

DOI: 10.29166/odontologia.vol22.n2.2020-33-44

URL: <http://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/odontologia/article/view/2383>

PÁG: 33-44

EDICIÓN: Volumen 22, numero 2 (2020), Ecuador

EDITORIAL: Revista Odontología, Facultad de Odontología,
Universidad Central del Ecuador

ISSN: (on-line) 1390-7468 - (electronico) 1390-9967



ODONTOLOGÍA

ARTÍCULOS CIENTÍFICO

Actividad antimicrobiana de adhesivo ortodóntico con nanopartículas de plata sobre *Streptococcus mutans*

Antimicrobial activity of orthodontic adhesive with silver nanoparticles on *Mutans streptococci*

Atividade antimicrobiana de adesivo ortodôntico com nanopartículas de prata sobre *streptococcus mutans*

Luis Martin Guevara Ruiz¹; Pablo Mauricio Bonilla Valladares²; María Fernanda Caicedo Breedy³

RECIBIDO: 07/08/2019 **ACEPTADO:** 05/05/2020 **PUBLICADO:** 01/07/2020

1. Graduado de la Carrera de Odontología de la Universidad Central del Ecuador Quito, Ecuador.
2. Bioquímica Farmacéutica, Universidad Central del Ecuador. Master en Educación Superior y Administración Educativa. Universidad Indoamérica. Docente de la Carrera de Odontología de la Universidad Central del Ecuador; Quito, Ecuador.
3. Químico, Universidad Central del Ecuador. Master en Nanociencia y Nanotecnología, Universidad de Barcelona, Docente de la Carrera de Química de la Universidad Central del Ecuador; Quito, Ecuador.

CORRESPONDENCIA

María Fernanda Caicedo Breedy
Facultad de Odontología, Universidad Central del Ecuador. Av. América y Universitaria s/n. 5932231788. Quito, Ecuador

fcaicedo@uce.edu.ec

RESUMEN

La aparatología fija usada en ortodoncia dificulta una adecuada higiene bucal, en estas condiciones el desarrollo de lesiones cariosas puede ser una complicación, uno de los principales agentes etiológicos involucrados es *Streptococcus mutans*. La nanotecnología con plata tiene una aplicación preventiva importante en biomateriales dentales. **Objetivo:** Se determinó la actividad antimicrobiana sobre *Streptococcus mutans* de nanopartículas de plata (AgNPs) incluidas en adhesivos ortodónticos a diferentes concentraciones. **Materiales y métodos:** En 20 cajas Petri con *Streptococcus mutans* inoculada en agar Müller-Hinton suplementado con 5% de sangre, se colocaron 6 discos de papel, 4 embebidos con AgNPs incluidas en un adhesivo ortodóntico a concentraciones de 25, 75, 125 y 175 ppm, y 2 discos controles con clorhexidina al 0.12% y agua destilada. Se determinó la capacidad antimicrobiana en función de promedios de halos de inhibición a las 48 horas de incubación, en comparación con la escala de Duraffourd y la clorhexidina 0.12%. **Resultados:** A 25 ppm no existió capacidad antibacteriana, a 75 ppm el 50% alcanzó sensibilidad límite, pero el 100% de las muestras a 125 y 175 ppm consiguieron sensibilidad límite, sin embargo, la clorhexidina al 0,12% presentó mayor sensibilidad entre media 60% y sumamente sensible 40%. **Conclusión:** Las nanopartículas de plata con tamaño inferior a 100 nm, incluidas a 125 y 175 ppm en adhesivos de ortodoncia poseen actividad antimicrobiana sobre *Streptococcus mutans*, sin embargo, en el tiempo de estudio no alcanzan la sensibilidad de la clorhexidina al 0.12%.

Palabras clave: Nanopartículas, pruebas antimicrobianas de difusión por disco, *Streptococcus mutans*, microbiología, ortodoncia, técnicas in vitro.

ABSTRACT

The fixed appliances used in orthodontics make proper oral hygiene difficult, in these conditions the development of carious lesions can be a complication, one of the main etiologic agents involved is *Mutans streptococci*. It was determined that silver nanotechnology has an important preventive application in dental biomaterials. **Objective:** Antimicrobial activity on *Mutans streptococci* of silver nanoparticles (AgNPs) included in orthodontic adhesives at different concentrations. **Materials and methods:** In 20 Petri dishes with *Mutans streptococci* inoculated in Müller-Hinton agar supplemented with 5% blood, 6 paper discs were placed, 4 soaked up with AgNPs included in an orthodontic adhesive at concentrations of 25, 75, 125 and 175 ppm, and 2 control discs with 0.12% chlorhexidine and distilled water. Antimicrobial capacity was determined based on averages of inhibition halos at 48 hours of incubation, compared to the Duraffourd scale and 0.12% chlorhexidine. **Results:** At 25 ppm there was no antibacterial capacity, at 75 ppm 50% reached limit sensitivity, but 100% of the samples at 125 and 175 ppm achieved limit sensitivity, however, chlorhexidine 0.12% showed higher sensitivity between average 60% and highly sensitive 40%. **Conclusión:** Silver nanoparticles smaller than 100 nm, included at 125 and 175 ppm in orthodontic adhesives, have antimicrobial activity on *Streptococcus mutans*, however, when studying, they don't reach the sensitivity of chlorhexidine at 0.12%.

