado de la muestra con una banda celuloide durante el fotopolimerizado. Finalmente, las muestras se guardaron en una placa de microtitulación cubiertas con papel aluminio con la finalidad de terminar el proceso de fotopolimerización de los ionómeros de vidrios (comercial y los modificados con las nanopartículas).



Figura 3. Elaboración de moldes.
Diámetro de 6 mm,
grosor de 1.8 mm.

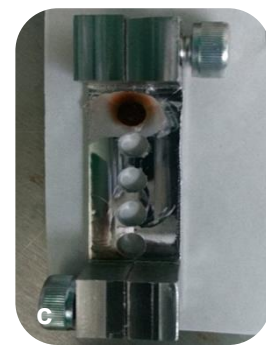
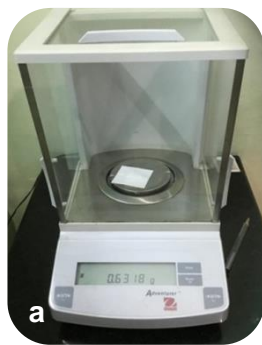


Figura 4. Elaboración de la muestra

a) Pesado de polvo de CIV y de nanopartículas con balanza analítica. b) Medición de líquido con micropipeta C) Colocación de la mezcla en el molde para realización de la muestra.

PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS PARA DETERMINAR LA CAPACIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS MATERIALES

Se hizo mediante la modificación al método de difusión en agar Kirby-Bauer que consistió en emplear 3 muestras y cada una por triplicado. Se hizo la preparación de las placas con el medio de cultivo, en el que se vertieron de 25 a 30 ml de agar Mueller Hinton fundido en placas estériles de 100 mm de diámetro, para obtener una altura de 4 mm durante 24 hrs. (Fig.5).

Se templaron las placas durante 15- 25 minutos antes de su utilización. Se limpiaron con papel y alcohol. Se rotularon con el tipo de agar, bacteria a utilizar, en este caso se trató de *Streptococcus mutans* (ATCC 35668), fecha y número de muestras (Mueller Hinton, *S. mutans*, 11-07-2018, 1-2-3-4) (Fig. 6)

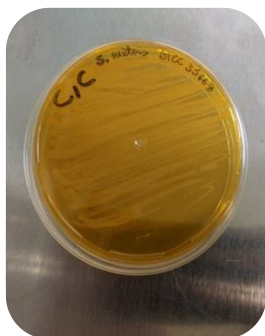


Figura 5. (Mueller Hinton, *Streptococcus mutans*)
Placas utilizadas para realizar la determinación de la capacidad antibacteriana de cada grupo de estudio.

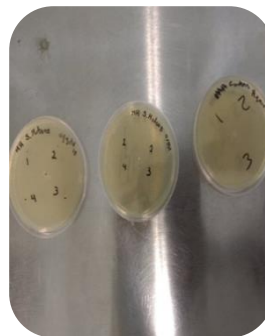


Figura 6. Rotulación
Cada placa con el tipo de agar, *S.M.*, fecha y numero de muestra (4 por cada placa).

Posteriormente se realizó la preparación del inóculo, en el que se tomó una colonia de *Streptococcus mutans* y se estrió en toda la placa de cultivo, luego se colocó la muestra sobre la placa y se incubó 24 horas a $36.5 \pm 1^\circ\text{C}$. En cada placa se colocó 1 muestra de cada porcentaje de cada grupo y una muestra de grupo control (un total de 4 muestras en cada placa), y de cada grupo se realizó un triplicado. (Figs. 7 a,b,c).

Se observó si la muestra produjo un halo de inhibición de crecimiento de la bacteria empleada y se midió la distancia en milímetros de dicho halo a las 24 horas. (Fig. 8).

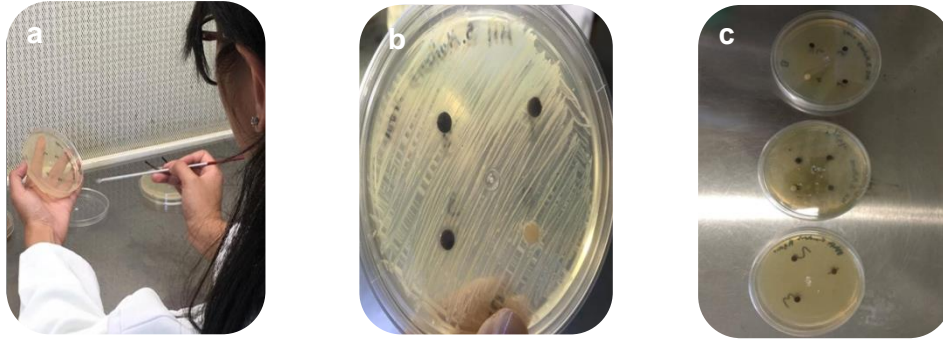


Figura 7. Preparación del inoculo

a) Estriado de *S.M.* en la placa de cultivo. b) Colocación de las muestras sobre la placa de cultivo c) Incubación 24 horas a $36.5 \pm 1^\circ\text{C}$.



Figura 8. Medición de halos de inhibición

Se realizaron 4 mediciones por muestra de cada grupo G1 control, G2 10%, G3 15%, G4 20%.

PROCEDIMIENTO PARA LA LIBERACION DE FLUORURO DE LOS MATERIALES

Se realizaron las curvas de calibración, se tomaron 5 muestras por cada grupo (Control, y los CIV modificado con fosfato de plata e hidroxiapatita al 5%, 10% y 20%), se colocaron en contenedores cerrados herméticamente con 5ml de agua destilada y con una temperatura constante de $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de la medición que fue realizada a las 24 horas con un electrodo selectivo para iones fluoruro conectado a un analizador de iones Orion 940, Expotech, Texas, EE.UU. Después de cada medición se enjuagaron las muestras con agua destilada y se transfirieron a nuevos contenedores con agua destilada fresca a $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Se realizaron mediciones durante 55 días consecutivos, los valores de fluoruro de los grupos experimentales fueron expresados en ppm.

PROCEDIMIENTO PARA LA POROSIDAD DE LOS MATERIALES MEDIANTE LA MICROTOMOGRAFÍA COMPUTARIZADA DE RAYOS X

Las muestras fueron fijadas en un contenedor de aluminio y se llevaron al Microtomógrafo Computarizado de Rayos X (Micro CT), se determinó la presencia de poros de diferentes tamaños de los grupos de estudio (control y CIV modificado con fosfato de plata e hidroxiapatita al 5%, 10% y 20%) posterior a ser sumergidos durante la prueba de liberación de fluoruro. Se describieron las características de cada una de las muestras por un solo investigador experto en el tema.

INSTRUMENTOS

MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO (MEB)

Se empleó una capa conductora, así como un recubrimiento de oro para su análisis. Las especificaciones del microscopio fueron: al Modo de Bajo Vacío (10 Pa de presión en la cámara). En el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) (JEOL, JSM-6510LV, Japón) a una magnificación de 500X, 1000X y 2500X, con un voltaje de aceleración de 20kV. Se describieron las características de cada una de las muestras por un solo investigador experto en el tema.

ESPECTROSCOPIA DE RAYOS X POR DISPERSIÓN DE ENERGÍA (EDS)

Mediante el análisis químico elemental se analizaron las diferentes nanoestructuras a una magnificación estandarizada de 100x a una distancia de trabajo de 10 mm y toda el área de la imagen fue seleccionada para determinar los porcentajes atómicos (%at) de los elementos químicos que componen cada una de las nanoestructuras con el uso de un sistema detector de rayos X (Oxford Instruments, 7582, Reino Unido) acoplado a un Microscopio Electrónico de Barrido. Se describieron las características de cada una de las muestras por un solo investigador experto en el tema.

MICROTOMOGRFÍA COMPUTARIZADA DE RAYOS X

Para analizar la porosidad de los diferentes grupos, se empleó un micro CT para determinar el volumen del poro, así como su tamaño individual para proporcionar el porcentaje de porosidad y de grietas en el interior de cada muestra analizada, sin necesidad de realizar ningún tipo de corte, evaluadas por el investigador experto.

DIFRACCIÓN POR RAYOS X (DRX)

Se determinó la presencia de fases cristalinas del cemento de ionómero de vidrio comercial y de las nanoestructuras por Difracción de Rayos X. Se describieron las características de cada una de las muestras por un solo investigador experto en el tema.

DIAGRAMA DE FLUJO

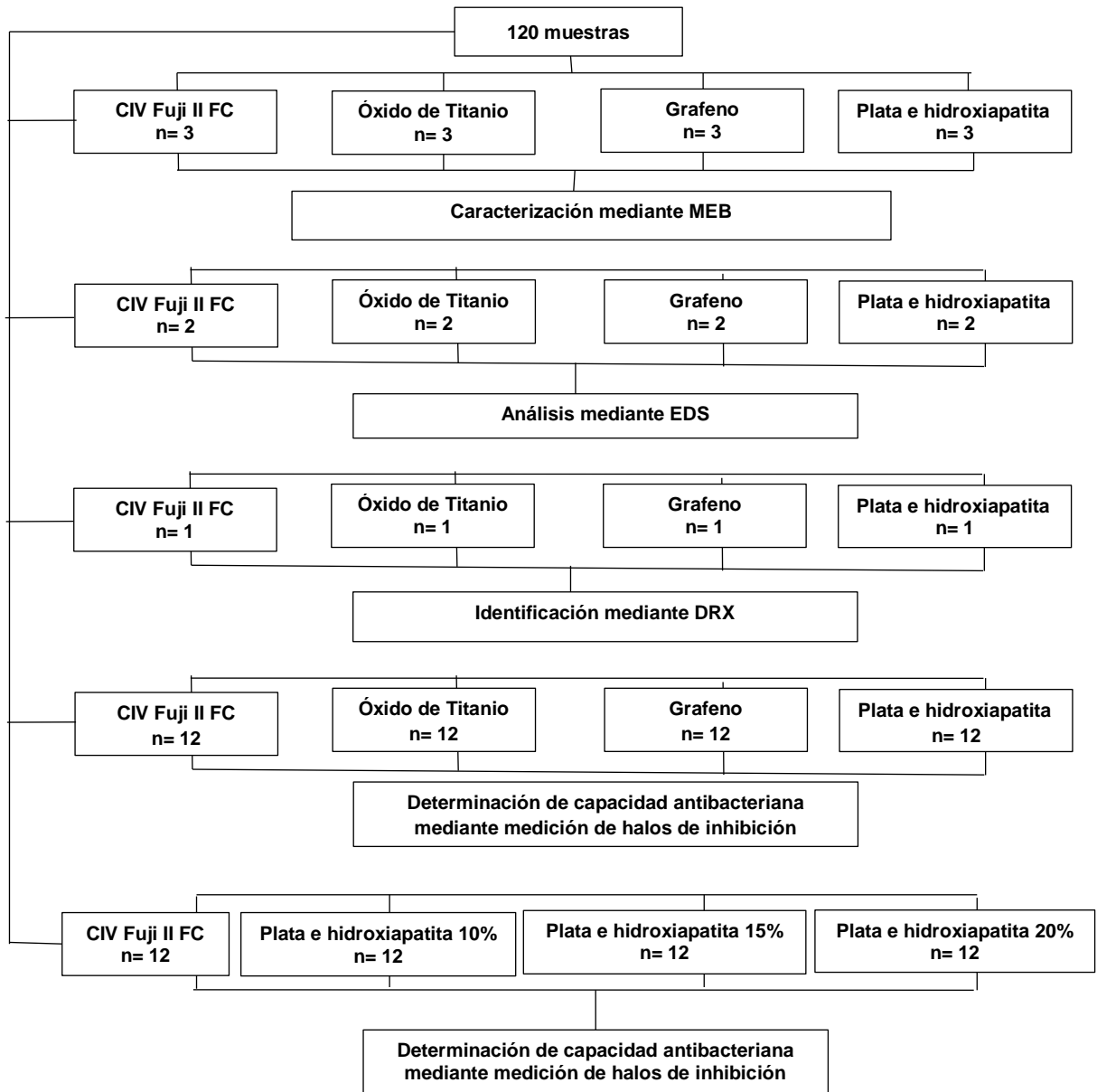


Figura 9. Diagrama de la primera fase de la investigación

Proceso para la caracterización, análisis químico elemental, identificación de fases cristalinas y determinación de la capacidad antibacteriana de las diferentes nanoestructuras y materiales utilizados.

