



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA
DOCTORADO EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS



“INCORPORACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC Y PLATA A UNA PASTA ANTIBIÓTICA COMPUESTA POR CLORANFENICOL, TETRACICLINA Y SU EFICACIA MICROBIOLÓGICA VS *Enterococcus faecalis*”.

Estudio experimental *in vitro*.

TESIS QUE PRESENTA:

DANIELA GUZMÁN URIBE

PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTORA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

DIRECTOR DE TESIS

DRA. NEREYDA NIÑO MARTÍNEZ

CODIRECTOR

DR. FACUNDO RUIZ

SAN LUIS POTOSÍ, S.L.P. 10 DE JULIO DE 2026



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA
DOCTORADO EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS



“INCORPORACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC Y PLATA A UNA PASTA ANTIBIÓTICA COMPUESTA POR CLORANFENICOL, TETRACICLINA Y SU EFICACIA MICROBIOLÓGICA VS *Enterococcus faecalis*”.

Estudio experimental *in vitro*.

TESIS QUE PRESENTA

DANIELA GUZMÁN URIBE

PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTORA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

DIRECTOR DE TESIS

DRA. NEREYDA NIÑO MARTÍNEZ

CODIRECTOR

DR. FACUNDO RUIZ

ASESORES DE TESIS

DR. GABRIEL ALEJANDRO MARTÍNEZ CASTAÑÓN

DRA. NURIA PATIÑO MARÍN

DRA. IDANIA DE ALBA MONTERO

SAN LUIS POTOSÍ, S.L.P. 10 DE JULIO DE 2026



Incorporación de nanopartículas de óxido de zinc y plata a una pasta antibiótica compuesta por cloranfenicol, tetraciclina y su eficacia microbiológica vs *Enterococcus faecalis* © 2026

by Daniela Guzmán Uribe

is licensed under CC BY-NC-ND 4.0.

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Índice

Presentación de trabajo de Tesis en formato artículo

RESUMEN	5
INTRODUCCION	7
MATERIAL Y MÉTODOS	12
<i>Diseño del estudio</i>	12
<i>Aspectos éticos.....</i>	12
<i>Procesos laboratoriales.....</i>	12
Síntesis de nanopartículas de Plata	12
Síntesis de Nanopartículas de Óxido de Zinc.....	12
Caracterización estructural de las nanopartículas de plata, nanopartículas de óxido de zinc y la pasta CTZ de México®.	13
Preparación de la pasta de cloranfenicol, tetraciclina convencional y adicionada con nanopartículas de plata y óxido de zinc.	13
Preparación de la pasta CTZ de México® convencional y adicionada con nanopartículas de plata.....	14
Preparación de las nanopartículas de plata y de óxido de zinc	14
Estandarización de los métodos de evaluación antimicrobiana con cepas ATCC	14
Susceptibilidad Bactericida	15
<i>Ensayo de difusión en disco (o Kirby Bauer)</i>	15
Recolección de las muestras de <i>E. faecalis</i> salvaje.....	16
Caracterización del <i>E. faecalis</i> salvaje.....	16
Evaluación de la actividad antimicrobiana	16
Ensayo de difusión en disco (o Kirby-Bauer).....	17
Análisis estadístico.....	18
RESULTADOS	19
<i>Síntesis y caracterización de Nanopartículas de plata y de Óxido de Zinc.</i>	19
<i>Caracterización de la Pasta CTZ de México®.....</i>	22
<i>Preparación de la pasta Antibiótica con nanopartículas de plata y nanopartículas de óxido de zinc.</i>	22
<i>Pruebas microbiológicas en cepas ATCC.</i>	22
<i>Recolección y cultivo de muestras de E. faecalis salvaje.....</i>	25
<i>Caracterización del E. faecalis salvaje</i>	26

Análisis estadístico	29
DISCUSION	30
CONCLUSIONES	35
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
ANEXO 1: Consentimiento informado	43

RESUMEN

Introducción. El uso de pastas antibióticas en la técnica LSTR para el tratamiento de dientes temporales necróticos ha aumentado en los últimos años debido a su capacidad para desinfectar conductos sin instrumentación mecánica. Las formulaciones triantibióticas y la pasta CTZ son las más reportadas, aunque presentan variabilidad en su composición y carecen de estudios de dosificación estandarizada. Paralelamente, en endodoncia se ha documentado el potencial de las nanopartículas de plata (AgNPs) y de óxido de zinc (ZnONPs) para mejorar la actividad antimicrobiana de irrigantes, apósitos y materiales obturadores, gracias a su capacidad para interferir con el biofilm bacteriano y modular la respuesta inflamatoria. La incorporación de nanopartículas a pastas antibióticas podría optimizar su eficacia microbiológica y permitir reducir la cantidad de antibiótico empleado. **Objetivo.** Evaluar el efecto antimicrobiano de una pasta de cloranfenicol-tetraciclina modificada con nanopartículas de plata y óxido de zinc frente a *Enterococcus faecalis* salvaje, comparando su CMI, CMB y halos de inhibición con una pasta comercial de CTZ. **Metodología.** Se sintetizaron nanopartículas de óxido de plata y zinc (1×10^{-2} M), caracterizadas mediante UV-Vis y DLS. Se formularon dos pastas antibióticas (AB) al 1% y una versión con nanopartículas de plata, reduciendo el contenido de antibiótico en 4%. La pasta CTZ comercial se preparó según las indicaciones del fabricante. Se aislaron cepas salvajes de *E. faecalis* de conductos necróticos de dientes temporales (N=30). Se determinaron CMI, CMB y halos de inhibición mediante microdilución y Kirby-Bauer. **Resultados.** Solo los halos de inhibición mostraron diferencias significativas, siendo mayores en la nanopasta antibiótica ($p < .001$). No se observaron diferencias entre formulaciones en CMI ni en CMB. **Conclusiones.** La pasta antibiótica sin nanopartículas y la nanopasta antibiótica presentaron mayor actividad inhibitoria vs las pastas comerciales. La nanopasta antibiótica, pese a contener 4% menos antibiótico, mostró eficacia equivalente a las demás, indicando que la reducción del fármaco no compromete su desempeño antimicrobiano y las AgNPs contribuyen a dicha eficacia.

Palabras Clave

Necrosis de la pulpa dental, Dientes temporales, Nanopartículas, Agentes antibacterianos.

INTRODUCCION

Dientes deciduos con conductos radiculares infectados son un problema común en odontopediatría, particularmente en pacientes donde la infección ha alcanzado tejidos peri-radicales. Tratamientos como la extracción del órgano dentario involucrado son a menudo sugeridos como opciones de tratamiento para dientes primarios con necrosis pulpar, sin embargo, estos dientes deciduos cumplen con funciones básicas dentro de la arcada dental, haciéndolos los mantenedores de espacio ideales, por lo cual el deber del clínico siempre será su preservación hasta su exfoliación fisiológica. De acuerdo con lo anterior, la terapia pulpar en odontopediatría se vuelve una estrategia fundamental, basada principalmente en la limpieza del conducto y la colocación de materiales intraconducto que garanticen una esterilización de las lesiones causadas por las bacterias en el diente deciduo (1).

Con el surgimiento y aplicación de la técnica LSTR en años recientes, el uso de las pastas antibióticas en terapia pulpar de dientes temporales necróticos es cada vez más común. La técnica LSTR, cuyo nombre significa esterilización y desinfección de los conductos, fue desarrollada en The Cariology Research Unit of the Niigata University, School of Dentistry (Japón) en 2004 y basa su éxito en la utilización de pastas antibióticas colocadas a la entrada de los conductos radiculares promoviendo la desinfección de los mismos por medios farmacológicos, para posteriormente sellar la cavidad con un material que sea biocompatible y longevo hasta que el diente deciduo se exfolie (2, 3). Esta intervención tiene como blanco la etiología bacteriana, causante de la necrosis pulpar, promoviendo la reparación y regeneración de tejidos (2, 4). Está indicada en dientes temporales con diagnóstico de pulpitis irreversible y necrosis pulpar, observándose tasas de éxito clínico (80-95%) y radiográfico (70-85%) muy similares a las obtenidas por la pulpectomía convencional obturada con pasta yodo formada, reportándose en diversos estudios sin significancia estadística entre ambos tratamientos (1, 5).

