



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES
UNIDAD LEÓN**

TÍTULO:

**“Propiedades morfológicas y antimicrobianas de sutura de seda
funcionalizada con PDADMAC y nanopartículas metálicas”**

FORMA DE TITULACIÓN:

Tesis

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN ODONTOLOGÍA

P R E S E N T A:

LARA JUÁREZ DIANA ESTEFANIA

TUTOR: Dra. Ma. Concepción Arenas Arrocena

ASESOR: Dra. Liliana Argueta Figueroa

ASESOR: Dra. Marina Vega González



LEÓN, GTO. 2017.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ÍNDICE

DEDICATORIA	4
AGRADECIMIENTOS	5
RESUMEN	7
PALABRAS CLAVE	7
ABSTRACT	8
KEYWORDS	8
INTRODUCCIÓN	9
CAPÍTULO 1	11
<hr/>	
1. MARCO TEÓRICO	12
1.1 SUTURA	12
1.1.1 SEDA	13
1.2 BIOPELÍCULA	15
1.2.1 COMPOSICIÓN DE LA BIOPELÍCULA	15
1.2.2 ETAPAS DE FORMACIÓN	15
1.2.3 PROPIEDADES BACTERIANAS	16
1.3 NANOCOMPUESTO	17
1.3.1 POLÍMERO CATIÓNICO LIGANTE: POLICLORURO DE DIALILDIMETILAMONIO (PDADMAC/Polí DAD-MAC)	17
1.3.2 NANOPARTÍCULAS	17
1.3.2.1 MECANISMOS DE LA ACTIVIDAD BACTERIANA DE LAS NANOPATÍCULAS (NPs)	18
1.4 FUNCIONALIZACIÓN	19
1.4.1 MÉTODO CAPA POR CAPA (LbL)	20
1.5 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA	21
1.5.1 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (MET)	21
1.5.2 MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO (MEB)	21
1.5.2.1 ESPECTROSCOPIA DE ENERGÍA DISPERSIVA (EDS)	22
CAPÍTULO 2	23
<hr/>	
2. ANTECEDENTES	24
CAPÍTULO 3	26
<hr/>	
3.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	27
3.2 JUSTIFICACIÓN	28
3.3 OBJETIVOS	29
3.3.1 OBJETIVO GENERAL	29
3.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
3.4 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	29

3.5 HIPÓTESIS	30
3.5.1 HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN	30
3.5.2 HIPÓTESIS NULA	30
CAPÍTULO 4	31
4. METODOLOGÍA	32
4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO	32
4.2 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	32
4.3 UNIVERSO/POBLACIÓN DE ESTUDIO	33
4.4 TAMAÑO DE MUESTRA	33
4.5 CRITERIOS DE SELECCIÓN	34
4.5.1 INCLUSIÓN	34
4.5.2 EXCLUSIÓN	34
4.5.3 ELIMINACIÓN	34
4.6 MATERIALES Y REACTIVOS	35
4.7 DESARROLLO EXPERIMENTAL	37
4.7.1 DESGOMADO DE SUTURAS	37
4.7.2 PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN POLIELECTROLÍTICA PDADMAC	38
4.7.3 FUNCIONALIZACIÓN POR MÉTODO DE CAPA POR CAPA (SOLUCIÓN POLIELECTROLÍTICA/NPs METÁLICAS) EN SUSTRATO (SUTURA)	38
4.7.4 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA	39
4.7.5 ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA	41
CAPÍTULO 5	43
5.1 RESULTADOS	44
5.1.1 MORFOLOGÍA Y DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS POR TEM	44
5.1.2 CARACTERIZACIÓN DE SUTURAS DE SEDA POR ESTEREOSCOPIO	47
5.1.3 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y ELEMENTAL DE SUTURAS DE SEDA POR SEM/EDS	50
5.1.3.1 FUNCIONALIZACIÓN ELECTROESTÁTICA POR LBL DE SEDA CON PDADMAC Y NANOPARTÍCULAS METÁLICAS	62
5.1.4 ANÁLISIS DEL GROSOR DE LAS SUTURAS FUNCIONALIZADAS	63
5.1.5 VALORACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA	65
5.2 DISCUSIÓN	68
CONCLUSIONES	71
PRODUCTOS ACADÉMICOS	72
• ARTÍCULO ACEPTADO	72
• PRESENTACIÓN EN CONGRESOS	72
BIBLIOGRAFÍA	73

DEDICATORIA

A Dios, por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida. Por los triunfos y los momentos difíciles que me han enseñado a valorarlo cada día más.

A mi madre, Soledad Juárez, por ser más que una mamá para mí, por tu amor, por tu paciencia, tu dedicación y esfuerzo constante para que pudiera lograr esta meta, las palabras no alcanzan para agradecerte todo tu amor, apoyándome en los momentos buenos y malos, sin ti no hubiera sido posible.

A mi padre, Jaime Lara, por ser un papá ejemplar, el que toda hija podría desear; gracias por todo, por enseñarme el valor del esfuerzo para lograr un objetivo, por ser mi ejemplo a seguir y hacerme saber que con dedicación y empeño todo es posible, gracias por siempre apoyarme y por ser mi soporte en esta vida.

A mi familia, porque después de Dios siempre va primero y sé que siempre estará conmigo, en las buenas y en las malas.

AGRADECIMIENTOS

A la UNAM y a la ENES Unidad León, UNAM por haberme dado la oportunidad de estudiar y ser parte de la mejor Universidad de México, por haber sido mi casa de estudios durante 4 años y brindarme los conocimientos y valores que serán forjados en mi día a día.

A mi tutora, Dra. Ma. Concepción Arenas, por su paciencia, tiempo, apoyo y confianza; y hacerme saber que con dedicación y constancia finalizar metas es posible.

A mis asesoras, Dra. Liliana Argueta y Dra. Marina Vega, por su interés, el tiempo invertido y su dedicación para que este proyecto fuera conformado.

A todas ustedes por hacerme visualizar que la investigación, es una actividad grata que requiere de tiempo para obtener grandes resultados, sumamente satisfactorios.

A la Mtra. Lourdes Palma del Instituto de Neurobiología de la UNAM, por el apoyo en la caracterización de TEM.

A SENER-CONACyT por el financiamiento parcial a través del proyecto n. 207450 (CEMIE-Sol/27) y **CONACyT México** (CB176450).

A PAPIME-DGAPA por el financiamiento parcial a través del proyecto PE205916.

A todos mis profesores de licenciatura, por su dedicación y esfuerzo continuo, por su gran compromiso con la enseñanza y formación de cada uno de nosotros, sus alumnos.

A mis pacientes, que como dice la palabra fueron pacientes, aun sabiendo que era estudiante de licenciatura, pero que contaba con los mejores profesores e instalaciones de la UNAM.

A mis amigas y amigos, a aquellos que conocí desde el primer año y aún conservo su amistad, y a los que fui conociendo durante los cuatro años de licenciatura, gracias por hacer de esta etapa un trayecto placentero.

RESUMEN

Introducción: La sutura es un material vital en la mayoría de los procedimientos quirúrgicos realizados en odontología, reposiciona tejidos blandos de alta vascularización, promueve la hemostasia y mejora la cicatrización. La sutura de seda es un material no reabsorbible compuesta de proteínas naturales, puede ser un factor predisponente para la infección del sitio quirúrgico debido a su estructura trenzada que fomenta la adhesión bacteriana, incluso la resistencia de microorganismos hacia los antibióticos convencionales ha estimulado el interés en agentes antimicrobianos alternativos y en nuevos enfoques para la prevención de infecciones; por consiguiente se requiere de un material innovador de revestimiento para mejorar las propiedades de la fibra.

Objetivo: Determinar las propiedades morfológicas y antimicrobianas de la sutura de seda funcionalizada con Poli (cloruro de dialildimetilamonio) (PDADMAC) y nanopartículas metálicas [Oro (Au), y dióxido de titanio (TiO₂)].

Metodología: Suturas de seda (Ethicon) desgomadas con NaOH al 10% por 10 min y lavadas con agua destilada en ultrasonido fueron funcionalizadas con el método de dispersión “layer by layer (LbL)”. Este método consistió en sumergir la sutura secuencialmente; primero en PDADMAC (0.010M) disuelto en NaCl (0.1M) durante 5 min, lavadas con agua destilada por 5 min, después sumergidas en una solución de nanopartículas metálicas de Au (10 nm), TiO₂ experimental [e] (5 nm) y TiO₂ comercial [c] (25 nm) por 5 min, y lavadas con agua destilada nuevamente por 5 min; el proceso fue repetido 10 veces hasta obtener 10 bicapas en la sutura, finalmente las fibras fueron secadas para su caracterización morfológica por SEM y EDS y para la evaluación de su actividad antimicrobiana contra *E. coli* y *S. aureus*.

Resultados: Las imágenes SEM revelan que el polímero catiónico ligante (PDADMAC) brinda una mejora en la morfología de la sutura de seda y un mejor recubrimiento con las nanopartículas TiO₂ [c]/PDADMAC con un porcentaje en peso de Ti de 88% a diferencia de las otras nanopartículas. Las suturas con nanopartículas metálicas/PDADMAC no son cubiertas por bacterias *E. coli* y *S. aureus*.

Conclusión: Las nanopartículas metálicas y el PDADMAC son atractivos por su efecto antibacteriano para la funcionalización de suturas de seda.

PALABRAS CLAVE

Nanoesferas, Inhibición bacteriana, fibras de seda, óxidos metálicos, biomaterial, cavidad oral.

ABSTRACT

Introduction: Sutures are a vital part of nearly every surgical procedure performed in dentistry, designed to close and stabilize wound margins and allow undisturbed wound healing, repositioning soft tissues with high vascularization, promotes hemostasis and improves healing.

Silk suture is a non-resorbable material composed of natural proteins, it could be a predisposing factor for surgical site infection due to its braided structure that promotes bacterial adhesion, even the resistance of microorganisms to conventional antibiotics has stimulated interest in alternative antimicrobial agents and new approaches to prevent the infection; therefore, an innovative coating material is required to improve the properties of the fiber.

Objective: To determine the morphological and antimicrobial properties of the silk suture functionalized with Poly (diallyldimethylammonium chloride) (PDADMAC) and metallic nanoparticles [Gold (Au) and titanium dioxide (TiO₂)].

Method: The sutures were degummed with NaOH solution (10%) for 10 min and washed with distilled water in ultrasound. The functionalization of the silk sutures (Ethicon) was performed using the "LbL" dispersion method, the suture was submerged sequentially first of all in PDADMAC (0.010M) and NaCl (0.1M) for 5 min, washed with distilled water for 5 min, then immersed in a solution of Au nanoparticles (10 nm), experimental [e] TiO₂ (5 nm) and commercial [c] TiO₂ (25 nm) for 5 min and washed with distilled water again for 5 min; the process was repeated until have obtained 10 bilayers in the suture, finally the fibers were dried for their morphological characterization by SEM and EDS and for the evaluation of their antimicrobial activity against *E. coli* and *S. aureus*.

Results: SEM images revealed a better coating with the TiO₂NPs [c]/PDADMAC with a weight percentage of 88% for Ti in the suture unlike the other nanoparticles. Metal nanoparticles/PDADMAC sutures are not covered by *E. coli* and *S. aureus* bacteria. The binder cationic polymer (PDADMAC) provides an improvement in the morphology of the silk suture.

Conclusion: The metallic nanoparticles and PDADMAC are attractive for their antibacterial effect for the functionalization of silk sutures.

KEYWORDS

Nanospheres, bacterial inhibition, silk fibers, metallic oxide, biomaterials, oral cavity.

INTRODUCCIÓN

Los materiales de sutura son una parte vital en la mayoría de los procedimientos quirúrgicos, se utilizan para la unión de la superficie de la piel y la ligadura de vasos, están diseñadas para cerrar y estabilizar los márgenes de la herida y permitir la cicatrización.¹ Idealmente estos materiales deben satisfacer características físicas, biológicas, mecánicas y de manipulación.²

En la práctica odontológica, la sutura es un procedimiento esencial, principalmente en el área de periodoncia, endodoncia, implantología y cirugía oral y maxilofacial.³ En cirugía oral, las suturas se utilizan después de la extracción quirúrgica de terceros molares, en la cirugía de implantes, en la odontectomía simple de órganos dentarios, entre otros procedimientos periodontales, para sobrellevar la cicatrización por primera intención.⁴

La sutura quirúrgica de seda ha sido ampliamente utilizada debido a que exhibe ventajosas características de manejo, facilidad de uso y seguridad ideal del nudo. Sin embargo, debido a que se compone de proteínas naturales, como son la fibroína y la sericina, y cuentan con una estructura trenzada, ésta llega a ser un factor que origina la infección del sitio quirúrgico debido al alojamiento de las bacterias en el material de sutura en forma de biopelícula.⁵

Se reconoce que el proceso de infección no depende de uno, sino de varios factores, como son el uso de material parcialmente estéril, el uso inadecuado del antibiótico o la higiene deficiente del paciente en el área quirúrgica,⁶ pero a pesar de ello la mayoría de las infecciones quirúrgicas que potencialmente dañan la cicatrización de heridas están íntimamente relacionadas con suturas, por lo tanto, es altamente deseable diseñar superficies antibacterianas biocompatibles de alto rendimiento que puedan resistir fuertemente la adhesión bacteriana para prevenir la formación de la biopelícula.⁷⁻⁸

En los últimos años enormes esfuerzos se han dedicado a la elaboración de tejidos de seda con actividad antibacteriana mediante la modificación de su superficie con sustancias antimicrobianas, tales como, péptidos antimicrobianos⁹ iones metálicos¹⁰ polímeros¹¹ y nanomateriales,¹²⁻¹⁴ estos últimos desempeñan un papel importante en aplicaciones antibacterianas, principalmente debido a sus propiedades fisicoquímicas dependientes de su superficie y tamaño/forma.¹⁵

Sin embargo, las desventajas, tales como, la fácil agregación, la liberación incontrolable de iones metálicos y la citotoxicidad potencial de los agentes antimicrobianos como son las nanopartículas dificultan enormemente sus usos; recientemente, para mejorar la biocompatibilidad y la misma actividad antimicrobiana de los nanomateriales, se han empleado materiales poliméricos en su mayoría catiónicos como matriz tridimensional o material ligante para fabricar junto con las nanopartículas revestimientos nanocompuestos para la creación de nuevos biomateriales con una gran adaptación a estructuras y flexibilidad.¹⁶

Como tal es factible combinar nanopartículas y matrices poliméricas para formar revestimientos compuestos multifuncionales para aplicaciones antibacterianas, sin embargo, la funcionalización de

suturas de seda con nanopartículas metálicas (oro, dióxido de titanio) en combinación con un polímero catiónico ligante (PDADMAC) han sido poco estudiadas. El objetivo de esta tesis de investigación, se basa en el describir las propiedades morfológicas de las suturas modificadas y evaluar el posible efecto antimicrobiano de este nanomaterial frente a bacterias Gram-negativas (*E. Coli*) y Gram-positivas (*S. Aureus*).

Se espera que esta investigación sea capaz de proporcionar los avances actualizados de los revestimientos compuestos de nanopartículas/polímeros para aplicaciones antibacterianas en suturas utilizadas en el área de cirugía bucal.

CAPÍTULO 1

1. MARCO TEÓRICO

1.1 SUTURA

Hilo estéril utilizado para ligar los vasos sanguíneos o aproximar los tejidos; en la práctica consiste en la reposición de los tejidos blandos que están separados debido a un traumatismo o una acción quirúrgica; se realiza como último paso de cualquier técnica operatoria. La sutura, al unir los bordes de la herida, asegura su curación o cicatrización por primera intención, además de favorecer una buena hemostasia.¹⁷

Idealmente estos materiales deben satisfacer características físicas, mecánicas y de manipulación como la resistencia a la tracción del nudo o tenacidad, elasticidad, calibre, capilaridad y superficie, y trabajo de ruptura que van a estar relacionadas con la deformación de los hilos de sutura dependiendo de la configuración del nudo. Además, también son importantes las características biológicas, tales como; adherencia bacteriana, reacción tisular o histocompatibilidad y reabsorción.² Los hilos de sutura más utilizados en Cirugía Bucal se clasifican en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Clasificación de suturas quirúrgicas.¹⁶ Fuente: Gay C, Berini L. Tratado de cirugía bucal. Tomo 1. Ediciones Ergón, S.A. 2004.

CLASIFICACIÓN DE HILOS DE SUTURA		
ORIGEN	NATURALES	SINTÉTICAS
	*Animal: Catgut Seda Crin de Florencia *Vegetal: Lino Algodón *Origen mineral: Acero Plata	Poliamidas Poliésteres Polidioxanona Ácido poliglicólico Poliglactin 910 Polipropileno Polietileno
PERMANENCIA	REABSORBIBLES	NO REBASORBIBLES
	Catgut Ácido poliglicólico Poliglactin 910 (Vicryl)	Poliamidas Poliésteres Algodón

	Polidioxanona	Lino Seda Acero y plata
ACABADO INDUSTRIAL	MONOFILARES	MULTIFILARES
	Polipropileno Poliamidas Metálicas Polidioxanona	*Torcidos: Catgut Lino *Trenzados: Acero Seda Poliésteres *Recubiertos: Poliglactin 910 Ácido Poliglicólico
ESTRUCTURA	TRAUMÁTICAS	ATRAUMÁTICAS
	Con aguja	Sin aguja
CALIBRE	MEDIDA EN CEROS	
	2-0 – 5-0	

Se destaca la seda negra trenzada de calibre 3-0 al ser bastante satisfactoria en cirugía bucal; es de fácil manipulación, resistente a la tracción y deben eliminarse a los 6-8 días. En cambio seda de 4-0 o 5-0 se usa para cerrar incisiones cutáneas, aun presentando semejantes características. En el área de cirugía bucal puede ser necesaria la sutura ante la mayor parte de las heridas operatorias, el hilo de sutura de seda es el más empleado pero tiene algunos inconvenientes: produce reacción a cuerpo extraño, expansión por absorción de líquidos, retención de placa bacteriana, etc.¹⁶

1.1.1 SEDA

La seda es una de las fibras más antiguas conocidas por el hombre, producida por ciertos insectos para construir sus capullos y telas; el filamento producido por la polilla de seda de morera, *Bombyx mori*, es muy utilizado por la industria de la seda comercial debido a sus cualidades de resistencia, suavidad de elasticidad, absorbencia, afinidad por tintes y adaptabilidad a diversas formas de torsión, así como respuestas térmicas y electromagnéticas.¹⁷

Las fibras, se componen de fibroína en la capa interna y sericina en la capa externa. Cada hilo de seda tiene una estriación longitudinal, que consta de dos filamentos de fibroína de 10-14

micras de longitud incrustados en sericina. Las composiciones químicas son, en general, 75-83 % de fibroína de seda, 17-25 % de sericina, ceras de aproximadamente 1.5 %, y otras de 1.0 % por peso. La fibra es normalmente estable hasta 140 °C y la temperatura de descomposición térmica es mayor a 150 °C. Las densidades del material están en el rango de 1320-1400 kg/m³ con sericina y 1300-1380 kg/m³ sin sericina.¹⁷

La seda del gusano de seda *B. mori* se ha utilizado como material de sutura biomédica durante siglos en los campos de cirugía ocular, neural y cardiovascular, así como en una variedad de otros tejidos del cuerpo;¹⁷ mientras que en la ingeniería de tejidos biológicos es principalmente empleada la fibroína de seda regenerada, o la seda desgomada.¹⁸

La sutura quirúrgica de seda ha sido considerada como una de las suturas más excelentes y ampliamente utilizadas en todo el mundo debido a la buena característica de manejo, facilidad de uso y seguridad ideal del nudo.² Es la sutura natural más común superando la de colágeno, utilizada en la industria biomédica durante los últimos 100 años. En los últimos 25 años, una serie de suturas sintéticas degradables funcionalizadas han dominado el mercado de sutura, sin embargo, la seda sigue siendo popular debido a sus características ventajosas, pero uno de los principales inconvenientes asociados con este tipo de material natural es su pobre característica de resistencia microbiana.¹⁷

1.2 BIOPELÍCULA

La biopelícula es conformada de comunidades bacterianas sujetas a una superficie y encapsuladas dentro de una matriz de limo polimérico extracelular auto-segregado que está compuesta por polisacáridos, proteínas y ácidos nucleicos.¹⁹ En la **Figura 1** se muestra un ejemplo de la formación de una biopelícula de una cepa bacteriana de *S. aureus*.

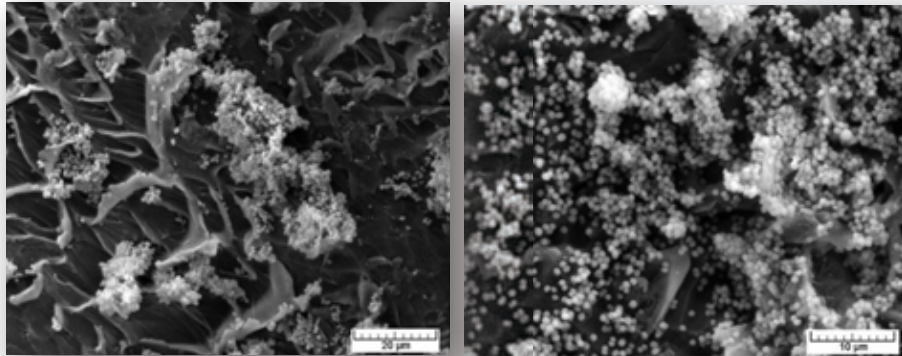


Figura 1. Imagen de microscopía electrónica de barrido (SEM) a distintas escalas, que muestra la adhesión y la proliferación de biopelícula por *S. aureus*.²⁰ Fuente: Newman H. Microbiology in Pictures. 2011-2015.