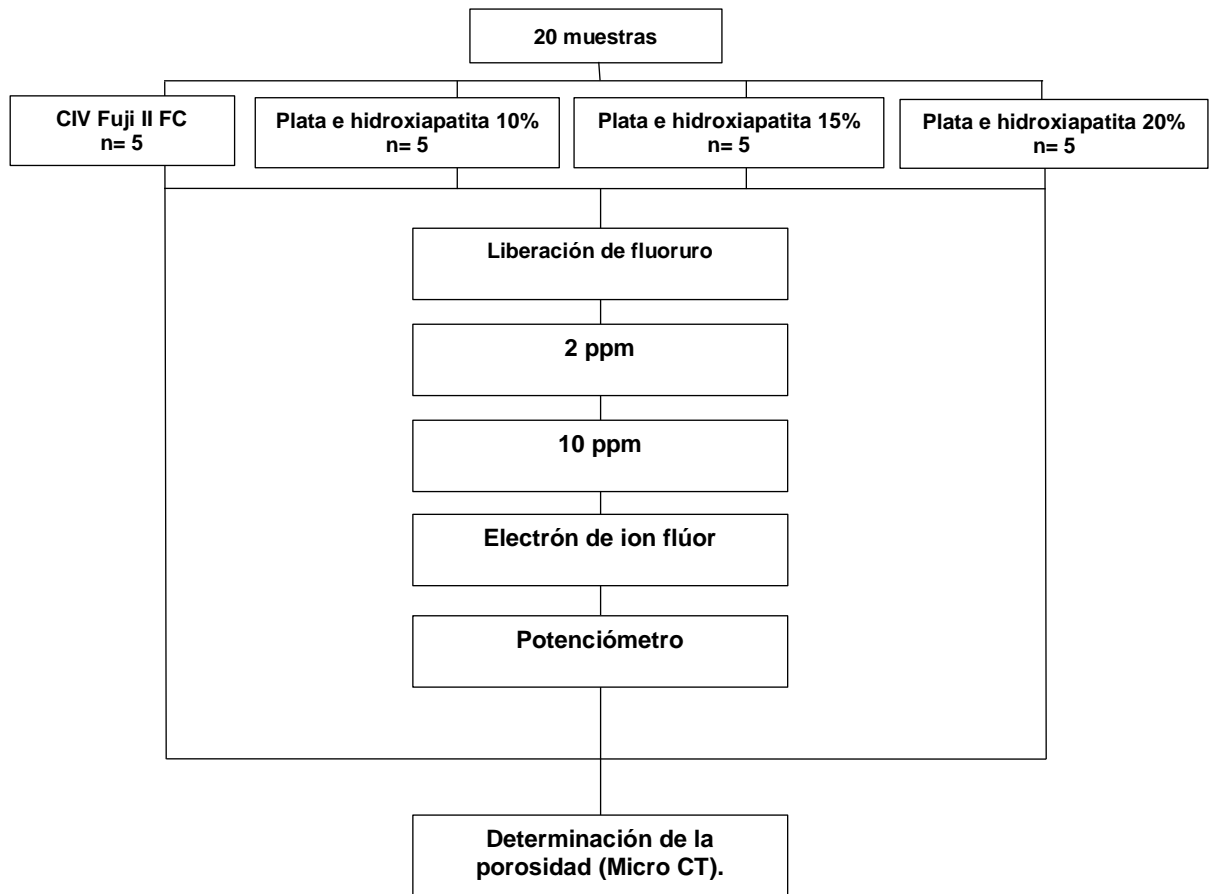


Figura 10. Diagrama de la segunda fase de la investigación

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se empleó el programa SSPS versión 22.

Determinación de la capacidad antibacteriana mediante la medición de halos de inhibición

Se realizó la prueba de Kruskal Wallis (post hoc prueba del rango múltiple Duncan) para registrar la medición de la distancia en milímetros del halo de inhibición de crecimiento de la bacteria empleada (*S.M.*).

Determinación de la liberación de fluoruro de los materiales.

Se realizó estadística descriptiva, se observó mediante gráficos el comportamiento de la liberación de fluoruro por día durante 55 días en los 4 grupos de estudio. Además, se obtuvo la medición inicial y final de cada grupo, se sacó la diferencia y se realizó la prueba T para una muestra para registrar las diferencias entre los grupos.

Determinación de la porosidad de los materiales mediante la Microtomografía computarizada de Rayos X (Micro CT).

Se realizó estadística descriptiva para observar el tamaño de poro de los materiales representando de color rojo los poros de mayor tamaño y de azul los poros de menor tamaño.

IMPLICACIONES BIOÉTICAS

Esta investigación se realizó de acuerdo con las pautas para regulaciones sobre nanotecnologías para impulsar la competitividad y proteger el medio ambiente, la salud y la seguridad de los consumidores. De acuerdo con los lineamientos, en los puntos 4 al 8 (Anexo 2).

Esta investigación se apegó de acuerdo con las siguientes normas:

NOM-018-STPS-2000. Sistema para la identificación y comunicación de peligros y riesgos por sustancias químicas peligrosas en los centros de trabajo.

NOM-096 ADA correspondiente a los cementos a base de agua.

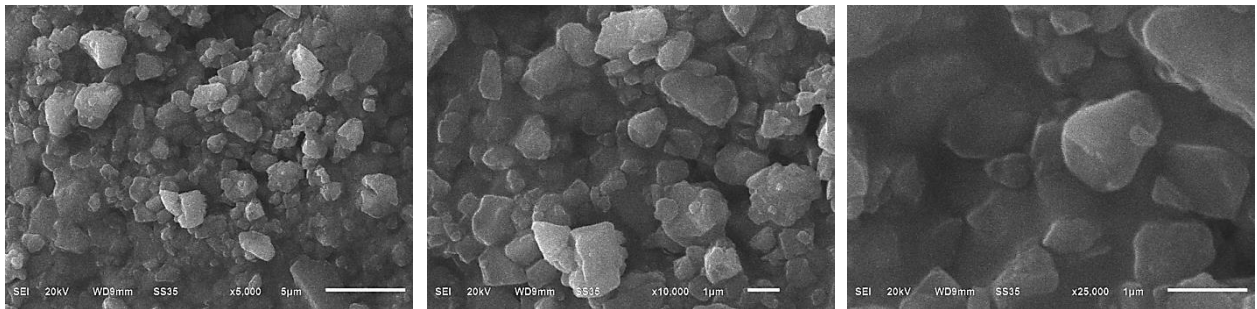
RESULTADOS

CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOESTRUCTURAS MEDIANTE EL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO

Se realizó la caracterización del cemento de ionómero de vidrio (GC Fuji II LC) así como de las diferentes nanoestructuras estudiadas mediante el Microscopio Electrónico de Barrido a diferentes ampliaciones de 1,000X, 5,000X y 50,000X.

En las siguientes micrografías se muestra la caracterización de los materiales dentales (GC Fuji II LC), se pueden observar partículas amorfas de diferente tamaño con presencia de espacios entre las partículas (Fig. 11.1)

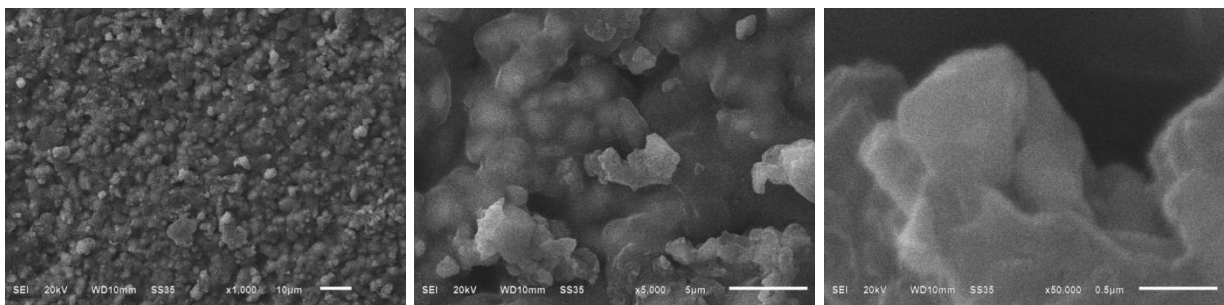
Fig 11.1 Micrografías del cemento de ionómero de vidrio Fuji II FC



Fuente propia: CIV Fuji II FC observadas a diferentes ampliaciones (5.000, 25.000 y 50.000X).

En el CIV modificado con nanoestructuras de óxido de grafeno, se observaron las formas de hojuelas de diferentes tamaños del grafeno y en algunas zonas los conglomerados que se forman de los mismos cristales incorporadas a las partículas de diferente tamaño del CIV, además de presentar espacios de menor tamaño entre dichas partículas a comparación del CIV comercial. (Fig. 11.2).

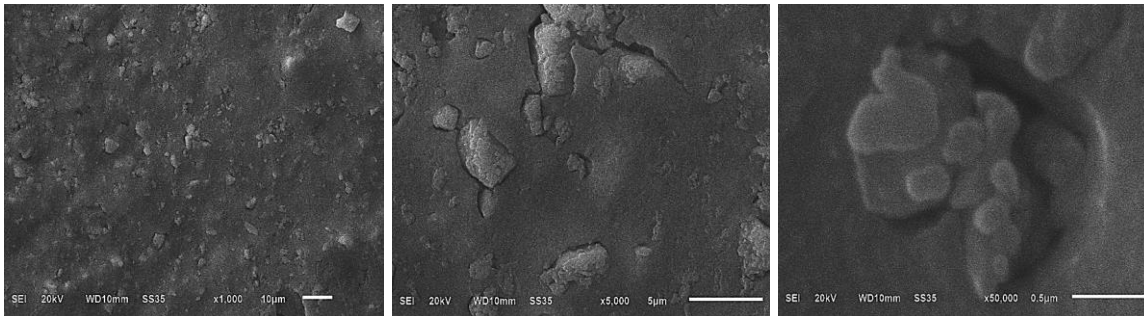
Fig. 11.2 Incorporación de Grafeno al Cemento de Ionómero de Vidrio



Fuente propia: CIV con Óxido de Grafeno a diferentes ampliaciones (1.000, 5.000 y 50.000X).

Posteriormente se realizó la caracterización del CIV modificado con nanopartículas de dióxido de Titanio, se observó una superficie más compacta y homogénea, sin embargo, en otras zonas fue evidente que no hubo una buena incorporación de las nanopartículas, por presencia de conglomerados de gran tamaño al CIV convencional (Fig. 11.3).

Fig. 11.3 Incorporación de Dióxido de Titanio al Cemento de Ionómero de Vidrio



Fuente propia: CIV con TiO₂ a diferentes ampliaciones (1.000, 5.000 y 50.000X).