Su principal ventaja radica en la simplificación de la pulpectomía; procedimiento sistemático que envuelve una serie de pasos complejos que requieren precisión por parte del clínico y la cooperación del paciente infantil. Si a lo anterior le añadimos

que los molares temporales poseen una anatomía compleja con canales radiculares accesorios y resorciones impredecibles que impiden un sellado hermético apropiado, estamos hablando de un procedimiento clínico retador (3, 6).

Los fármacos antibacterianos seleccionados para elaborar las pastas antibióticas tienen su fundamento en diversos estudios donde se han aislado bacterias del medio oral y de los conductos radiculares necróticos de dientes temporales. Ahora bien, al ser una infección de tipo polimicrobiano, se reconoce que un solo antibiótico sería insuficiente (2, 6). Es por esto que las mezclas de dos o tres antibióticos que cubran un espectro más amplio de microorganismos patógenos son las reportadas con mayor eficiencia, sin embargo estas pastas están conformadas por una variedad de mezclas antibióticas con dosis muy diversas que en su mayoría son utilizadas en proporciones, sin presentar un estudio previo *in vitro* de una dosis óptima o estandarización de su preparación (6–8) representando una falta de consistencia en su uso y aplicación, causando controversia en la efectividad y eficacia del tratamiento en odontopediatría.

La microbiota que se encuentra en los dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico es predominantemente anaerobia facultativa y Gram positiva, siendo *E. faecalis* la especie que se aísla con mayor frecuencia (9). *E. faecalis* es un coco Gram positivo, anaerobio facultativo, inmóvil y no esporulado. El tamaño de cada célula oscila entre 0.5 y 0.8 micrómetros y es habitante normal del tracto gastrointestinal humano. Esta bacteria ha atraído recientemente la atención de diversos investigadores porque ha sido identificada como una causa frecuente de infecciones periapicales persistentes, siendo una de sus características más notables es su capacidad de sobrevivir y crecer en microambientes que pudieran ser tóxicos para otras bacterias; puede causar endocarditis, infecciones de vejiga, próstata, epidídimo; las infecciones de sistema nervioso son menos comunes (9, 10), además, es resistente a fármacos aminoglucósidos, aztreonam, cefalosporina, clindamicina, las penicilinas semisintéticas (nafcilina, oxacilina, amoxicilina y trimetoprima con sulfametoxazol).

Dentro de las pastas más utilizadas y que más estudios presentan en la actualidad se encuentran las pastas triantibióticas (TAP) caracterizadas por su gran variabilidad. Éstas pueden contener minociclina, ciprofloxacino y clindamicina, minociclina, ciprofloxacino y metronidazol, gentamicina, amoxicilina y metronidazol, mientras que en otros estudios se ha cambiado la minociclina por el ornidazol (2, 6, 8). Otro agente utilizado en la técnica LSTR con resultados favorables es la pasta CTZ, compuesta por una mezcla de dos antibióticos de amplio espectro (tetraciclina y cloranfenicol) combinado con óxido de zinc y eugenol tipo I dental (ZOE), el cual destaca por sus propiedades antimicrobianas así como por las propiedades antisépticas, antiinflamatorias y analgésicas (5, 11, 12). Actualmente estudios reportan la incorporación de otros componentes a las mezclas antibióticas para potenciar su efecto agregando nuevas propiedades antiinflamatorias y de regeneración prometiendo mejorar su eficacia (13).

La nanotecnología ha permitido desarrollar nanomateriales con un diámetro de 10 a 100 nm, los mismos que han sido aplicados en ciencias de la salud, permitiendo manejarlos a nivel de la terapia antimicrobiana por sus propiedades fisicoquímicas únicas, por el tamaño nanométrico y por la relación superficie-masa y reactividad química (14). Las nanopartículas (NP) antimicrobianas se utilizan cada vez más en la medicina para combatir procesos infecciosos como una alternativa a los antibióticos convencionales, existen diversas aplicaciones de las NP en la prevención de infecciones bacterianas, en recubrimientos antimicrobianos para dispositivos implantables, en el manejo de cicatrización de heridas, en la administración de antibióticos, en la detección de bacterias para generar diagnósticos y en vacunas (15–17).

Es importante mencionar que ciertos elementos químicos de carácter mineral han formado parte del campo médico desde la antigüedad, debido a sus propiedades medicinales; uno de estos elementos es la *plata* (Ag) la misma que ha formado parte de diversos tratamientos médicos desde tiempos inmemorables por sus propiedades bactericidas y terapéuticas. Diversas nanopartículas metálicas (plata y oro) y óxidos de metales (óxido de zinc, dióxido de titanio) han demostrado tener

propiedades antiinflamatorias. Su uso en el área de la salud, más en específico en el área de la odontología, ha sido exponencial en los últimos años (18). Dentro de los campos de aplicación en la odontología se encuentran tratamientos restaurativos, tratamientos periodontales, tratamientos protésicos, ortodónticos, en implantología y en endodoncia (19). En el área de endodoncia y terapia pulpar, se ha reportado el uso de nanopartículas de grafeno, plata, quitosan, hidroxiapatita, dióxido de titanio, zirconia, óxido de calcio y cobre, los cuales han sido añadidos a irrigantes de conductos radiculares, apósitos, materiales intraconducto y de obturación, mostrando un gran potencial en la reducción del biofilm bacteriano (20–22).

Las nanopartículas de plata son uno de los nanomateriales más antiguos y estudiados hasta la fecha. Son reconocidas por sus propiedades antimicrobianas de amplio espectro contra Gram positivos y Gram negativos previniendo la formación de biofilms bacterianos, al adherirse a la pared celular causando poros, e inhibiendo la síntesis de proteínas y de ATP; la morfología coloidal es reconocida como la ideal para mostrar una buena actividad antibacteriana y se ha observado que entre más pequeño es su tamaño, mayor es su efecto, por lo que tamaños menores de 30 nm (5 a 20 nm) se reconocen como ideales. Entre sus beneficios también se encuentran la inducción osteogénica y efecto antiinflamatorio al disminuir los niveles de factor de crecimiento vascular, previniendo secreción de Mucinas y suprimiendo a la IL-12 y TNF- alfa (23). Estudios recientes han demostrado el sinergismo de las nanopartículas de plata con ciertos antibióticos al ser absorbidos por los nanomateriales (24, 25). Khurana y cols. en 2016, reportaron un sinergismo entre antibióticos (tetraciclina y kanamicina) y nanopartículas de plata, al éstas absorber dichos medicamentos incrementando su eficiencia de carga vs algunas cepas bacterianas, entre ellas *S. aureus* (25, 26).

Por su parte las nanopartículas de óxido de zinc poseen propiedades antimicrobianas similares a las de las nanopartículas de plata, ya que entre más pequeño es su tamaño, se incrementa el área de superficie (23). Por lo tanto, el efecto antimicrobiano se incrementa debido a su capacidad de reaccionar con más

moléculas por unidad de superficie. *In vitro* ha demostrado actividad contra bacterias implicadas en enfermedad periodontal como *Agregibacter actinomycetecomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*, por lo que son comúnmente utilizadas en pastas dentales y enjuagues bucales (23, 27, 28). Otra propiedad interesante, es su actividad antiinflamatoria en respuesta a diversos patógenos. Las nanopartículas de ZnO reducen inflamación mediante distintos mecanismos, como el bloqueo de la producción de citocinas como IL-1B e IL-18 con la inhibición del factor de necrosis kB y la caspasa 1 en mastocitos activados y macrófagos; inhibición de la proliferación de mastocitos disminuyendo p53 así como la producción de IL-13, a, citocina TH2 junto con IL-1 y factor de necrosis tumoral alfa; y la supresión de la ciclooxigenasa 2 (inducida por lipopolisacáridos) y la expresión de la sintetasa de óxido nítrico inducible. La incorporación de estas nanopartículas a productos de uso bucal como pastas de dientes y enjuagues bucales han tenido efectos bactericidas y han sido usados contra gingivitis y caries dental. La combinación de AgNPs con ZnONPs ha demostrado un efecto sinérgico antibacterial, una de estas bacterias es el *S. mutans*, por lo que la sinergia de ambas nanopartículas se ha utilizado para evitar la acumulación de placa dentobacteriana. Con relación a su toxicidad las nanopartículas de ZnO no exhiben daño a células humanas (23).