URL: <http://www.bacteriaiphotos.com/bacterial-biofilm.html>

?

1.2.1 COMPOSICIÓN DE LA BIOPELÍCULA

- ✚ Alrededor de 97% del contenido total corresponde a agua,
- ✚ Células bacterianas,
- ✚ Exopolisacáridos,
- ✚ Macromoléculas como proteínas, ADN, y productos de la lisis bacteriana.

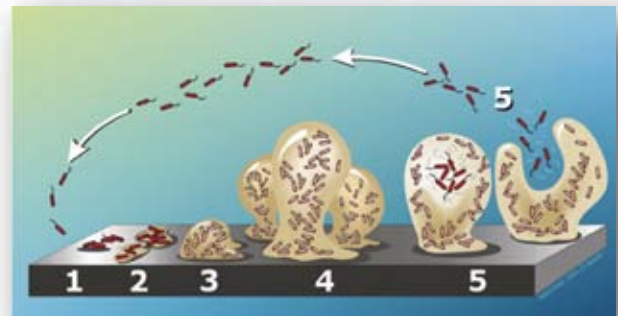


Figura 2. Reproducción sobre etapas de formación de una biopelícula bacteriana.²¹ Fuente: Dirckx P, Davies D. Center for Biofilm Engineering Montana State University. 2003.

?

1.2.2 ETAPAS DE FORMACIÓN

1. Formación de película adquirida,
2. Adherencia bacteriana,
3. Multiplicación y colonización,
4. Crecimiento y maduración,
5. Formación de la matriz y dispersión de microorganismos (**Figura 2**).



1.2.3 PROPIEDADES BACTERIANAS

- ✚ Resistencia antibiótica,
- ✚ Concentrar nutrientes (en matriz),
- ✚ Formar comunidades,
- ✚ Competir y ayudarse,
- ✚ Mineralización,
- ✚ Potencial patogénico.²²



1.3 NANOCOMPUESTO

Material natural, secundario o fabricado que contenga partículas, sueltas o formando un agregado o aglomerado, y en el que el 5 % o más de las partículas en la granulometría numérica presenten una o más dimensiones externas en el intervalo de tamaños comprendido entre 1 nm y 100 nm. Últimamente para la elaboración de nanocompuestos antimicrobianos se ha implementado el uso de polímeros catiónicos como sustancia ligante de las nanopartículas para brindar recubrimientos óptimos requeridos para la modificación de las características biológicas y morfológicas de materiales prefabricados con el objetivo de ser funcionalizados.²³

1.3.1 POLÍMERO CATIÓNICO LIGANTE: POLICLORURO DE DIALILDIMETILAMONIO (PDADMAC/Poli DAD-MAC)

Un polímero es una macromolécula (generalmente orgánica) formada por la unión mediante enlaces covalentes de una o más unidades simples llamadas monómeros. Éstos forman largas cadenas que se unen entre sí por fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno o interacciones hidrófobas y tienen elevadas masas moleculares. Además, tienen propiedades únicas, tales como; no ser tóxicos, con degradabilidad biológica y adaptación a la naturaleza.²⁴

El PDADMAC, es entonces un polímero catiónico, líquido, de peso molecular muy elevado y alta densidad, es ampliamente utilizado en el tratamiento del agua potable, el tratamiento de aguas residuales, materias textiles, cosméticos, la mina (carbón, oro, los diamantes, etc.), la fabricación de papel, el tratamiento del suelo, la industria de petróleo, etc.²⁵ Su fórmula química está representada por la **Figura 3**.

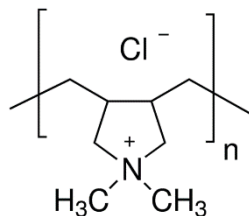


Figura 3. Fórmula química del PDADMAC (Policloruro de dialildimetilamonio)

Fuente: URL: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/409022?lang=es®ion=MX>

1.3.2 NANOPARTÍCULAS

Una nanopartícula (nanopolvo, nanoracimo o nanocristal) es una partícula con una dimensión menor a 100 nm. Actualmente las nanopartículas son un área de intensa investigación científica, debido a una amplia variedad de aplicaciones potenciales en campos, tales como; biomédicos, ópticos, electrónicos, nanoquímica, o agricultura.²⁶

En el área biomédica son escasos los estudios de nanopartículas de oro (AuNPs) y de dióxido de titanio (TiO₂NPs) para su aplicación como agentes antimicrobianos debido a que destacan por sus cualidades específicas, por un lado las AuNPs exhiben propiedades fototerapéuticas, siendo útiles en el tratamiento selectivo de células tumorales, se utilizan en la elaboración de partículas nanoestructuradas para el transporte y la vectorización selectiva de fármacos y macromoléculas terapéuticas, así como en la terapia génica.²⁶

Por otro lado, algunas de las aplicaciones reportadas de las nanopartículas de TiO₂ indican que poseen acción bactericida, poder degradador de contaminantes orgánicos e inorgánicos del agua mediante oxidación y actúan como fotocatalizadores.²⁷

1.3.2.1 MECANISMOS DE LA ACTIVIDAD BACTERIANA DE LAS NANOPATÍCULAS (NPs)

Las nanopartículas metálicas presentan características importantes para las áreas microbiológicas y biomédicas considerándose nanomateriales antimicrobianos, presentan en sus características la capacidad de combatir los microorganismos o evitar su aparición, son tres los principales mecanismos por los que actúan las NPs metálicas sobre las células bacterianas, como son a) la captación de iones libres, b) la generación de especies reactivas de oxígeno y c) el daño directo a la membrana, para lograr la inhibición del crecimiento bacteriano, posteriormente son descritos de manera particular.²⁸

CAPTACIÓN DE IONES LIBRES

Iones eludidos de nanopartículas (NPs) a concentraciones milimolares interactúan con enzimas provenientes de la síntesis de ATP (es la principal fuente de energía para la mayoría de las funciones celulares, incluyendo la síntesis de macromoléculas como el ADN, el ARN y las proteínas, así como el transporte de macromoléculas a través de las membranas celulares (exocitosis y endocitosis) en el proceso de respiración, tales como; NADH deshidrogenasa (Nicotidamina Adenina Dinucleótido reducido) es un complejo multienzimático que cataliza la transferencia de electrones a la coenzima Q en la cadena respiratoria por la vía de la flavo-proteína-NADH-deshidrogenasa), se unen a proteínas de transporte debido a su afinidad con los grupos tiol, inhiben la absorción de fosfato y provocan el flujo de salida de fosfato intracelular; provocando un aumento en las frecuencias de mutación del ADN durante las reacciones en cadena polimerasa, un encogimiento citoplasmático que condensa el ADN y degrada la membrana celular, inhibiendo el crecimiento y la replicación de las células.²⁸

✚ GENERACIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO

Los iones de NPs inhiben la defensa antioxidante de las células, interactuando con GSH (Glutatión), aumentando la generación de ROS (Especies de oxígeno reactivo); así pues, el exceso en la producción de ROS conlleva a un estrés oxidativo, los radicales libres pueden atacar los lípidos de la membrana y provocar su ruptura, además de afectar la función mitocondrial y causar daño al ADN.²⁸

✚ DAÑO DIRECTO A LA MEMBRANA CELULAR

Debido a la afinidad de las NPs metálicas a los grupos tiol de las proteínas de transporte y de respiración de la membrana celular, tienen la capacidad de penetrar dentro de la célula induciendo la formación de fosas en la membrana aumentando su permeabilidad y disminuyendo su tamaño nanométrico en el interior celular, por lo que afecta su respiración.²⁸

1.4 FUNCIONALIZACIÓN

Unión de grupos funcionales sobre una superficie. La funcionalización se puede aplicar por medio de un baño químico o por un proceso de plasma-ionización con vacío.

La mayoría de los métodos de funcionalización comúnmente usados incluyen el recubrimiento y modificación química²⁹ (**Figura 4**).

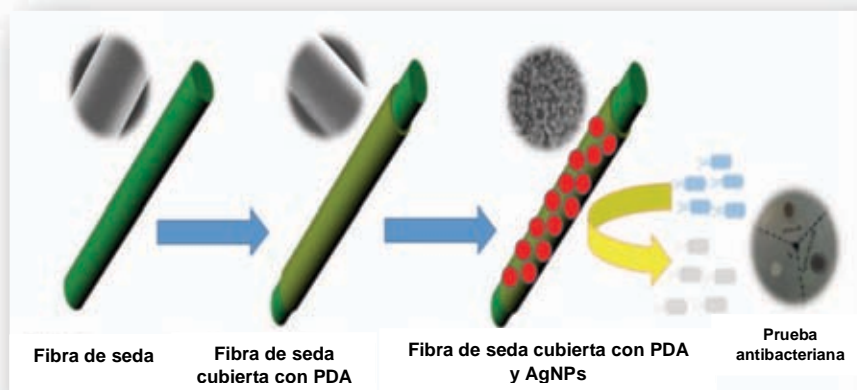


Figura 4. Funcionalización de seda con PDA (Polidopamina) y AgNPs (nanopartículas de plata).³⁰

Fuente: Meng M, He H, Xiao J, Zhao P, Xie J, Lu Z, Controllable in situ synthesis of silver nanoparticles on multilayered film-coated silk fibers for antibacterial application. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2016; (461): 369–375.

En los últimos años se ha visto marcado el uso de métodos multicapa para el recubrimiento de sustratos con nanomateriales, el método capa por capa asegura un revestimiento estable en la superficie de materiales.³⁰⁵

1.4.1 MÉTODO CAPA POR CAPA (LbL)

Método de autoensamble para la modificación de fibras, introducido por Hinestroza y colaboradores, que da como resultado la acumulación de una capa delgada de polímero ligante impulsada por la atracción electrostática entre los constituyentes de carga opuesta basado en el método de deposición capa por capa, ampliamente estudiado conocido como multicapa polielectrolítica (PEM, por sus siglas en inglés). Generalmente, el autoensamblaje de LbL procede como sigue: (1) Se sumerge un sustrato cargado en una solución de un coloide cargado opuestamente para adsorber la primera monocapa, (2) sigue un ciclo de lavado para eliminar el material no unido y evita la contaminación del subsiguiente (3) en el que el sustrato recubierto está sumergido para depositar una segunda capa y se forma la estructura multicapa (Figura 5).³¹

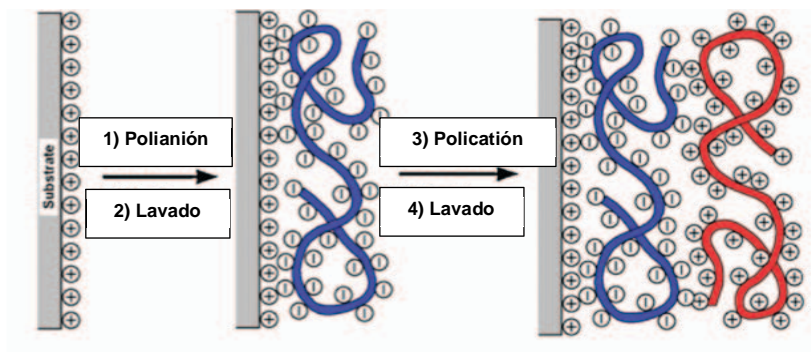


Figura 5. El principio del proceso “LbL” de autoensamblaje de la Asociación Americana para el Avance de la Ciencia.⁸ Fuente: Guo L, Yuan W, Lu Z, Li C. Polymer/nanosilver composite coatings for antibacterial applications. Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects. 2013; 439: 69-83.

1.5 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

Para determinar los atributos peculiares de alguien o algo, de modo que claramente se distinga de los demás³² en el desarrollo actual de la nanociencia y la nanotecnología no sería posible sin la caracterización a través de técnicas de identificación de materiales, tales como la microscopia electrónica de barrido, de transmisión o de fuerza atómica, pues se ve necesario el conocer las propiedades de los materiales: estructura, composición, morfología, propiedades térmicas, etc., para posteriormente darle aplicación específica a los mismos.

En la síntesis de nuevos materiales, las propiedades de éstos dependen no sólo de las propiedades de los materiales de partida, sino también de su morfología y las características interfaciales, por lo que es muy importante su determinación. En el campo de ciencias biomédicas se han empleado por lo general dos tipos de microscopia electrónica para realizar la caracterización de nanomateriales.³³

La microscopía electrónica es la herramienta ideal para analizar la estructura local de los sólidos a escala de celda unitaria, así como, para conocer las variaciones en la periodicidad de la misma completando la estructura media estadística observada por otras técnicas (rayos-X, neutrones, etc.). El microscopio electrónico se basa en la utilización de un haz de electrones con voltajes de aceleración que oscilan, por término medio, entre los 20 y 1000 kV; es un dispositivo que utiliza un haz de electrones dirigidos hacia una muestra a analizar, produciendo una imagen en una pantalla sensible a los electrones. Este tipo de microscopio permite realizar aumentos de hasta 2.000.000x, frente a los microscopios ópticos que producen aumentos de 2.000x, gracias a que la longitud de onda de los electrones (0,5 Angstroms) es mucho menor que la de la luz visible (4000 Angstroms).^{34, 35}

1.5.1 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (MET)

TEM del inglés “Transmission Electron Microscopy”, permite la observación de muestras en cortes ultrafinos; donde un haz de electrones atraviesa la muestra de espesor reducido, las imágenes obtenidas proporcionan información sobre la estructura interna de los sólidos y permiten el acceso a detalles microestructurales no familiares al ojo humano.^{34, 35}

1.5.2 MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO (MEB)

SEM del inglés “Scanning Electron Microscopy”, se basa en realizar sondeos en cada punto de una muestra bañada con oro u otros metales conductores, de modo que cuando el haz entra en contacto con la muestra emite tres señales que proporcionan la mayor cantidad de información en SEM son los electrones secundarios, los electrones retrodispersados y los rayos X. Los electrones secundarios posteriormente recogidos por un sensor, proporcionando imágenes 3D de la morfología superficial, bastante similares en apariencia, a las formadas por el ojo humano;

mientras que los electrones retrodispersados son electrones de haz primario que se "reflejan" de los átomos en el sólido; el contraste en la imagen producida viene determinado por el número atómico de los elementos de la muestra, así pues es posible acoplar una unidad de microanálisis que proporciona información acerca de la composición elemental de cada material **(EDS)**.^{34, 35}

1.5.2.1 ESPECTROSCOPÍA DE ENERGÍA DISPERSIVA (EDS)

Es una técnica analítica utilizada para el análisis elemental o caracterización química de una muestra. La interacción del haz primario en SEM con los átomos de la muestra provoca transiciones transformadas en rayos X. El EDS puede proporcionar un análisis cuantitativo rápido de la composición elemental con una profundidad de muestreo de 1 a 2 micrones. También se pueden usar rayos X para formar mapas o perfiles de líneas, mostrando la distribución elemental en una superficie de muestra. Sus capacidades de caracterización se deben en gran parte al principio fundamental de que cada elemento tiene una estructura atómica que permite un único conjunto de picos en su espectro de emisión electromagnético.^{34, 35}

CAPÍTULO 2

2. ANTECEDENTES

En la etapa temprana de la investigación se ha trabajado en una nueva generación de materiales dentales, particularmente utilizando la nanotecnología para brindarles propiedades antimicrobianas a las suturas. Hasta la actualidad se han realizado investigaciones para demostrar que las suturas funcionalizadas con agentes antibacterianos deben mantener o maximizar las características físicas (resistencia a la tracción, resistencia a la tensión del nudo, rigidez de flexión) y de manipulación (fricción superficial y arrastre del tejido) de las suturas sin modificar.²

La modificación de la superficie con sustancias antimicrobianas es uno de los métodos más aceptables. Los péptidos antimicrobianos⁹ iones metálicos¹⁰ polímero¹¹ y los nanomateriales¹²⁻¹⁴ se han empleado para funcionalizar la superficie de las fibras de sutura.

Odontólogos, investigadores y expertos en materiales implementados para la inhibición de bacterias han encontrado que metales como plata, cobre y oro, brindan propiedades antimicrobianas que resguardan la salud de nuestros pacientes contra ciertas bacterias y microorganismos que implican una posible infección.¹⁵

La combinación de nanomateriales multifuncionales con seda ha sido considerada como una de las estrategias más eficaces para dotar de tela de seda con nuevas propiedades. Para vencer el inconveniente del crecimiento microbiano, nanopartículas de plata (AgNPs), un nanomaterial con amplio espectro de actividad antibacteriana, se ha inmovilizado en la fibra de seda a través de diversas técnicas. Se han aplicado incluso nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) y dióxido de titanio (TiO₂) para funcionalizar las fibras de seda, proporcionando actividad antibacteriana.³⁶

Para mejorar la biocompatibilidad y la actividad antibacteriana en las suturas funcionalizadas con NPs y ampliar su campo de aplicación, se ha considerado su acoplamiento con polímeros.

Se ha mencionado el uso de diferentes vías para incorporar los nanomateriales a polímeros por medio de diferentes técnicas de adhesión, aseverando que la película multicapa “LbL” autoensamblada ofrece una prometedora de producción de NPs *in situ*.⁸ En el año 2006 se utilizó la técnica LbL para funcionalizar fibras de seda con distintos polielectrolitos, haciendo comparación de la morfología a través de imágenes de SEM (Microscopía electrónica de barrido) de las fibras (seda y nylon) con actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* funcionalizadas con PDADMAC y AgNPs con método LbL.²⁸ En el 2011 se publica un artículo donde hacen uso del mismo método multicapa en otro tipo de sutura (poliamida), inmovilizando AgNPs sintetizadas junto con PDADMAC, realizan únicamente espectrofotometría UV-vis para verificar la adhesión de NPs y pruebas antimicrobianas contra *S. aureus*.³⁷

En el año 2016 se informa sobre la síntesis *in situ* controlable de AgNPs sobre fibras de seda recubiertas con un película multicapa con ácido poliacrílico (PAA) y PDADMAC, para aplicaciones antibacterianas frente a *S. aureus* y *E. coli*, los autores aumentan el uso de auxiliares para la caracterización morfológica del nanocompuesto con imágenes de TEM (Microscopio Electrónico de

Transmisión), además de añadir imágenes y gráficos de SEM/EDS (Microscopía Electrónica de Barrido con Espectroscopía de Energía Dispersiva) asegurando la presencia de Ag. Existe un gran número de publicaciones sobre suturas funcionalizadas con AgNPs haciendo uso de distintos polímeros, sin embargo son pocos los artículos encontrados que están relacionados con la aplicación de otras nanopartículas metálicas en seda.²⁹

En el 2011 se modificaron fibras de seda con TiO_2 y TiO_2 -AgNPs a través de la técnica de montaje químico. La tela de seda tratada exhibía multifunciones incluyendo actividad antibacteriana, este ensamblaje demuestra una mejora en la resistencia mecánica y disminuye la solubilidad en agua de las películas a través de la formación de las partículas de fibroína de seda con TiO_2 NPs.¹³ Por otro lado, son pocas las aportaciones de AuNPs debido a que estas son empleadas principalmente por sus propiedades fototerapéuticas en el sector biomédico;²¹ se han elaborado telas de seda tratadas con AuNPs, dotando al tejido con actividad antibacteriana frente a *E. coli*, y otras propiedades, así mismo como en otros estudios de propiedades morfológicas, los investigadores hicieron uso de microscopía para la caracterización de la seda en el año 2014, con el fin de identificar la adhesión de las NPs a la tela, siendo observado un cambio en la superficie de la seda.³⁸

CAPÍTULO 3

3.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La mayoría de las infecciones quirúrgicas que pueden perjudicar la cicatrización de heridas están íntimamente relacionadas con suturas.¹ En la cavidad oral, las suturas se colocan dentro de tejidos de alta vascularidad, en un ambiente húmedo rico en bacterias con potencial infeccioso. Se emplean frecuentemente en la cirugía oral, después de la odontectomía quirúrgica de los terceros molares, la cirugía de implantes y una variedad de procedimientos periodontales.⁴

Las bacterias y los desechos necróticos como el tejido desvitalizado se alojan en el material de sutura en forma de biopelícula, una vez que el material de la sutura se contamina, los agentes biológicos, los agentes químicos u otros mecanismos de descontaminación de la herida se vuelven ineficaces, por consiguiente se mantiene la infección y retrasan la cicatrización.¹

Las características fisicoquímicas de un material de sutura influyen en su capacidad para atraer bacterias y por consiguiente, promueven la infección de heridas. Las bacterias se adhieren a diversos tipos de suturas con diferentes afinidades, se ha demostrado que las suturas de seda, que son multifilamentosas y trenzadas, producen una mayor reacción inflamatoria en la mucosa oral que las suturas de monofilamento, esta reacción se atribuyó a la presencia de bacterias en los intersticios de las suturas. Por lo tanto, no es de extrañar que las formaciones de abscesos se han reportado más frecuentemente con suturas trenzadas multifilamentosas que con suturas de monofilamento que provocaron sólo una respuesta inflamatoria leve del tejido.¹

La microflora bucal contiene patógenos oportunistas específicos, tales como *Streptococos*, *Bacteroides*, *Fusobacterias*, *Prevotella* y *Porphyromonas*, que pueden producir heridas bucales, mala cicatrización o actuar como foco de las infecciones postquirúrgicas odontogénicas.