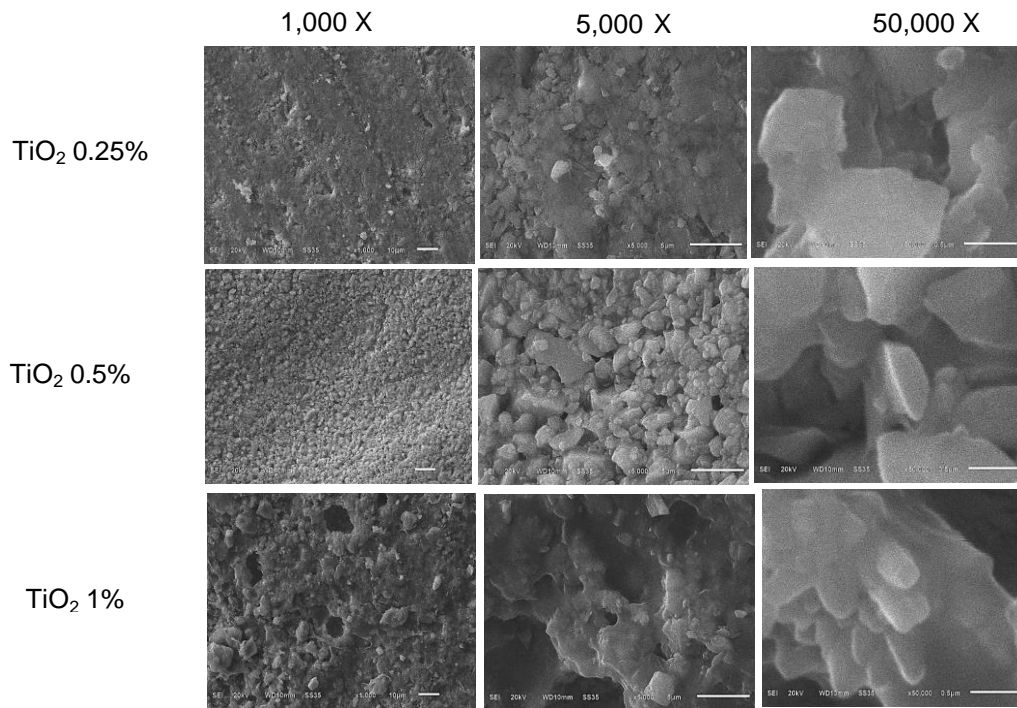
Debido a que la superficie del CIV con el TiO₂ anteriormente mencionado no presentó una superficie homogénea, también se realizó la caracterización de TiO₂ con el empleo de concentraciones más bajas (0.25, 0.5 y 1%).

Con la incorporación de TiO₂ al 0.25% se observó una superficie heterogénea, no hubo una buena incorporación de las nanopartículas con el CIV comercial, con presencia de algunas zonas conglomeradas.

Las nanopartículas del TiO₂ al 0.5%, presentó una superficie más homogénea, menor espacio entre las nanopartículas y el CIV comercial.

En la modificación del TiO₂ al 1%, fue evidente la presencia de una superficie nuevamente heterogénea, espacios de mayor tamaño entre las partículas, orificios de gran tamaño en el material (Fig.11.3.1).

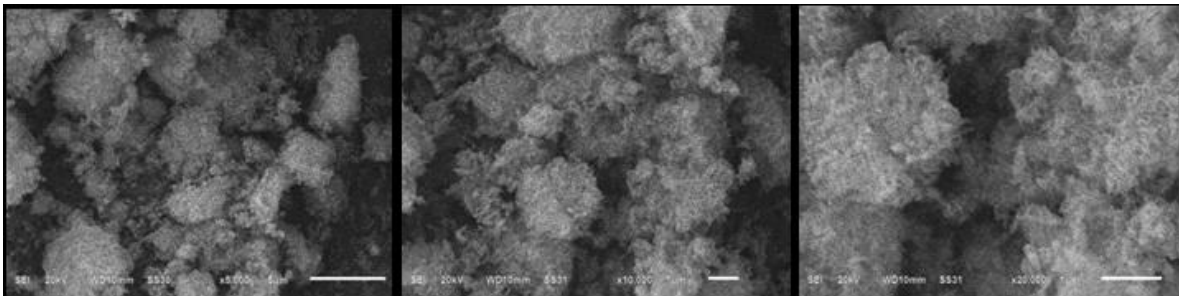
Fig. 11.3.1 Micrografías de la incorporación de nanopartículas de TiO_2 a diferentes concentraciones al cemento de ionómero de vidrio



Fuente propia

En la caracterización del CIV con la integración de las nanopartículas de fosfato de plata e hidroxiapatita, fue notable la forma particular de aspecto filoso de dicha partícula, debido a que su tamaño es muy pequeño, el MEB no puede detectar el tamaño real, sólo pueden observarse conglomerados (Fig. 11.4).

Fig. 11.4 Nanopartículas de Fosfato de Plata con Hidroxiapatita

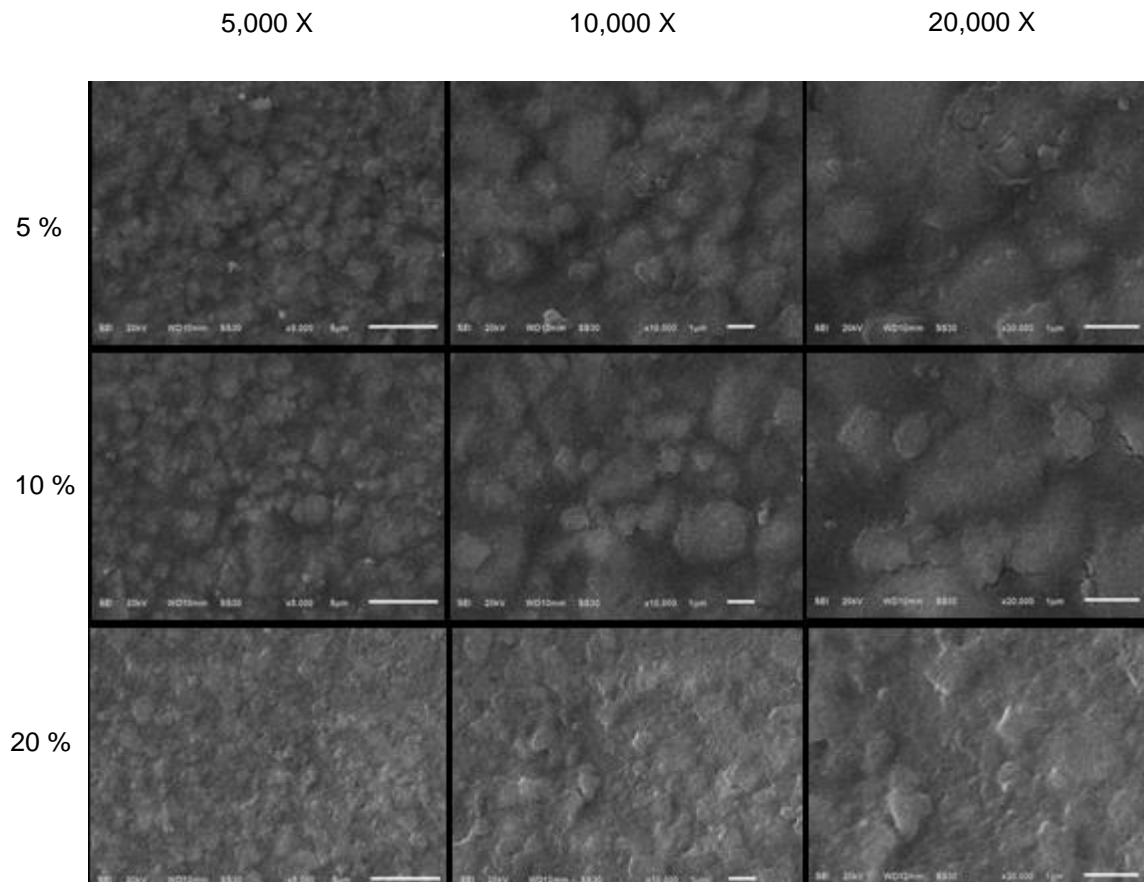


Fuente propia: CIV con nanopartículas de fosfato de plata de hidroxiapatita a diferentes magnificaciones (5.000, 10.000 y 20.000X).

Además, se realizó la caracterización de la integración de nanopartículas de fosfato de plata con hidroxiapatita en diferentes concentraciones (5%, 10% y 20%) a la mezcla polvo-liquido del CIV Fuji II LC.

Se observó una mejor integración y homogeneidad en la concentración al 20%, reduciendo el tamaño de los espacios entre las partículas a comparación de las concentraciones menores (5 y 10%) en las que se observó menor proximidad entre las partículas y espacios de mayor tamaño. (Fig. 11.4.1).

Fig. 11.4.1 Caracterización del CIV con nanopartículas de fosfato de plata e hidroxiapatita a diferentes concentraciones mediante el MEB



Fuente propia

Debido al tamaño nano que presenta el fosfato de plata e hidroxiapatita, se realizó la caracterización mediante el microscopio de fuerza atómica (Fig. 12). Los resultados demostraron que la nanopartícula presenta una longitud de 30 nm y una altura aproximada de 6 nm, que podría ser una forma parecida a la de un grano de arroz con bordes filosos.

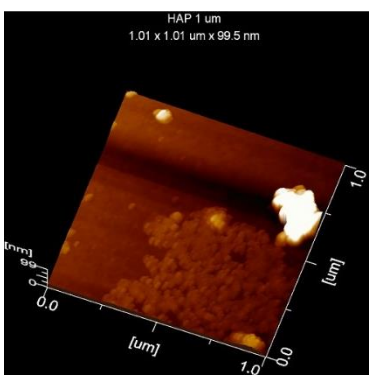


Figura 12. Caracterización de las nanopartículas de fosfato de plata mediante MFA.

ANÁLISIS QUÍMICO ELEMENTAL DE LAS NANOESTRUCTURAS MEDIANTE ESPECTROSCOPIA DE DISPERSIÓN DE ENERGÍA DE RAYOS X

Se realizó el análisis de las diferentes nanoestructuras mediante el análisis químico elemental. En el cemento de ionómero de vidrio (GC Fuji II LC) se observó la presencia de elementos como Oxígeno, Carbono y Wolframio, seguidos del Flúor, Aluminio y Silicio, en mayor proporción y que son los elementos propios del vidrio (Fig. 13.1).

Fig. 13.1 Elementos químicos del Cemento de Ionómero de Vidrio Fuji II LC

Espectro	C	O	F	AL	Si	W	Re	Total
1	22.55	27.47	8.78	8.48	8.49	17.02	8.58	100
2	21.29	28.30	9.14	9.19	8.61	18.65	6.34	100
Media	21.92	27.89	8.96	8.83	8.55	17.84	7.46	100
DE	0.89	0.59	0.26	0.50	0.08	1.16	1.59	
Max.	22.55	28.30	9.14	9.19	8.61	18.65	8.58	
Min.	21.29	27.47	8.78	8.48	8.49	17.02	6.34	

Fuente propia: Desviación Estándar: DE, Máximo (Max), mínimo (Min).

En el análisis del CIV con óxido de grafeno, los elementos que se presentaron fueron el Carbono y Oxígeno (elementos principales del óxido de grafeno), y Wolframio, seguidos del Flúor, Aluminio y Silicio, elementos propios del vidrio, sin embargo, estos se presentaron en menor porcentaje en peso (Fig. 13.2).