Keywords: Nanoparticles, antimicrobial disc diffusion tests, *mutans streptococci*, microbiology, orthodontics, in vitro techniques.

RESUMO

Os aparelhos fixos utilizados em ortodontia dificultam uma higiene bucal adequada, nessas condições o desenvolvimento de lesões cariosas pode ser uma complicação, um dos principais agentes etiológicos envolvidos é o *Streptococcus mutans*. A nanotecnologia com partículas de prata tem uma importante aplicação preventiva em biomateriais dentários. **Objetivo:** Determinou-se a atividade antimicrobiana das nanopartículas de prata (AgNPs) incluídas em adesivos ortodónticos em diferentes concentrações sobre *Streptococcus mutans*. **Materiais e métodos:** Em 20 placas de Petri com *Streptococcus mutans* inoculadas em ágar Müller-Hinton suplementado com 5% do sangue, foram colocados 6 discos de papel, 4 ensopados com AgNPs incluídos em um adesivo ortodóntico nas concentrações de 25, 75, 125 e 175 ppm e 2 discos de controle com 0,12% de clorexidina e água destilada. O efeito antimicrobiano foi determinado com base nas médias de halos de inibição às 48 horas de incubação, em comparação com a escala de Duraffourd e com clorexidina a 0,12%. **Resultados:** A 25 ppm não havia capacidade antibacteriana, a 75 ppm 50% atingiram a sensibilidade limite, mas 100% das amostras a 125 e 175 ppm atingiram a sensibilidade limite, no entanto, 0,12% de clorexidina apresentou maior sensibilidade entre 60% em média e 40% altamente sensíveis. **Conclusão:** Nanopartículas de prata menores que 100 nm, incluídas em 125 e 175 ppm em adesivos ortodónticos, têm atividade antimicrobiana em *Streptococcus mutans*, no entanto, no tempo

Palavras-chave: Nanopartículas, testes de sensibilidade a antimicrobianos por disco-difusão, *streptococcus mutans*, microbiologia, ortodontia, técnicas in vitro.



Introducción

La caries dental es una patología que progresa en forma crónica ante la falta de control de los factores que la producen. *Streptococcus mutans* es uno de los principales agentes etiológicos, estas bacterias cuentan con estructuras filamentosas largas en su superficie, que permiten adherirse y persistir en biopelículas donde se originan ácidos que generan desmineralización del esmalte debido a la alteración del pH, la capacidad buffer y el flujo salival, dando como resultado lesiones cariosas o manchas blancas, principal complicación que aparece tras el uso continuo de aparatología fija durante el tratamiento de ortodoncia¹⁻³.

El uso de aparatología en ortodoncia es un factor que predispone las lesiones cariosas debido a que es un factor de acumulación del biofilm, la mancha blanca se asocia con el tratamiento de ortodoncia cuando la higiene oral es deficiente; adicionalmente, los sistemas adhesivos de aparatos de ortodoncia fijos aumentan la capacidad de retención de placa y la potencial desmineralización, por ello es relevante investigar opciones que permitan su prevención y control⁴⁻⁶.

Además de una mayor incidencia de caries, con aparatología fija se evidencia una reacción inflamatoria de los tejidos gingivales, cuando la acumulación de la placa bacteriana alrededor de la aparatología adherida sobre la superficie de los dientes se acompaña con una higiene bucal deficiente^{4,7}. El tratamiento ortodóntico produce cambios en el medio oral debido al aumento del número de superficies retentivas para la biopelícula incrementando los niveles de *Streptococcus mutans*⁸.

La nanotecnología abarca el estudio, síntesis y operación de materiales a escalas moleculares, de los llamados nanomateriales⁹. La bionanotecnología estudia los efectos e interacciones entre los materiales nanoestructurados y los sistemas biológicos. La investigación en el campo de nanomateria-

Introduction

Dental caries is a pathology that progresses chronically due to the lack of control of the factors that produce it. *Mutans streptococci* is one of the main etiological agents, these bacteria have long filamentary structures on their surface, which allow adhering and persisting in biofilms where acids originate that generate demineralization of the enamel due to the alteration of pH, buffer capacity and salivary flow, resulting in carious lesions or white spots, the main complication that appears after the continuous use of fixed appliances during orthodontic treatment¹⁻³.

The use of appliances in orthodontics is a factor that predisposes carious lesions because it is a biofilm accumulation factor. White spot is associated with orthodontic treatment when oral hygiene is poor. Additionally, the adhesive systems of fixed orthodontic appliances increase plaque retention capacity and potential demineralization; therefore it is relevant to investigate options that allow its prevention and control⁴⁻⁶.

In addition to a higher incidence of caries, with fixed appliances, an inflammatory reaction of the gingival tissues is evident, when the accumulation of bacterial plaque around the appliances attached to the surface of the teeth is accompanied by poor oral hygiene^{4,7}. Orthodontic treatment produces changes in the oral environment due to the increase in the number of retentive surfaces for the biofilm, increasing the levels of *Mutans streptococci*⁸.