Las infecciones posquirúrgicas se acompañan de altos costos para su tratamiento y de inconvenientes para los pacientes, ya que a menudo requieren cirugía adicional, hospitalización prolongada y uso de antibióticos u otros antimicrobianos orales. En general, una vez que las bacterias están presentes en la biopelícula, su susceptibilidad a los antibióticos y otros antimicrobianos es baja. Los regímenes posquirúrgicos típicamente implican el enjuague con clorhexidina para evitar la formación de placa, aunque la eficacia de la clorhexidina disminuye fuertemente cuando una biopelícula madura.⁴

La resistencia demostrada por muchos microorganismos hacia los antibióticos convencionales ha estimulado el interés en agentes antimicrobianos alternativos y en nuevos enfoques para la prevención de infecciones.¹⁵

3.2 JUSTIFICACIÓN

Las suturas quirúrgicas de seda han sido ampliamente utilizadas debido a que exhiben buenas características de manejo, facilidad de uso y seguridad del nudo ideal. Sin embargo, éstas probablemente causan infecciones del sitio quirúrgico debido a que se componen de materiales de proteínas naturales y de una estructura trenzada,² donde la incidencia de infecciones después de la cirugía del tercer molar es del 1% al 5% y la prevalencia global reportada de infecciones postquirúrgicas periodontales varía de menos del 1% al 5,4%.⁴

Como tal, las suturas de seda antibacterianas para el cierre de heridas clínico se deben desarrollar, pudiendo ser tratadas y modificadas con agentes antibacterianos, siempre que sus excelentes características físicas (resistencia a la tracción, resistencia a la tensión del nudo, y la rigidez de flexión) y de manipulación (fricción superficial y arrastre el tejido) sean maximizadas o mantenidas.²

De acuerdo a lo anterior, esta tesis de investigación pretende que la funcionalización de suturas de seda con policloruro de dialildimetilamonio (PDADMAC) y distintas nanopartículas metálicas, brindará a las fibras no absorbibles un efecto antimicrobiano, evitando la colonización bacteriana de la superficie y por ende la infección en la zona quirúrgica.

3.3 OBJETIVOS

3.3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar las propiedades morfológicas y antimicrobianas de suturas de seda funcionalizadas con un polímero catiónico ligante y nanopartículas de oro y de dióxido de titanio para su aplicación en cirugía bucal.

3.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✚ Funcionalizar las suturas no absorbibles con un polímero catiónico ligante (PDADMAC) y con nanopartículas de oro y de dióxido de titanio para prevenir la colonización bacteriana de la superficie.
- ✚ Determinar la morfología de las suturas funcionalizadas con nanopartículas metálicas por SEM/EDS (Microscopía Electrónica de Barrido con Espectroscopía de Energía Dispersiva).
- ✚ Determinar la actividad antimicrobiana de las suturas no absorbibles funcionalizadas con PDADMAC y nanopartículas de oro y de dióxido de titanio.

3.4 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿La funcionalización de suturas no absorbibles con PDADMAC y nanopartículas metálicas influye en las propiedades morfológicas y antimicrobianas?

3.5 HIPÓTESIS

3.5.1 HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN

La funcionalización de suturas de seda con PDADMAC y nanopartículas modifica la morfología de las suturas e inhibe la colonización bacteriana de la superficie en función del tipo de nanopartículas utilizadas.

3.5.2 HIPÓTESIS NULA

La funcionalización de suturas de seda con PDADMAC y nanopartículas no modifica la morfología de las suturas y no inhibe la colonización bacteriana de la superficie independientemente del tipo de nanopartículas utilizadas.

CAPÍTULO 4

4. METODOLOGÍA

4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Experimental puro, descriptivo, prospectivo y comparativo.

4.2 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Tabla 2. Definición de variables dependientes.

Variables dependientes	Definición conceptual	Definición operacional	Naturaleza, escala, función en la investigación	Unidad de medida
Espesor	Grosor de un sólido. ³⁹	Observar los aspectos morfológicos de zonas microscópicas de las suturas funcionalizadas con nanopartículas y sin funcionalizar, a través del procesamiento y análisis de las imágenes obtenidas del Microscopio electrónico de barrido o SEM (Scanning Electron Microscopy).	Cuantitativa, de razón y dependiente.	Micrómetro (µm)
Zona de inhibición	Zona alrededor de un disco de antibiótico en un antibiograma en el que no se produce crecimiento bacteriano en una placa de agar inoculada con el germen. Es una medida de la potencia del antibiótico frente al germen. ⁴⁰	En la medición de los halos de inhibición debe emplearse un vernier digital o una reglilla calibrada.	Cuantitativa, continua, de razón y dependiente.	Milímetro (mm)

Tabla 3. Definición de variables independientes.

Variables independientes	Definición conceptual	Definición operacional	Naturaleza, escala, función en la investigación	Unidad de medida
Nanopartícula (NP)	Partícula coloidal sólida con un rango de tamaño de 1 a 100 nm. Consiste de materiales macromoleculares y se pueden usar terapéuticamente también como transportadores de fármacos en los cuales el principio activo (fármaco o material activo biológicamente) está disuelto, entrampado o encapsulado, o en el cual el principio activo está adsorbido o enlazado covalentemente. ⁴¹	Nanopartículas metálicas dispersas en propanol se colocan en rejilla de microscopía para observar su morfología con el microscopio electrónico de transmisión (TEM). Se mide el tamaño de nanopartícula en ImageJ y se gráfica el tamaño promedio con OriginLab.	Cuantitativa, continua, razón e independiente.	Nanómetro (nm)

4.3 UNIVERSO/POBLACIÓN DE ESTUDIO

Suturas de seda de 4-0, marca Ethicon, nanopartículas de oro (AuNPs), de dióxido de titanio experimental (TiO₂NPs [e]) y de dióxido de titanio comercial (TiO₂NPs [c]).

4.4 TAMAÑO DE MUESTRA

n=10 por grupo.

4.5 CRITERIOS DE SELECCIÓN

4.5.1 INCLUSIÓN

- Suturas desgomadas.
- Suturas de seda 4-0 homogéneas recubiertas con nanopartículas de oro (AuNPs), de dióxido de titanio experimental (TiO₂NPs [e]) y de dióxido de titanio comercial (TiO₂NPs [c]) de tamaño de partícula de 5 a 25 nm.
- Suturas de seda 4-0 homogéneas funcionalizadas con PDADMAC y nanopartículas de oro (AuNPs), de dióxido de titanio experimental (TiO₂NPs [e]) y de dióxido de titanio comercial (TiO₂NPs [c]) de tamaño de partícula de 5 a 25 nm.
- Suturas de seda 4-0 funcionalizadas con PDADMAC y NPs metálicas que inhiban la colonización bacteriana de *E. coli* y *S. aureus* en su superficie.

4.5.2 EXCLUSIÓN

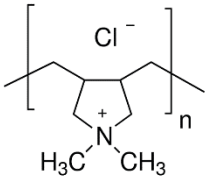
- Suturas reabsorbibles o de seda de otro calibre diferente a 4-0.
- Nanopartículas de tamaño mayor a 100 nm.

4.5.3 ELIMINACIÓN

- Suturas recubiertas con nanopartículas metálicas que presenten una morfología irregular y daño en su estructura trenzada.
- Suturas funcionalizadas con PDADMAC y nanopartículas que presenten una morfología irregular y daño en su estructura trenzada.
- Suturas de seda 4-0 funcionalizadas con PDADMAC y NPs metálicas que no inhiban la colonización bacteriana de *E. coli* y *S. aureus* en su superficie.

4.6 MATERIALES Y REACTIVOS

Tabla 4. Material, reactivos y nanopartículas a utilizar para la funcionalización y recubrimiento de las suturas.

Reactivos	Marca	Pureza y características
Seda	Ethicon®	No absorbible Color: Negro Calibre: 4-0 Multifilamento (trenzada)
Cloruro de sodio (NaCl)	Koral, S.A. de C.V.	Pureza: 99% PM: 58.44 g/mol Forma: Polvo Color: Blanco
Hidróxido de sodio (NaOH)	JT. Baker	Pureza: 97% PM: 40 g/mol Forma: Escamas Color: Blanco
<p>Policloruro de dialildimetilamonio, PDADMAC</p> 	Sigma-Aldrich	No. de producto: 409022 Formula: $(C_8H_{16}NCl)_n$ Color: Incoloro Forma: Líquido-viscoso Viscosidad: 350-950 cps Mw promedio: 200,000 - 350,000 20 wt.% en H ₂ O
Dióxido de titanio (TiO₂)	Sigma-Aldrich	No. de producto: 637254 Cristalinidad: Anatasa Forma: Polvo PM: 79.87 g/mol Color: Blanco Pureza: 99.7% Tamaño de partícula: <25 nm, 99.7% de metal base Concentración: 10.4 mg/mL

Reactivos	Marca	Pureza y características
<p>Nanopartículas de oro (AuNPs)</p>	<p>Sigma-Aldrich</p>	<p>No. producto: 741957 Forma: Solución PM: 196.97 g/mol Color: Rojo Pureza: 99.9% Tamaño de partícula: 10 nm, 99.9% de metal base (1g) Concentración: 0.4 mg/mL</p>
<p>Nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂NPs)</p>	<p>Experimental, del laboratorio de nanoestructuras y biomateriales de la UNAM</p>	<p>Obtenidas por síntesis sol-gel asistida con ultrasonido y tratamiento hidrotermal.⁴² Concentración: 25.4 mg/mL</p>

4.7 DESARROLLO EXPERIMENTAL

Para estudiar y evaluar la morfología y la actividad antimicrobiana de las suturas de seda comerciales, se diseñó un método que asegurara la adhesión de NPs al sustrato, un método (LbL) que fuera impulsado por la atracción electrostática entre los constituyentes de carga opuesta; los pasos del proceso descrito se repitieron en cada una de las fibras, únicamente cambiando el tipo de nanopartícula metálica. La técnica LbL que se aplicó para la construcción de la multicapa de polielectrolitos sobre la superficie de las suturas de seda fue adaptada con base en lo reportado en la literatura.³⁶ A continuación se detallan las etapas del proceso presentado en la **Figura 6**.

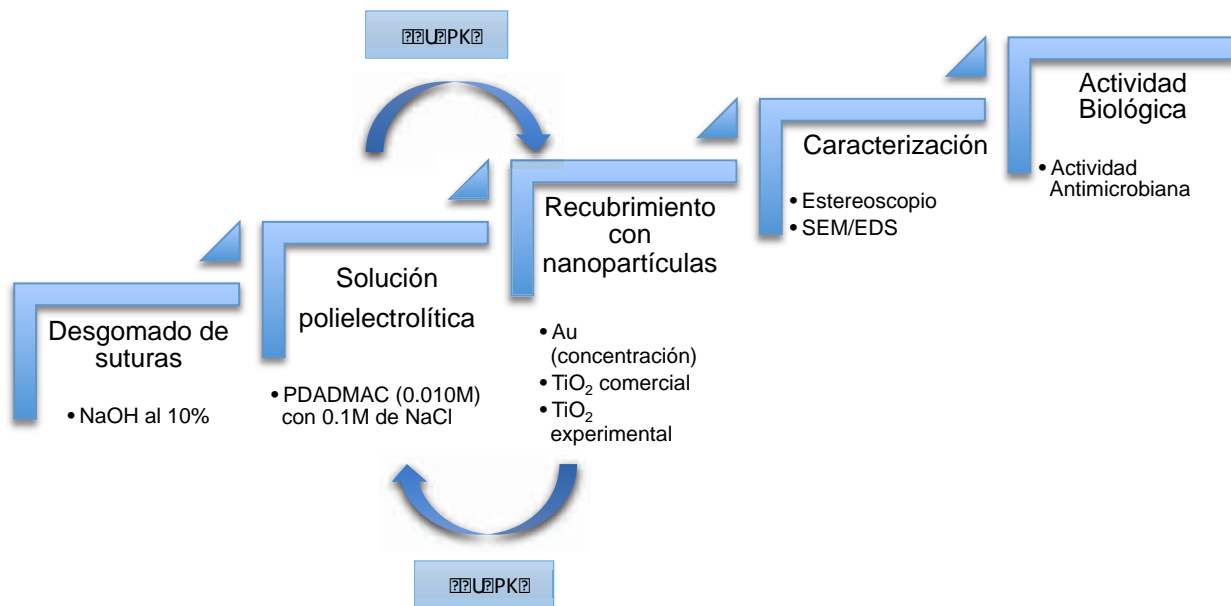


Figura 6. Resumen de método experimental (LbL) diseñado para funcionalizar suturas de seda Ethicon. Fuente: Directa.

4.7.1 DESGOMADO DE SUTURAS

Para iniciar el proceso reproducido en todas las fibras, se preparó la eliminación de la sericina de la sutura de seda (4-0) marca Ethicon con el propósito de acrecentar la adhesión de los materiales antimicrobianos, fue desgomada en una solución de NaOH al 10% (10 g de NaOH, 90 mL de H₂O) a temperatura ambiente con ayuda de un agitador magnético por un periodo de 10 min., posteriormente se lavaron las suturas con H₂O destilada dentro de una tina ultrasónica (Branson 2510) durante 5 min.

4.7.2 PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN POLIELECTROLÍTICA PDADMAC

Para mejorar la biocompatibilidad de la sutura, se optó por realizar una solución polielectrolítica mezclando 0.010 M de PDADMAC con 0.1 M de NaCl en 0.5 mL de H₂O destilada por 0.5 mL de solución; después la mezcla se colocó en la tina ultrasónica (Brason 2510) por 10 min. Para obtener una consistencia homogénea.

4.7.3 FUNCIONALIZACIÓN POR MÉTODO DE CAPA POR CAPA (SOLUCIÓN POLIELECTROLÍTICA/NPs METÁLICAS) EN SUSTRATO (SUTURA)

La modificación de la superficie de la sutura de seda desgomada añadiendo PDADMAC y los distintos tipos de NPs metálicas (AuNPs, TiO₂NPs [c] y TiO₂NPs [e]), previamente caracterizadas en TEM, se realizó por el mismo método de dispersión “LbL” capa por capa, como tal, el sustrato (Sutura de seda (4-0) desgomada, de 3 cm de largo) fue sumergido secuencialmente, primero durante 5 min en la solución polielectrolítica, seguido de un lavado con H₂O destilada por 5 min dentro de una tina ultrasónica (Branson 2510) con el fin de eliminar el material no unido y evitar la contaminación del coloide subsiguiente cargado opuestamente. Después se depositó una segunda capa en la sutura lavada, la cual fue sumergida en una solución de NPs metálicas a diferentes concentraciones (**Tabla 4**) conforme a cada NP en un volumen de 0.5 mL, respectivamente en cada ciclo para los grupos definidos, la fibra fue introducida en la solución de NPs durante 5 min y lavada una vez más con H₂O destilada por 5 min.

El método da como resultado una estructura de bicapa compuesta por PDADMAC y NPs metálicas, con el fin de formar una estructura multicapa; de esta manera la producción e inmovilización de la capa polielectrolítica y antimicrobiana es beneficiada por la interacción electroestática de los productos y/o las interacciones hidrofóbicas, al producirse una inversión de carga en cada capa, se permite la deposición de las siguientes n cantidad de veces²⁸ (**Figura 7**). El proceso de deposición fue repetido hasta obtener 10 bicapas depositadas en el sustrato, por último las muestras fueron secadas con nitrógeno y almacenadas en un portaobjetos seco, para que posteriormente fuera observada su morfología en microscopía electrónica para su caracterización.

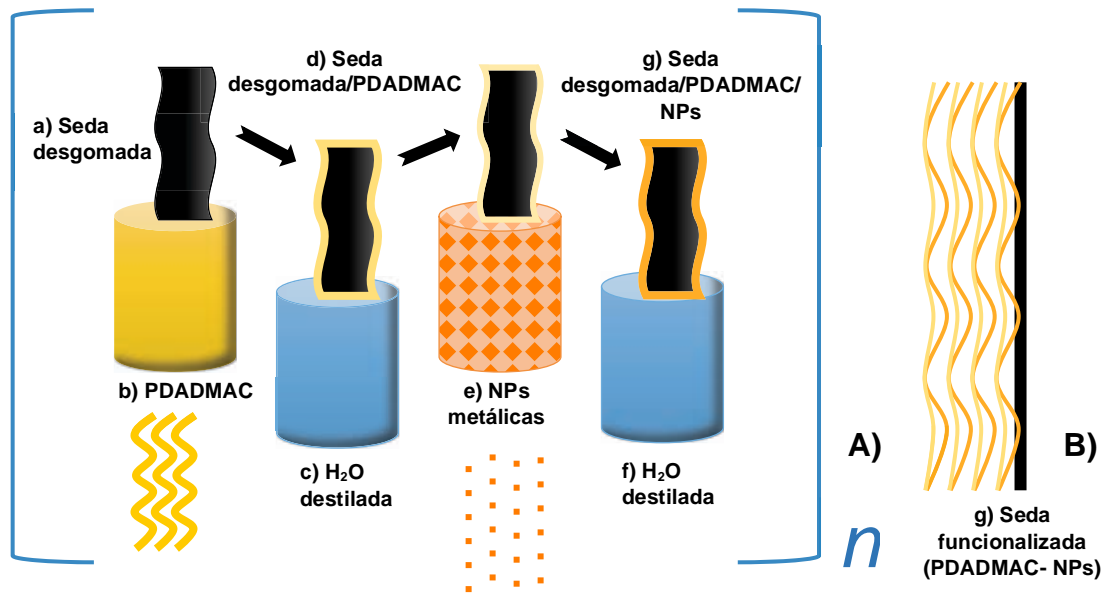


Figura 7. Ilustración esquemática de la adsorción alternada de polielectrolitos para producir una estructura multicapa. A) El proceso se repite n veces para producir B) la construcción multicapa, donde a) es la sutura de seda desgomada (b) PDADMAC, (c) H₂O destilada, d) Seda desgomada/PDADMAC, (e) las NPs metálicas, f) H₂O destilada y g) la sutura de seda funcionalizada. Fuente: Directa.

4.7.4 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA

Inicialmente los grupos de suturas sin PDADMAC y con PDADMAC (suturas funcionalizadas) se observaron en un estereoscopio de fluorescencia marca Leica MC 170 HD en una ampliación de 6.3x del Laboratorio de Investigación Interdisciplinaria de la ENES Unidad León de la UNAM, para valorar el cambio en su morfología, recaudando información visual tridimensional de cada una de las superficies de las suturas; del total de fibras observadas se eliminaron del proyecto aquellas que presentaron daño de la estructura trenzada en los hilos.

Ulteriormente con el fin de conocer los cambios en la morfología de las suturas y la presencia de iones metálicos adheridos a su superficie, se realizó la toma de micrografías con microscopio electrónico de barrido (SEM) marca Hitachi TM 1000, utilizando un voltaje de aceleración de 15 kV a diversas escalas de aquellas suturas que mejor morfología presentaron anteriormente en las imágenes observadas en el estereoscopio. Durante la caracterización de SEM se realizó la espectroscopía de energía dispersiva (EDS) con un detector marca Oxford para el análisis cuantitativo de los elementos presentes de la muestra. Ambos procedimientos, fueron realizados en el Centro de Geociencias de la UNAM.

?

Los pasos del proceso de funcionalización, caracterización de las suturas de seda seguidos en el trabajo de investigación, se colocaron de manera resumida en un diagrama de flujo expuesto en la **Figura 8**; se interpreta el número de suturas funcionalizadas y el número para el grupo sin PDADMAC, aquellas que fueron observadas mediante el estereoscopio, las que fueron analizadas por SEM/EDS.

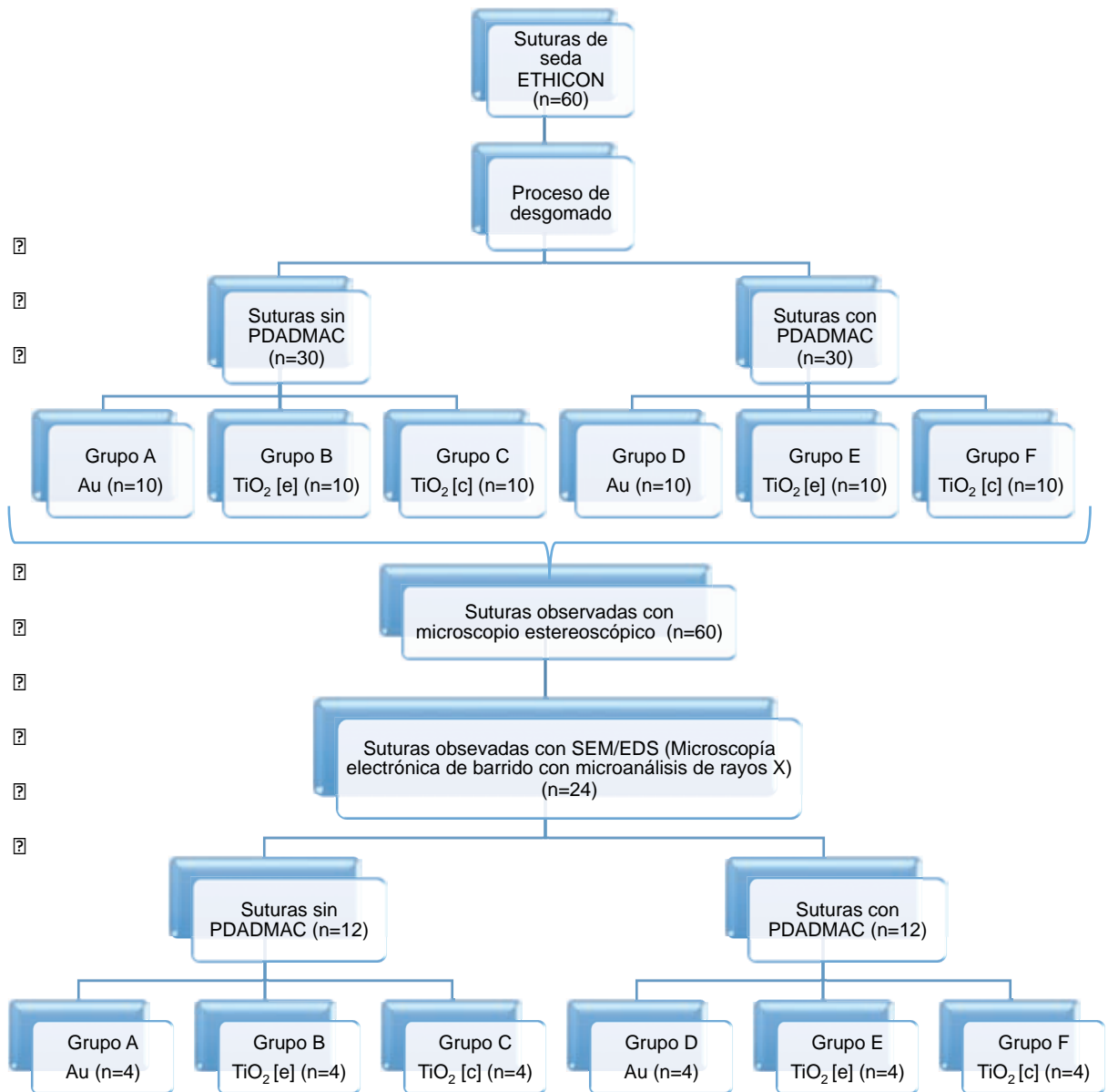


Figura 8. Diagrama de flujo del diseño experimental en el trabajo de investigación. Fuente: Directa.