Fig. 13.2 Elementos químicos del Óxido de Grafeno

Espectro	C	O	F	AL	Si	W	Total
1	34.52	34.06	8.14	6.17	3.94	13.17	100
2	33.21	33.49	8.55	6.73	4.10	13.92	100
Media	33.87	33.78	8.35	6.45	4.02	13.54	100
DE	0.92	0.41	0.29	0.39	0.11	0.53	
Max.	34.52	34.06	8.55	6.73	4.10	13.92	
Min.	33.21	33.49	8.14	6.17	5.94	13.17	

Fuente propia: Desviación Estándar: DE, Máximo (Max), mínimo (Min).

En el análisis del CIV con dióxido de Titanio, se observó que la mayor composición estuvo dada por el Oxígeno y Titanio (elementos principales del Dióxido de Titanio), seguido de Carbono y Wolframio. Además de Flúor, Aluminio, Silicio (elementos propios del vidrio) y Niobio, elemento metálico agregado. (Fig. 13.3).

Fig. 13.3 Elementos químicos del Dióxido de Titanio

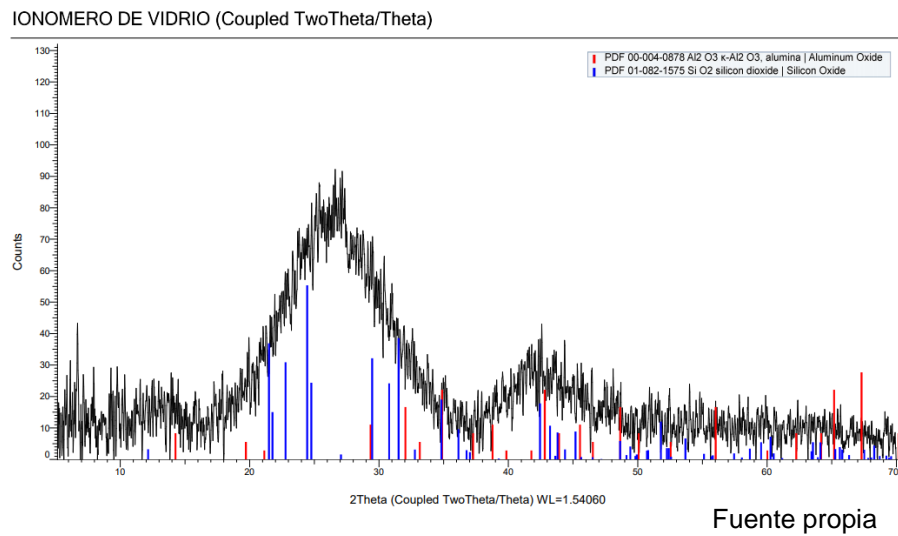
Espectro	C	O	F	AL	Si	P	Ca	Ti	Nb	W	Total
1	13.44	39.94	6.61	4.60	4.40	-.74	.19	18.27	3.5	9.8	100
2	13.96	40.92	5.55	4.39	3.68	-.85	.31	19.4	3.06	9.58	100
Media	13.70	40.43	6.08	4.50	4.04	-.80	.25	18.83	3.28	9.69	100
DE	0.37	0.69	0.75	0.15	0.51	.07	.09	.80	.31	.15	
Max.	13.96	40.92	6.61	4.60	4.40	-.74	.31	19.4	3.5	9.8	
Min.	13.44	39.94	5.55	4.39	3.68	-.85	.19	18.27	3.06	9.58	

Fuente propia: Desviación Estándar: DE, Máximo (Max), mínimo (Min).

IDENTIFICACIÓN DE LAS FASES CRISTALINAS DE LAS NANOESTRUCTURAS POR DIFRACCIÓN DE RAYOS X

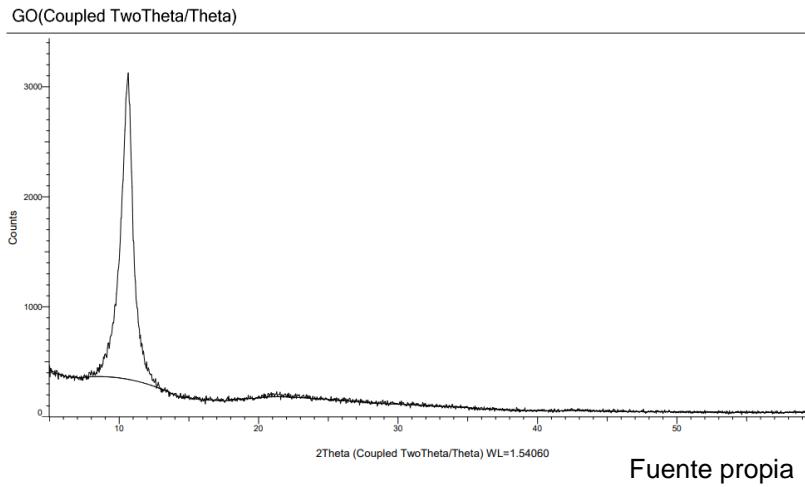
Se determinó la presencia de fases cristalinas de las diferentes nanoestructuras estudiadas mediante DRX, se realizó el análisis del cemento de ionómero de vidrio GC Fuji II LC en el que se identificó el espectro del óxido de aluminio (color rojo) y óxido de silicio (color azul), elementos propios del vidrio (Fig. 14.1).

Fig. 14.1 Difracción de Rayos X del cemento de ionómero de vidrio Fuji II LC



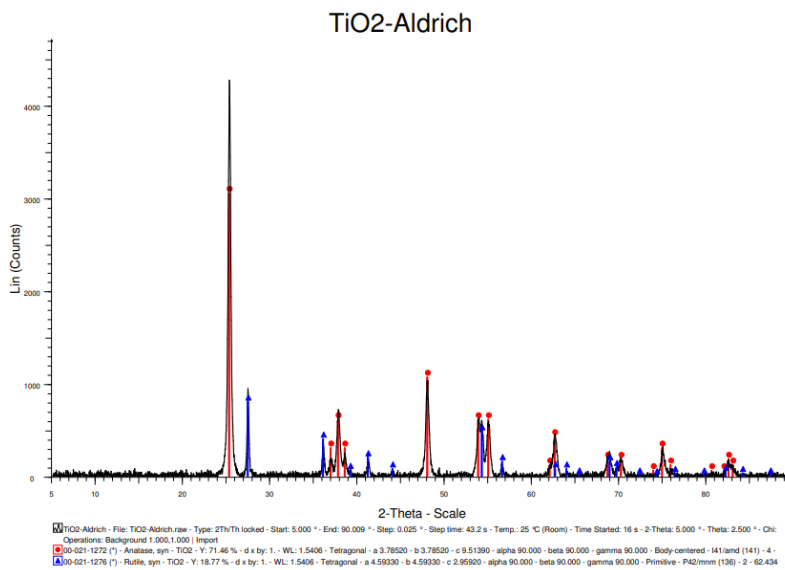
Se realizó el análisis del óxido de grafeno en el cual no hubo algún espectro previamente registrado que coincidiera con el material a determinar por el investigador experto, registrando el espectro propio del material estudiado (Fig. 14.2).

Fig. 14.2 Difracción de Rayos X del grafeno



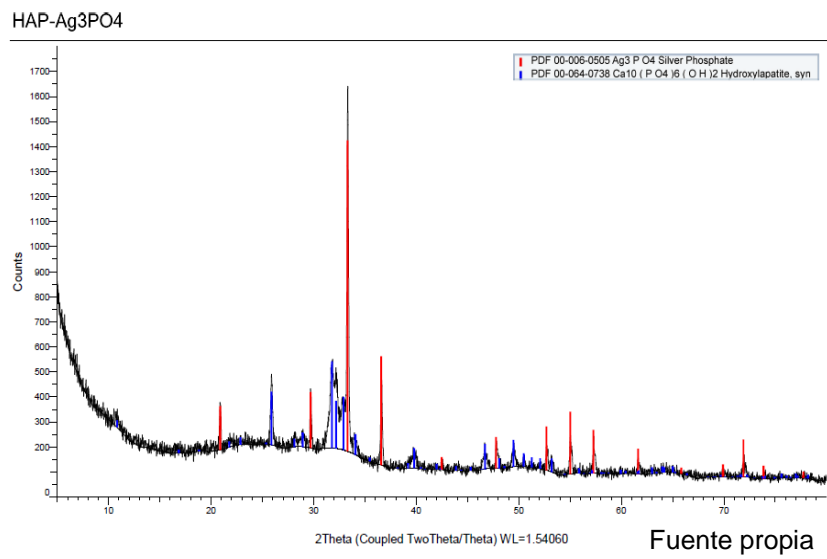
Se realizó el análisis del dióxido de titanio en el que se observaron las fases anatasa (color rojo) y rutilo (color azul), polimorfos cristalinos comúnmente encontrados en el dióxido de Titanio. Además del espectro propio del dióxido de titanio Aldrich (color negro) (Fig. 14.3).

Fig. 14.3 Difracción de Rayos X del Dióxido de Titanio



Se realizó el análisis del fosfato de plata e hidroxiapatita en el que se observó el espectro del fosfato de plata (color rojo) e hidroxiapatita (color azul), los cuales coincidieron con el material a determinar por el investigador experto (Fig. 14.4).

Fig. 14.4 Difracción de Rayos X del fosfato de plata e hidroxiapatita



DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES ANTIBACTERIANAS DE LOS MATERIALES MEDIANTE LA MEDICIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN.

Mediante la modificación al método de difusión en agar Kirby-Bauer, se prepararon placas con agar Müller Hinton y se rotularon, se realizó la siembra masiva de *S. mutans*, se realizó la colocación de las muestras y se incubaron 24 horas a $36.5 \pm 1^\circ\text{C}$, se midió la distancia en milímetros mediante 4 mediciones para cada muestra, y cada placa se sembró con diferentes nanopartículas por triplicado.

Se realizó la determinación de la capacidad antibacteriana del cemento de ionómero de vidrio modificado con óxido de grafeno, en cuyas muestras realizadas por triplicado no se observaron halos de inhibición en ninguno de los 4 grupos (G1 control, G2 5%, G3 10% y G4 20%) (Fig. 15.1).

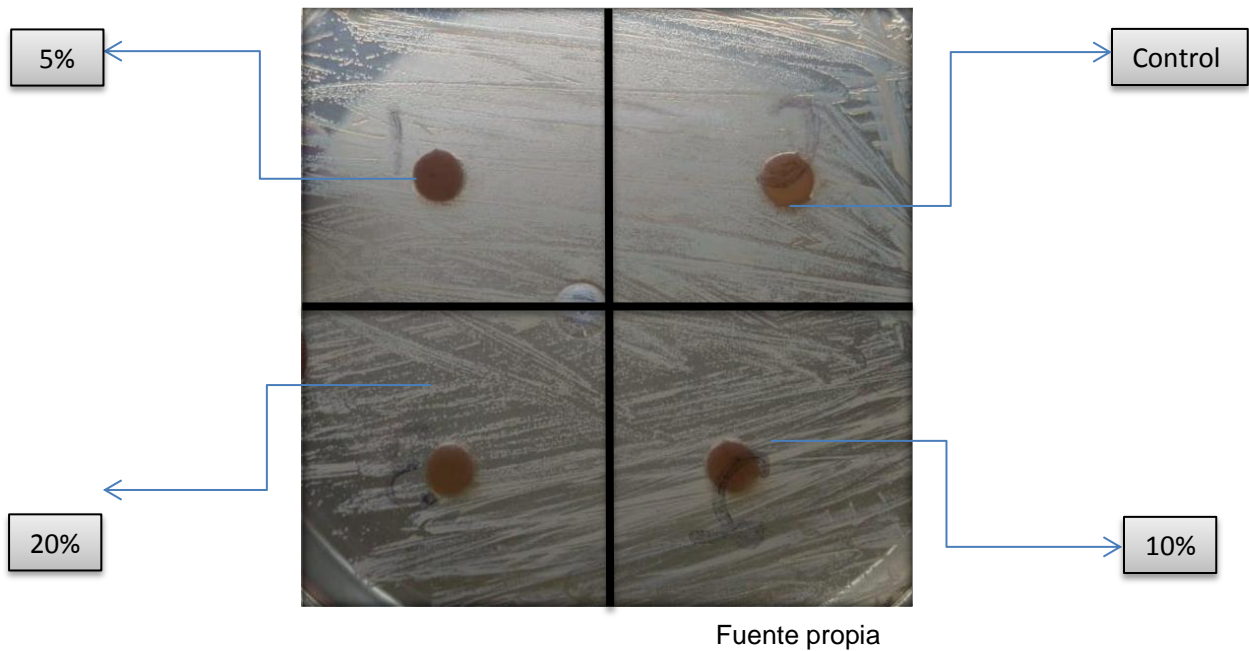
Fig. 15.1 Muestras de CIV a diferentes concentraciones de nanopartículas con Óxido de Grafeno.