Nanotechnology includes the study, synthesis and operation of materials at molecular scales of so-called nanomaterials⁹. Bionanotechnology studies the effects and interactions between nanostructured materials and biological systems. Research in the field of dental nanomaterials





les dentales ha permitido nuevos avances orientados a preservar y mejorar la salud dental, ha tomado relevancia el concepto de "nanodentística" como la ciencia y tecnología del uso de materiales nanoestructurados en el diagnóstico, prevención y tratamiento de patologías orales como caries, enfermedad periodontal, maloclusiones, lesiones en tejidos blandos^{6,10,11}.

La funcionalidad de las AgNPs se debe a que la forma, tamaño, estado de aglomeración, área y carga superficial, aumenta su solubilidad lo que favorece una mejor difusión, distribución, absorción y disponibilidad; se han atribuido muchos beneficios en medicina, principalmente en el control de enfermedades infecciosas. El uso de AgNPs en diferentes materiales de uso odontológico es muy funcional por la baja probabilidad de desarrollar resistencia bacteriana y alta eficacia contra biofilms, pueden atacar múltiples sitios dentro de la célula en una concentración muy baja (0,5 - 1,0%), alterando la permeabilidad y funciones respiratorias de la célula. Algunos estudios demuestran su efectividad para detener el avance de la caries y enfermedad periodontal, también pueden ser utilizados en soluciones acuosas irrigantes para tratamiento de conductos, como partículas de nanorrelleno para materiales de obturación, adhesivos y composites, en el revestimiento implantes de titanio y en formulaciones medicamentosas inclusive enjuagues bucales¹²⁻¹⁴.

Para evaluar la actividad antimicrobiana de AgNPs, es necesario garantizar su estabilidad como agentes biocompatibles y sus efectos biológicos a través de procesos de biofuncionalización¹⁵. La síntesis requiere un control del tamaño y forma para obtener un grupo de partículas libres con propiedades determinadas. Es común que la síntesis en disolución se realice mediante el empleo de un precursor metálico (AgNO₃), un agente reductor (NaBH₄ o Ac Ascórbico) y un estabilizante (CTAB Bromuro de cetil trimetil amonio)^{16,17}.

has allowed new advances aimed at preserving and improving dental health, the concept of "nanodentistry" has become relevant as the science and technology of the use of nanostructured materials in the diagnosis, prevention and treatment of oral pathologies such as caries, periodontal disease, malocclusions, soft tissue injuries^{6,10,11}.

The functionality of the AgNPs is due to the fact that the shape, size, agglomeration state, area and surface charge, increase their solubility which favors a better diffusion, distribution, absorption and availability; Many benefits in medicine have been attributed, mainly in the control of infectious diseases. The use of AgNPs in different materials for dental use is very functional due to the low probability of developing bacterial resistance and high efficacy against biofilms, they can attack multiple sites within the cell in a very low concentration (0.5 - 1.0 %), altering the permeability and respiratory functions of the cell. Some studies show its effectiveness in stopping the advancement of caries and periodontal disease; they can also be used in aqueous irrigating solutions for root canal treatment, such as nanofilled particles for filling materials, adhesives and composites, in the coating of titanium implants and in drug formulations including mouthwashes¹²⁻¹⁴.

To evaluate the antimicrobial activity of AgNPs, it is necessary to guarantee their stability as biocompatible agents and their biological effects through biofunctionalization processes¹⁵. The synthesis requires a control of the size and shape to obtain a group of free particles with certain properties. It is common for the synthesis in solution to be carried out using a metal precursor (AgNO₃), a reducing agent (NaBH₄ or Ac Ascorbic acid) and a stabilizer (CTAB Ce-tyl trimethyl ammonium bromide)^{16,17}.





El experimento evaluó la actividad antimicrobiana de discos embebidos con AgNPs en adhesivos ortodónticos a diferentes concentraciones sobre *Streptococcus mutans*, mediante la medición de halos de inhibición, en base a la escala de sensibilidad antimicrobiana de Duraf-four.

Materiales y metodos

Estudio experimental in vitro; se prepararon soluciones de AgNPs de tamaño inferior a 100 nm en concentraciones de 25, 75, 125 y 175 ppm, diluidas en un adhesivo de ortodoncia, las diluciones se embebieron en discos y se evaluaron sobre una población infinita de bacterias de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Previo al experimento, se sintetizó y preparó soluciones de AgNPs en el laboratorio de Nanoestructuras de la Facultad de Ciencias Químicas de la UCE, mediante el uso de nitrato de plata y colágeno en solución, además de NaBH₄. Las nanopartículas se caracterizaron con la técnica de análisis de diámetro hidrodinámico de partículas muy pequeñas, mediante la dispersión de luz dinámica "Dynamic Light Scattering" (DLS Horiba Nano Particle Analyzer SZ – 100); el tamaño, forma y tipo de las AgNPs, se determinó por Microscopía de Fuerza Atómica (Park Systems AFM NX10). Basados en los criterios de inclusión, las AgNPs inferiores a 100 nm fueron añadidas en las concentraciones de estudio al adhesivo de ortodoncia (Transbond® XT, 3M. Siguiendo el mismo procedimiento para concentraciones a 25, 75 y 125 ppm, para 175 ppm se usaron los siguientes parámetros:

$$\begin{aligned}
 &1,5 \text{ mL} \times 0,01 \text{ m.mol / mL} = 0,015 \text{ m.mol} \text{ -----} > 4,5 \text{ mL} = 0,0033 \text{ M Ag} \\
 &0,0033 \text{ M Ag} \times 107,8682 \text{ g/ mol} \times 1000 \text{ mg / g} = 359,56 \text{ mg / L} = \text{ppm Ag Sol madre} \\
 &4,87 \text{ mL} + 0,13 \text{ mL agua tipo 1} = 5 \text{ mL} \text{ ---} > 350 \text{ ppm} \\
 &1 \text{ mL Sol} + 1 \text{ mL adhesivo} = 2 \text{ mL / } 0,350 \text{ mg Ag} \times 1000 \text{ mL} = \mathbf{175 \text{ ppm}}
 \end{aligned}$$