Debido a sus propiedades ya citadas, el presente trabajo propone la incorporación de las nanopartículas de plata y óxido de zinc a una pasta antibiótica compuesta por tetraciclina y cloranfenicol (CTZ), así como su evaluación microbiológica determinando la concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de la pasta antibiótica, aportando una preparación con menor cantidad de antibiótico, la estandarización en su preparación para evitar la variación de una dosis por proporción, y sentando las bases de una dosis apropiada que sea efectiva contra *E. faecalis salvaje*, recuperado de conductos necróticos de dientes primarios; principal causante de las recidivas en tratamientos de conductos necróticos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Se trata de un estudio experimental *in vitro* llevado a cabo en el Laboratorio de Materiales de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Aspectos éticos

El presente trabajo fue sometido para su aprobación al Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Estomatología, UASLP, CONBIOÉTICA-24-CEI-001-20190213. Aprobado y Asignado con la clave: CEI-FE-O18- 023.

Procesos laboratoriales

Síntesis de nanopartículas de Plata

Se llevó a cabo la síntesis mediante reducción química utilizando nitrato de plata (AgNO_3) y ácido tánico como agente reductor, siguiendo la técnica reportada por Martínez-Castañón y cols., en el 2008 (29). Se prepararon 500 mL de una solución de nanopartículas de plata a una concentración de 1×10^{-2} M. Se pesó 0.84935 g de nitrato de plata y se disolvió en 450 mL de agua en agitación constante; posteriormente se agregó 1 g de ácido tánico previamente disuelto en 50 mL de agua desionizada, se ajustó el pH a 11 con NaOH 5M. Se dejó la mezcla en agitación por 30 min y se procedió a su caracterización. Para recuperar el polvo de las nanopartículas, se bajó el pH a 2 con ácido nítrico 0.1M, para que estas flocularan y se precipitaran; una vez obtenido el precipitado se dejó secar a temperatura ambiente, se pesó y se guardó hasta su uso.

Síntesis de Nanopartículas de Óxido de Zinc

Se prepararon 100 mL de solución de nanopartículas de óxido de zinc a una concentración de 1×10^{-2} M. Se pesaron 0.1362 g de cloruro de zinc y se aforó a 100 mL con agua desionizada. Se agregaron 2 gotas de ácido clorhídrico y se vació el contenido a un vaso de precipitado con barra magnética colocándose sobre una placa de calentamiento. Se controló la temperatura hasta llegar a 80°C y se ajustó el pH a 10 utilizando hidróxido de sodio. El precipitado se dejó secar hasta obtener el polvo, el cual fue pesado y guardado para hasta su uso.

Caracterización estructural de las nanopartículas de plata, nanopartículas de óxido de zinc y la pasta CTZ de México®.

a) Espectroscopía UV-Vis.

Las nanopartículas de plata sintetizadas se caracterizaron por espectroscopia UV-Vis mediante el equipo OceanOptics S2000, para observar el plasmón de superficie perteneciente a la plata. Para las nanopartículas de óxido de zinc y de la pasta CTZ de México® se utilizó la espectroscopia de polvos para determinar el plasmón característico del óxido de zinc en ambos polvos.

b) Dispersión dinámica de Luz (DLS).

Se determinó el tamaño de las nanopartículas de plata y de óxido de zinc y potencial zeta (mayor a +30mV o menor a -30mV) mediante dispersión dinámica de luz utilizando el equipo marca Malvern modelo Zetasizer Nano ZS.

c) Microscopia electrónica de barrido (SEM).

Una capsula de la pasta CTZ de México® fue observada mediante el microscopio electrónico de barrido para observar sus componentes, así como el tamaño de sus partículas.

d) *Microscopía electrónica de transmisión.*

Las nanopartículas de óxido de zinc fueron caracterizadas por este medio, las imágenes de MET se obtuvieron en un microscopio marca JEOL modelo JEM 1230 operado a 120 kV.

Preparación de la pasta de cloranfenicol, tetraciclina convencional y adicionada con nanopartículas de plata y óxido de zinc.

Se trabajó con la proporción original propuesta por Soller y Cappiello en 1959, de tetraciclina 500 mg, cloranfenicol 500 mg, y Óxido de Zinc 1g (12). Se utilizaron los siguientes reactivos: Tetracycline Hydrochloride (T76660, Sigma Aldrich™) y Chloramphenicol (C0378, Sigma Aldrich™), para la formulación modificada con nanopartículas se utilizaron los siguientes porcentajes; Tetraciclina (23%), Cloranfenicol (23%), Óxido de Zinc (50%), Nanopartículas de Plata (4%). Se

sustituyó 2% del porcentaje original de cada antibiótico para colocar el 4% de las nanopartículas. Para la pasta antibiótica (AB) sin nanopartículas de plata, se siguió la proporción original con los siguientes porcentajes; Tetraciclina (25%), Cloranfenicol (25%), Óxido de Zinc (50%). Para la mezcla final se prepararon 100 mg siguiendo la proporción descrita de cada pasta antibiótica. Esta mezcla fue disuelta en 10 mL de agua desionizada, para obtener una concentración inicial de la pasta antibiótica al 10%.

Preparación de la pasta CTZ de México® convencional y adicionada con nanopartículas de plata.

Se tomó una cápsula del frasco y se pesó su contenido. Al ser la dosis propuesta por el fabricante, se utilizó la totalidad de esta para la estandarización de los procedimientos con las cepas ATCC. El peso total fue de 0.1317 g. Se disolvió en 10 mL de agua desionizada para tener una concentración al 13%. Importante mencionar que cada cápsula presentó variación en su peso.

Para la evaluación con las cepas salves de *E. faecalis*, se ajustó la concentración inicial al 10%; para la formulación de la pasta CTZ comercial con nanopartículas de plata se retiró el 4% del peso de la cápsula y se reemplazó ese porcentaje con nanopartículas de plata.

Preparación de las nanopartículas de plata y de óxido de zinc

Se utilizó una concentración inicial de 0.107 mg /mL para ambas nanopartículas.

Estandarización de los métodos de evaluación antimicrobiana con cepas ATCC

Se utilizaron 4 cepas ATCC: *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Escherichia coli* (ATCC 25922) para determinar la susceptibilidad bactericida.

Para la estandarización de los procesos laboratoriales se determinaron los siguientes **grupos experimentales**:

Tabla 1: Grupos experimentales y sus concentraciones basales

Grupo	Descripción	Concentración inicial
1	Pasta CTZ de México®	13% (13.17 mg/mL)
2	Nanopasta: tetraciclina + cloranfenicol + nanopartículas de óxido de zinc y nanopartículas de plata	10% (10 mg/mL)
3	Nanopartículas de plata	0.107 mg/mL
4	Nanopartículas de óxido de zinc	0.107 mg/mL
5	Nanopartículas de plata + nanopartículas de óxido de zinc	1:1

Susceptibilidad Bactericida

De acuerdo con las directrices establecidas por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), se empleó el método de microdilución en placa para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) de los compuestos evaluados (30). Las pruebas se realizaron contra cepas de referencia que incluyen *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Escherichia coli* (ATCC 25922). Las concentraciones utilizadas correspondieron a las que se muestran en la Tabla 1.

Para la preparación y desarrollo del experimento se utilizaron los medios de cultivo y las soluciones siguientes: agar Mueller-Hinton (BD Bioxon®), caldo Mueller-Hinton (BD Difco®), Agar Enterocococel (Condalab®), buffer de fosfatos compuesto por Na₂HPO₄ y KH₂PO₄ (Fermont®), y cloruro de sodio (NaCl) (CTR Scientific®). Este enfoque experimental asegura la precisión y reproducibilidad de los resultados obtenidos en la evaluación antimicrobiana.

Ensayo de difusión en disco (o Kirby Bauer)

Esta prueba siguió la metodología sugerida por el CLSI (30). Las cepas analizadas fueron *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC

29213), *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Escherichia coli* (ATCC 25922). La suspensión bacteriana se ajustó a la escala de McFarland 0.5 y se utilizaron hisopos estériles para sembrar las bacterias en las placas de Petri. Los grupos experimentales contenían tres concentraciones diferentes de cada muestra: C1 = basal, C2= 7.5 %, C3= 5 %. Los discos se colocaron sobre cada placa y se agregaron 10 µL a cada grupo (n=3). Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 h. Las zonas de inhibición del diámetro del crecimiento se midieron horizontal y verticalmente con un vernier (Mitutoyo Corp., Kawasaki, Japón).