Fuente propia

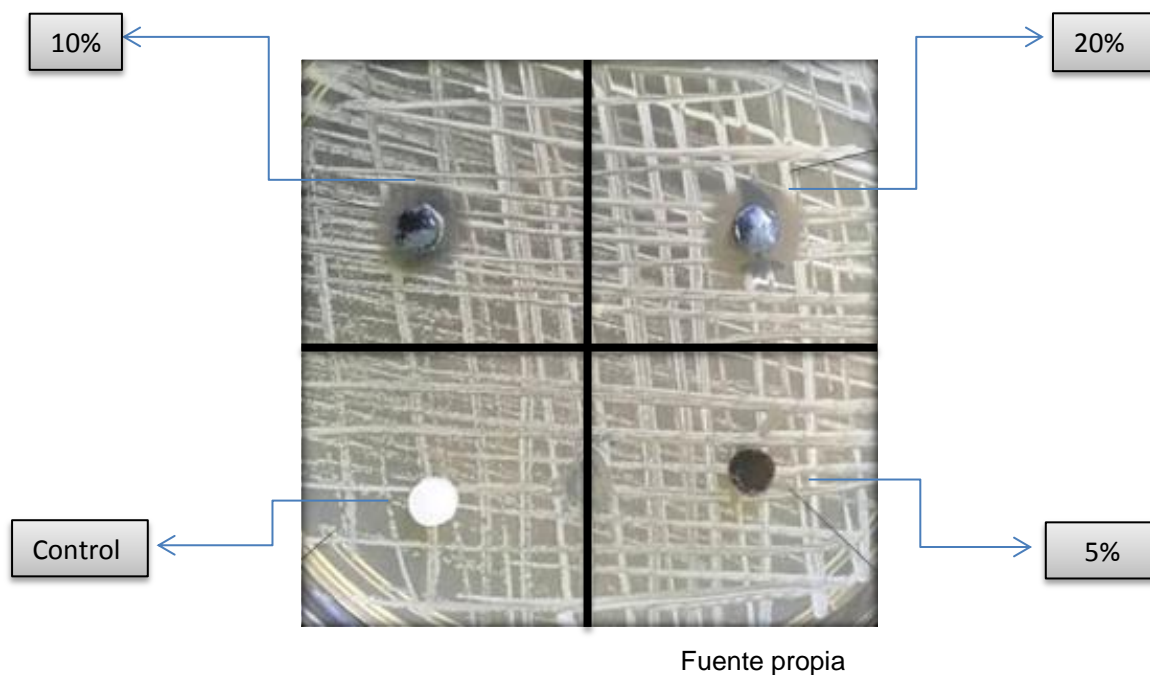
Se realizó la determinación de la capacidad antibacteriana del cemento de ionómero de vidrio modificado con dióxido de titanio, en cuyas muestras realizadas por triplicado no se observaron halos de inhibición en ninguno de los 4 grupos (G1 control, G2 5%, G3 10% y G4 20%) (Fig. 15.2).

Fig. 15.2 Muestras de CIV a diferentes concentraciones de nanopartículas con Dióxido de Titanio.



Se determinaron las propiedades antibacterianas del CIV modificado con fosfato de plata e hidroxiapatita mediante la medición de halos de inhibición de muestras por triplicado de los 4 grupos (G1 control, G2 5%, G3 10% y G4 20%), el grupo control no presento formación de halo de inhibición, el G2 valores de 1-2 mm, el G3 valores de 2-3 mm. Y el G4 valores de 3-4 mm. (Fig. 15.3)

Figura 15.3 Muestras de CIV a diferentes concentraciones de nanopartículas con fosfato de plata e hidroxiapatita



Se determinaron diferencias entre grupos indicando una diferencia significativa mediante la post hoc. KRUSKALL WALLIS Valor $P = 1.1512E-7$. También se realizó la media y desviación estándar de halos de inhibición a diferentes concentraciones de nanopartículas, obteniéndose un promedio mayor en la concentración del 20% y una desviación estándar mayor en la concentración del 10%. (Cuadro 12).

Cuadro 12. Media y desviación estándar de halos de inhibición a diferentes concentraciones de nanopartículas de fosfato de plata e hidroxiapatita.

	Recuento	Promedio	Desviación Estándar
5%	12	0.08	0.28
10%	12	1.25	0.58
20%	12	3.16	0.38

Fuente propia

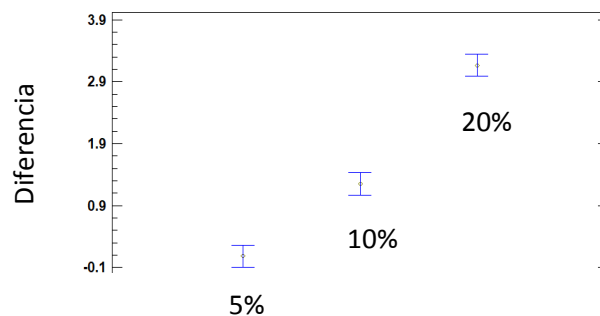
Debido a que la prueba de KRUSKALL WALLIS indicó que hay diferencias estadísticamente significativas, se realizó post hoc; que mostró una diferencia mayor entre las concentraciones del 5-20% (Cuadro 12 y Gráfico 1).

Cuadro 13. Diferencias intergrupos entre las concentraciones de 5%, 10% y 20% de nanopartículas de fosfato de plata e hidroxiapatita..

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
5% - 10%	*	-1.16667	0.363869
5% - 20%	*	-3.08333	0.363869
10% - 20%	*	-1.91667	0.363869

Fuente propia: Sig. Significativo

Grafico 1. Diferencias entre las diferentes concentraciones de las nanopartículas de fosfato de plata e hidroxiapatita.

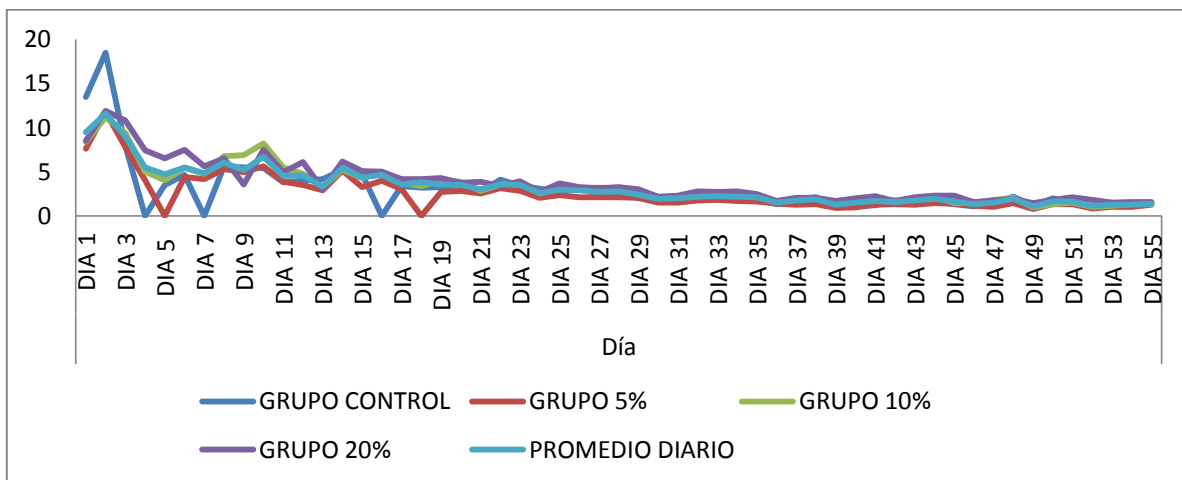


Fuente propia: Diferentes porcentajes de las nanopartículas de fosfato de plata e hidroxiapatita.

DETERMINACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE FLUORURO DE LAS NANOPARTÍCULAS DE FOSFATO DE PLATA E HIDROXIAPATITA

Se realizaron mediciones diarias en los 4 grupos de estudio (G1 control, G2 5%, G3 10% y G4 20%) con una n=5 por grupo con un potenciómetro durante 55 días consecutivos. Se observó la mayor liberación en el día 1 para el grupo control, que fue descendiendo conforme fueron pasando los días, los demás grupos, descendieron entre los días 3 y 5, después la liberación se mantuvo constante hasta el día 55 (Gráfico 2).

Gráfico 2. Liberación de fluoruro por día (Mg/L - PPM)



Fuente propia

En todos los grupos hubo diferencias estadísticamente significativas en cuanto a su medición inicial respecto a su medición final; fue mayor la diferencia en el grupo control, seguida del grupo de 10%, 20% y finalmente al 5% (Cuadro 14).

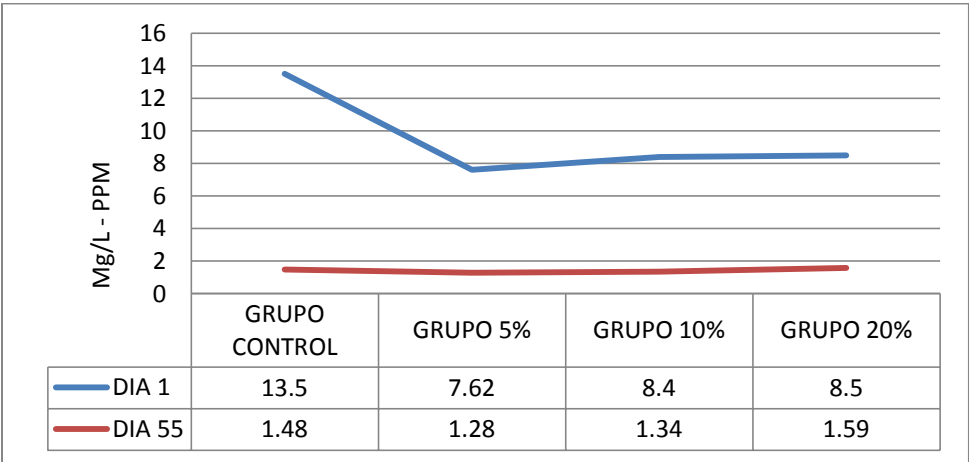
Cuadro 14. Diferencias entre mediciones de los diferentes grupos de estudio.

Contraste	M. I.	M.F.	Diferencia	P
G.C.	13.5	1.48	12.02	0.001
5%	7.62	1.28	6.34	0.01
10%	8.4	1.34	7.6	0.01
20%	8.5	1.59	6.91	0.01

Fuente propia: Medición Inicial (M.I.), Medición Final (M.F.), Significancia estadística (P).