?

Además para contar con un progreso perceptible durante el proceso de caracterización morfológica y química, los grupos de suturas fueron divididos como se explicó anteriormente, un grupo sin PDADMAC con las suturas recubiertas solamente con NPs metálicas de oro y de dióxido de titanio y uno funcionalizado al que pertenecen aquellas fibras de seda recubiertas con PDADMAC y las NPs metálicas. Enlazado a estos 2 grupos, se le asignó un código a cada sutura estudiada para un mejor entendimiento, como se muestra en las **Tablas 5 y 6**.

Tabla 5. Suturas de seda sin PDADMAC para análisis en SEM/EDS

GRUPO SIN PDADMAC		
GRUPO A Seda AuNPs	GRUPO B Seda TiO ₂ NPs [e]	GRUPO C Seda TiO ₂ NPs [c]
A1	B1	C1
A2	B2	C2
A3	B3	C3
A4	B4	C4

Tabla 6. Grupo funcionalizado de suturas para el análisis en SEM/EDS

GRUPO FUNCIONALIZADO		
GRUPO D Seda PDADMAC/AuNPs	GRUPO E Seda PDADMAC/TiO ₂ NPs [e]	GRUPO F Seda PDADMAC/TiO ₂ NPs [c]
D1	E1	F1
D2	E2	F2
D3	E3	F3
D4	E4	F4

4.7.5 ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

La evaluación antimicrobiana se llevó a cabo mediante un protocolo de difusión en disco basado en el Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana (Marie B. Coyle, de la Sociedad Americana de Microbiología) contra cepas certificadas *E. coli* y *S. aureus*, donde se inocularon cajas Petri con agar Mueller Hinton. El inóculo se realizó tomando con hisopos estériles colonias de bacterias de las soluciones previamente ajustadas (Estándar de McFarland al 0.5). Se inoculó completamente la superficie del agar a cada caja de cepa en evaluación y se colocaron uniformemente cuatro hilos de suturas (tamaño de 6 mm de longitud) según al grupo perteneciente (Sin PDADMAC o funcionalizado), además se colocó el control (C, sutura desgomada) del mismo tamaño de las

suturas recubiertas. La evaluación se realizó por triplicado de cada uno de los grupos de fibras. Después de la incubación a 37°C durante 12 h, se capturaron las imágenes de las cajas de agar y se evaluaron los posibles efectos antimicrobianos de las muestras basándose en los halos de inhibición bacteriana. (Revisar Figura 9)

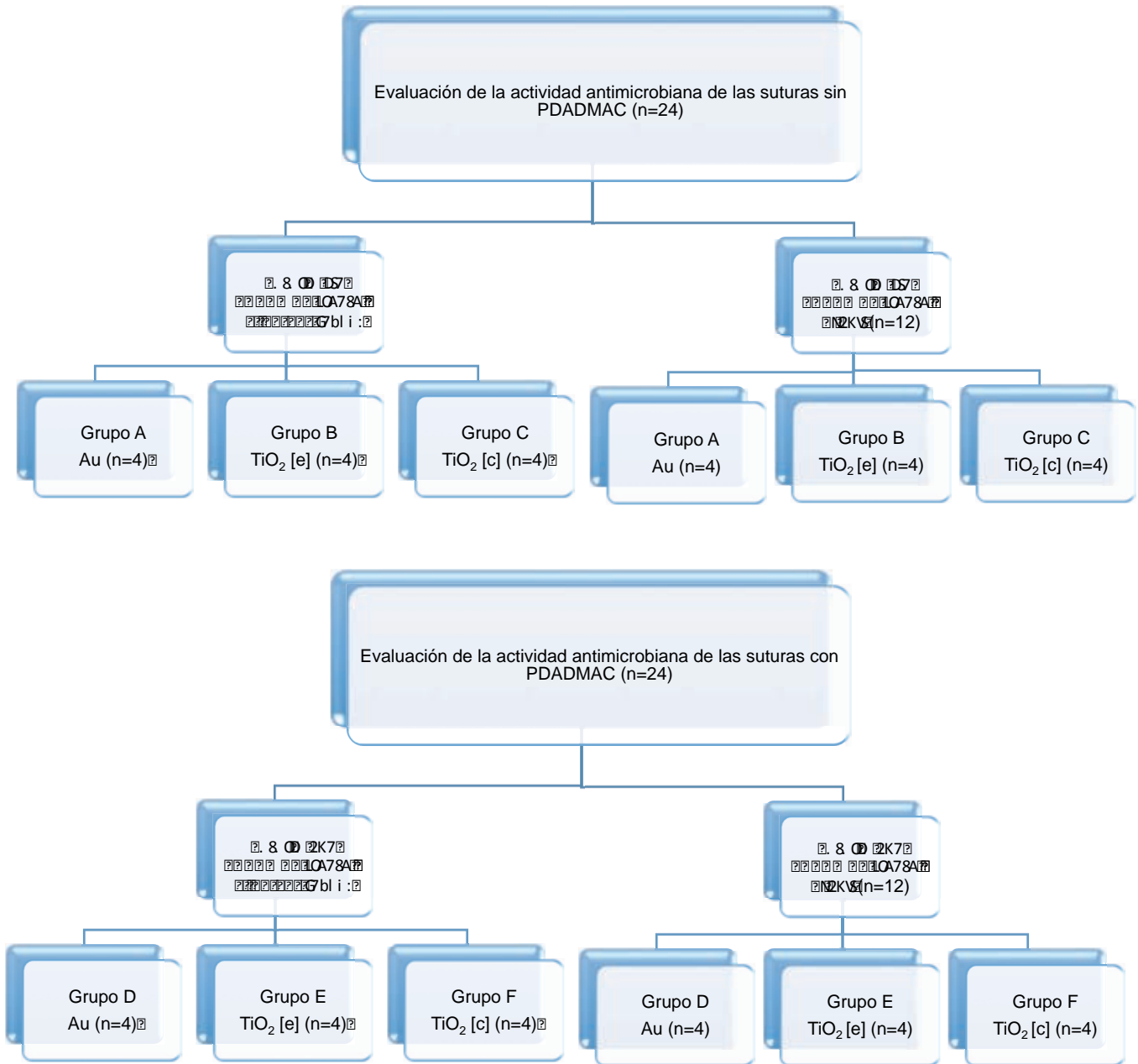


Figura 9. Diagrama de flujo del diseño experimental en el trabajo de investigación para la evaluación antimicrobiana de suturas con y sin PDADMAC. Fuente: Directa.

Capítulo 5

5.1 RESULTADOS

5.1.1 MORFOLOGÍA Y DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS POR TEM

Con el fin de conocer el tamaño de nanopartícula de cada uno de los metales, su forma y distribución, se colocó una gota de una dispersión de NPs de Au, TiO₂ [e] y TiO₂ [c] sobre una rejilla de Cu para su observación en un microscopio electrónico de transmisión (TEM) marca JEOL JEM-1010 utilizando un voltaje de aceleración de 80 kV a distintas magnificaciones, tomándose imágenes con electrones transmitidos y difractados. La determinación de tamaño de cada NP se realizó en el programa ImageJ en nanómetros, analizando cuatro imágenes (350 partículas aproximadamente de Au y TiO₂ [c] y 600 partículas en TiO₂ [c]) para posteriormente realizar el histograma de los resultados en OriginLab donde se observan las distribuciones de frecuencias en rectángulos dentro de las coordenadas.

Las partículas nanométricas de Au interpretadas por las zonas electrodensas exhiben forma esferoidal, buena distribución y homogeneidad, su histograma muestra un tamaño de aproximadamente 9.5 ± 1.5 nm; 0.5 nm de menor tamaño a lo que refiere la casa comercial Sigma-Aldrich (10 nm) (**Figura 10**).

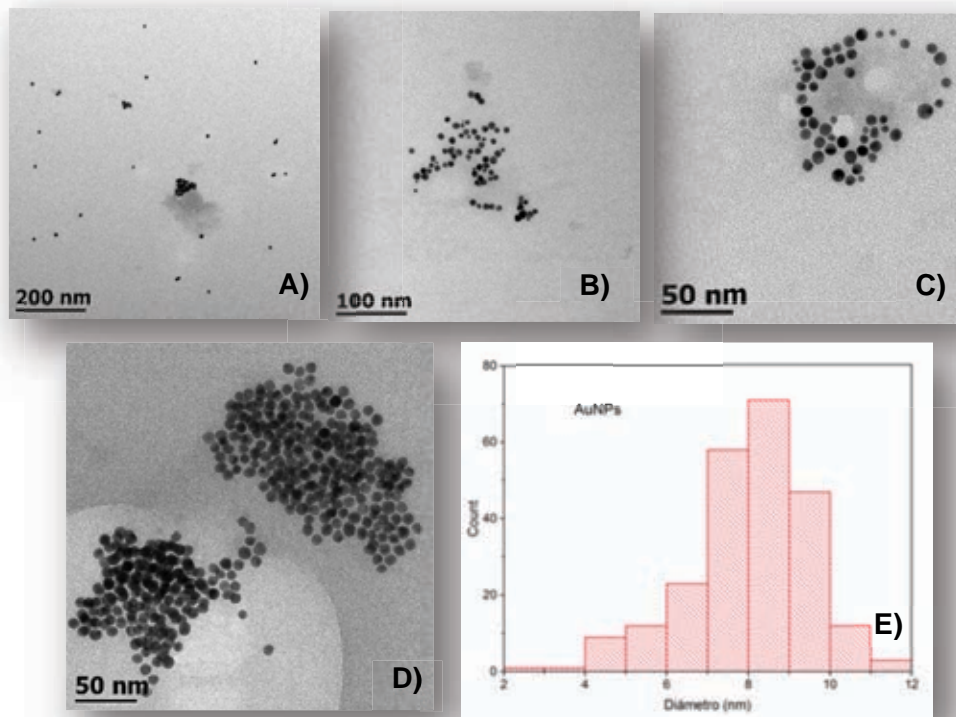


Figura 10. A), B), C) y D) Micrografías de TEM de NPs de Au a diferentes magnificaciones. E) Histograma de tamaño de nanopartícula de Au. Fuente: Directa.

Referente a la morfología de las muestras de nanopartículas de TiO_2 [e] observada en TEM (**Figura 11**), éstas presentan forma esférica de tamaño pequeño en el orden de los nanómetros, las cuales tienden a aglomerarse, además su histograma refiere un promedio de 5.5 ± 2.16 nm aproximadamente.

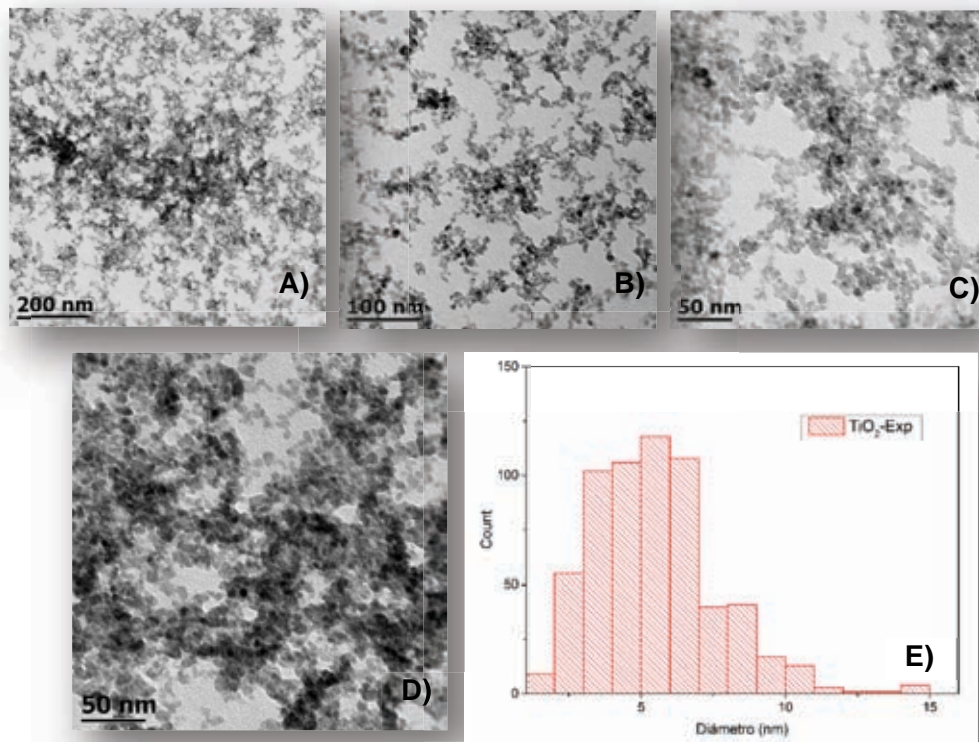


Figura 11. A), B), C) y D) Micrografías de TEM de NPs de TiO_2 [e] a diferentes magnificaciones. E) Histograma de tamaño de nanopartícula de TiO_2 [e]. Fuente: Directa.

Por otro lado, las NPs del mismo metal (TiO_2) pero adquiridas en Sigma-Aldrich (**Figura 12**) presentan forma cúbica, permiten mayor apreciación debido a su tamaño promedio de aproximadamente 22.8 ± 5.86 nm, coincidiendo con lo que describe la casa comercial (25 nm), sin embargo se observan zonas de mayor aglomeración en contraposición con las NPs anteriores.

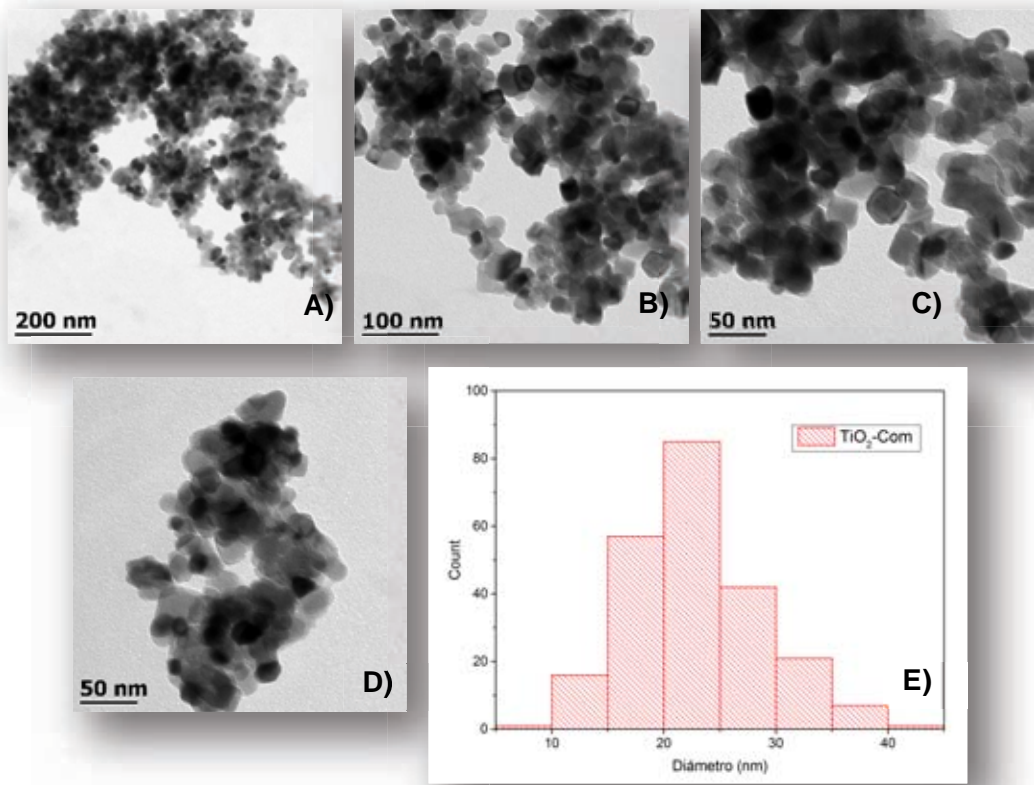


Figura 12. A), B), C) y D) Micrografías de TEM de NPs de TiO₂[C] a diferentes magnificaciones E) Histograma de tamaño de nanopartícula de TiO₂[C]. Fuente: Directa.

5.1.2 CARACTERIZACIÓN DE SUTURAS DE SEDA POR ESTEREOSCOPIO

Para el proceso de caracterización de los hilos de sutura se optó también por dividir las muestras en dos grupos (Grupo sin PDADMAC (n=30) y Grupo funcionalizado (n=30)) al igual que en el proceso de recubrimiento con los distintos nanomateriales; los grupos de suturas fueron observados en un estereoscopio marca Leica MC 170 HD del Laboratorio de Investigación Interdisciplinaria de la ENES Unidad León de la UNAM para valorar el cambio en su morfología y la posible adhesión de las NPs en la superficie del mismo sustrato. En las imágenes obtenidas del estereoscopio a una amplificación de 6.3x se observaron cambios en el color y en la superficie de las suturas revestidas en comparación con la simple sutura desgomada (**Figura 13**). Las suturas con AuNPs o PDADMAC/AuNPs exhiben un color de reflejos anaranjados, en cambio las fibras con TiO₂NPs [e] tienen un color azulado, aun cuando se les añada PDADMAC; incluso las suturas recubiertas con TiO₂NPs [c] con o sin colocación de PDADMAC. Las fibras de ambos grupos mostraron un cambio en su coloración y la presencia de partículas no pertenecientes a la superficie del sustrato, aludiendo con mayor certeza las NPs de TiO₂ [c] se encuentran en la seda (**Figura 14 y 15**).

Por otro lado, algunas fibras presentaron daño en los hilos y éstas fueron descartadas del grupo de muestras, por lo cual el grupo de suturas seleccionadas para ser observadas en SEM/EDS (Microscopía Electrónica de Barrido con Espectroscopía de Energía Dispersiva) fue reducido a n=4 muestras por grupo.



Figura 13. Imagen en estereoscopio de la sutura de seda desgomada en una amplificación de 6.3x. Fuente: Directa.

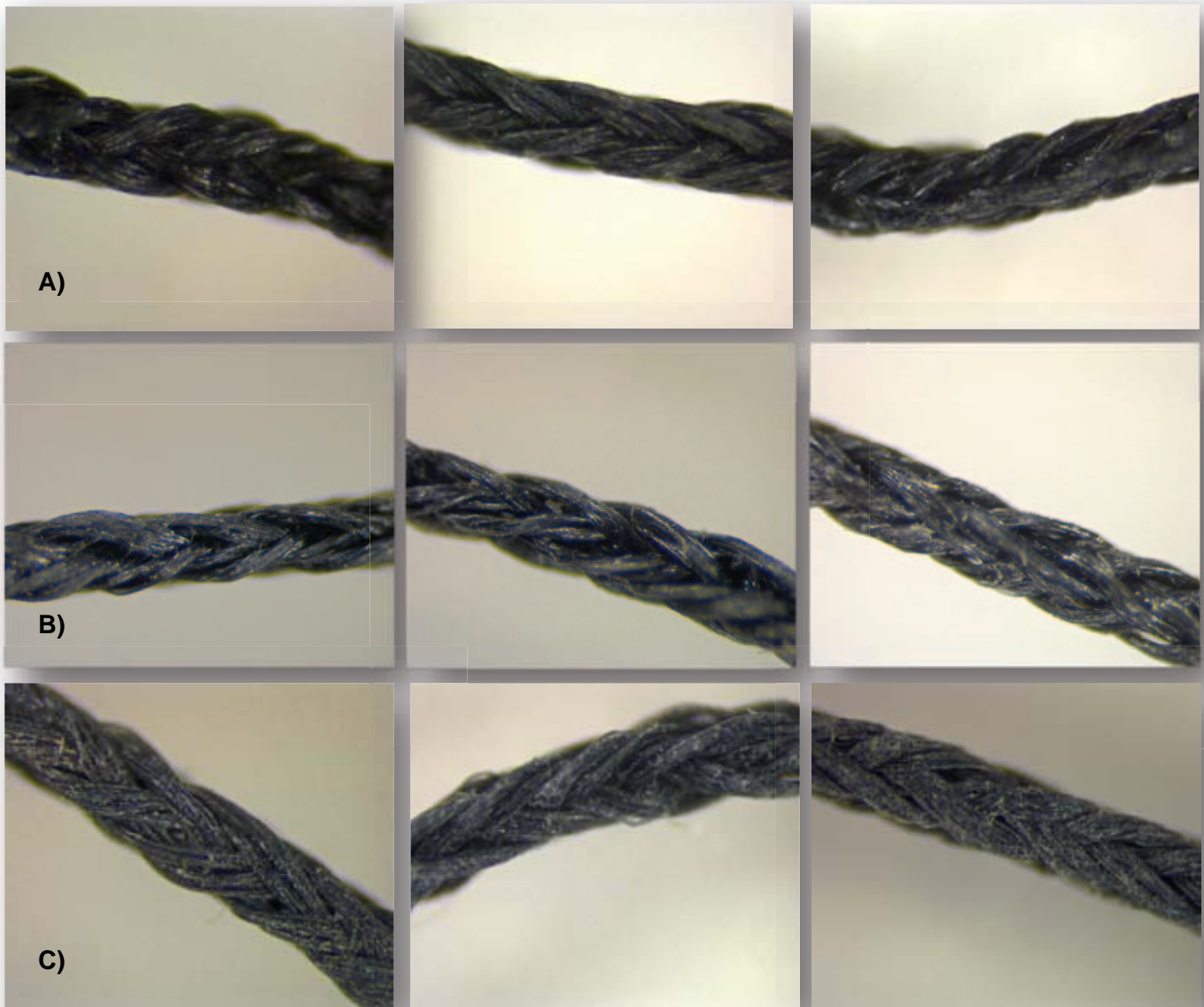


Figura 14. Imágenes de estereoscopia en una amplificación de 6.3x de A) Suturas de seda cubiertas con AuNPs, B) Suturas de seda cubiertas con TiO₂NPs [e] y C) Suturas de seda cubiertas con TiO₂NPs [c]. Fuente: Directa.