Recolección de las muestras de *E. faecalis* salvaje

Se tomaron muestras de conductos necróticos de dientes temporales (N=30) diagnosticados clínicamente por la ausencia de vitalidad pulpar en el momento de realizar el tratamiento pulpar. Se colocó una punta de papel estéril en el interior del canal radicular temporal necrótico por 30 segundos barriendo el tejido pulpar necrótico. Acto seguido, las puntas fueron colocadas en un tubo tipo Eppendorf® de 1.5 mL con solución de transporte. Posteriormente, se realizó la siembra de la muestra por estría utilizando la punta de papel de la toma inicial en la placa de agar BD Enterococcosel® (Condalab®), incubándose por 24 horas a 37°C. Acto seguido, se procedió a realizar el aislamiento de la bacteria y se realizaron pruebas bioquímicas para su caracterización.

Caracterización del *E. faecalis* salvaje

Una vez aislada la bacteria cultivada en el medio selectivo BD Enterococcosel® (Condalab®), y nutrida en Agar BHI (BD Difco®), se procedió a realizar la tinción de Gram, la prueba bioquímica de catalasa, así como la prueba de movilidad en Agar Citrato de Simmons (BD Bioxon®) y cultivo en Agar MacConkey (BD Difco®). Una vez caracterizada, cada bacteria fue cultivada en Agar CTA (BD Difco®) y almacenada en refrigeración a 4°C hasta su uso.

Evaluación de la actividad antimicrobiana

Basados en los resultados de la estandarización de la evaluación microbiológica con cepas ATCC, se determinó una concentración inicial a utilizar para el proceso

experimental (C_i 10%), sin embargo, al iniciar con las pruebas antimicrobianas se observó una actividad antimicrobiana mayor que para las cepas ATCC, por lo que la concentración final correspondió al 1% para ambas pastas, los demás grupos experimentales no tuvieron cambio en su concentración. Los grupos de estudio conformados según el material probado se observan en la tabla 2.

Tabla 2 Grupos experimentales evaluación de cepas salvajes

Grupo	Descripción	C_i 10%	C_f 1%
1	Pasta CTZ de México™	10 mg/mL	1 mg/mL
2	Pasta CTZ de México™ + AgNPs	10 mg/mL	1 mg/mL
3	Pasta AB: Tetraciclina + cloranfenicol+ ZnONPs	10 mg/mL	1 mg/mL
4	Nano Pasta: Tetraciclina + Cloranfenicol + AgNPs + ZnONPs	10 mg/mL	1 mg/mL
5	AgNPs	0.107 mg/mL	0.107 mg/mL
6	ZnONPs	0.107 mg/mL	0.107 mg/mL
7	AgNPs +ZnONP's	Proporción 1:1	Proporción 1:1

Se siguieron las directrices establecidas por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) empleando el método de microdilución en placa para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) de los compuestos evaluados realizándose por cuadruplicado (30).

Ensayo de difusión en disco (o Kirby-Bauer)

Esta prueba siguió la metodología sugerida por el CLSI (30). Se probaron un total de 30 muestras de *E. faecalis*, la suspensión bacteriana se ajustó a la escala de McFarland 0.5 y se utilizaron hisopos estériles para sembrar las bacterias en las placas de Petri. Los discos se colocaron sobre cada placa y se agregaron 10 μ L a cada grupo realizándose por duplicado (dos discos por muestra). Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 h. Las zonas de inhibición del diámetro del crecimiento

se midieron horizontal y verticalmente con un vernier (Mitutoyo Corp., Kawasaki, Japón).

Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron con el software JASP versión 0.18.3 (2024), empleando el módulo de ANOVA de medidas repetidas y las correcciones automáticas de esfericidad (Greenhouse–Geisser y Huynh–Feldt). La actividad antimicrobiana (CMI, CMB y diámetros de halo) frente a las cuatro pastas antibióticas se comparó mediante un ANOVA de medidas repetidas de una vía, considerando cada cepa bacteriana como sujeto. Cuando se observaron diferencias globales significativas, se efectuaron comparaciones post hoc pareadas con corrección de Bonferroni. En caso de violación de los supuestos de normalidad o esfericidad, se aplicó la prueba no paramétrica de Friedman y comparaciones múltiples ajustadas.

RESULTADOS

Síntesis y caracterización de Nanopartículas de plata y de Óxido de Zinc.

Las nanopartículas de plata preparadas fueron caracterizadas por DLS observando un tamaño de 10.08 nm y un potencial zeta de -23 mV, así como por espectroscopia UV-Vis (Fig. 1), observando el plasmón característico de las nanopartículas de plata a 420 nm (Fig. 2). Posteriormente se recuperó el polvo el cual fue molido de manera manual, se pesó y se guardó para su uso.

Results

	Diam. (nm)	% Number	Width (nm)
Z-Average (d.nm): 22,93	Peak 1: 10,08	100,0	2,789
Pdl: 0,392	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,753	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

Result quality Refer to quality report

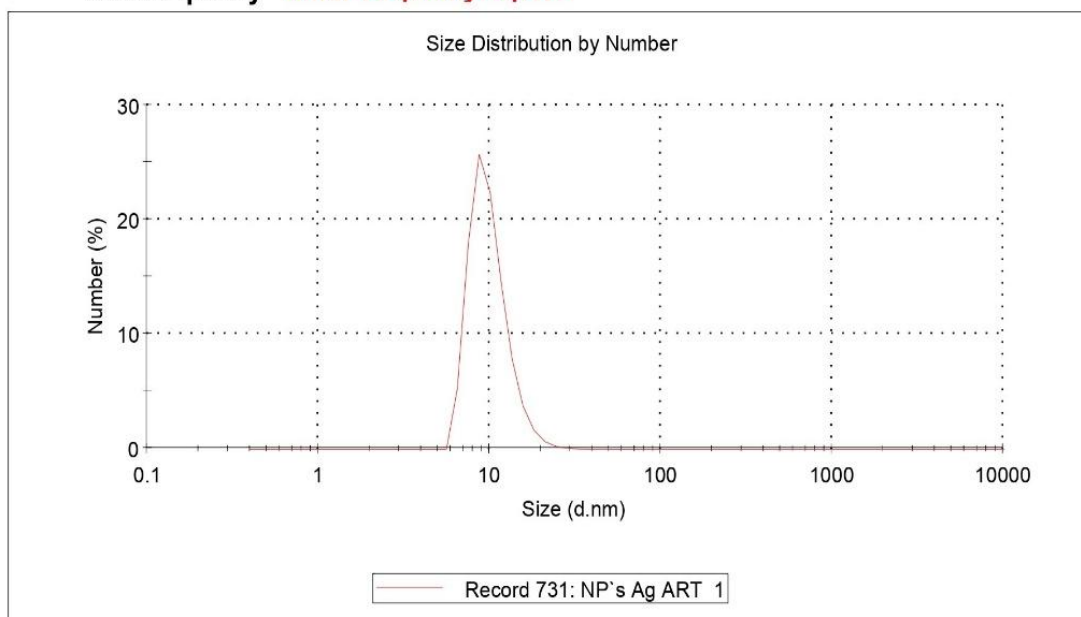


Fig. 1 Caracterización DLS de las nanopartículas de plata (AgNPs), que muestra el tamaño de 10,08 nm.

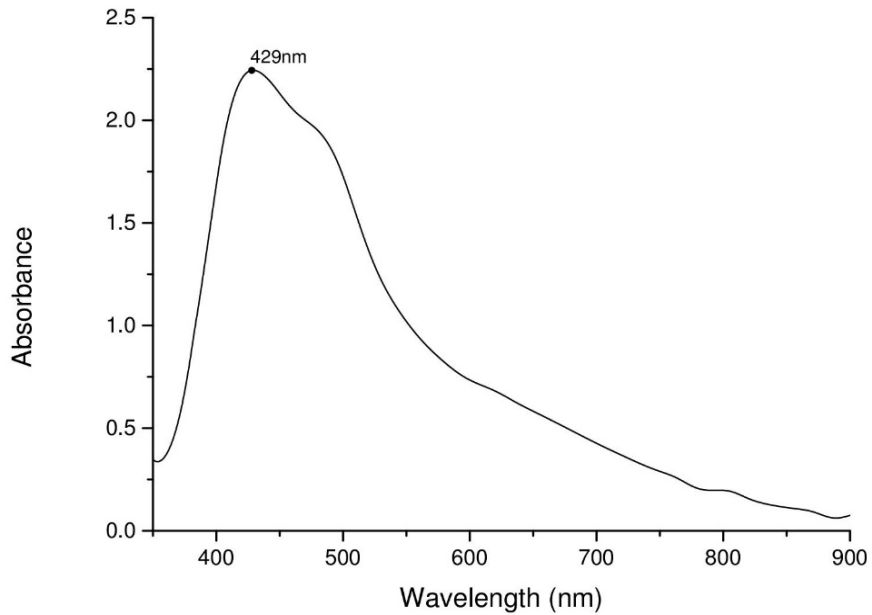


Fig. 2 Caracterización UV-Vis de nanopartículas de plata. Se observa el plasmón a 429 nm