The experiment evaluated the antimicrobial activity of discs soaked up with AgNPs in ortho-dontic adhesives at different concentrations on *Mutans streptococci*, by measuring inhibition haloes, based on the Duraf-four scale of antimicrobial sensitivity.

Materials y methods

In vitro experimental study; Solutions of AgNPs less than 100 nm in concentrations of 25, 75, 125 and 175 ppm were prepared, diluted in an orthodontic adhesive, the dilutions were soaked up in disks and evaluated on an infinite population of *Mutans streptococci* ATCC 25175 bacteria.

Prior to the experiment, AgNP solutions were synthesized and prepared in the Nanostructures laboratory of the Faculty of Chemical Sciences of the UCE, using silver nitrate and collagen in solution, in addition to NaBH₄. The nanoparticles were characterized with the technique of analysis of hydrodynamic diameter of very small particles, by means of "Dynamic Light Scat-tering" (DLS Horiba Nano Particle Analyzer SZ-100); the size, shape and type of the AgNPs were determined by Atomic Force Microscopy (Park Systems AFM NX10). Based on the inclusion criteria, AgNPs less than 100 nm were added at the study concentrations to the orthodontic adhesive (Transbond® XT, 3M. Following the same procedure for concentrations at 25, 75 and 125 ppm, for 175 ppm they were used the following parameters:





Para la activación de la bacteria se empleó la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, en una cámara de flujo laminar, siguiendo las instrucciones del fabricante se inoculó con un asa en tubos de ensayo estériles con 2 ml de caldo BHI (Brain Heart Infusion), incubando hasta que el crecimiento en el caldo sea equivalente a una turbidez de 0,5 en la escala de Mc Farland, equivalente a 1×10^8 unidades formadoras de colonias por mililitro.

Posteriormente, se inoculó el microorganismo en 20 cajas Petri con agar Müller-Hinton suplementado con 5% de sangre. En cada caja se colocaron 6 discos de papel embebidos respectivamente con las soluciones de AgNPs en el adhesivo ortodóntico a 25, 75, 125 y 175 ppm, clorhexidina al 0.12% y agua destilada. Las 20 cajas se incubaron en condiciones de anaerobiosis a temperatura de 37°C durante 48 horas. El efecto inhibitorio se determinó por medición de los halos de inhibición mediante una regla milimetrada (Calibrador Microbial Sensitivity, MSD - Merck Sharp & Dohme).

Con los halos de inhibición generados se realizó una base de datos y se comparó los porcentajes de longitud de halos basada en las tablas de actividad antimicrobiana de Duraffourd, que establece el diámetro del halo de inhibición de crecimiento bacteriano y lo ubica dentro de los siguientes parámetros: Nula: (-) inferior o igual a 8 mm; Sensibilidad límite: = (+) de 9 a 14 mm; Sensibilidad media: = (++) de 15 a 19 mm; Sumamente sensible: = (+++) igual o superior a 20 mm¹⁸.

Resultados

Los resultados de los halos de inhibición producidos con cada concentración de AgNPs, demostró que en la valoración cualitativa de sensibilidad evidencia que el 100% de las muestras a 25 ppm tiene actividad | nula sobre *Streptococcus mutans*; a 75 ppm el 50% (10;20) muestra sensibilidad

For the activation of the bacteria, the strain of *Mutans streptococci* ATCC 25175 was used, in a laminar flow chamber, following the manufacturer's instructions, it was inoculated with a handle in sterile test tubes with 2 ml of BHI broth (Brain Heart Infusion), incubating until growth in the broth is equivalent to a turbidity of 0.5 on the Mc Farland scale, equivalent to 1×10^8 colony forming units per milliliter.

Later, the microorganism was inoculated in 20 Petri dishes with Müller-Hinton agar supplemented with 5% blood. In each box, 6 paper discs were placed, soaked respectively with the AgNP solutions in the orthodontic adhesive at 25, 75, 125 and 175 ppm, chlorhexidine 0.12% and distilled water. The 20 boxes were incubated in anaerobiosis conditions at a temperature of 37 ° C for 48 hours. The inhibitory effect was determined by measuring the halos of inhibition by means of a millimeter ruler (Microbial Sensitivity Calibrator, MSD - Merck Sharp & Dohme).

With the inhibition halos generated, a database was made and the percentages of length of halos were compared based on the tables of Duraffourd antimicrobial activity, which establishes the diameter of the bacterial growth inhibition halo and places it within the following parameters: Null: (-) less than or equal to 8 mm; Limit sensitivity: = (+) from 9 to 14 mm; Average sensitivity: = (++) from 15 to 19 mm; Highly sensitive: = (+++) equal to or greater than 20 mm¹⁸.