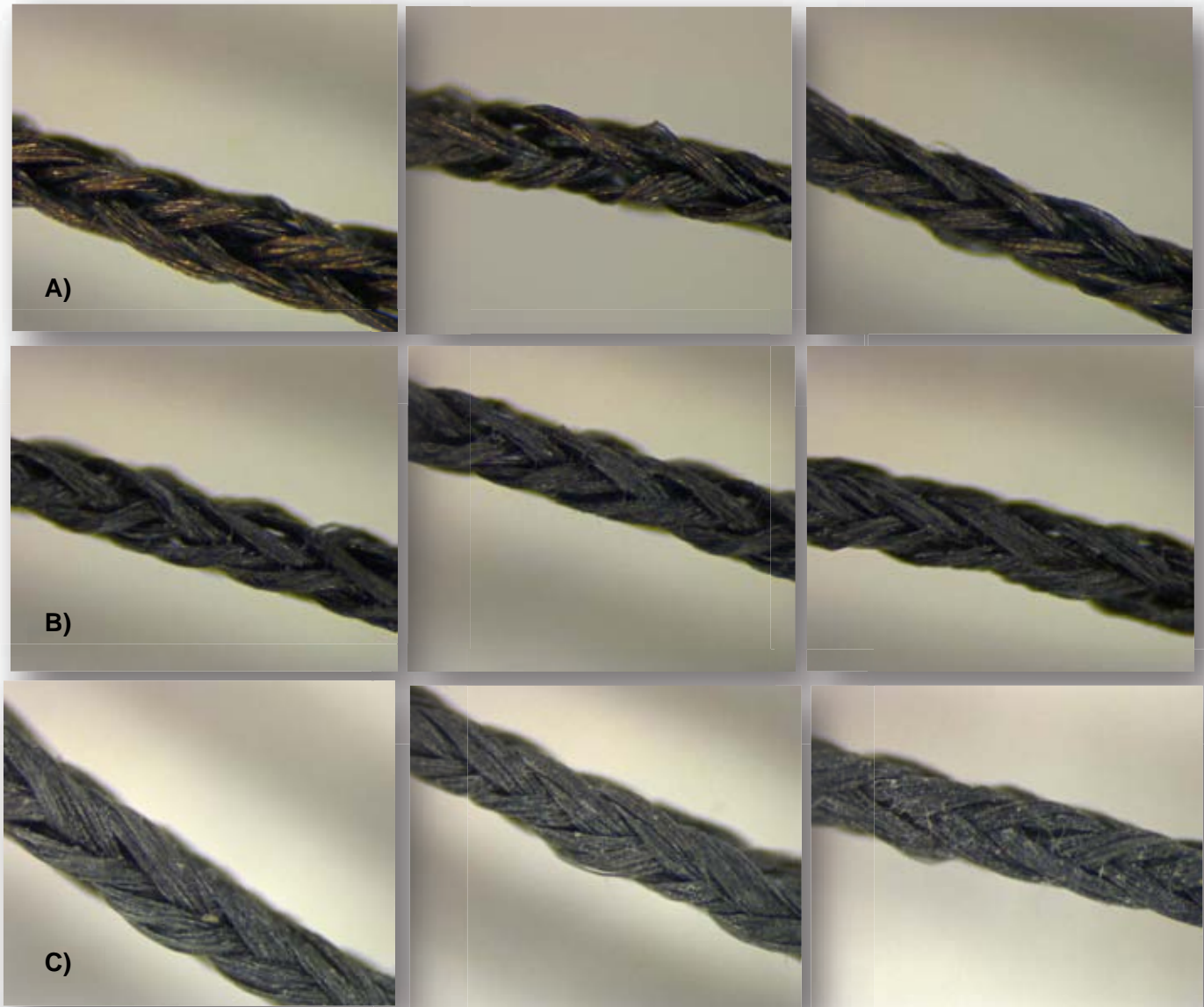


Figura 15. Imágenes de estereoscopio en una amplificación de 6.3x de A) Suturas de seda cubiertas con PDADMAC/AuNPs, B) Suturas de seda cubiertas con PDADMAC/TiO₂NPs [e], C) Suturas de seda cubiertas con PDADMAC/TiO₂NPs[c]. Fuente: Directa.

5.1.3 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y ELEMENTAL DE SUTURAS DE SEDA POR SEM/EDS

Con el fin de elaborar la caracterización morfológica y elemental de las fibras y de realizar una comparación entre las suturas sin PDADMAC y las funcionalizadas con 10 bicapas de películas (NPs metálicas/ PDADMAC-NPs metálicas), se seleccionaron aquellas que exhibieron una mayor cantidad de partículas en su superficie frente al Estereoscopio para que fueran analizadas en el Microscopio de Barrido Electrónico (SEM) de marca Hitachi TM 1000, en el Centro de Geociencias de la UNAM, utilizando un voltaje de 15 kV de aceleración a diversas magnificaciones, obteniendo micrografías de la superficie de los hilos. Simultáneamente durante el análisis de las imágenes en SEM de las fibras se realizó el análisis EDS para identificar y cuantificar los elementos presentes en la superficie de la seda sin PDADAC y funcionalizada distintos a los componentes elementales (Carbono, oxígeno, hidrógeno y nitrógeno) de la fibra.

Inicialmente para conocer los cambios morfológicos y los elementos presentes en la sutura comercial al ser expuesta al desgomado y al recubrimiento con 10 capas de PDADMAC, se analizaron las micrografías de estas fibras y se realizó el análisis por EDS de manera puntual en cada una de las suturas. En la **Figura 16**, se observan las micrografías de la superficie de las fibras mencionadas anteriormente, se distingue la presencia de partículas en el trenzado de las suturas, las cuales pueden ser pertenecientes desde un inicio de la composición de la sutura de seda Ethicon® o simplemente se deban a la contaminación al momento de manipular la fibra. Para corroborar la existencia de la modificación en los elementos de la superficie de la seda al ser tratada con NaOH y PDADMAC se realizó el análisis EDS y los datos obtenidos fueron organizados en la **Tabla 7**, se refiere principalmente la presencia de cromo (Cr) y aluminio (Al) en las superficie de las muestras estudiadas, elementos asociados a la composición de las suturas en su presentación original, los cuales se muestran en una cantidad menor en suturas desgomadas y con PDADMAC debido a los lavados y recubrimientos realizados durante la funcionalización de las suturas. Por otro lado se observa en la seda con PDADMAC la presencia de cantidades considerables de cloro (Cl) y sodio (Na) en su superficie perteneciente al mismo compuesto catiónico con el que fueron recubiertas, se sabe que el PDADMAC contiene Cl en su composición y a este se le añadió Na como un agente que propiciara un recubrimiento que evitaría la aglomeración de las NPs en la superficie trenzada.

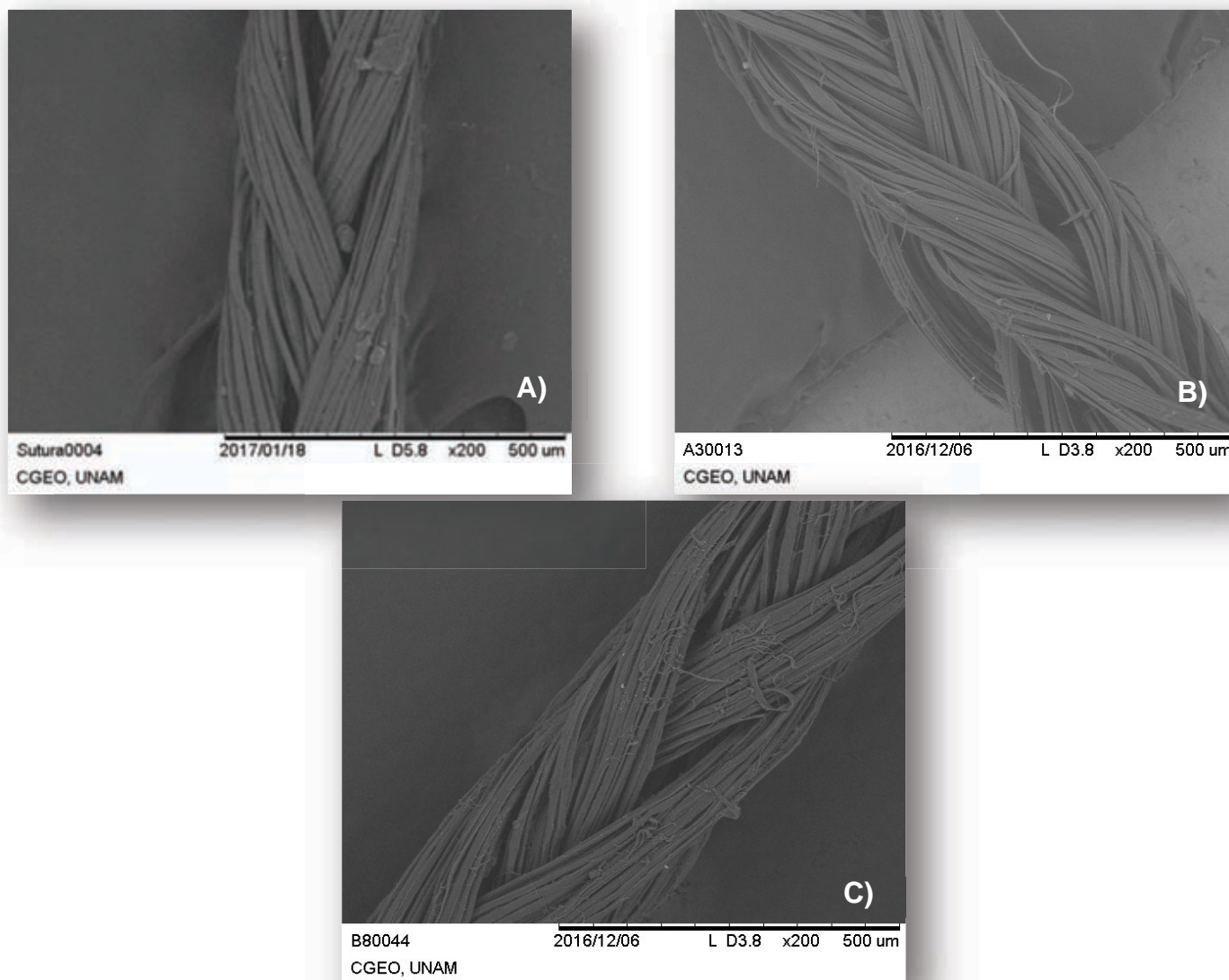


Figura 16. Micrografía SEM de A) Sutura de seda Ethicon®, B) Seda desgomada y C) Seda recubierta con PDADMAC a una magnificación de x200.

Tabla 7. Resultados del análisis EDS de la sutura de seda Ethicon®, seda desgomada y seda con PDADMAC.

CARACTERIZACIÓN ELEMENTAL (EDS)							
SUTURA	ELEMENTOS DISTRIBUIDOS EN LA FIBRA						
	Al	Cl	Cr	K	Na	Fe	Ni
Sutura seda Ethicon®	13.6	5.1	61.2	20.1			
Seda desgomada	59.2		16			13.7	11.1
Seda PDADMAC	18.3	32.42	16.38		32.9		

Después de 10 reproducciones de la deposición por LbL en cada una de las suturas, una parte de la superficie del sustrato se encuentra cubierta por la capa de NPs metálicas y de solución polielectrolítica dependiendo del grupo.

De manera particular, en el análisis SEM de las micrografías del grupo sin PDADMAC (A, B y C) y del grupo funcionalizado (E, F y G) (**Figura 17 a 22**) se reveló la naturaleza trenzada característica de la sutura de seda y la deposición de nanopartículas en la superficie de las muestras tratadas donde pueden observarse zonas con mayor contraste debido al mayor número atómico que tienen los elementos (Au/Ti) presentes en la superficie de la fibra, además estas características de las imágenes coinciden con los datos analizados en el estudio EDS referentes a los elementos presentes en las suturas con una relación de masa atómica, estos espectros muestran entonces el ion metálico utilizado, indicando así la existencia de AuNPs y de TiO₂NPs sobre la seda modificada.

Al analizar las micrografías en SEM de cada grupo y ordenar los resultados EDS de los elementos metálicos Au y Ti (**Tabla 8 a 13**), se pueden discutir inicialmente por separado los hallazgos encontrados en el grupo sin PDADMAC y en el funcionalizado, para posteriormente interpretar las posibles diferencias que existen entre estos al añadir PDADMAC en el segundo grupo.

En un inicio las suturas del GRUPO A, recubiertas con AuNPs, presentan en su superficie áreas mínimas de brillo relacionadas con partículas no pertenecientes a las que conforman la seda (**Figura 17**), por lo que el EDS reporta un promedio de 66.7 ± 11.05 para el ion Au en una relación de peso dentro de los elementos que constituyen estas fibras modificadas (**Tabla 8**), deduciendo que la cantidad de oro en la fibra es mínima y por lo cual son registrados también los distintos elementos que cubren la fibra como Al y Cr. Por otra parte, el GRUPO B de suturas recubiertas con TiO₂NPs [e] exhiben en las micrografías la apariencia de zonas electrodensas, similares a un revestimiento de mayor área en la superficie del sustrato (**Figura 18**) haciendo una comparación con las del GRUPO A, además afirman la presencia de NPs al instante de calcular 49 ± 7.6 % para el ion Ti [e] en la estructura de estas suturas analizadas (**Tabla 9**); en este punto cabe mencionar la relación que presentan las NPs en los recubrimientos analizados y sus características reportadas anteriormente en el estudio TEM, principalmente se observa la correlación en las del segundo grupo donde las TiO₂NPs [e] presentan dispersión en las micrografías, su tamaño es el más pequeño de las tres NPs y sus aglomeraciones son mínimas, distinguiendo cada una de las partículas, en las fibras de seda las NPs no se observan separadas ni en forma de aglomeración, su agrupación se muestra como una capa que recubre la sutura.

Las fibras con mayor adherencia y presencia de NPs del grupo sin PDADMAC fueron aquellas funcionalizadas con TiO₂NPs [c], en donde para las suturas que corresponden al GRUPO C se calcula un valor de 83.1 ± 4.6 % en relación de masas atómicas para el metal Ti dentro de los elementos presentes en la sutura (**Tabla 10**), esto relacionado a que se distingue en la superficie de la sutura un recubrimiento completo a lo largo de toda la sutura de seda por partículas con mayor contraste y de gran tamaño (**Figura 19**), este último enlazado con los datos obtenidos en

TEM sobre las nanopartículas comerciales de dióxido de titanio, que presentan el más grande de los tamaños (22.8 ± 5.86 nm) y una distinguida aglomeración; además al igual que en el caso de las suturas con AuNPs, en los espectros de las suturas con ambos tipos de TiO₂NPs se registra la presencia de Al y Cr pues no está recubierta en su totalidad la fibra por las partículas de Ti, sin embargo la detección de los dos elementos es menor en las suturas con TiO₂NPs [c], debido a que gran cantidad de éstas se encuentran distribuidas homogéneamente en la seda.

Por otra parte, en los grupos funcionalizados se observan diferencias en la forma en que se adhieren las partículas a la sutura, primero al momento de estudiar las muestras del GRUPO D sucede que los iones de las NPs de oro se unen en menor cantidad a la sutura cuando a ésta se le agrega PDADMAC, los resultados EDS exponen un valor de 50.5 ± 3.2 para Au (**Tabla 11**) y consiguiendo registrar Cl entre los elementos presentes, este evidentemente perteneciente al PDADMAC, los datos EDS se encuentran aunados a lo observado en las micrografía del grupo, donde se muestra una adhesión mínima de las AuNPs a la superficie de la sutura funcionalizada, donde no se distinguen con precisión zonas de alto contraste que aseguren la unión de las partículas a la seda (**Figura 20**). Sin embargo, en la situación del GRUPO E al ser agregadas TiO₂NPs [c] con el PDADMAC, la medida del elemento Ti [e] se ve aumentada hasta cerca de un promedio de 73.9 ± 11.8 % (**Tabla 12**) en la caracterización elemental de la muestra, pero en las micrografías se observa un recubrimiento distinto al observado en el GRUPO B, la acción del PDADMAC modifica éste y las partículas no se aglomeran para realizan el revestimiento electrodenso (**Figura 21**).

Las suturas recubiertas con PDADMAC y TiO₂NPs [c] (GRUPO F) representan un valor de aproximadamente 87.6 ± 1.6 para el Ti entre la composición elemental de la fibra de seda funcionalizada (**Tabla 14**), demostrando un recubrimiento de mayor totalidad en el plano superficial del sustrato funcionalizado con la presencia de numerosas zonas electrodensas (**Figura 22**) siendo las fibras con mayor presencia de partículas.

De acuerdo a estos resultados, se entiende que en la técnica de recubrimiento LbL es indispensable el uso de soluciones concentradas, así como de distintas cargas eléctricas, los datos reportan una menor presencia de NPs de oro en la sutura, de las cuales su concentración es mínima en comparación con las de TiO₂NPs (**Tabla 4, Figura 23**).

Tabla 8. Resultados del análisis EDS de suturas de seda cubiertas con AuNPs.

GRUPO A (Seda-AuNPs)			
Espectro	ELEMENTOS DISTRIBUIDOS EN LA FIBRA (% en peso)		
	Al	Cr	Au
A1	8.3	23.2	68.5
A2	14.6	29.4	56
A3	13.2	25.8	61
A4	12.1	6.5	81.4

Tabla 9. Resultados del análisis EDS de suturas de seda cubiertas con TiO₂NPs [e].

GRUPO B (Seda-TiO₂NPs [e])			
Espectro	ELEMENTOS DISTRIBUIDOS EN LA FIBRA (% en peso)		
	Al	Cr	Ti
B1	45.7	4.8	49.5
B2	44.1		55.9
B3	45.6		52.3
B4	55.8	3.9	38.3

Tabla 10. Resultados del análisis EDS de suturas de seda cubiertas con TiO₂NPs [c].

GRUPO C (Seda-TiO₂NPs [c])			
Espectro	ELEMENTOS DISTRIBUIDOS EN LA FIBRA (% en peso)		
	Al	Cr	Ti
C1	7.6	5.3	87.2
C2	6.8	8.3	84.9
C3		16.3	83.7
C4	4.3	19.4	76.4

Tabla 11. Resultados del análisis EDS de suturas de seda funcionalizadas con PDADMAC y AuNPs.

GRUPO D – Funcionalizado (Seda-PDADMAC/AuNPs)				
Espectro	ELEMENTOS DISTRIBUIDOS EN LA FIBRA (% en peso)			
	Al	Cl	Cr	Au
D1	14.2	14.5	18.2	53.1
D2	40.5	2.3	9.3	47.9
D3	33.2	5.9	7.4	53.5
D4	36.1	3.9	12.4	47.6

Tabla 12. Resultados del análisis EDS de suturas de seda funcionalizadas con PDADMAC y TiO₂NPs [e].

GRUPO E – Funcionalizado (Seda-PDADMAC/TiO₂NPs [e])			
Espectro	ELEMENTOS DISTRIBUIDOS EN LA FIBRA (% en peso)		
	Al	Cr	Ti
E1	10.9		89.1
E2	24.1	14.8	61.1
E3	20.2	10.6	69.2
E4	11.8	12	76.2

Tabla 13. Resultados del análisis EDS de suturas de seda funcionalizadas con PDADMAC y TiO₂NPs [c].