Las nanopartículas de óxido de zinc se caracterizaron por DLS para observar un tamaño de nanopartícula de 14.98 nm con un potencial zeta de -19 mV. (Fig. 3)

Results

	Diam. (nm)	% Number	Width (nm)
Z-Average (d.nm): 147,0	Peak 1: 14,98	100,0	4,643
Pdl: 0,546	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,715	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

Result quality Good

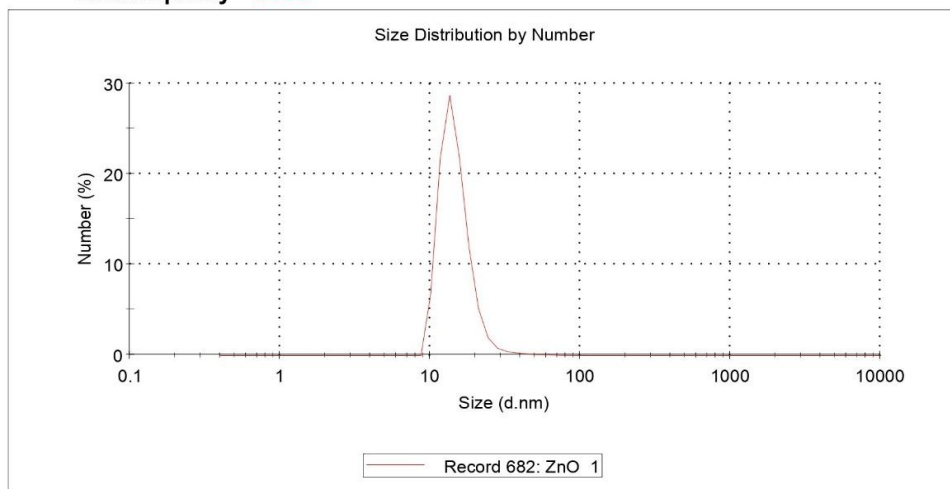


Fig. 3 Caracterización mediante DLS de ZnONPs, que muestra su tamaño (14,98 nm).

El polvo fue recuperado, pesado y guardado para su uso. Al observar el polvo por espectroscopía UV-Vis se registró un espectro de absorción con longitudes de onda entre 280 y 400 nm.

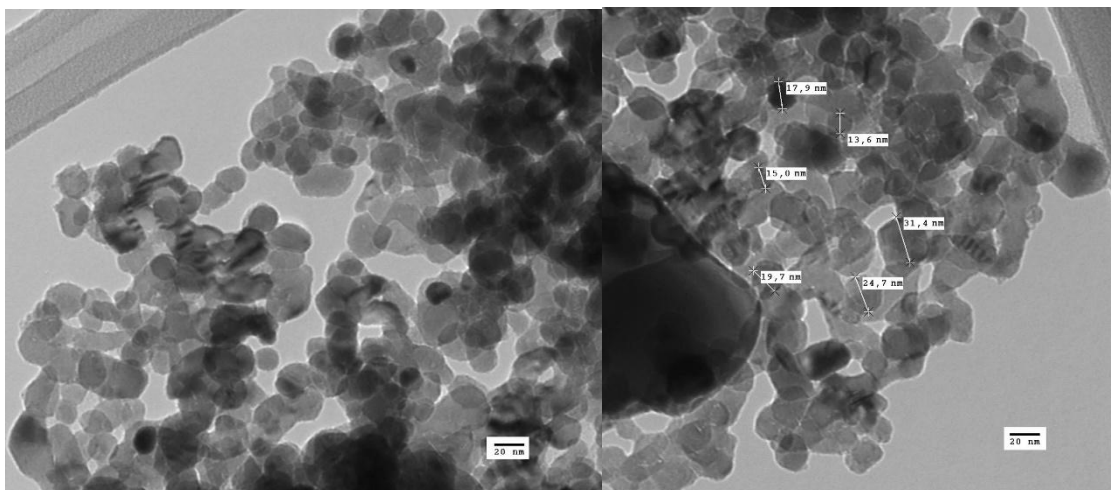


Fig. 4 Caracterización de las nanopartículas de ZnO mediante TEM. Las imágenes muestran la estructura y el tamaño nanométrico de las muestras.

Mediante la técnica de difracción de rayos X se obtuvieron los picos representativos de la estructura cristalina Wurzita, los principales planos de difracción encontrados en orden de intensidad fueron (101), (002), (100), (110), (103), (112) y (102) (Fig.5).

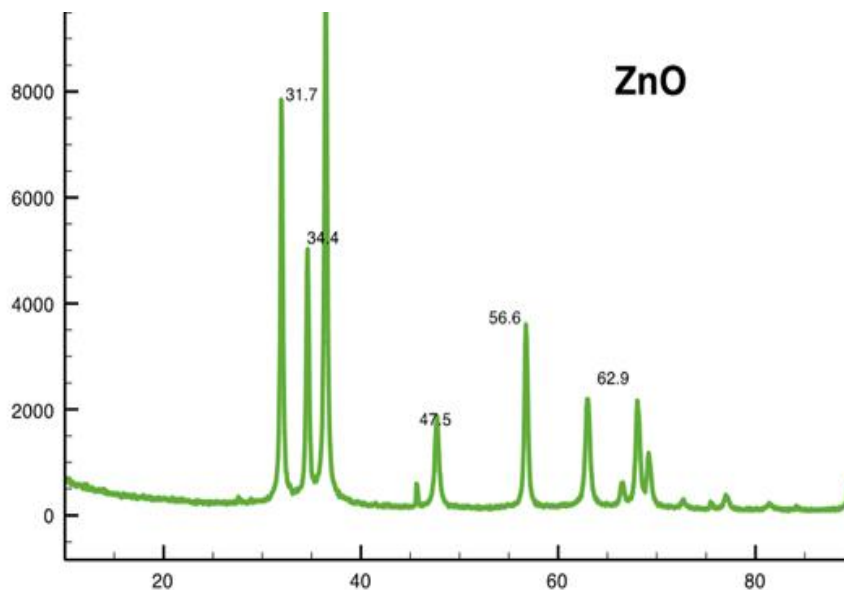


Fig. 5 Caracterización mediante difracción de rayos X de nanopartículas de óxido de zinc, que muestra picos representativos de una estructura cristalina de wurtzita.

Caracterización de la Pasta CTZ de México®.

El contenido de una cápsula de la pasta CTZ de México®, fue pesado y se realizaron diluciones para su caracterización por DLS, obteniendo un tamaño de partícula de 471.5 nm. Por espectroscopia de polvos, se observaron longitudes de onda entre 280 y 400 nm correspondientes al ZnO. Por microscopía electrónica de barrido (SEM) se observaron partículas de diferentes tamaños y formas irregulares (Fig. 6), pertenecientes a las partículas de ZnO tipo I y los antibióticos involucrados, con un porcentaje de peso para el O de 19.53%, y Zn de 80.47%.

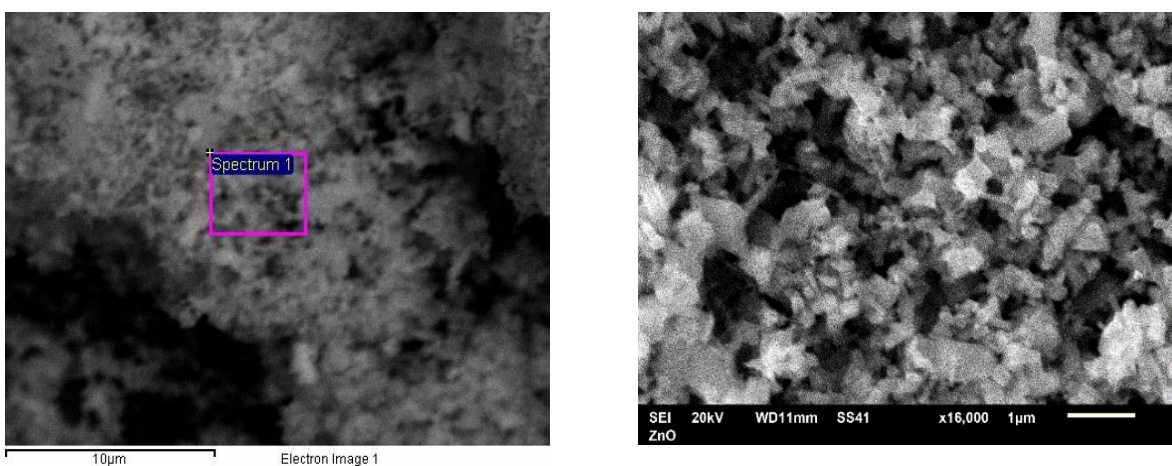


Fig. 6 Caracterización de la pasta CTZ de México® por SEM.