Results

The results of the inhibition halos produced with each concentration of AgNPs, showed that in the qualitative evaluation of sensitivity it is evident that 100% of the samples at 25 ppm have activity | null on *Mutans streptococci*; at 75 ppm 50% (10; 20) shows limit sensitivity; samples at





límite; las muestras a 125 ppm y 175 ppm, tienen poder antibacteriano con sensibilidad límite en el 100% (20;20); la Clorhexidina al 0,12% existe el 60% (12;20) con sensibilidad media y 40% (8;20) sumamente sensible. tabla 1. figura 1.

125 ppm and 175 ppm have antibacterial power with 100% limit sensitivity (20; 20); Chlorhexidine 0.12% exists 60% (12; 20) with medium sensitivity and 40% (8; 20) highly sensitive. table 1. figure 1.

Tabla 1. Sensibilidad de las sustancias; Sensitivity of substances

Sensibilidad	Sustancias; Substances												Total		p=
	25 ppm		75 ppm		125 ppm		175 ppm		Clorhexidina al 0,12%		Agua destilada		Cant	%	
	Cant	%	Cant	%	Cant	%	Cant	%	Cant	%	Cant	%			
Nula <i>Null</i>	20	100,0%	10	50,0%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	20	100,0%	50	41,7%	0,00
Sensibilidad límite <i>Sensitivity limit</i>	0	0,0%	10	50,0%	20	100,0%	20	100,0%	0	0,0%	0	0,0%	50	41,7%	
Sensibilidad media <i>Mean Sensitivity</i>	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	12	60,0%	0	0,0%	12	10,0%	
Sumamente sensible <i>High sensitivity</i>	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	8	40,0%	0	0,0%	8	6,7%	
Total	20	100,0%	20	100,0%	20	100,0%	20	100,0%	20	100,0%	20	100,0%	120	100,0%	

Fuente: Base de datos de la Investigación

Elaborado: Los autores

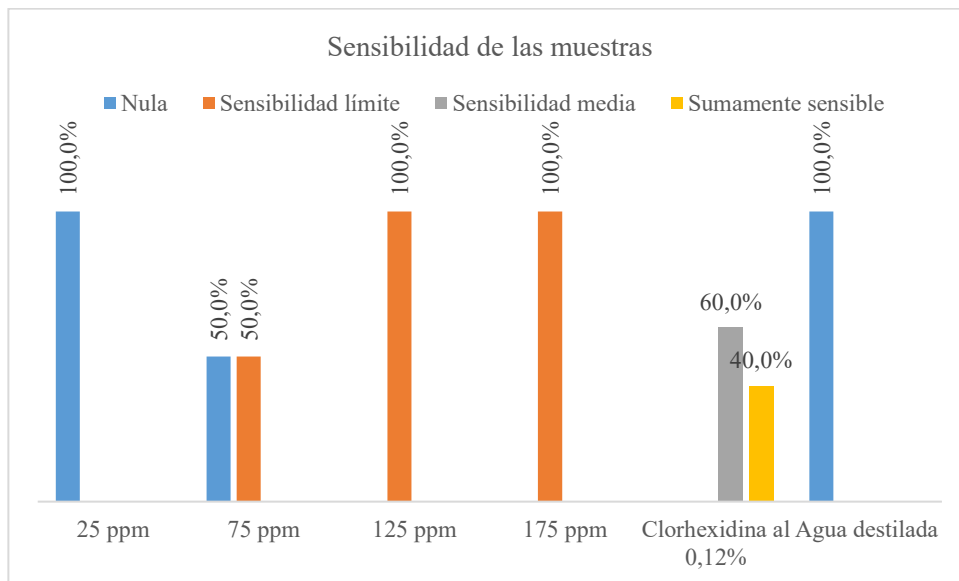


Figura 1. Sensibilidad de las muestras; Sample sensitivity

Fuente: Base de datos de la Investigación

Elaborado: Los autores





Discusión

De acuerdo a la metodología utilizada, se pudo observar que el adhesivo ortodóntico con diluciones de 125 y 175 ppm puede generar efecto inhibitorio, aunque la eficacia ha sido menor que la clorhexidina, el efecto a largo plazo de las AgNPs podría ser determinante en la inhibición sobre *Streptococcus mutans*.

Tristán et al.⁷, en su estudio "Future impact of nanotechnology on medicine and dentistry" manifiestan que cada vez existen más aplicaciones concretas como la de las nanopartículas de plata en la medicina y la odontología, se utilizan como una alternativa más segura para empastes dentales ya que poseen propiedades antidesgaste, antifúngicas y antibacterianas. Para Cardoso⁸ existe un número creciente de informes sobre la actividad bactericida de Ag-NPs y sobre su actividad contra biofilms bacterianos.

La eficacia de AgNPs sobre *S. mutans* ya ha sido demostrada, en un estudio similar Murga et al.¹ evaluaron in vitro la eficacia antimicrobiana de las nanopartículas al incorporarlas al adhesivo colocado en el esmalte dental adyacente a la aparatología ortodóntica fija (brackets) en 40 premolares inoculados con *Streptococcus mutans* para hacer conteo de unidades formadoras de colonias encontrando que al día 15 una disminución de la presencia de *Streptococcus mutans* en las muestras.