GRUPO F – Funcionalizado (Seda-PDADMAC/TiO₂NPs [c])			
Espectro	ELEMENTOS DISTRIBUIDOS EN LA FIBRA (% en peso)		
	Al	Cr	Ti
F1	3.8	6.8	89.4
F2	11.5		88.5
F3	8.9	5.2	85.9
F4	4.1	9.1	86.8

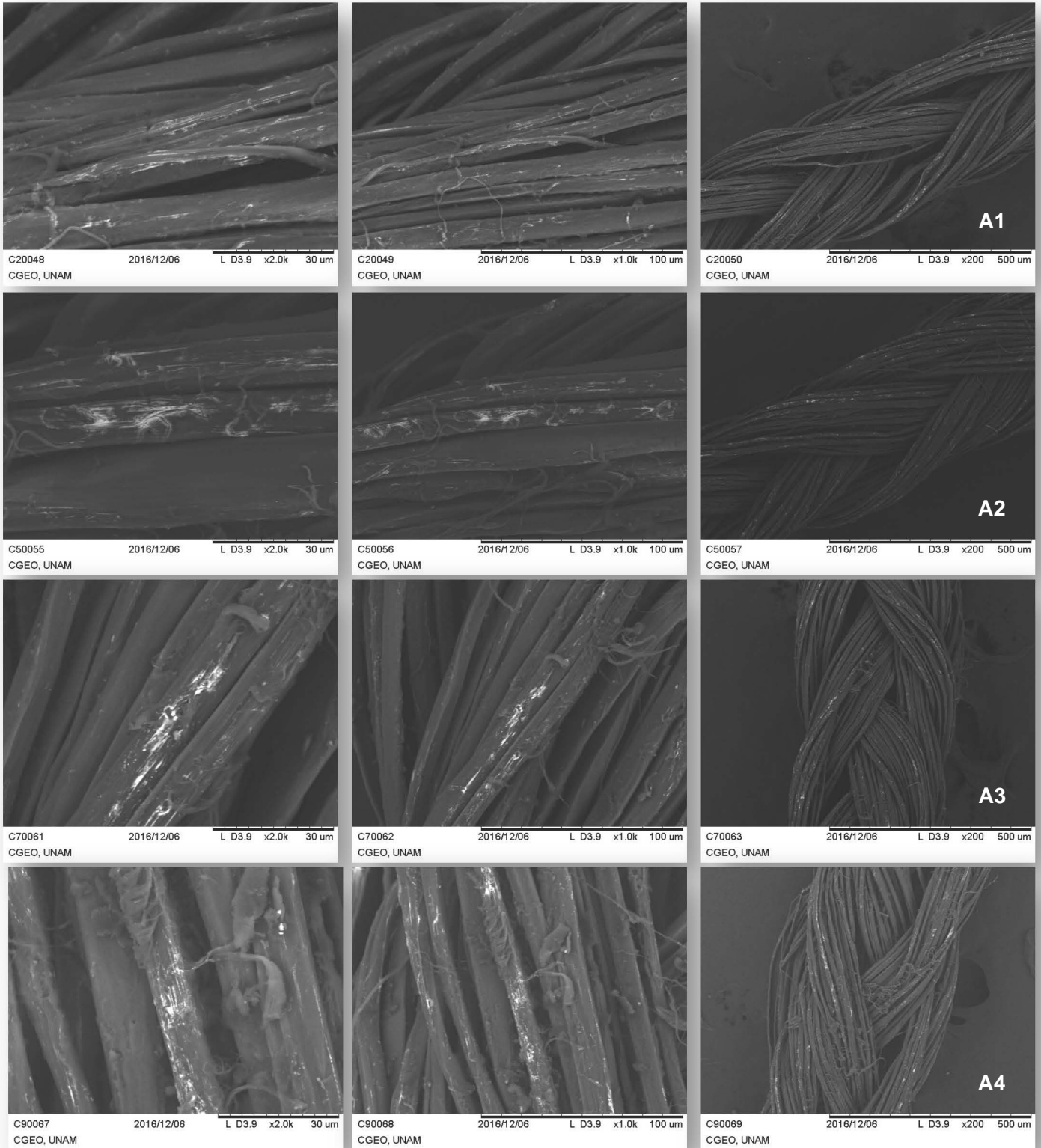


Figura 17. Micrografías SEM de suturas de seda del grupo A. (AuNPs) a diferentes ampliaciones 2000x (izquierda), 1000x (centro) y 200x (derecha). Fuente: Directa.

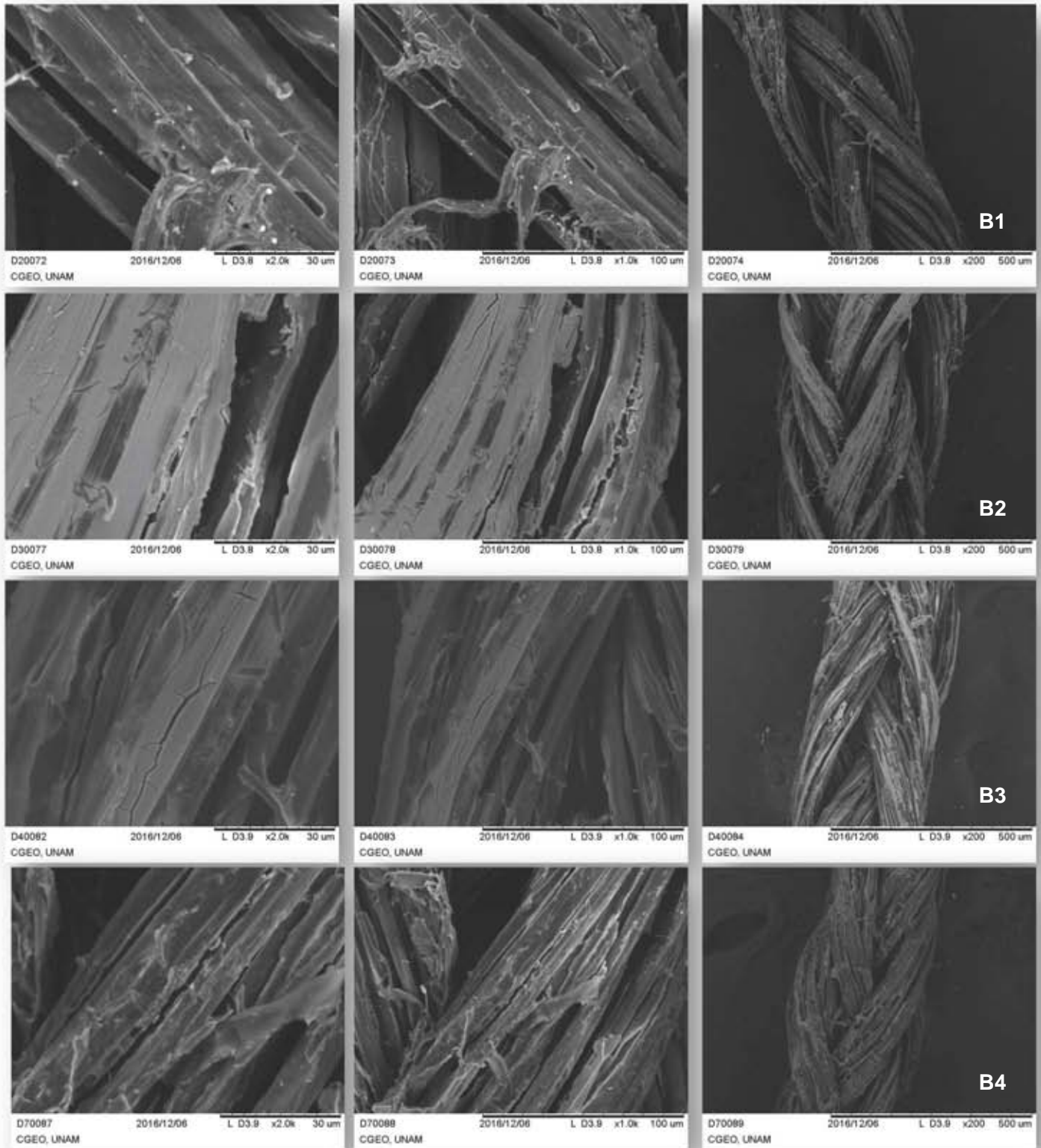


Figura 18. Micrografías SEM de suturas de seda del grupo B (TiO₂NPs [e]) a diferentes ampliaciones 2000x (izquierda), 1000x (centro) y 200x (derecha). Fuente: Directa.

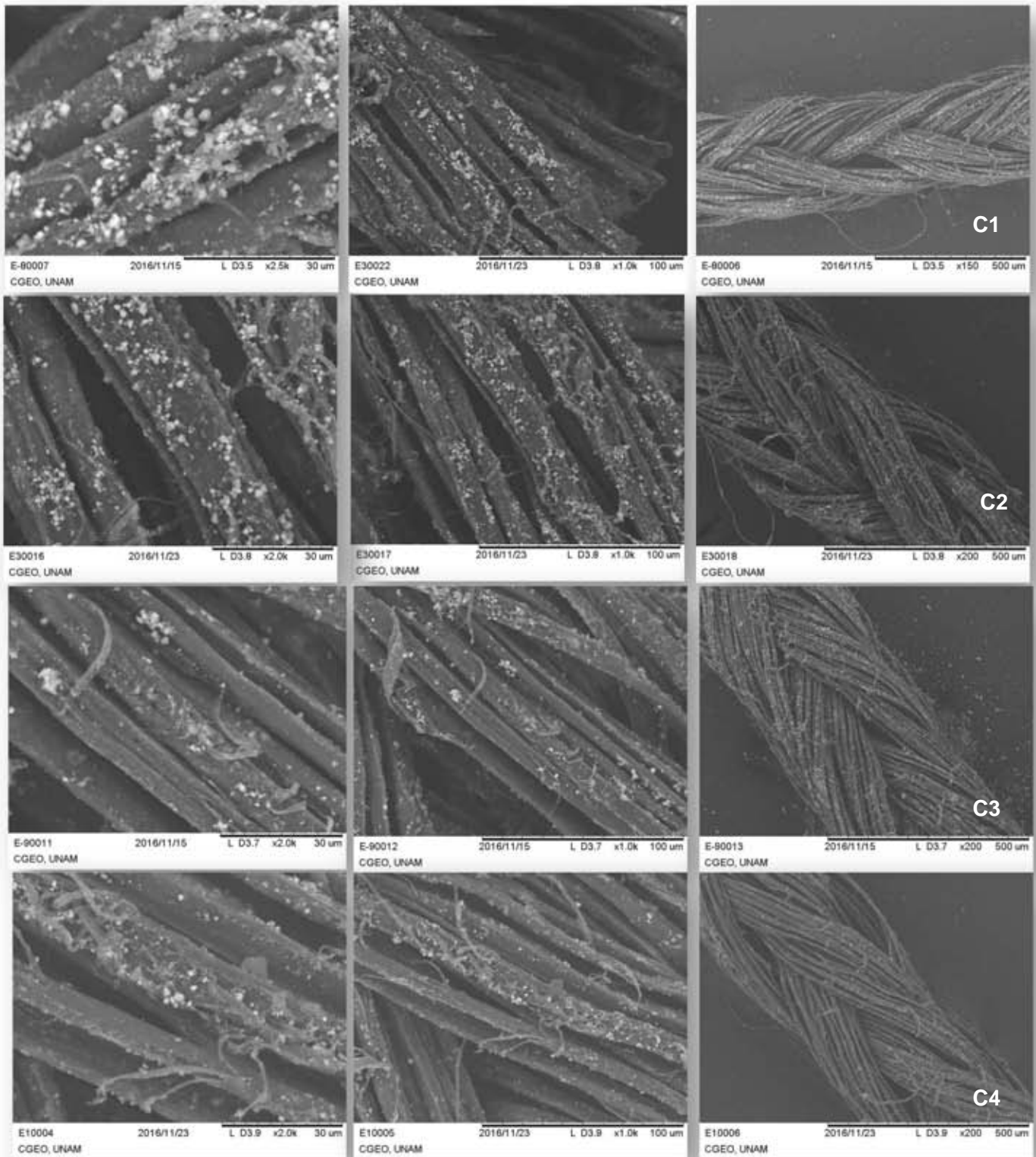


Figura 19. Micrografías SEM de suturas de seda del grupo C ($\text{TiO}_2\text{NPs[C]}$) a diferentes ampliaciones 2000x (izquierda), 1000x (centro) y 200x (derecha). Fuente: Directa.

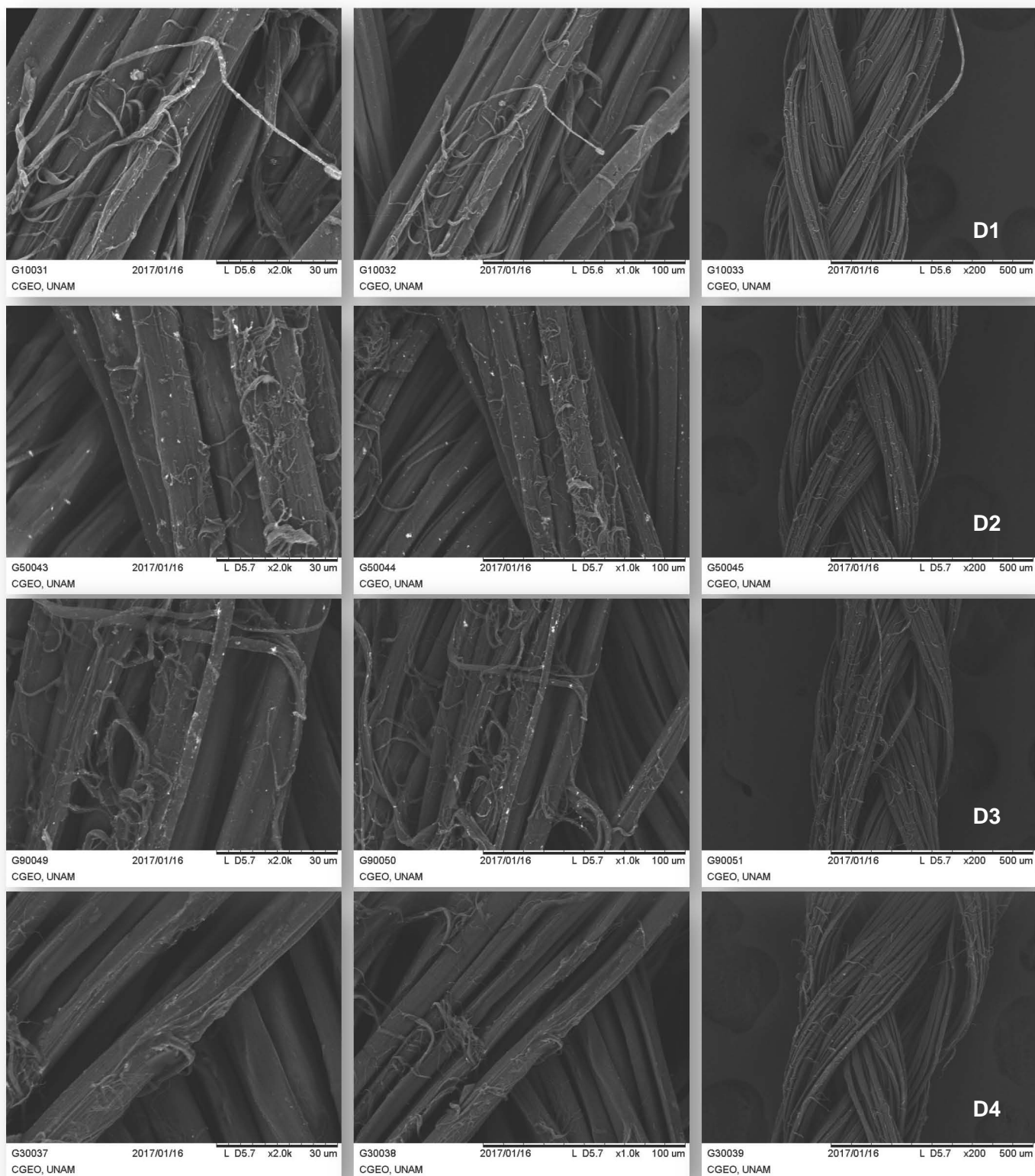


Figura 20. Micrografías SEM de suturas de seda del grupo D – Funcionalizado (PDADMAC/AuNPs) a diferentes ampliaciones 2000x (izquierda), 1000x (centro) y 200x (derecha). Fuente: Directa.

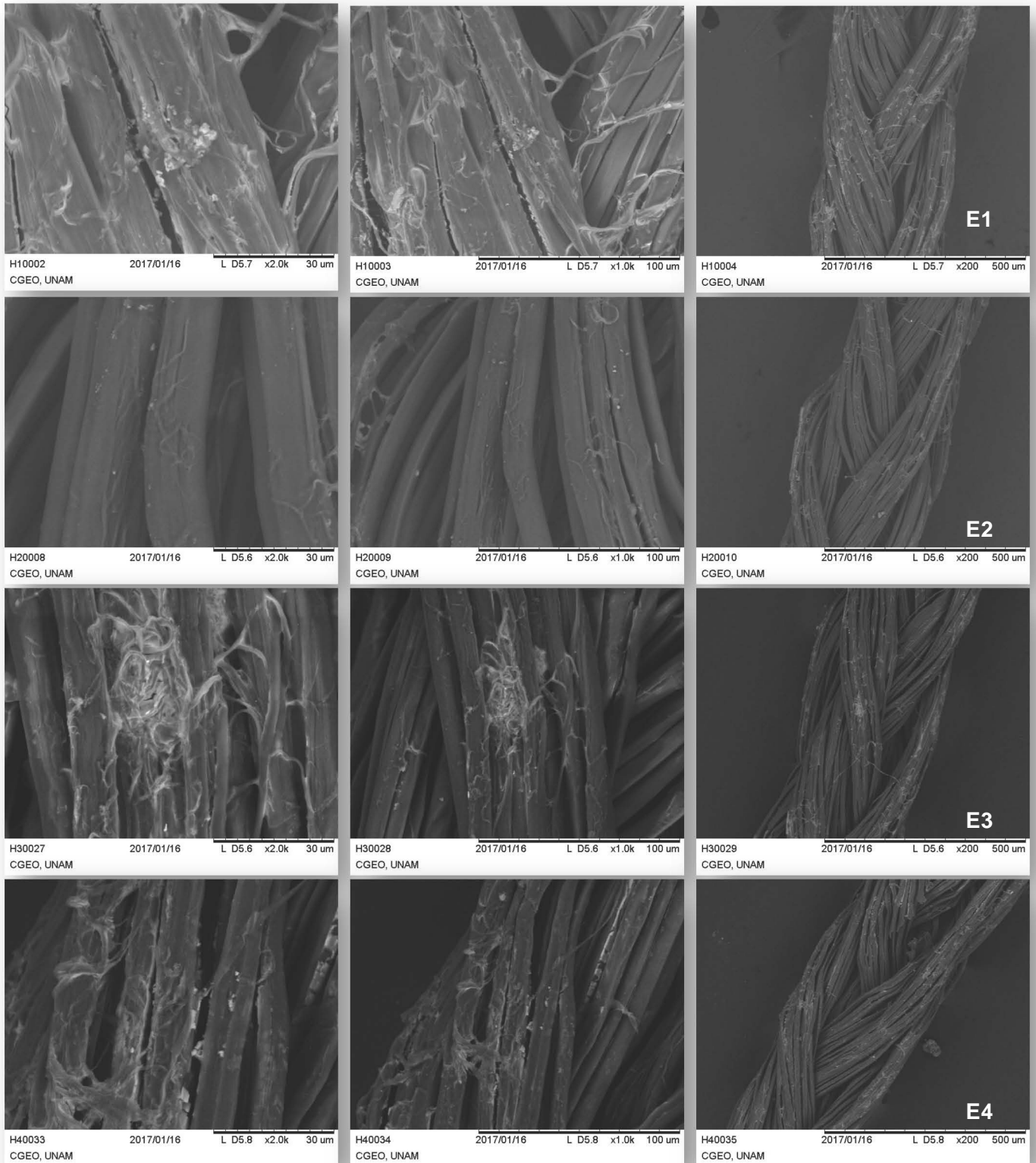


Figura 21. Micrográficas SEM de suturas de seda del grupo E – Funcionalizado (PDADMAC/TiO₂NPs [e]) a diferentes ampliaciones 2000x (izquierda), 1000x (centro) y 200x (derecha). Fuente: Directa.