Preparación de la pasta Antibiótica con nanopartículas de plata y nanopartículas de óxido de zinc.

Se prepararon 100 mg de la pasta antibiótica modificada con la siguiente proporción: Tetraciclina (23%), Cloranfenicol (23%), Nanopartículas de Óxido de Zinc (50%), Nanopartículas de Plata (4%).

Pruebas microbiológicas en cepas ATCC.

Se obtuvieron 5 grupos experimentales con una concentración inicial que se observa en la tabla 1. Se realizaron las pruebas por microdilución para la obtención de la CMI y CMB de cada cepa utilizada. Los datos obtenidos se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3: Resultados del método de microdilución en cepas ATCC

Concentración mínima inhibitoria (CMI µg/mL) y Concentración mínima bactericida (CMB µg/mL)								
MUESTRA	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>S. mutans</i>	
	CMI	CM B	CMI	CM B	CMI	CM B	CMI	CM B
Nanopasta antibiótica (10%)	4.8 ±0	4.8 ±0	9.7 ±0	19.5 ±0	9.7 ±0	19. 5±0	39 ±0	39± 0
Pasta CTZ de México® (13%)	51 ±0	12± 0	12.8 ±0	12.8 ±0	25 ± 0	12. 8 ±0	12.8 ±0	25 ±0
Nanopartículas de Plata	1.6 ±0	1.6 ±0	1.6 ±0	1.6 ±0	3.3 ± 0	3.3 ±0	1.6 ±0	1.6 ±0
Nanopartículas de óxido de zinc	26 ±0	26 ±0	13 ±0	26 ±0	13 ±0	26 ±0	26 ±0	26 ±0
Nanopartículas de plata + nanopartículas de óxido de zinc	1.6/1 .6 ±0	0.83 /0.8 3 ±0	6.6/6 .6 ±0	3.34 /3.3 4 ±0	13/1 3 ±0	13/ 13 ±0	6.6/6 .6 ±0	13/ 13 ±0

Las concentraciones mínimas bactericidas (CMB) para la pasta AB (concentración al 10%) fueron mayores que para la pasta CTZ de México® (concentración al 13%) a excepción de la cepa *S. aureus*. Siendo de 4.8 µg/mL y 12 µg/mL para *S. aureus*, 19.5 µg/mL y 12.8 µg/mL para *E. coli*, 19.5 µg/mL y 12.8 µg/mL para *E. faecalis*, 39 µg/mL y 25 µg/mL para *S. mutans* respectivamente.

Para el Método Kirby Bauer (Fig.7), se observó que la concentración inicial (C1), tanto para la Nanopasta antibiótica (10%) como para la pasta CTZ de México® (13%), arrojó halos de inhibición de casi el 100%, por lo que se procedió a realizar diluciones al 7.5% para la concentración dos (C2), y 5% para la concentración tres (C3). Los resultados se muestran en la Tabla 4.

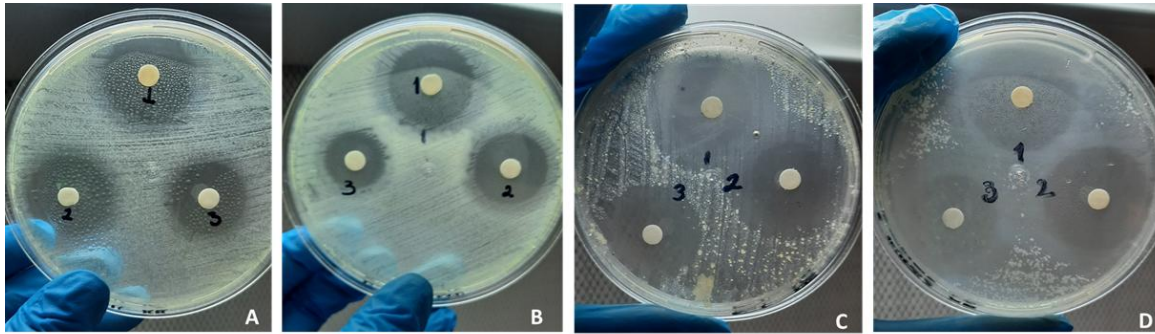


Fig. 7 Zonas de inhibición de la nanopasta en las tres concentraciones. A) *S. aureus*, B) *E. coli*, C) *E. faecalis*, D) *S. mutans*.

Tabla 4: Resultados para el método Kirby Bauer cepas ATCC

MUESTRA	Método Kirby Bauer (mm)											
	<i>S. aureus</i>			<i>E. coli</i>			<i>E. faecalis</i>			<i>S. mutans</i>		
	C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3
Nano pasta antibiótica (10%)	25	21	19	28	25	21	24	21	17	30	29	23
Pasta CTZ de México® (13%)	23	22	19	24	21	18	27	24	16	31	29	22
Nanopartículas de Plata	10	8	6	9	8	7	13	9	7	12	10	8
Nanopartículas de Óxido de zinc	*	*	*	*	*	*	*	*	*	18	8	*
Nanopartículas de plata + nanopartículas de óxido de zinc	9	8	6	11	6	5	10	8	7	10	8	6

*Inhibición al contacto.

Para cloranfenicol y tetraciclina: **Sensible, Intermedio, Resistente(31)**

Las cepas de *S. aureus*, *E. coli*, y *S. mutans* mostraron halos sensibles a las tres concentraciones para las dos pastas antibióticas (Nanopasta antibiótica y CTZ de México®), mientras que el *E. faecalis* mostró halos de sensibilidad para C1 y C2, mientras que para C3 mostró halos intermedios para ambas pastas.

Recolección y cultivo de muestras de *E. faecalis* salvaje

Un total de 30 muestras de *E. faecalis* fueron recuperadas de conductos necróticos temporales (Fig. 8). Dichas muestras fueron aisladas, cultivadas y caracterizadas como se describió en líneas anteriores. El 40% se recolectó de conductos radiculares órganos dentarios temporales de niñas y el 60% restante de niños, la media de edad fue de 5.52+/- 2.21 años, siendo el órgano dentario no. 51 el más frecuente. En relación con la causa de la necrosis pulpar el 96.6% correspondió a caries dental mientras que solo el 3.33% fue por un traumatismo frontal (Tabla 5).

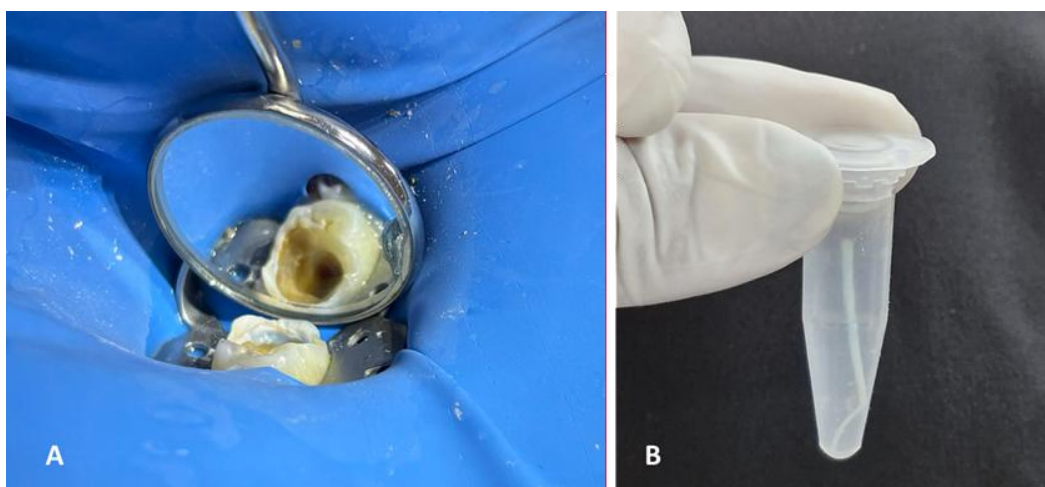


Fig. 8 A. Toma de muestra de tejido necrótico de un molar temporal. B. Punta de papel después de la toma de la muestra en la solución de transporte.