Según Krzyściak et al.² las nanopartículas de plata (Nps Ag), tienen alta eficacia contra biofilms debido a que pueden atacar múltiples sitios dentro de la célula en una concentración muy baja (0,5 - 1,0%) para prevenir el crecimiento bacteriano. En el presente estudio se encontró eficacia inhibitoria sobre una cepa específica, los datos deberían confirmarse en nuevos estudios que testen otras concentraciones y el efecto antibacteriano a largo plazo.

Discussion

According to the methodology used, it was possible to observe that the orthodontic adhesive with dilutions of 125 and 175 ppm can generate an inhibitory effect, although the efficacy has been less than that of chlorhexidine, the long-term effect of AgNPs could be decisive in inhibition on *Mutans streptococci*.

Tristan and colls.⁷, in their study "Future impact of nanotechnology on medicine and dentistry", they state that there are more and more specific applications such as silver nanoparticles in medicine and dentistry, they are used as a safer alternative for dental fillings as they have anti-wear, antifungal and antibacterial properties. For Cardoso⁸ there is an increasing number of reports on the bactericidal activity of Ag-NPs and on their activity against bacterial bio-films.

The efficacy of AgNPs on *S. mutans* has already been demonstrated, in a similar study Murga and colls.¹ evaluated in vitro the antimicrobial efficacy of nanoparticles by incorporating them into the adhesive placed in the dental enamel adjacent to the fixed orthodontic appliances (brackets). in 40 premolars inoculated with *Mutans streptococci* to count colony-forming units, finding that on day 15 a decrease in the presence of *Mutans streptococci* in the samples.

According to Krzyściak and colls.² Silver nanoparticles (Nps Ag), have high efficacy against biofilms because they can attack multiple sites within the cell in a very low concentration (0.5-1.0%) to prevent bacterial growth. In the present study, inhibitory efficacy was found on a specific strain, the data should be confirmed in new studies testing other concentrations and the long-term antibacterial effect.





Gómez⁹ analizó el efecto antimicrobiano de estas NPsAg sobre bacterias Gram (-) (*Pseudomonas aeruginosa*) y bacterias Gram (+) (*Staphylococcus aureus*), sus resultados permiten concluir que las NPsAg poseen una alta capacidad bactericida, ya que se produce una mortandad del 99,9% con sólo pequeñas dosis de las mismas. Además, se preparó sustratos de Ti/TiO₂ modificados con NPsAg, que demostraron ser eficaces para inhibir la formación de biofilms de ambas bacterias (*Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*); destacando la importancia de los resultados de este trabajo en relación a los materiales implantables de titanio.

Nuestros resultados coinciden con estudios previos que presentan un efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans*, siendo estas concentraciones menores a los que expresan Padovani et al.², en su análisis. Por lo cual se comprueba la hipótesis de investigación: Existe actividad antimicrobiana las nanopartículas de plata a diferentes concentraciones sobre el *Streptococcus mutans* en sistemas adhesivos ortodónticos con diferencia significativa respecto a la clorhexidina al 0.12%.

Castaneda et al.⁶ manifiesta que la investigación en el campo de nanomateriales dentales ha permitido nuevos avances en la nanotecnología orientada a preservar y mejorar la salud dental. En este sentido, Cardoso¹⁹ indica que existe un número creciente de informes sobre la actividad bactericida de AgNPs y sobre su actividad contra biofilms bacterianos y Padovani et al.¹² refiere que existe baja probabilidad de desarrollar resistencias bacterianas y que la alta eficacia contra biofilms se debe a que pueden atacar múltiples sitios dentro de la célula en una concentración muy baja (0,5 - 1,0%). Flores²⁰ analizó el efecto antimicrobiano de AgNPs sobre *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, los resultados comprobaron la alta capacidad bactericida, al producir una mortandad del 99,9% con sólo pequeñas dosis de nanopartículas.

Gómez⁹ analyzed the antimicrobial effect of these NPsAg on Gram (-) bacteria (*Pseudomonas aeruginosa*) and Gram (+) bacteria (*Staphylococcus aureus*), their results allow us to conclude that NPsAg have a high bactericidal capacity, since it produces a mortality of 99.9% with only small doses of them. In addition, NP-sAg-modified Ti / TiO₂ substrates were prepared, which were shown to be effective in inhibiting the formation of biofilms of both bacteria (*Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*); highlighting the importance of the results of this work in relation to implantable titanium materials.

Our results coincide with previous studies that show an inhibitory effect on *Mutans streptococci*, these concentrations are lower than those expressed by Padovani and colls.², in his analysis. Therefore, the research hypothesis is verified: There is antimicrobial activity of the silver nanoparticles at different concentrations on the *Mutans streptococci* in orthodontic adhesive systems with a significant difference with respect to 0.12% chlorhexidine.