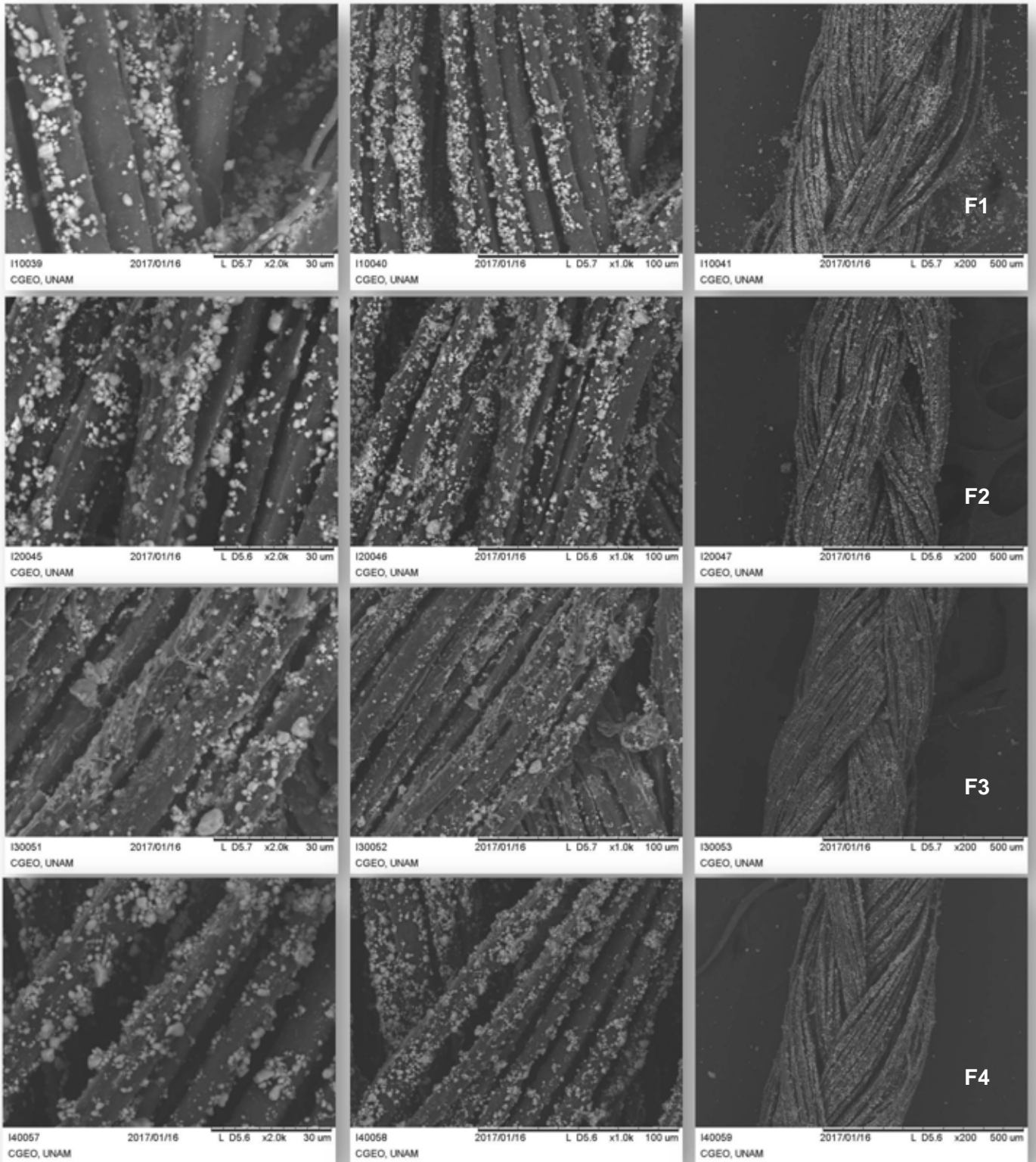


Figura 22. Micrografías SEM de suturas de seda del grupo F – Funcionalizado (PDADMAC/TiO₂NPs [c]) a diferentes ampliaciones 2000x (izquierda), 1000x (centro) y 200x (derecha). Fuente: Directa.

5.1.3.1 FUNCIONALIZACIÓN ELECTROESTÁTICA POR LBL DE SEDA CON PDADMAC Y NANOPARTÍCULAS METÁLICAS

Para realizar el recubrimiento de las suturas, el estudio fue basado en el principio del proceso “LbL” de autoensamblaje haciendo uso de los productos antes seleccionados (nanopartículas y polímero) con polaridades distintas para posteriormente ser añadidos al sustrato (seda); en donde la seda al ser un producto ionizable¹⁷ posibilita la colocación de productos con cargas distintas sobre su superficie para obtener una capa adecuadamente ensamblada.

En la **Figura 23** se muestran cargas adquiridas por el nanomaterial al este ser funcionalizado. Se dice que la mayor parte de las sedas están constituidas por la proteína fibrosa fibroína y por una proteína amorfa viscosa llamada sericina, que desempeña el papel de cementación.¹⁷ La fibroína de la seda está formada por cadenas con plegamiento β antiparalelo, en el cual las cadenas se extienden paralelamente al eje de la fibra. Los estudios muestran que grandes extensiones de la cadena están constituidas por seis aminoácidos que se repiten.¹⁷ se sabe que el PDADMAC es un polímero catiónico ligante y que los metales Au y Ti utilizados en el recubrimiento tienen carga aniónica, aunque las NPs de oro al ser comerciales se encuentran estabilizadas en una solución de citrato; como resultado se muestra ventajosa la interacción electroestática entre las especies de carga opuesta, donde las NPs negativas se adhirieron sobre la sutura con la película catiónica de PDADMAC. Sin embargo, la literatura reporta que soluciones concentradas son necesarias para prevenir el agotamiento de coloides en el sustrato durante el proceso LbL y lograr la adsorción con éxito (**Revisar Tabla 4**).

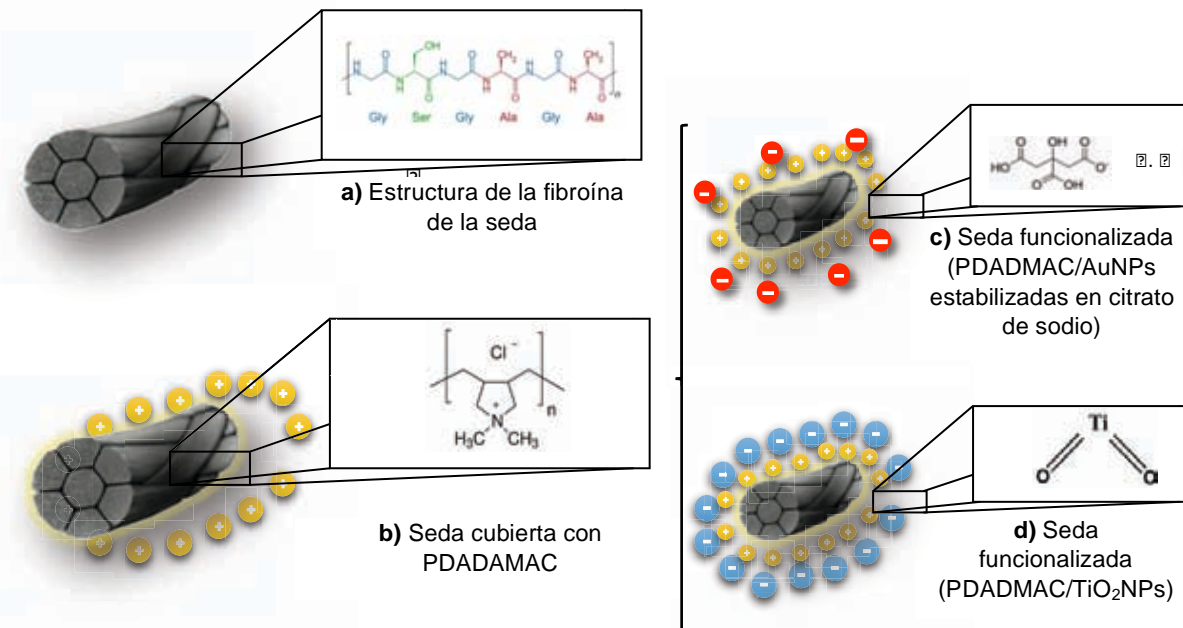


Figura 23. Ilustración sobre la interacción electroestática entre las especies de cargas distintas entre NPs y PDADMAC. **a)** La estructura de seda ionizable, con carga negativa preferentemente, **b)** es cubierta con la solución catiónica de PDADMAC, en el proceso LbL se añaden NPs de cargas distintas entre ellas, **c)** las NPs de oro con citrato se unen en menor cantidad a la sutura y **d)** las NPs de dióxido de titanio se autoensamblan en la película de PDADMAC debido a su concentración. Fuente: Directa.

5.1.4 ANÁLISIS DEL GROSOR DE LAS SUTURAS FUNCIONALIZADAS

Adicionalmente fue estudiado el grosor de las suturas de seda de ambos grupos haciendo uso del programa ImageJ, fueron tomadas como referencia las micrografías SEM con una magnificación de 200x de todos los grupos estudiados (Grupo A – F); además se realizó la medición de la sutura desgomada para relacionar algún posible cambio con las suturas recubiertas con PDADMAC y PDADMAC/NPs. Se obtuvo un grosor promedio (n=4) de 320.643 μm para la sutura desgomada y 308.261 μm para la revestida con PDADMAC (n=4), se observa que el grosor está disminuido para las fibras revestidas, es decir, se comprimen con este recubrimiento.

Los resultados de la medición del grosor de las suturas del grupo sin PDADMAC y del funcionalizado fueron capturados en la **Tablas 16 y 17**.

Los datos arrojados en el análisis indican que las suturas del grupo C estiman un grosor mayor con una medida promedio de 375.08 \pm 40.3 μm a diferencia de las suturas del grupo A y B de 346.15 \pm 60.6 μm y 355.74 \pm 55.8 μm , respectivamente, refiriendo que la agregación de nanopartículas de dióxido de titanio comercial ($\text{TiO}_2\text{NPs [c]}$) es mayor en la sutura de seda.

Por otra parte, en el grupo funcionalizado con PDADMAC el resultado de la medida del grosor disminuye considerablemente para aquellas suturas que fueron cubiertas con TiO_2NPs sin importar el tipo, se calcula un grosor para las suturas con $\text{TiO}_2\text{ [e]}$ de 255.17 \pm 5.8 μm entre tanto las suturas con $\text{TiO}_2\text{NPs [c]}$ exponen una medida de grosor de 271.8 \pm 13.5 μm . Finalmente el grupo restante de PDADMAC con nanopartículas de oro con menor disminución de su grosor adquirió un promedio de 312.82 \pm 55.1 μm en sus fibras; estas últimas mediciones acompañas de lo observado en las micrografías muestran que al hacer uso del PDADMAC con TiO_2NPs las fibras se comprimen (**Figura 21 y 22**), además promueven un recubrimiento más homogéneo y un deterioro menor de la forma trenzada de la seda (**Figura 22**) al hacer comparación con las fibras de los grupos restantes.

Tabla 16. Resultados del análisis del grosor del grupo sin PDADMAC en las micrografías a 500 μm .

GRUPO SIN PDADMAC “Grosor”	
GRUPO A (Seda-AuNPs)	
A1	328.862 μm
A2	269.364 μm
A3	379.308 μm
A4	407.061 μm
GRUPO B (Seda-TiO₂NPs [e])	
B1	275.165 μm
B2	398.425 μm
B3	387.341 μm
B4	362.019 μm
GRUPO C (Seda-TiO₂NPs [c])	
C1	360.586 μm
C2	426.712 μm
C3	382.065 μm
C4	330.951 μm

Tabla 17. Resultados del análisis del grosor del grupo funcionalizado en las micrografías a 500 μm .

GRUPO FUNCIONALIZADO “Grosor”	
GRUPO D – Funcionalizado (Seda-PDADMAC/AuNPs)	
D1	347.089 μm
D2	370.222 μm
D3	281.597 μm
D4	252.376 μm
GRUPO E – Funcionalizado (Seda-PDADMAC/TiO₂NPs [e])	
E1	258.866 μm
E2	248.458 μm
E3	260.986 μm
E4	252.370 μm
GRUPO C – Funcionalizado (Seda-PDADMAC/TiO₂NPs [c])	
F1	287.633 μm
F2	278.161 μm
F3	262.822 μm
F4	258.565 μm

5.1.5 VALORACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

Se investigaron los efectos bactericidas de las suturas de seda funcionalizadas (con AuNPs, TiO₂NPs [e] y TiO₂NPs [c], con o sin PDADMAC) contra *S. aureus* y *E. coli* como bacterias modelo de Gram-positivas y Gram-negativas, respectivamente (**Figura 24 y 25**). Las fibras de seda modificadas mostraron efectos bactericidas despreciables tanto en *S. aureus* como en *E. coli*.

No se presentó halo de inhibición clara al crecimiento bacteriano alrededor de la sutura tratada con las NPs metálicas con y sin PDADMAC, indicando baja capacidad antimicrobiana. Asimismo, no se observó zona de inhibición para la sutura no tratada (C), como se esperaba.

Por otra parte, suturas de determinados grupos presentaron en su superficie un cambio de color similar al del agar en cuestión, observándose colonización bacteriana sobre la superficie de la sutura, mientras que ambos grupos de PDADMAC-TiO₂NPs tanto experimental como comercial mantuvieron su coloración oscura en la mayoría de las suturas, la distinción de su estructura a simple vista y no se mostraron posiblemente recubiertas por las bacterias del agar; los resultados de esta deducción se colocaron en la **Tabla 18**, lo que supone una menor adherencia de bacterias en la superficie de las suturas de seda funcionalizadas con PDADMAC-TiO₂NPs [c].

Tabla 18. Valoración de las fibras que fueron cubiertas con bacterias Gram-positivas y Gram-negativas.

CUBRIMIENTO DE SUTURAS POR BACTERIAS <i>S. AUREUS</i> Y <i>E. COLI</i>										
SUTURAS MODIFICADAS	<i>S. aureus</i>					<i>E. coli</i>				
	1	2	3	4	C	1	2	3	4	C
Seda/AuNPs		☑	☑			☑				
Seda/TiO ₂ NPs [e]	☑		☑	☑		☑		☑	☑	☑
Seda/TiO ₂ NPs [c]					☑	☑		☑		☑
Seda/PDADMAC-AuNPs						☑		☑	☑	
Seda/PDADMAC-TiO ₂ NPs [e]	☑							☑	☑	☑
Seda/PDADMAC-TiO ₂ NPs [c]										☑

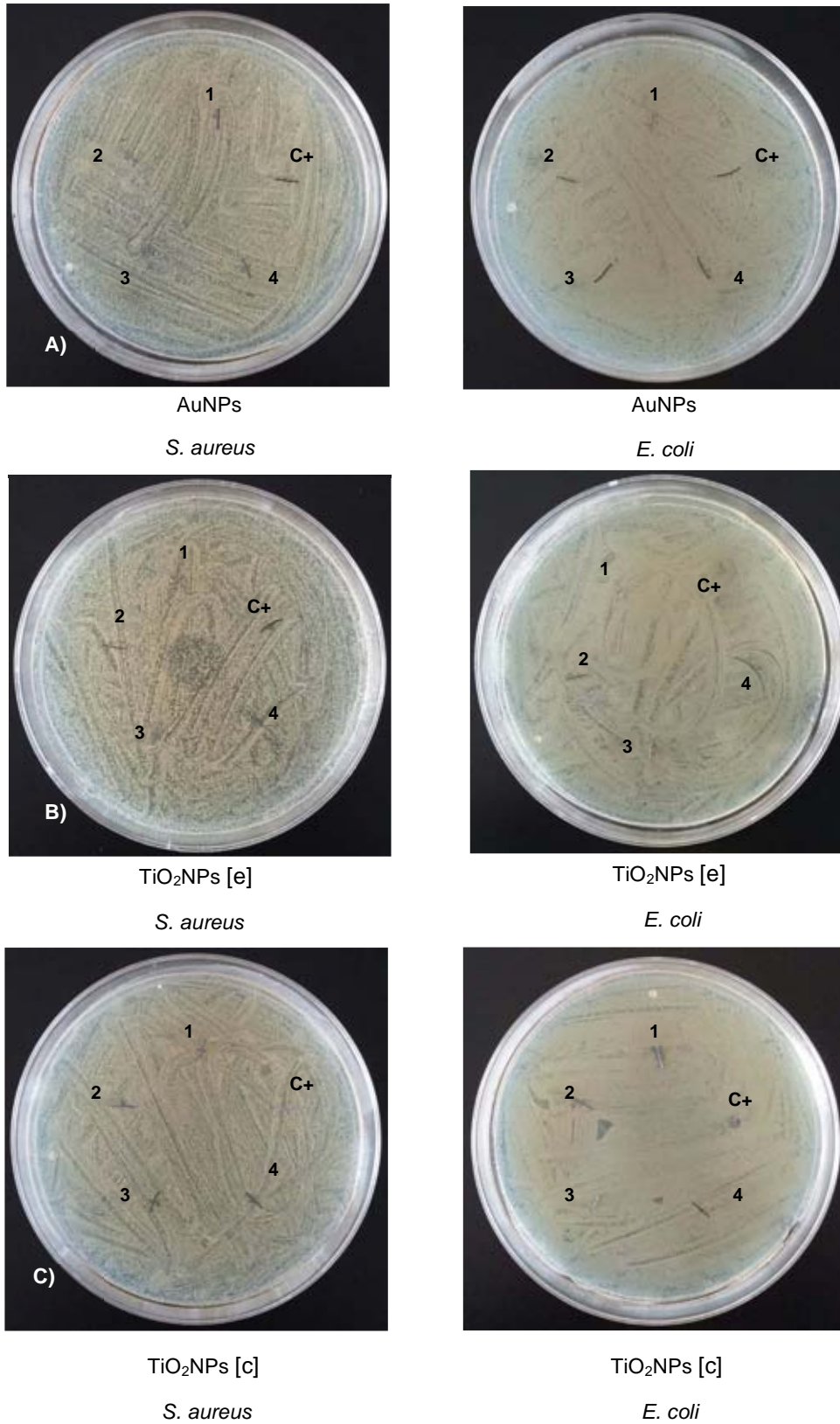


Figura 24. A) Suturas de seda con AuNPs en agar Muller-Hinton con *S. aureus* (gram+) y *E. coli* (gram-). B) Suturas de seda con TiO₂NPs [e] en agar Muller-Hinton con *S. aureus* (gram+) y *E. coli* (gram-). C) Suturas de seda con TiO₂NPs [c] en agar Muller-Hinton con *S. aureus* (gram+) y *E. coli* (gram-). Fuente: Directa.

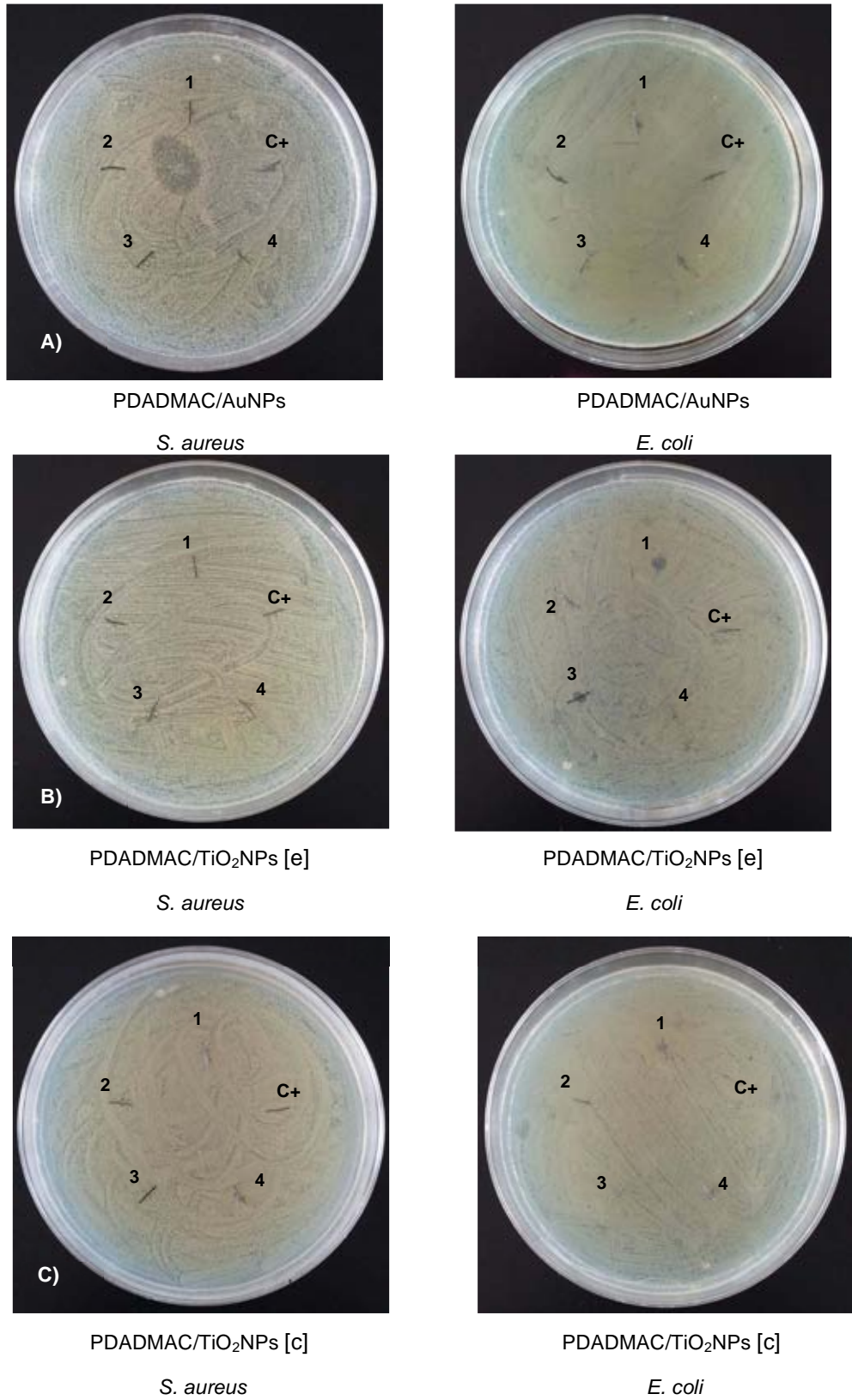


Figura 25. A) Suturas de seda con PDADMAC-AuNPs en agar Muller-Hinton con *S. aureus* (gram+) y *E. coli* (gram-). B) Suturas de seda con PDADMAC-TiO₂NPs [e] en agar Muller-Hinton con *S. aureus* (gram+) y *E. coli* (gram-). C) Suturas de seda con PDADMAC-TiO₂NPs [c] en agar Muller-Hinton con *S. aureus* (gram+) y *E. coli* (gram-). Fuente: Directa.

5.2 DISCUSIÓN

La resistencia demostrada por muchos microorganismos hacia los antibióticos convencionales ha estimulado el interés en agentes antimicrobianos alternativos y en nuevos enfoques para la prevención de infecciones. De acuerdo a lo publicado estadísticamente a lo largo de los años y su uso preferente en procedimientos quirúrgicos en odontología, Verstraete F, et al.,⁴³ mencionan que la sutura quirúrgica de seda trenzada ha sido considerada como una de las suturas y más ampliamente utilizadas en todo el mundo. Sin embargo, Chen X, et al.⁴⁴ y Pethile S, et al.,⁴⁵ refieren que las bacterias prefieren adherirse a la estructura proteica de las suturas de seda e introducirse en las aberturas de la trenza; y como consecuencia, puede aumentar el riesgo de infecciones en el sitio quirúrgico, además de que en años anteriores Chu C y Williams D,⁴⁶ ya habían reportado que las características fisicoquímicas de un material de sutura influyen en su capacidad para atraer bacterias y por lo tanto promover la infección de la herida.