Tabla 5 Características demográficas de las muestras recolectadas

VARIABLE	N= 30
Sexo	
Femenino	43% (n=13)
Masculino	57% (n=17)

Edad	5.16+/- 2.24
Órgano dental	
75	17% (n=5)
74	13% (n=4)
85	9% (n=3)
84	13% (n=4)
54	6% (n=2)
64	3% (n=1)
51	19% (n=6)
52	6% (n=2)
61	9% (n=3)
62	6% (n=2)
Causa de la Necrosis pulpar	
Caries dental	96.66% (n=29)
Traumatismo dental	3.33% (n=1)

Caracterización del *E. faecalis* salvaje

Para la caracterización morfológica, se cultivaron las muestras en medio selectivo Agar Enterococccocel (Condalab®), observándose colonias redondeadas, pequeñas de 2 a 4mm de diámetro, elevadas de color blanquecino (Fig. 9).

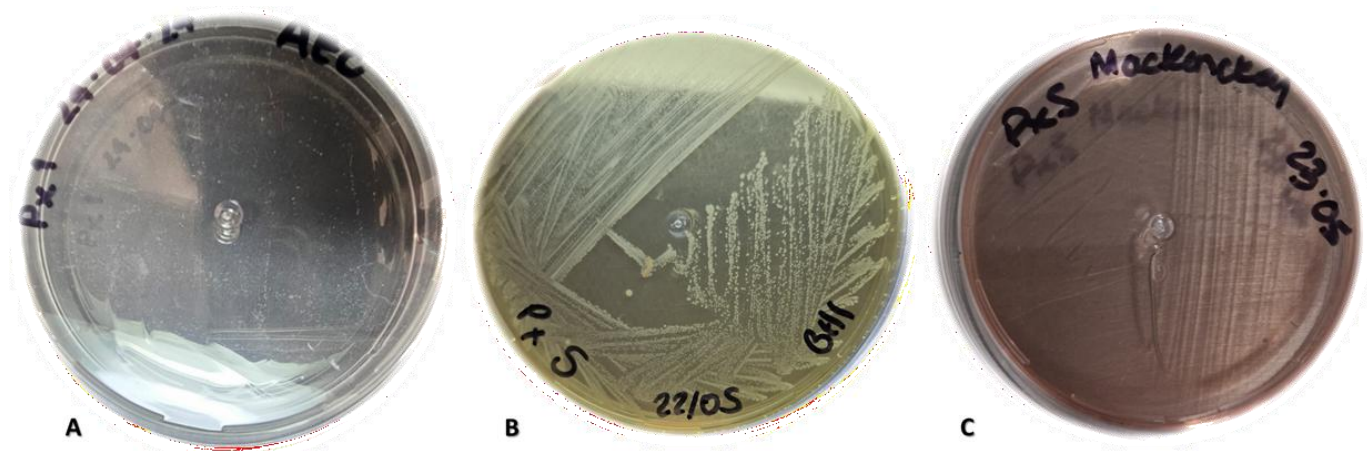


Fig. 9 A. *E. faecalis* aislada en agar selectivo, que se presenta en forma de colonias pequeñas (1-2 mm), de color blanco cremoso y elevadas. B. Cultivo de *E. faecalis* en medio BHI para su crecimiento. C. Crecimiento inhibido del microorganismo en agar MacConkey

Dichas colonias fueron sometidas en primera instancia a la tinción de Gram para observar su morfología microscópica y comprobar que fueran cocos Gram positivos (Fig. 10).

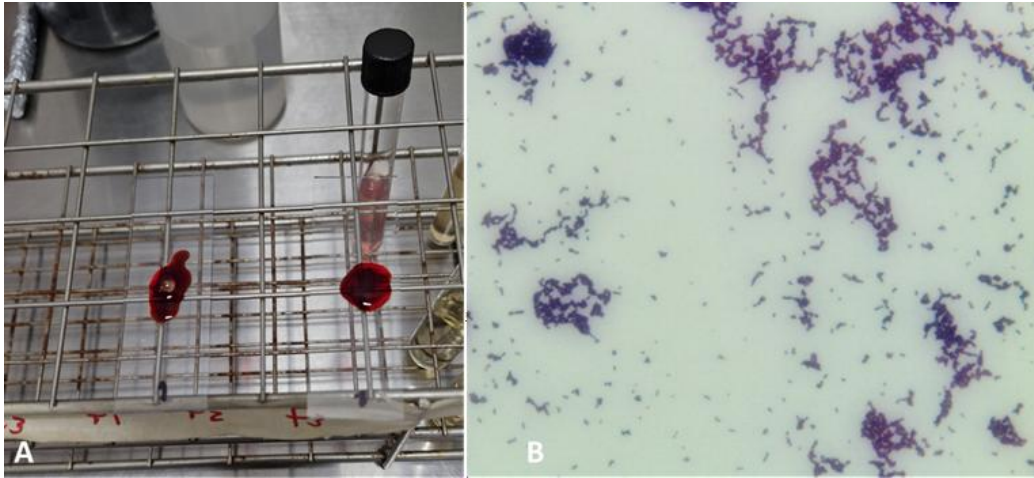


Fig. 10 A. Tinción de Gram: *E. faecalis* teñido con safranina. B. Muestras de *E. faecalis* observadas al microscopio con un aumento de 40x.

Posteriormente se aplicaron pruebas bioquímicas como la de la catalasa, la cual fue negativa para todas las muestras. Se realizaron pruebas de movilidad en medio SIM, resultando negativas, así como se cultivó en Agar MacConkey, siendo su cultivo negativo (Fig. 11). De tal manera pudimos comprobar que estábamos tratando con el *E. faecalis*. Se nutrieron en Agar BHI para tener un mayor crecimiento.

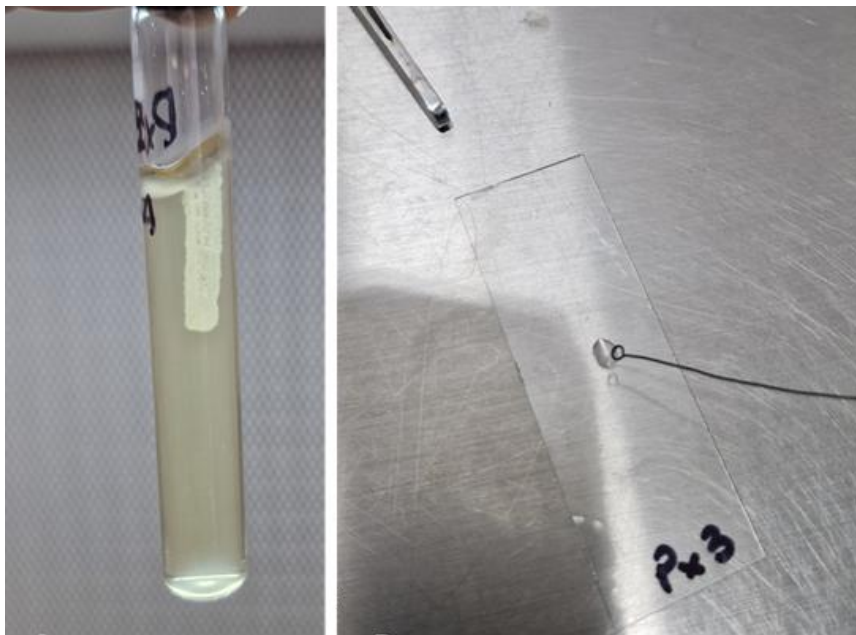


Fig. 11A. Motilidad negativa B. Catalasa negativa

Evaluación de la actividad antimicrobiana

Se evaluaron mediante el método de microdilución obteniendo la CMI y CMB de cada cepa bacteriana salvaje (Fig. 12 A). Del total de las cepas aisladas (N=30), se pudo observar variabilidad en su comportamiento ante las 4 pastas antibióticas probadas (Nanopasta antibiótica, Pasta AB, Pasta CTZ de México™, Pasta CTZ de México™ +AgNPs). Siendo la CMI y CMB más baja reportada de 0.488 µg/mL y la más alta de 250 µg/mL.