En el día 1, la mayor medición de liberación de fluoruro se observó en el grupo control y en el día final la mayor liberación se dio por parte del grupo modificado con nanopartículas al 20% (Grafico 3).

Grafico 3. Liberación de fluoruro inicial y final en los diferentes grupos de estudio.

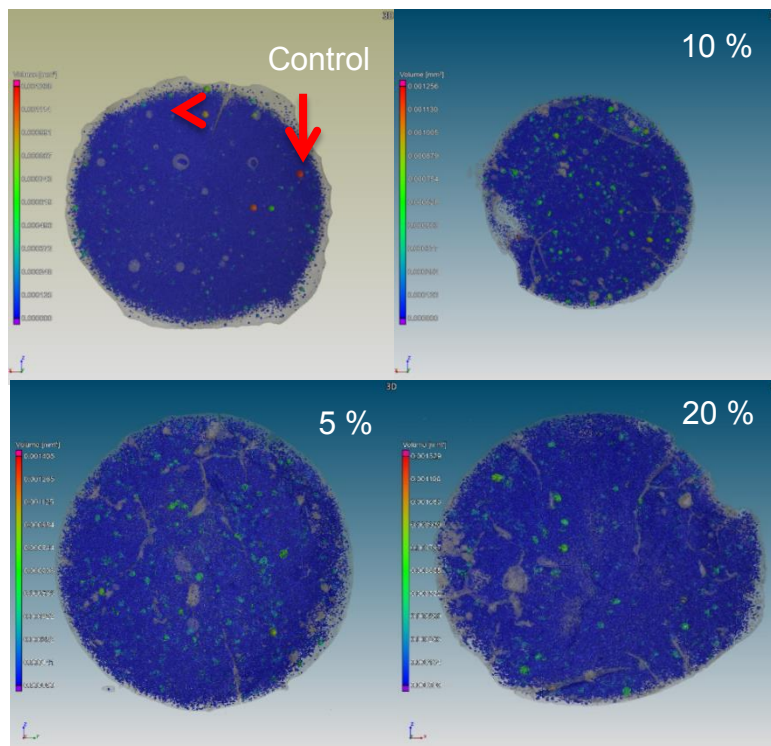


Fuente propia

DETERMINACIÓN DE LA POROSIDAD DE LOS MATERIALES MEDIANTE LA MICROTOMOGRAFÍA COMPUTARIZADA DE RAYOS X (MICRO CT)

En el análisis de porosidad realizado en los cuatro grupos de estudio del CIV modificado con fosfato de plata e hidroxiapatita se observaron poros de mayor tamaño representados como puntos rojos en el grupo control, en el grupo de 5 % y 10 % se observa un mayor número de poros, de tamaño intermedio y menor (puntos azul turquesa y azul marino), mientras que el grupo del 20% presenta un menor número de poros de tamaño intermedio y menor (Fig. 15).

Fig. 15 Microtomografía computarizada de Rayos X (Micro CT).



Fuente propia

DISCUSIÓN

El presente estudio se centró en modificar y caracterizar el cemento de ionómero de vidrio (CIV) con nanoestructuras. Se reconoce a los CIV como uno de los materiales comúnmente utilizados en el ámbito de la odontología pediátrica, sin embargo, presentan propiedades que restringen su uso, tales como fragilidad, posteriormente propensa a la fractura, propiedades superficiales inadecuadas y sensibilidad a la humedad de la cavidad oral cuando se coloca por primera vez,³² lo que favorece la aparición de caries secundaria.

Con el objetivo de mejorar las propiedades de los materiales se ha implementado la nanotecnología, la cual implica el uso de sistemas, modificaciones o materiales que tienen el tamaño en el rango de 1-100 nm. Específicamente para los materiales dentales como los CIV, se han realizado diversos estudios que han tratado de modificarlos con agentes antibacterianos para reducir estas condiciones, como el empleo de antibióticos,²⁰ clorhexidina,²¹ hidroxiapatita,⁴¹ ZnO-hidroxiapatita,^{22,24} nano-titanio,^{39,41,42} grafeno fluorado^{26,28} y más recientemente con el uso de fosfato de plata / fosfato de calcio.^{15,37,38,42}

En esta investigación fueron propuestas tres nanopartículas para la modificación del CIV comercial, las nanopartículas de óxido de grafeno, dióxido de titanio y fluoruro de plata e hidroxiapatita. Las primeras han sido probadas en soluciones contra patógenos dentales, como el *S. mutans* comúnmente encontrado en la caries,³⁸ esto mediante los tres mecanismos antibacterianos del grafeno: 1) capacidad de inducir estrés mecánico y prevenir absorción de nutrientes, 2) los bordes afilados de la nanoestructura se comportan como nano-cuchillos, penetran y desbaratan la membrana celular, 3) y mediante el estrés oxidativo.²⁸ El dióxido de titanio ha mostrado buenas propiedades antibacterianas,⁴² estabilidad química, no muestra toxicidad³⁹ y mejora de las propiedades mecánicas en materiales compuestos e híbridos.⁴⁵ Por otra parte, el fosfato de plata presenta una acción antimicrobiana, antiviral y antifúngica derivada de la plata o de sus compuestos,⁴³ la cual es proporcional a la cantidad de iones de plata liberados y a su disponibilidad para interactuar con las membranas celulares de los

microorganismos,³⁸ además se le ha incorporado la hidroxiapatita, y por lo tanto ha sido una nanopartícula de reciente creación.

Con respecto a la caracterización de las nanopartículas, se decidió el empleo de diferentes técnicas como el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB), con la finalidad de determinar las formas y tamaños, la Espectroscopía de Dispersión de Energía (EDS) para el análisis de los elementos que componen tanto al CIV comercial como en los modificados con las diferentes nanopartículas,^{26,44} además de emplear la Difracción de Rayos X (DRX) para analizar los diferentes espectros.

Mediante microscopía electrónica de barrido fueron analizadas las formas que presentaron tanto CIV comercial como cada una de las nanopartículas propuestas para el estudio, cada una presentó formas características, se observó que el CIV comercial es amorfo y de diferentes tamaños, el óxido de grafeno presentó forma de hojuelas, también de diferentes tamaños que se traslapan una tras otra, el dióxido de titanio, se presentó amorfa y de diferentes tamaños,⁴¹ y por último el fosfato de plata e hidroxiapatita, mostró aglomeraciones con bordes filosos, mediante (MEB) no fue posible observar el tamaño real por lo que fue necesaria la caracterización mediante la Microscopía de Fuerza Atómica (MFA), se observó que las partículas presentaron una forma alargada ($\sim 30 \times 6$ nm), con bordes filosos; similar a la investigación de Ciobanu et al.,⁴³ quienes reportaron una morfología uniforme en forma de varilla con partículas de 5 nm a 30 nm.

Una vez obtenidas las formas de cada material, tanto del CIV comercial (GC Fuji II LC), así como de las diferentes nanopartículas propuestas, se realizó la integración de las nanopartículas al CIV comercial fue notorio que, a mayor concentración más homogénea se mostró la superficie de la muestra,⁴¹ esto pudiera estar relacionado a que la nanopartícula por su tamaño tiene la capacidad de penetrar en zonas en las que el CIV comercial no puede. Sin embargo, en un punto específico las muestras se empezaron a mostrar más porosas, esto pudo deberse a la saturación de nanopartículas, por lo que fue imprescindible realizar pruebas piloto para evaluar la integración, además de observar si había

compatibilidad entre los materiales propuestos y así lograr finalmente la estandarización del contenido en cada uno de los grupos de estudio.

Diversos reportes de la literatura mencionan que una de las principales características de los CIV comerciales, son la liberación de fluoruro y su actividad antibacteriana.^{3, 6} Sin embargo, otros estudios, ha evidenciado el hecho de que el fluoruro liberado no es lo suficientemente potente para combatir los efectos de la destrucción bacteriana,⁴⁴ por lo que en esta investigación se decidió modificar un CIV con nanoestructuras para mejorar las propiedades antibacterianas.

Las pruebas antibacterianas empleadas, fueron realizadas mediante la modificación del método de Kirby-Bauer, el cual es un método rápido que utiliza placas de susceptibilidad Kirby-Bauer para determinar la tolerancia de las bacterias a la actividad bactericida de los materiales modificados mediante muestras colocadas sobre las placas de susceptibilidad estándar de Müller-Hinton,⁴⁴ y estas fueron evaluadas por triplicado en los 4 grupos (G1 control, G2 óxido de grafeno, G3 óxido de titanio y G4 fosfato de plata e hidroxiapatita) a concentraciones al 5%, 10% y 20%, mediante la medición de halos de inhibición.

Los resultados demostraron que el grupo control (G1), no presentó halos de inhibición contra *S. Mutans*, pese a que se siguieron las instrucciones de acuerdo al fabricante,¹⁰ al igual que las muestras del óxido de grafeno (G2), en este caso en particular pudo deberse a que el sustrato de grafeno (GO) empleado en esta investigación presentó una variación de oxígeno que contienen los grupos funcionales en el plano basal respecto a la capacidad bacteriana; en otro estudio emplearon el sustrato de grafeno (GNP),²⁸ y observaron formación de halos de inhibición, esto pudo ser determinante en la diferencia entre los estudios. Por lo que la elección del sustrato de grafeno empleado en las nanopartículas para la modificación de materiales dentales es importante para determinar la capacidad antibacteriana esperada.

Las muestras de CIV modificadas con el óxido de titanio (G3) a concentraciones de 10%, 15% y 20%, tampoco presentaron halos de inhibición, como lo han

reportado estudios previos,^{44,47} esto pudo deberse a la aglomeración de las NP de TiO₂ que formó una partícula conjugada y que a su vez no logró incorporarse entre las partículas de relleno y las matrices del CIV comercial, lo que provocó una inhibición ineficaz del crecimiento bacteriano como lo describe García et al.³⁹

Las muestras del CIV modificadas con las nanopartículas de fosfato de plata e hidroxiapatita a diferencia de los demás grupos, presentaron halos de inhibición a partir de concentraciones al 10 y 20%. Natale et al.⁴² emplearon modificaciones hasta del 30% y también observaron formación de halos de inhibición; sin embargo, no especifican las condiciones en las que se encontró el material, por lo que la generación de halos de inhibición pudo deberse a que la plata ha sido reconocida por sus propiedades bactericidas. Otros estudios han evaluado concentraciones menores al 3% y 5% sin embargo únicamente reportaron que puede limitar la formación de la biopelícula de *S. aureus*.³⁸

Por otra parte, en esta investigación se observó al igual que El-Wassefy et al.,³⁸ una influencia notable en la coloración del material modificado, lo que restringe su uso en áreas en el que la estética no es una preocupación importante. Los valores más altos de cambio de color encontrados para los materiales con partículas se deben a la oxidación de la plata en presencia de luz, que probablemente se intensificó por el hecho de que fueron fotocurados.⁴²

La actividad antibacteriana de estos cementos se evaluó mediante pruebas de difusión de Ag⁺ en placas de agar nutritivo (*S. mutans*) con zonas de inhibición estadísticamente significativas (valor $p < .05$). Paiva y cols.,¹³ incorporaron nanopartículas de plata al CIV comercial y evaluaron la capacidad antibacteriana contra *E. coli* mediante el mismo método se observó que todos los grupos que contenían AgNP coincidían en inducir zonas de inhibición del crecimiento de *E. coli* estadísticamente significativas (valor $p < .05$).