Por lo tanto, el enfoque de esta tesis de investigación fue el modificar las propiedades morfológicas de la sutura de seda, con agentes antibacterianos escasamente estudiados, dando así la probabilidad de disminuir la tasa de infecciones en el sitio quirúrgico. Sin embargo, encontrar un elemento que cumpla con las características óptimas para funcionalizar un material previamente fabricado no es una tarea fácil; Caruso F,⁴⁷ Ariga K,⁴⁸ Hammond P.T.⁴⁹ y Yan Y,⁵⁰ reconocen el sistema capa por capa (LbL) como una técnica de nanofabricación de bajo costo y versátil para modificar una amplia gama de materiales para producir dispositivos multifuncionales. Decher G,⁵¹ reporta que además la acumulación de LbL es impulsado por la atracción electrostática entre los constituyentes de carga opuesta, lo cual está claramente demostrado en los resultados obtenidos en esta tesis, donde las nanopartículas con carga negativa se adhieren de una manera conveniente con el hilo de sutura. Por otro lado, se puede referir incluso que la diferencia de concentraciones empleadas en cada tipo de nanopartícula probablemente haya influido en el recubrimiento obtenido, ya que en estudios anteriores Decher G,⁵¹ y Lvov Y, et al.⁵², advierten que soluciones concentradas son necesarias para la adsorción con éxito en el sustrato y para prevenir el agotamiento de coloides durante LbL. En nuestro caso las de mejor recubrimiento fueron las NPs de TiO₂ comercial, la cual es de mayor concentración.

Además cabe recalcar el objetivo de la aplicación de la técnica LbL en esta investigación, el cual estaba basado en funcionalizar suturas con algún nanomaterial que se adhiriera de manera segura y homogénea, brindando actividad antimicrobiana a los hilos trenzados de la fibra, los nanomateriales utilizados fueron un polielectrolito catiónico y nanopartículas ya sintetizadas, con un tamaño y características establecidas; sin embargo varios autores utilizan la técnica para promover la actividad de materiales de materia *in situ* al formar la multicapa en la superficie del sustrato hacia que la técnica adquirirá un enfoque de síntesis *in situ* del material; Decher G, et al.⁵³, utilizaron polielectrolitos sintéticos, es decir, polímeros con grupos de superficie ionizables para

formar poli-iones que formaron sucesivamente capas sobre un sustrato por interacción electrostática. Uhrich K.E, et al.⁵⁴ y Yang L, et al.⁵⁵, realizaron la administración de fármacos en sustratos para producir sistemas de liberación controlada, sostenida o activada en las moléculas de fármacos encapsuladas en tamaño pequeño.

Meng M, et al.³⁰, construyeron una estructura multicapa de poli (ácido acrílico) (PAA) / poli (cloruro de dialildimetilamonio) (PDDA) sobre seda, que podría actuar tanto como matriz tridimensional para el crecimiento de AgNPs como para la capa de estabilización para la protección de AgNPs y la síntesis in situ de AgNPs bajo una irradiación UV, donde a espectroscopia de reflexión difusa UV-vis fue utilizada para monitorear el crecimiento de la película multicapa LbL sobre seda.

Por otra parte, en la técnica LbL se da lugar a un aumento exponencial en el espesor de las bicapas conforme al tamaño, forma y propiedades individuales de las nanopartículas. Se ha reportado que las nanopartículas metálicas, en oposición a las no metálicas, suelen tener mayor contacto disponible, lo que permite una capa más delgada y una vía eléctrica más fiable según Díaz F⁵⁶. Ahora bien, con base en lo encontrado en el estudio, las TiO₂NPs [c] presentaron una afinidad mayor al sustrato, es decir mayor recubrimiento de las suturas, tomando como guía los resultados arrojados por las micrografías en SEM y el conteo elemental por EDS, posiblemente debido al tamaño de las NPs de hasta cuatro veces más grandes que el resto; sin embargo se requiere de más análisis en las muestras con un recubrimiento óptimo, ya que Oberdörster et al.⁵⁷, señalan que la tendencia a formar aglomerados o agregados de las nanopartículas es en proporción a su tamaño.

J.L. West,⁵⁸ H. Laroui⁵⁹ y G. Bao⁶⁰ aseguran que los nanomateriales exhiben propiedades únicas de tamaño, forma y superficie que pueden adaptarse para el desarrollo de dispositivos nanoterapéuticos y antimicrobianos, además Paul J y Lyons K⁶¹ mencionan que el tamaño de partícula es inversamente proporcional a su actividad biológica, no obstante en el análisis de las pruebas antimicrobianas realizadas en este trabajo no se observan la presencia de inhibición de la colonización bacteriana alrededor del hilo, únicamente la apariencia del crecimiento bacteriano sobre las suturas con recubrimiento deficiente. Sin embargo Li G, et al.¹³, modificaron fibras de seda con TiO₂ y TiO₂@AgNPs, donde la tela de seda tratada exhibía multifunciones incluyendo la actividad antibacteriana; Zheng et al.⁶² utilizaron nanorods de oro en diferentes proporciones en telas de seda, las cuales mostraron mejoras significativas en las funciones antibacterianas.

Dichos resultados, nos permiten hipotetizar que la concentración y el tamaño de la NPs son de gran importancia para lograr efectos notables en estudios sobre la modificación morfológica para obtener un efecto antimicrobiano, sin embargo la funcionalización con PPDADMAC y NPs metálicas sí modifica la morfología de las suturas, disminuyendo su grosor, e inhibe el crecimiento bacteriano sobre la superficie de la seda.

Sin embargo, deben de ser contemplados los inconvenientes presentes en el estudio como son: el uso de distintas concentraciones en las soluciones de NPs utilizadas, la única concentración establecida de PPDADMAC, el número de bicapas aplicadas a la sutura, la morfología trenzadas de

las suturas y la interacción y, el resultado de estas variantes ante el proceso LbL.

Por un lado se puede deducir que si la concentración de las soluciones aumenta en las suturas con AuNPs se podrían esperar mejores resultados relacionados con la hipótesis de investigación anteriormente planteado, sin embargo al aumentar la concentración con el fin de obtener mejor actividad antimicrobiana en el caso de las soluciones de nanopartículas de TiO_2 la morfología podría ser afectada, convirtiendo la solución de NPs en un líquido espeso de apariencia lodosa, el cual en la superficie de la sutura formaría gran cantidad de aglomeraciones y las características por las cuales las suturas de seda es empleada dejarían de ser ventajosas en estas suturas recubiertas, sin embargo probablemente demostraría mejores resultados en el estudio antimicrobiano.

El estudio de suturas funcionalizadas es muy amplio y el hacer cambios en las variables conlleva a diferentes resultados, estudios futuros a esta investigación están basados en utilizar distintos tipos de soluciones de NPs (CuNPs, AgNPs, etc.) con concentraciones óptimas que aseguren su actividad antimicrobiana frente a bacterias gram+ y gram-, y promuevan aún mejores resultados en la modificación de suturas de seda, con el fin de ser incluidas en el campo de los biomateriales.

CONCLUSIONES

Con base a los resultados obtenidos se puede concluir que los objetivos planteados fueron logrados; se funcionalizaron suturas de seda con PDADMAC y nanopartículas de oro y de dióxido de titanio comercial y experimental.

Se determinó la morfología y composición elemental por SEM y EDS de las suturas funcionalizadas, donde los resultados obtenidos de la caracterización aseguraron la presencia de partículas de Au y Ti en la fibra de seda al hacer uso de la técnica LbL.

El uso de concentraciones elevadas en las soluciones de nanopartículas es de suma importancia para su empleo en el recubrimiento de materiales, con el fin de aportar actividad antimicrobiana y conseguir inhibir la colonización de bacterias en la superficie del sustrato, evitando así la infección del sitio quirúrgico.

En fin, los datos obtenidos resultan de interés para futuras investigaciones sobre funcionalización de biomateriales, dedicando especial atención en el estudio y modificación de las propiedades superficiales de los sustratos, con el fin de modular su interacción con entidades biológicas.

PRODUCTOS ACADÉMICOS

✚ ARTÍCULO ACEPTADO

Diana Lara-Juárez, René García-Contreras, Ma. Concepción Arenas-Arrocena, Suturas funcionalizadas con nanomateriales para cirugía oral: revisión sistemática / Sutures functionalized with nanomaterials for oral surgery. A systematic review". Aceptado en la Revista española de cirugía oral y maxilofacial (2017).

✚ PRESENTACIÓN EN CONGRESOS

Presentación oral:

Propiedades morfológicas de sutura de seda funcionalizada con PDADMAC y nanopartículas metálicas para su aplicación en cirugía bucal. Autora: Lara Juárez Diana Estefanía. Coautores: Argueta Figueroa Liliana, Vega González Marina, Arenas Arrocena Ma. Concepción. PRE-CONGRESO ENES Unidad León, en el marco de Expo Aric Dental 2016 Guadalajara, el 12 de Octubre del 2017.

Presentación de cartel:

Funcionalización de suturas de seda con Poli (cloruro de dialildimetilamonio) y nanopartículas. Autora: Lara Juárez Diana Estefanía. Coautores: Argueta Figueroa Liliana, Vega González Marina, Arenas Arrocena Ma. Concepción. XIV congreso de la Mujer en la Ciencia. León Gto. Del 17 al 19 de mayo del 2017.

BIBLIOGRAFÍA

1. Matalon S, Kozlovsky A, Kfir A, Levartovsky S, Mazor Y, Slutzky H. The effect of commonly used sutures on inflammation inducing pathogens - An *in vitro* study. *J Craniomaxillofac Surg*. 2013; 41(7): 593-7.
2. Chen X, Hou D, Tang X, Wang L. Quantitative physical and handling characteristics of novel antibacterial braided silk suture materials. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2015; 50: 160-170.
3. Costa O, Araujo L, Pontes N, Carvalho M, Cople L, Nivolini T, et al. Oral bacteria adherence to suture threads: an *in vitro* study. *J Oral Maxillofac Surg*. 2015; 19: 275-280.
4. Venema S, Abbas F, Van de Belt-Gritter B, Van der Mei H, Busscher H, Van Hoogmoed C. *In vitro* oral biofilm formation on triclosan-coated sutures in the absence and presence of additional antiplaque treatment. *J Oral Maxillofac Surg*. 2011; 69(4): 980-985.
5. Osunde O, Adebola R, Saheeb B. A comparative study of the effect of suture-less and multiple suture techniques on inflammatory complications following third molar surgery. *J Oral Maxillofac Surg*. 2012; 41: 1275-1279.
6. Warnke P, Becker S, Podschun R, Sivananthan S, Springer I, Russo P, et al. The battle against multi-resistant strains: renaissance of antimicrobial essential oils as a promising force to fight hospital-acquired infections. *J Craniomaxillofac Surg*. 2009; 37(7): 392-397.
7. Setiya S, Halli R, Shah A, Chhabaria G, Singh T. Comparative evaluation of efficacy of tissue glue and sutures after surgical removal of impacted mandibular third molars - A prospective controlled clinical study. *J Oral Maxillofac Surg Med Pathol*. 2015; 27(2): 183-188.
8. Guo L, Yuan W, Lu Z, Li C. Polymer/nanosilver composite coatings for antibacterial applications. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp. Eng. Aspects*. 2013; 439: 69-83.
9. Bai L, Zhu L, Min S, Liu L, Cai Y, Yao J. Surface modification and properties of *Bombyx mori* silk fibroin films by antimicrobial peptide. *Appl. Surf. Sci*. 2008; 2064(10): 2988-2995.
10. Arai T, Freddi G, Colonna GM, Scotti E, Boschi A, Murakami R, Tsukada M. Absorption of metal cations by modified *B. mori* silk and preparation of fabrics with antimicrobial activity. *J Appl Polym Sci*. 2001; 80(2): 297-303.
11. Davarpanah S, Mahmoodi NM, Arami M, Bahrami H, Mazaheri F. Environmentally friendly surface modification of silk fiber: Chitosan grafting and dyeing. *J Appl Surf Sci*. 2009; 205(7): 4171-4176.
12. Lu Z, Meng M, Jiang Y, Xie J. State-resolved And State-to-state Photodissociation Study of Co2 By Two-color Vuv-vuv Laser Pump-probe Method. *Eng. Aspects*. 2014; 447.
13. Li G, Liu H, Zhao H, Gao Y, Wang J, Jiang H, Boughton R. Chemical assembly of TiO₂ and TiO₂@Ag nanoparticles on silk fiber to produce multifunctional fabrics. *J. Colloid Interface Sci*. 2011; 358(1): 307-315.
14. Lu Z, Mao C, Meng M, Liu S, Tian Y, Yu L et al. Fabrication of CeO₂ nanoparticle-modified silk for UV protection and antibacterial applications. *J. Colloid Interface Sci*. 2014; (435): 8-14.
15. Gallo A, Paladini F, Romano A, Verri T, Quattrini A, Sannino A, et al. Efficacy of silver coated surgical sutures on bacterial contamination, cellular response and wound healing. *Mater Sci Eng C*. 2016; (69): 884-893.
16. Gay C, Berini L. Tratado de cirugía bucal. Tomo 1. Ediciones Ergón, S.A. 2004.
17. Kozlowski R. Handbook of Natural Fibres. Processing and Applications. Vol. 2 in Woodhead Publishing Series in Textiles. 2012.
18. Liu B, Song Y, Jin L, Wang Zhi, Pu D, Lin S, et al. Silk structure and degradation. *Colloids Surf. , B*. 2015; (131): 122-128.
19. Limbert G, Bryan R, Cotton R, Young P, Hall-Stoodley L, Kathju S, et al. On the mechanics of bacterial biofilms on non-dissolvable surgical sutures: A laser scanning confocal microscopy-based finite element study. *Acta Biomater*. 2013; (9): 6641-6652.
20. Newman H. Microbiology in Pictures. 2011-2015. Disponible en: <http://www.bacteriainphotos.com/bacterial-biofilm.html#>
21. Dirckx P, Davies D. Center for Biofilm Engineering Montana State University. 2003.
22. Zambano M, Suárez L. Biofilms bacterianos: Sus implicaciones en la salud y enfermedad.

- Univ Odontol. 2006; (57): 19-25.
23. Lázec C, Koteich S, López F. Nanopartículas: Fundamentos y Aplicaciones. Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela. Ed 2015.
 24. Nicholson J. The Chemistry of Polymers, 3 ed. University of Greenwich. 2006.
 25. Bertrand P, Jonas A, Laschewsky A, Legras R, Ultrathin polymer coatings by complexation of polyelectrolytes at interfaces: suitable materials, structure and properties, *Macromol. Rapid Commun.* 2000; (21): 319-348.
 26. Mateo D, Morales P, Ávalos A, Haza A. Gold nanoparticles: Applications and in vitro cytotoxicity. *Acta Toxicol. Argent.* 2013; 21 (2): 102-109.
 27. Ming X, Feng H, Fan B. *Nucl. Instr. And Meth. B.* 2006; 99-102.
 28. Marambio C, Hoek E. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *J Nanopart Res.* 2010; (12): 1531-1551.
 29. Wildenberg W, Wildenberg V. Roadmap Report on Nanoparticles. 2005.
 30. Meng M, He H, Xiao J, Zhao P, Xie J, Lu Z, Controllable in situ synthesis of silver nanoparticles on multilayered film-coated silk fibers for antibacterial application. *J Colloid and Interface Sci.* 2016; (461): 369–375.
 31. Villiers M, Otto D, Strydom S, Lvov Y. Introduction to nanocoatings produced by layer-by-layer (LbL) self-assembly. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 2011; (63): 701-715.
 32. Real Academia Española. Diccionario de la lengua española. 23 ed.; 2014. Disponible en URL:<http://dle.rae.es/?id=7OpEEFy>
 33. Vargas Y, Obaya A, Vargas G, Gómez V, Chávez J, García A. Introducción a la caracterización de materiales, nanomateriales y catalizadores. *Revista digital universitaria.* 2013; 4 (5).
 34. Vázquez A, Damborenea J. Ciencia e ingeniería de la superficie de los materiales metálicos. Consejo superior de investigaciones científicas. Textos universitarios / CSIC, 31. 2000.
 35. Universidad de Búfalo. Información en tecnología UB. 2016. Disponible en URL: <https://wings.buffalo.edu/faculty/research/scic/sem-eds.html>
 36. Rivero P, Urrutia A, Goicoechea J, Arregui F. Nanomaterials for Functional Textiles and Fibers. *Nanoscale Research Letters.* 2015; (10): 501.
 37. Dubas S, Wacharanadb S, Potiyaraj P. Tuning of the antimicrobial activity of surgical sutures coated with silver nanoparticles. *Colloids Surf A: Physicochem. Eng. Asp.* 2011; (380): 25-28.
 38. Tang B, Sun L, Kaur J, Yu Y, Wang X. In-situ synthesis of gold nanoparticles for multifunctionalization of silk fabriCS. *Dyes and Pigments.* 2014; (103): 183-190.
 39. Real Academia Española. Diccionario de la lengua española. 23 ed.; 2014. Disponible en URL: <http://dle.rae.es/?id=GZwsNcf>
 40. Galiano A. Diccionario de mediciclopedia. 2000-2012. Disponible enURL: http://www.babylon-software.com/definicion/Halo_de_inhibici%C3%B3n/Spanish
 41. Le A, Tam L, Tam P, Huy P, Huy T, Hieu N, et al. Synthesis of oleic acid-stabilized silver nanoparticles and analysis of their antibacterial activity. *Mat Sci Eng: C.* 2010; (30): 910-916.
 42. Zanella R. Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *Mundo Nano.* 2012; (5): 2012
 43. Verstraete F, Lommer M, Bezuidenhout, A. *Oral and Maxillofacial Surgery in Dogs and Cats.* Saunders/Elsevier. 2012; 567.
 44. Chen X, Lv A, Wang L, Pethile S, Hou D, Lu M, Wang W. Evaluation in vitro of an experimental antibacterial silk suture. *J. Donghua Univ.* 2013; (13): 382-385.
 45. Pethile S, Chen X, Hou D, Wang L. Effect of changing coating process parameters in the preparation of antimicrobial-coated silk sutures: an in vitro study. *Fibers Polym.* 2014; (15): 1589-1595.
 46. Chu C, Williams D. Effects of physical configuration and chemicals structure of suture materials on bacterial adhesion. A possible link to wound infection. *Am J Surg.* 1984; (147): 197-204.
 47. Caruso F. Nanoengineering of particle surfaces, *Adv. Mater.* 2011; 13 (1): 11-22.
 48. Ariga K, Hill J.P, Ji Q. Layer-by-layer assembly as a versatile bottom-up nanofabrication technique for exploratory research and realistic application, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2007; 9 (19): 2319-2340
 49. Hammond P.T. Polyelectrolyte multilayered nanoparticles: using nanolayers for controlled and targeted systemic release, *Nanomedicine.* 2012; 7 (5): 619-622.

50. Yan Y, Björnalm M, Caruso F. Assembly of layer-by-layer particles and their interactions with biological systems, *Chem. Mater.* 2014; 26 (1): 452-460.
51. Decher G. Fuzzy nanoassemblies: toward layered polymeric multicomposites. *Science.* 1997; (277): 1232-1237.
52. Lvov Y, Decher G, Möhwald H. Assembly, structural characterization, and thermal behavior of layer-by-layer deposited ultrathin film of poly (vinyl sulfat) and poly (allylamine). *Langmuir.* 1993; 9.
53. G. Decher, J.D. Hong, J. Scmitt, Buildup of ultrathin multilayer films by self-assembly process: III. Consecutively alternating adsorption of anionic and cationic poly- electrolytes on charged surfaces, *Thin Solid Films.* 1992; 210-211: 831-835.
54. K.E. Uhrich, S.M. Cannizzaro, R.S. Langer, K.M. Shakesheff, Polymeric systems for controlled drug release, *Chem. Rev.* 1999; 99: 3181-3198.
55. L. Yang, P. Alexandridis, Physicochemical aspects of drug delivery and release from polymer-based colloids, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 2000; (5): 132-143.
56. Díaz F. Introducción a los nanomateriales. *Lecturas de Ingeniería* 20. 2012.
57. Oberdörster G, Maynard A, Donaldson K, Castranova V, Fitzpatrick J, Ausman K, et al. Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Particle and Fibre Toxicology.* 2005; (2): 8.
58. West J.L, Halas N.J. Engineered nanomaterials for biophotonics applications: improving sensing, imaging, and therapeutics, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 2003; (5): 285-292.
59. Laroui H, Rakhya P, Xiao B, Viennois E, Merlin D. Nanotechnology in diagnostics and therapeutics for gastrointestinal disorders, *Digest. Liver Disease: Off. J. Italian Soc. Gastroenterol. Italian Assoc. Study Liver.* 2013; 45 (12): 995-1002.
60. Bao G, Mitragotri S, Tong S. Multifunctional nanoparticles for drug delivery and molecular imaging, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 2013; (15): 253-282.
61. Paul J, Lyons K. Nanotechnology: the next challenge for organics. *J. Org. Syst.* 2008; 3 (1): 3-22.
62. Zheng Y, Xiao M, Jiang S, Ding F, Wang J. Coating fabrics with gold nanorods for colouring, UV-protection, and antibacterial functions. *Nanoscale.* 2013; 5: 788-795.