Castaneda and colls.⁶ states that research in the field of dental nanomaterial has allowed new advances in nanotechnology aimed at preserving and improving dental health. In this sense, Cardoso¹⁹ indicates that there is an increasing number of reports on the bactericidal activity of AgNPs and on their activity against bacterial biofilms, and Padovani and colls.¹² reported that there is a low probability of developing bacterial resistance and that the high efficacy against biofilms must be that they can attack multiple sites within the cell in a very low concentration (0.5-1.0%). Flores²⁰ analyzed the antimicrobial effect of AgNPs on *Aeruginous pseudomonas* and *Staphylococcus aurous*, the results verified the high bactericidal capacity, producing a 99.9% mortality with only small doses of nanoparticles.





Los resultados obtenidos en esta investigación evidencian que existe coincidencia con los planteamientos antes referidos, al observar que existe efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans*, no obstante, que las concentraciones de AgNPs son menores a las que estudió Padovani et al.⁷. Se comprueba la hipótesis de investigación: Existe actividad antimicrobiana las AgNPs a diferentes concentraciones sobre el *Streptococcus mutans* en sistemas adhesivos ortodónticos con diferencia significativa respecto a la clorhexidina al 0.12%. Sin embargo, nuevos estudios deberán demostrar la eficacia a largo plazo y evaluar los adhesivos para garantizar que no se alterarían sus propiedades.

Conclusiones

Las nanopartículas de plata con tamaño inferior a 100 nm, incluidas a 125 y 175 ppm en adhesivos de ortodoncia poseen actividad antimicrobiana sobre *Streptococcus mutans*, sin embargo, en el tiempo de estudio no alcanzan la sensibilidad de la clorhexidina al 0.12%.

Bibliografía

1. Murga M, Centeno R, Sánchez W, González AM, Arredondo R, Cárdenas MJ, Gutiérrez FJ. Eficacia antimicrobiana del primer ortodóntico adionado con nanopartículas de plata. Estudio transversal in vitro. Invest. clín [Internet]. 2016 [citado 2019 Ene 15]; 57(4): 321 -329. ISSN 0535-5133. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0535-51332016000400002&script=sci_abstract&lng=es
2. Krzyściak W, Jurczak A, Kościelniak D, Bystrowska B; Skalniak A. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. Eur J Clin Microbiol Infect Dis [Internet]. 2014 [citado 2019 Jan 17]; 33: 499. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10096-013-1993-7> Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10096-013-1993-7>
3. Rojas S, Echeverría S. Caries temprana de infancia: ¿enfermedad infecciosa. Revista Médica Clínica Las Condes [Internet]. 2014 [citado 2019 Ene 15]; 25(3): 81-587. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0716-8640\(14\)70073-2](https://doi.org/10.1016/S0716-8640(14)70073-2) Get rights and content. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/>

The results obtained in this research show that there is a coincidence with the aforementioned approaches, when observing that there is an inhibitory effect on *Mutans streptococci*, however, that the concentrations of AgNPs are lower than those studied by Padovani and colls.⁷. The research hypothesis is verified: There is antimicrobial activity in AgNPs at different concentrations on *Mutans streptococci* in orthodontic adhesive systems with a significant difference with respect to 0.12% chlorhexidine. However, new studies should demonstrate long-term efficacy and evaluate adhesives to ensure that their properties would not be altered.

Conclusions

Silver nanoparticles smaller than 100 nm, included at 125 and 175 ppm in orthodontic adhesives, having antimicrobial activity on *Mutans streptococci*, however, at study time they do not reach the sensitivity of chlorhexidine to 0.12%.

- science/article/pii/S0716864014700732
4. Vargas J, Vargas del Valle P, Palomino. Lesiones de mancha blanca en Ortodoncia. Conceptos actuales. Av Odontoestomatol [Internet]. 2016 [citado 2019 Jul 25]; 32(4): 215-221. ISSN 2340-3152. ISSN 1435-4373. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/odontov32n4/original4.pdf>
5. Ramírez P, Saldarriaga A, Castellanos L, Roldan S, Álvarez G. Prevalencia de manchas blancas antes y después del tratamiento de ortodoncia. CES Odontología [Internet]. 2014 [citado 2019 Sep 18]; 27(2): 61-67. ISSN 0120-971X. Disponible en: <http://revistas.ces.edu.co/index.php/odontologia/article/view/3242/2270>
6. Castaneda IE; Lok A; Lok JM. Prevalencia y factores pronósticos de caries dental en la población de 15 a 19 años. Rev Cubana de Estomatol [Internet]. 2015 [citado 2019 Jul 25]; 52(1): 21-29. ISSN 1561-297X. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-5072015000500004&lng=es&nrm=iso. accedido en 27 sept. 2019.