Estudios han evaluado que la acción microbiciida y el resultado tóxico de las nanopartículas de plata se deben a su actividad como metal, ion o NPs. En las bacterias, el blanco principal para su toxicidad es la alteración de la pared celular y

de la membrana celular bacteriana, que inhibe los procesos de respiración e interactúa con el azufre que contiene la membrana bacteriana y con los grupos fosfatos del DNA. No obstante, el mecanismo detonante de la toxicidad en las bacterias se debe a su interferencia con la ubiquinona o coenzima Q que en la mitocondria participa en el proceso respiratorio. La toxicidad de las AgNPS también se asocia con el estrés oxidativo.⁴⁴

Finalmente, el fosfato de plata e hidroxiapatita es un material de reciente creación que presenta cualidades como biocompatibilidad, propiedades bactericidas debido a la liberación lenta de iones Ag^+ y actividad fotocatalítica; y la nanohidroxiapatita (nHAp) puede favorecer la remineralización del esmalte.²² Este material fue el único que en el presente estudio generó halos de inhibición, y esto pudo deberse a las propiedades antibacterianas características de la plata.^{15,37,38}

Es sabido que el tamaño de las partículas, la forma y la concentración influyen en la toxicidad de las AgNPs en el CIV,¹³ como factor importante implicado en la toxicidad es la forma de las AgNPs, las triangulares son más tóxicas que las de las formas esféricas y alargadas; además de que las partículas más pequeñas de las AgNPs son las formas más activas que causan el daño celular más severo,⁴⁵ debido a que la partícula utilizada en el presente estudio presentó forma alargada y tamaño de partícula grande es menos tóxica, por lo que pudo influir en la necesidad de agregar concentraciones mayores para lograr la capacidad antibacteriana deseada.

Por lo tanto, se decidió seguir realizando otras pruebas específicamente sobre el CIV modificado con nanopartículas de fosfato de plata con hidroxiapatita, tales como la liberación de fluoruro, la cual es una característica importante de los CIV comerciales, debido a que la cantidad de iones liberada tiene una gran importancia en la definición de su actividad biológica, tal como lo describe Selimovic et al.⁴⁶ Además el efecto cariostático y la promoción de la remineralización debido a la liberación gradual de flúor son otras de sus propiedades favorables mencionadas por El-Wassefy et al.³⁸ Además de modificar la patogenicidad de las bacterias cariogénicas.⁴⁷ Dentro de los CIV que se pueden encontrar en el mercado los

análisis estadísticos de las concentraciones de iones flúor evaluados en dos puntos de tiempo, muestran estadísticamente mayores liberaciones de fluoruro los cementos de ionómero de vidrio modificados con resina (CIVMR): Vitrebond, Fuji II LC y Fuji Plus; cuando se comparan con los cementos de ionómero de vidrio convencionales: Fuji Triage, Fuji IX GP Fast y Ketac Silver; ambos después de 8 y 24 horas, por lo que en el presente estudio se comparó dicha liberación del CIV comercial Fuji II LC, con el modificado con fosfato de plata e hidroxiapatita durante 55 días. Se observó que al final de su evaluación se mantuvieron similares los valores de dicha liberación, así se corroboró con lo reportado por Malik et al.,⁴⁸ quienes mencionaron que la adición de hidroxiapatita al CIV no tiene un efecto aditivo en la cantidad de liberación de flúor. Aunque por otra parte pareciera comportarse de manera contraria al ser agregado al CIV comercial, debido a que se encontró que el CIV apatito liberaban mayores concentraciones de fluoruro (1,2 veces) que el CIV control (Fuji III) en el estudio de Chiu et al.⁴⁹

Se determinó la liberación de fluoruro en las nanopartículas de fosfato de plata a diferentes concentraciones (5%, 10% y 20%), se pudo observar que al final de la medición en el porcentaje de 20% la liberación de fluoruro fue mayor, seguida del grupo control, con lo que se observó que la modificación de CIV con nanopartículas no alteró la capacidad del CIV de liberar fluoruro, sin tener antecedentes previos de estudios similares midiendo la liberación de fluoruro durante 55 días.

El CIV es un material que de acuerdo a los reportes de la literatura presenta propiedades como bioactividad, efecto cariostático, promoción de la remineralización debido a la liberación gradual de flúor, entre otras.^{13,38} Sin embargo la durabilidad de las restauraciones dentales suele estar ligada a su resistencia a la formación de la placa,³⁸ la cual comúnmente se acumula más en materiales porosos, por lo que surgió la necesidad de determinar el grado de porosidad de los materiales modificados con fosfato de plata e hidroxiapatita una vez que fue analizada la liberación de fluoruro. Estas fueron observadas mediante micro CT, la cual permite la visualización no destructiva de las estructuras internas

y es óptima para tomar escaneos repetitivos de la misma muestra sobre tiempo. Esta técnica se caracteriza porque se pueden obtener conocimientos cruciales sobre cómo los materiales se forman, deforman y se desempeñan sobre tiempo o bajo ciertas condiciones externas.⁵⁰ Es así como en los materiales que habían sido sometidos a condiciones de humedad después de haber sido sumergidos durante 55 días se evaluó la porosidad y se encontró que los poros de mayor superficie se presentaron en el CIV comercial en comparación con los modificados con nanopartículas de fosfato de plata e hidroxiapatita.

Por todo lo anteriormente estudiado, resulta importante continuar con estudios específicos sobre este material modificado como pruebas mecánicas, de citotoxicidad, de absorción y adsorción para darle un uso clínico real ante la problemática que se reporta en los CIV comerciales.

CONCLUSIÓN

- La incorporación de las nanopartículas de grafeno y dióxido de titanio al CIV no presentaron actividad antibacteriana ante el *S. mutans*
- La modificación del CIV con nanopartículas de fosfato de plata e hidroxiapatita al 10% y 20% resultaron ser la mejor propuesta de material modificado debido a que presentó una liberación de fluoruro similar al CIV comercial, poros de menor superficie y mejoró las propiedades antibacteriales contra *S. mutans*.
- El CIV modificado con fosfato de plata e hidroxiapatita, se propone como un material que puede utilizarse como restauración clase I y V en dientes temporales principalmente en áreas no estéticas, restauración de lesión radicular, como base bajo restauraciones compuestas en cavidades posteriores profundas y como un núcleo posterior a tratamientos pulpares en pacientes con alto riesgo a caries.

ALCANCES DEL ESTUDIO

- Realizar estudios adicionales sobre los efectos citotóxicos del CIV modificado con nanopartículas de fosfato de plata e hidroxiapatita.
- Evaluar las propiedades mecánicas de los CIV modificados con nanopartículas de fosfato de plata e hidroxiapatita.
- Evaluar la absorción y adsorción de los CIV modificados con nanopartículas de fosfato de plata e hidroxiapatita.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Wilson AD. The chemistry of dental cements. *Chem Soc Rev.* 1978; 7: 265–96.
- ² Fleck H. The chemistry of oxyphosphate. *Dent Items Interest.* 1902: 906–935.
- ³ Sidhu S. *Glass-Ionomers in dentistry.* 1st ed. London: Springer; 2016.
- ⁴ Wilson A, Kent B. A new translucent cement for dentistry. The glass ionomer cement. *British Dental Journal.* 1972; 132(4):133-135.
- ⁵ Hotz P, McLean J, Sced I, Wilson A. The bonding of glass ionomer cements to metal and tooth substrates. *British Dental Journal.* 1977; 142(2): 41-47.
- ⁶ Wiegand A, Buchalla W, Attin T. Review on fluoride-releasing restorative materials – fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and influence on caries formation. *Dent Mater.* 2007; 23: 343-62.
- ⁷ Hume WR, Mount GJ. In vitro studies on the potential for pulpal cytotoxicity of glass-ionomer cements. *J Dent Res.* 1988; 67(6): 915-918.
- ⁸ Tantbirojn D, Rusin RP, Bui HT, Mitra SB. Inhibition of dentin demineralization adjacent to a glass-ionomer/composite sandwich restoration. *Quintessence international.* 2009; 40(4): 287-294.
- ⁹ Sidhu S, Nicholson J. A Review of Glass-Ionomer Cements for Clinical Dentistry. *Journal of Functional Biomaterials.* 2016; 7(4): 16.
- ¹⁰ ISO 9917–1: Dental Water Based Cements; International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2003.
- ¹¹ American national standard/american dental association Specification. No. 96 for dental water-based cements.
- ¹² Nosas M, Espasa E, Boj JR, Hernández M. Actualización en cementos de ionómero de vidrio en Odontopediatría. *Dentum.* 2006; 6(3): 104-110.
- ¹³ Paiva L, Fidalgo T, da Costa L, Maia L, Balan L, Anselme K et al. Antibacterial properties and compressive strength of new one-step preparation silver nanoparticles in glass ionomer cements (NanoAg-GIC). *Journal of Dentistry.* 2017; 69: 102-109.
- ¹⁴ Sidhu S, Nicholson J. A Review of Glass-Ionomer Cements for Clinical Dentistry. *Journal of Functional Biomaterials.* 2016; 7(4): 16.
- ¹⁵ Wasson EA, Nicholson JW. Studies on the setting of glass ionomer cements. *Clin Mater.* 1991; 7(1): 289-293.

- ¹⁶ Noort, R. and Barbour, M. (2002). Introduction to dental materials. 2nd ed. London: Mosby, pp.124-140.
- ¹⁷ GC Fuji II LC Ionómero de vidrio restaurador, reforzado, radiopaco, fotocurable. Ficha técnica del fabricante.
- ¹⁸ 3M Ketac™ Molar Easymix Material de Obturación de Ionómero de Vidrio. Ficha técnica del fabricante.
- ¹⁹ Weng Y, Howard L, Xie D. A novel star-shaped poly (carboxylic acid) for resin-modified glass-ionomer restoratives. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. 2014; 25(10): 1076-1090.
- ²⁰ Yesilyurt C, Er K, Tasdemir T, Buruk K, Celik D. Antibacterial activity and physical properties of glass-ionomer cements containing antibiotics. *Operative Dentistry*. 2009; 34(1): 18-23.
- ²¹ Marti L, Mata M, Ferraz-Santos B, Azevedo E, Giro E, Zuanon A. Addition of chlorhexidine gluconate to a glass ionomer cement: a study on mechanical, physical and antibacterial properties. *Brazilian Dental Journal*. 2014; 25(1): 33-37.
- ²² Gupta A, Singh D, Raj P, Gupta H, Verma S, Bhattacharya S. Investigation of ZnO-Hydroxyapatite nanocomposite incorporated in restorative glass ionomer cement to enhance its mechanical and antimicrobial properties. *Journal of Bionanoscience*. 2015; 9(3): 190-196.
- ²³ 3M Ketac N100 Ionómero de restauración con estética. Ficha técnica del fabricante.
- ²⁴ Killian CM, Croll TP. Nano-ionomer Tooth Repair in Pediatric Dentistry. *Pediatric dentistry*. 2010; 32(7): 530-535.
- ²⁵ Ética y Política de la Nanotecnología. UNESCO.Francia. 2007.
- ²⁶ Sun L, Yan Z, Duan Y, Zhang J, Liu B. Improvement of the mechanical, tribological and antibacterial properties of glass ionomer cements by fluorinated graphene. *Dental Materials*. 2018; 30(13): 1-13.
- ²⁷ Najla M. Khusayfan. Electrical and photoresponse properties of Al/graphene oxide doped NiO nanocomposite/p-Si/Al photodiodes, *Journal of Alloys and Compounds*. 2016; 666: 501-506
- ²⁸ Bregnocchi A. Graphene-based dental adhesive with anti-biofilm activity. *Journal of Nanobiotechnology*. 2017; 15(89): 1-13.

- ²⁹ Feilzer AJ, De Gee AJ, Davidson CL. Curing contraction of composites and glass-ionomer cements. *J Prosthet Dent.* 1988; 59: 297–300.
- ³⁰ Li J, Li X, Sun X. *TiO₂ Nanocrystals: Synthesis and Enhanced Functionality (Nanotechnology science and technology series)*. Nova Science Publishers Incorporated. 2010.
- ³¹ Chen X, Mao S.S. *Titanium Dioxide Nanomaterials: Synthesis, Properties, Modifications, and Applications*. *Chem. Rev.* 2007; 107: 2891-2959.
- ³² Najeeb S, Khurshid Z, Zafar M, Khan A, Zohaib S, Martí J et al. Modifications in Glass Ionomer Cements: Nano-Sized Fillers and Bioactive Nanoceramics. *International Journal of Molecular Sciences.* 2016; 17(7): 1134.
- ³³ Ojeda J. Streptococcus mutans and dental caries. *Revista CES Odontología.* 2013; 26(1): 44-56.
- ³⁴ Lapirattanakul J, Takashima Y, Tantivitayakul P, Maudcheingka T, Leelataweewud P, Nakano K et al. Cariogenic properties of Streptococcus mutans clinical isolates with sortase defects. *Archives of Oral Biology.* 2017; 81: 7-14.
- ³⁵ Mittal S, Soni H, Sharma D, Mittal K, Pathania V, Sharma S. Comparative evaluation of the antibacterial and physical properties of conventional glass ionomer cement containing chlorhexidine and antibiotics. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry.* 2015; 5(4): 268.
- ³⁶ Weng Y, Howard L, Xie D. A novel star-shaped poly (carboxylic acid) for resin-modified glass-ionomer restoratives. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition.* 2014; 25(10): 1076-1090.
- ³⁷ Chen S, Gururaj S, Xia W, Engqvist H. Synthesis of Ag doped calcium phosphate particles and their antibacterial effect as additives in dental glass ionomer cements. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine.* 2016; 27(11): 1-7.
- ³⁸ El-Wassefy N, El-Mahdy R, El-Kholany N. The impact of silver nanoparticles integration on biofilm formation and mechanical properties of glass ionomer cement. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry.* 2017; 30(2): 146-152.
- ³⁹ García Contreras R, Scougall-Vilchis RJ, Contreras-Bulnes R. Effects of TiO₂ Nano Glass Ionomer Cements 2 Against Normal and Cancer Oral Cells. *in vivo.* 2014; 28: 895-908.

- ⁴⁰ Panahandeh N, Torabzadeh H, Aghaee M, Hasani E. Effect of incorporation of zinc oxide nanoparticles on mechanical properties of conventional glass ionomer cements. *Journal of Conservative Dentistry*. 2018; 21(2): 130.
- ⁴¹ J. Liu, D.A, Sonshine, S. Shervani, R.H. Hurt. Controlled release of biologically active silver from nanosilver surfaces, *ACS Nano*. 2010; 4(11): 6903-6913.
- ⁴² Natale LC, Alania Y, Rodrigues MC, Simões A, De Souza DN, De Lima E, Arana-Chavez VE et al. Synthesis and characterization of silver phosphate/ calcium phosphate mixed particles capable of silver nanoparticle formation by photoreduction. *Materials Science and Engineering C*. 2017; 76: 464-471.
- ⁴³ Ciobanu C, Iconaru S, Chifiriuc M, Costescu A, Le Coustumer P, Predoi D. Synthesis and Antimicrobial Activity of Silver-Doped Hydroxyapatite Nanoparticles. *BioMed Research International*. 2013; 13: 1-10.
- ⁴⁴ Peterson, L. R., Denny, A. E., Gerding, D. N., & Hall, W. H. Determination of Tolerance to Antibiotic Bactericidal Activity on Kirby-Bauer Susceptibility Plates. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 74(5): 645-650.
- ⁴⁵ Coutiño E, Avila Lagunes L. Las nanopartículas de plata: mecanismos de entrada, toxicidad y estrés oxidativo*. *Revista de Educación Bioquímica*. 2017; 36(2): 39-54.
- ⁴⁶ Selimović-Dragaš M, Hasić-Branković L, Korać F, Đapo N, Huseinbegović A, Kobašlija S et al. In vitro fluoride release from a different kind of conventional and resin modified glass-ionomer cements. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*. 2013; 13(3): 197.
- ⁴⁷ Hafshejani T, Zamanian A, Venugopal J, Rezvani Z, Sefat F, Saeb M et al. Antibacterial glass-ionomer cement restorative materials: A critical review on the current status of extended release formulations. *Journal of Controlled Release*. 2017; 262: 317-328.
- ⁴⁸ Malik S, Ahmed MA, Choudhry Z, Mughal N, Amin M, Lone MA. Fluoride release from glass ionomer cement containing fluoroapatite and hydroxyapatite. *J Ayub Med Coll Abbottabad*. 2018; 30(2): 198- 202.
- ⁴⁹ Chiu S, Shinonaga Y, Abe Y, Harada K, Arita K. Influence of Porous Spherical-Shaped Hydroxyapatite on Mechanical Strength and Bioactive Function of Conventional Glass Ionomer Cement. *Materials*. 2017; 10(1): 27.
- ⁵⁰ Dewanckele J, Boone M, Coppens F, Van Loo D, Merkle A. Innovations in laboratory-based dynamic micro-CT to accelerate in situ research. *Journal of Microscopy*. 2020. Accepted article.

⁵¹ Prosser HJ, Powis DR, Brant PJ, Wilson AD. Characterisation of glass-ionomer cements. The physical properties of current materials. *J Dent.* 1984;12(23):1–40.

⁵² Anusavice JK. *Phillips Ciencia de los materiales dentales.* Editorial McGraw-Hill Interamericana. Décima edición 1998.

⁵³ Leprince J, Palin W, Hadis M, Devaux J, Leloup G. Progress in dimethacrylate-based dental composite technology and curing efficiency. *Dent Mater.* 2013; 29(2): 139-156.

ANEXOS

ANEXO 1. Ficha técnica del Ionómero de Vidrio (GC Gold Label Light-Cured Universal Restorative). Ionómero de vidrio restaurador, reforzado, radiopaco, fotocurable.

Aplicaciones recomendadas:

- 1) Restauraciones de clase III y V, particularmente para erosiones cervicales y caries de la superficie radicular.
- 2) Restauración de dientes primarios.
- 3) Reconstrucción de muñones.
- 4) En caso en el que se requiera radiopacidad.
- 5) Aplicaciones geriátricas.
- 6) Como base o recubrimiento.

Contraindicaciones:

- 1) Recubrimiento pulpar.
- 2) En casos raros, este producto puede causar sensibilidad en algunas personas. En caso de que se produzcan estas reacciones, hay que interrumpir el uso del producto y consultar a un médico.

Instrucciones de uso:

Proporción Polvo/líquido (gr./gr.)	3,2/1,0
Tiempo de Mezcla (seg.)	20"-25"
Tiempo de trabajo (min., seg.)	3'45"
Tiempo de foto-curado (seg.)	20"
Profundidad de curado (A2) (mm)	1,8

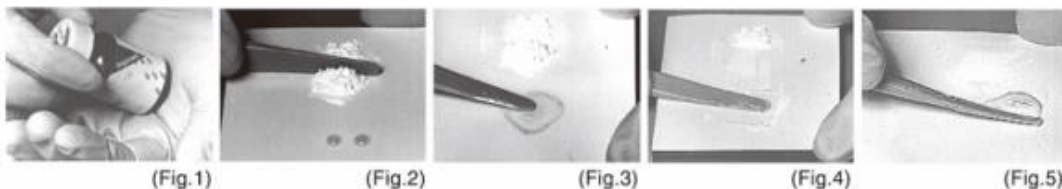
Condiciones de Test: temperatura (23+/-1°C), humedad relativa (50+/-10%)

1. DISPENSADO DE POLVO Y LÍQUIDO

- a) Seleccionar el color en base a la guía de colores Vita®.
- b) La relación recomendada de polvo / líquido es 3.2 / 1.0 g. 1 cucharilla rasa de polvo por 2 gotas de líquido.
- c) Para un dispensado exacto de polvo golpear ligeramente el frasco contra la mano. No se debe agitar ni invertir.
- d) Mantener verticalmente el frasco de líquido y apretar suavemente.
- e) Tapar el frasco inmediatamente después de su uso.

2. MEZCLA

- f) Soltar el polvo en el frasco antes de dispensar (Fig. 1).
- g) Colocar una cucharilla de polvo y dos gotas de líquido sobre el bloque. Dividir el polvo en dos mitades (Fig. 2).
- h) Con una espátula de plástico esparcir el líquido en una capa fina (a un tamaño de 3cm) (Fig. 3).
- i) Introducir una mitad del polvo en el líquido y mezclar con trazos frotantes (como los materiales de impresión) durante 10-15 segundos (Fig. 4).
- j) Agregar el polvo restante y mezclar perfectamente hasta obtener una consistencia brillante. No exceder los 20-25 segundos de tiempo total de mezclado (Fig. 5).



Almacenaje

Para un óptimo resultado, conservar en algún sitio fresco y oscuro (4-25°C) (39,2-77,0°F).

Fecha de caducidad: 3 años desde la fecha de fabricación.

Precaución:

1. En caso de contacto con la mucosa bucal o la piel, eliminar inmediatamente con una esponja ó algodón empapado en alcohol. Limpiar con agua.
2. . En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua y buscar atención médica.
3. No mezclar polvo o líquido con ningún otro componente de ionómero de vidrio.

Anexo 2: Pautas para regulaciones sobre nanotecnologías para impulsar la competitividad y proteger el medio ambiente, la salud y la seguridad de los consumidores.

4. Disponer las medidas necesarias para cuidar de la salud de los trabajadores laboralmente expuestos a nanomateriales, ya sea por contacto, por la piel o las mucosas, ingestión inhalación, o por cualquier otra forma de exposición.

5. Llevar a cabo las actividades para el manejo de riesgos asociados a las nanotecnología con un enfoque multidisciplinario e integral, incluyendo los aspectos sociales, económicos y éticos relevantes; y aplicar las metodologías científicas adecuadas para la evaluación de riesgos, sin que éstas queden necesariamente limitadas a las tradicionales.

6. Requerir y mantener información de los fabricantes, importadores, distribuidores y comercializadores sobre los nanomateriales que se encuentren en el país o se tenga la intención de introducirlos, en cuanto a su toxicología, efectos al ambiente, propiedades relevantes, medidas de mitigación, remediación y alivio en caso de exposición precauciones de seguridad en su manejo, aplicación y uso, transporte, almacenamiento, disposición y desecho. Esta información debe ser actualizada cada vez que se presenten cambios. Deben incluirse incentivos, positivos o negativos, que propicien la eficacia de este

7. Impulsar la investigación y el desarrollo en las nanotecnologías, de manera colaborativa, tanto en el ámbito nacional como en el internacional, particularmente para cerrar la brecha de conocimientos sobre las propiedades de nuevos nanomateriales o nuevas para los mismos, y sus efectos potenciales en la salud y el ambiente

8. Mantener a la sociedad informada, y particularmente a los consumidores, sobre los nanomateriales en los productos puestos a su alcance y de sus posibles contenidos de efectos en el corto, mediano y largo plazos, en la medida de que se disponga información confiable al respecto, anteponiendo siempre el interés

general al interés particular, De la misma manera debe informarse, en la medida de lo pertinente, las practicas seguras en su manejo, seguimiento, rastreabilidad, prevención de liberación accidental y mitigación de sus posibles efectos nocivos, en su caso, y desecho o reciclaje.