7. Tristán JD, SánchezW, Cárdenas J, González AM, Gutiérrez FJ, Murga H. Evaluación de carga bacteriana en brackets metálicos versus brackets cerámicos. *Revista Mexicana de Ortodoncia* [Internet]. 2015 [citado 2019 Feb 12]; 3(4): 228-231. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rmo.2016.03.059>. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S239592151600060X>
8. Meneses LL, Rojas JF, Rosero CA, Cepeda De Romero B. Eficacia del protocolo correctivo del índice de placa ortodóntico opi en pacientes con aparatología ortodóntica fija. *Revista ODONTOS* [Internet]. 2017 [citado 2019 Sep 29]; 48(1): 21-28. ISSN 0123-7810
9. Gómez M. Nanomateriales, nanopartículas y síntesis verde. *REPERT MED CIR.* [Internet]. 2018 [citado 2019 Feb 25]; 27(2):75-80. DOI: <https://doi.org/10.31260/RepertMedCir.v27.n2.2018.191>. Disponible en: <https://www.fucsa-lud.edu.co/sites/default/files/2018-08/Art-1.pdf>
10. Molina GF, Palma S. Nanotecnología en Odontología: Aspectos generales y posibles aplicaciones [Internet]. 2018 [citado 2019 Sep 25]; 3(3):59-66. DOI: 10.22529/me.2018.3(3)03. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6559963>
11. Vázquez R, Huerta A. Nanomateriales con actividad microbiciada: una alternativa al uso de antibióticos. *Mundo Nano* [Internet]. 2014 [citado 2019 Feb 18]; 7(13): 37-46. Disponible en: <http://www.revistas.unam.mx/index.php/nano/article/download/48707/43757>
12. Padovani GC, Feitosa VP, Sauro S, Tay FR, Durán G, Paula AJ, Durán N. Advances in Dental Materials through Nanotechnology: Facts, Perspectives and Toxicological Aspects. *Trends in Biotechnology* [Internet]. 2015 [citado 2019 Feb 20]; 33(11): 621-636. DOI <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.09.005>. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167779915001912>
13. Coutiño EM, Lagunes A, Arroyo O. Las nanopartículas de plata: mecanismos de entrada, toxicidad y estrés oxidativo. *REB* [Internet]. 2017 [citado 2019 Oct 3]; 36(2):39-54. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revedubio/reb-2017/reb172b.pdf>
14. Castro UD, Flores MG, García J, Alavez SL. Esterilización con nanotecnología en Odontología. *Odontología Vital* [Internet]. 2016 [citado 2019 Oct 3]; n.25: 9-16. Disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1659-07752016000200009&lng=en&nrm=iso. ISSN 1659-0775.
15. Blandón L, Vázquez MV, Boannini E, Ballarin B. Síntesis electroquímica de nanopartículas de plata en presencia de un surfactante neutro. *Rev AFINIDAD LXXII*, [Internet]. 2015 [citado 2019 Sep 25]; 569(1): 48-52. Disponible en: <https://www.raco.cat/index.php/afinidad/article/viewFile/291709/380209>
16. Vergara A, Toledo E. Acción Bactericida de Nanopartículas de Plata Utilizando extractos de Aloe Vera, para una posterior Aplicación en vendajes y parches. *Revista de Simulación y Laboratorio* [Internet]. 2017 [citado 2019 Oct 3]; 4(11): 53-58. Disponible en: https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Simulacion_y_Laboratorio/vol4num11/Revista_de_Simulacion_y_Laboratorio_V4_N11_7.pdf
17. Gallo JP, Ossa CP. Fabricación y caracterización de nanopartículas de plata con potencial uso en el tratamiento del cáncer de piel. *Rev. Ingeniería y desarrollo.* [Internet]. 2019 [citado 2019 Oct 3]; 37(1): 88-104. ISSN: 2145-9371 (on line). DOI: <http://dx.doi.org/10.14482/inde.37.1.6201>. Disponible en: <http://rcientificas.uninorte.edu.co/index.php/ingenieria/issue/view/495/showToc>
18. Negroni M. *Microbiología Estomatológica*. 3ra. ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2018. Disponible en: <http://www.amolca.com/publicaciones/periodontologia-clinica-de-carranza-onceava-edicion/> (último acceso 01/03/2019)
19. Cardoso PC. Nano partículas de plata: obtención, utilización como antimicrobiano e impacto en el área de la salud. *Rev. Hosp. Niños* [Internet]. 2016. [Citado 2019 Feb 12]; 58(260):19-28. Disponible en: <http://revistapediatria.com.ar/wp-content/uploads/2016/04/260-Nanoparti%C-C%81culas-de-plata.pdf>
20. Flores CY. Nanopartículas de plata con potenciales aplicaciones en materiales implantables: síntesis, caracterización fisicoquímica y actividad bactericida. Tesis doctoral. Universidad Nacional de La Plata. [Internet] 2014. [Citado 2019 Feb 12]. Disponible en <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/34946>

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

GUEVARA-RUIZ L; Concepción y diseño del trabajo. Recolección/obtención de resultados. Análisis e interpretación de datos. Redacción del manuscrito
BONILLA-VALLADARES P; Aporte de pacientes o material de estudio
CAICEDO-BREEDY MF; Concepción y diseño del trabajo. Revisión crítica del manuscrito





Luis Martin Guevara Ruiz; <https://orcid.org/0000-0002-7958-6918>
Pablo Bonilla; <https://orcid.org/0000-0003-13711920>
María Fernanda Caicedo Breedy; <https://orcid.org/0000-0002-3118-1196>



RECONOCIMIENTO-NOCOMERCIAL-COMPARTIRIGUAL
CC BY-NC-SA

ESTA LICENCIA PERMITE A OTROS ENTREMEXCLAR, AJUSTAR Y CONSTRUIR A PARTIR DE SU OBRA CON FINES NO COMERCIALES, SIEMPRE Y CUANDO LE RECONOZCAN LA AUTORÍA Y SUS NUEVAS CREACIONES ESTÉN BAJO UNA LICENCIA CON LOS MISMOS TÉRMINOS