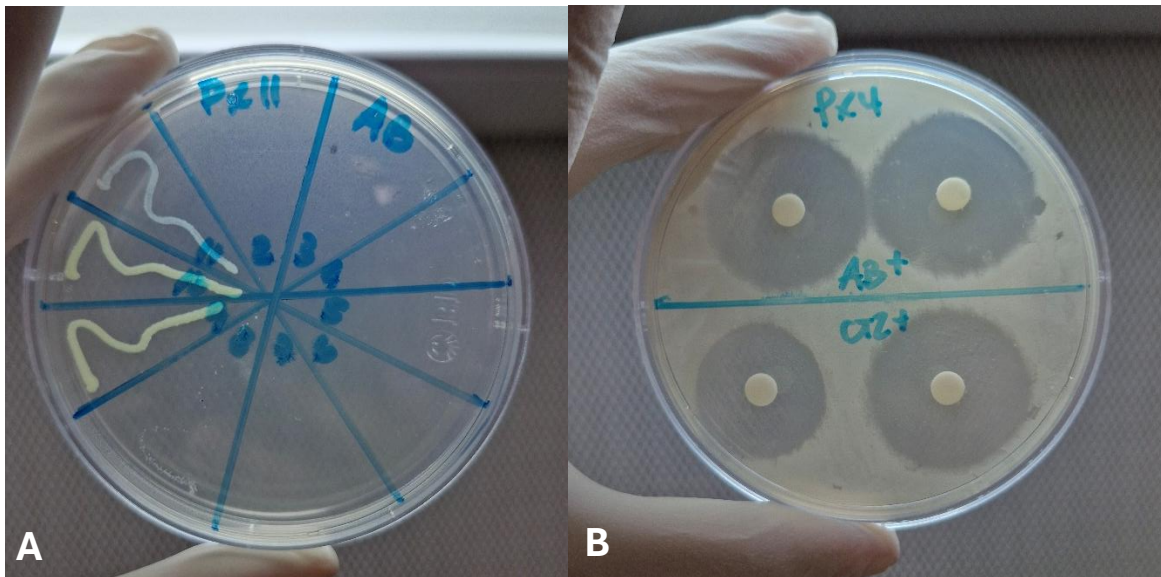


Fig. 12 A. CMB Paciente 11 de la pasta AB, estableciendo el punto de corte. B. Halos de inhibición de la Nanopasta antibiótica, y de la pasta CTZ de México™ + AgNPs

Para el método de Kirby Bauer pudimos observar la misma variabilidad observada en el método de microdilución (Fig.12 B). Obteniendo halos de hasta 37 mm para la cepa #7 al evaluar la Nanopasta antibiótica, y halos de 9 mm para la cepa #25 al evaluarla con la pasta CTZ de México™ + AgNPs.

La estadística descriptiva mostró fluctuaciones en la media del CMI entre las cuatro pastas, sin embargo, estas diferencias descriptivas no se tradujeron en diferencias estadísticamente significativas en los análisis post hoc. Por lo tanto, no existieron diferencias estadísticamente significativas entre las 4 pastas.

Análisis estadístico

El análisis de la actividad antimicrobiana de las cuatro pastas evaluadas mostró comportamientos diferenciados según el parámetro microbiológico considerado. Para los *halos de inhibición o método Kirby-Bauer*, el ANOVA de medidas repetidas reveló un efecto significativo del tratamiento ($F = 11.44$, $p < .001$, $\eta^2 = 0.283$), sin violación del supuesto de esfericidad (Mauchly's $W = 0.703$, $p = .083$). Los valores promedio indicaron que las formulaciones creadas en el laboratorio (Pasta AB y Nanopasta antibiótica, generaron los mayores halos (AB = 22.87 mm; Nanopasta = 22.75 mm), mientras que la Pasta CTZ de México™ y Pasta CTZ de México™ + AgNPs mostraron halos menores (20.75 mm y 20.23 mm, respectivamente). Las comparaciones post hoc confirmaron que la Pasta AB y la Nanopasta antibiótica produjeron halos significativamente mayores que Pasta CTZ de México™ y Pasta CTZ de México™ + AgNPs ($p < .05$), sin diferencias dentro de cada base ($p = 1.000$). Estos resultados indican que las formulaciones creadas en el laboratorio presentan mayor actividad inhibitoria, y que la adición de nanopartículas de plata no incrementa el halo en ninguna de las bases.

En cuanto al *método de microdilución*, en la *concentración mínima inhibitoria (CMI)*, el ANOVA de medidas repetidas mostró violación del supuesto de esfericidad (Mauchly's $W = 0.592$, $p = .013$), por lo que se aplicó la corrección de Greenhouse–Geisser. El efecto del tratamiento fue significativo ($F = 3.505$, $p = .030$, $\eta^2 = 0.108$). Los valores promedio de CMI fueron: P1 = 0.017, P2 = 0.015, P3 = 0.031 y P4 = 0.019. Sin embargo, las comparaciones post hoc con corrección de Bonferroni no identificaron diferencias significativas entre ninguna de las formulaciones ($p > .05$). Aunque se detectó un efecto global del tipo de pasta, este no se tradujo en diferencias pareadas.

Finalmente, para la *concentración mínima bactericida (CMB)*, el ANOVA de medidas repetidas también indicó violación del supuesto de esfericidad (Mauchly's $W = 0.537$, $p = .004$), aplicándose la corrección de Greenhouse–Geisser. No se observó un efecto significativo del tratamiento ($F = 1.846$, $p = .162$, $\eta^2 = 0.060$). Los valores promedio fueron: Pasta AB = 0.052, Nanopasta antibiótica = 0.048, Pasta CTZ de México™ = 0.074 y Pasta CTZ de México™ + AgNPs = 0.057. Las comparaciones

post hoc no mostraron diferencias entre ninguna de las pastas ($p > .05$), indicando que el tipo de formulación no influye de manera relevante en la CMB. En conjunto, los resultados muestran que las diferencias entre pastas se manifiestan únicamente en los halos de inhibición, donde las formulaciones creadas en el laboratorio presentan mayor actividad antimicrobiana. Ni la CMI ni la CMB evidenciaron diferencias significativas entre tratamientos.

DISCUSION

Diversos estudios han demostrado la eficacia clínica y radiográfica de la pasta CTZ como pasta antibiótica aplicada en la técnica LSTR (5, 11, 12). En el presente trabajo preparamos una pasta antibiótica conformada por tetraciclina y cloranfenicol la cual fue modificada al añadir nanopartículas de óxido de zinc y de plata con la finalidad de mejorar las propiedades originales de la pasta CTZ reportada por Soller y Capiello en 1959, y de las pastas comerciales disponibles en el mercado actual. La adición de las nanopartículas de óxido de zinc y plata a la fórmula original pretende disminuir el porcentaje utilizado de antibióticos y reducir efectos no deseados a corto, mediano y largo plazo; principalmente la persistencia de microorganismos en los conductos radiculares con la aparición de reinfecciones (abscesos o fistulas) y resorciones radiculares internas y/o externas que sugieren la presencia de células proinflamatorias en tejidos apicales causantes de dichas resorciones (1, 6). Khurana y cols., en el 2016 reportan una CMI de las nanopartículas de plata por sí solas vs el *S. aureus* de 75 $\mu\text{g/mL}$, observando una sinergia antimicrobiana al propiciar la absorción de la tetraciclina en las nanopartículas de plata sintetizadas incrementando su poder antimicrobiano medido por zonas de inhibición por el método de Kirby Bauer hasta un 346% (25), lo cual sugiere que la adición de este antibiótico con las nanopartículas de plata en nuestra pasta podría ser extremadamente beneficioso. Aunque los mecanismos específicos por los cuales la actividad bactericida aumenta aún no se encuentran claros, se cree que además de los mecanismos de acción sabidos de las nanopartículas de plata per se, las nanopartículas de plata internalizadas y los antibióticos inducen toxicidad por daño

celular mediado por especies reactivas de oxígeno (ROS) o debido a la reacción de oxidación catalizada por metales que podría denotar daños específicos a proteínas, membranas o ADN (25). En nuestro estudio, disminuimos la concentración inicial de los antibióticos un 4% asignando el mismo porcentaje a las nanopartículas de plata sintetizadas y caracterizadas. Además, con el óxido de zinc agregado a la pasta en un tamaño nanométrico (1-100 nm), se obtuvo mayor control y uniformidad sobre la morfología, tamaño y propiedades del compuesto, aspecto que las pastas comerciales no poseen ya que éstas utilizan óxido de zinc tipo I. Nuestra pasta antibiótica adicionada con nanopartículas aporta entonces, un control estricto sobre los componentes de la misma, tanto en cantidad, concentración y morfología, al poseer antibióticos de grado de pureza máximo y nanopartículas de plata (10 nm) y óxido de zinc (14 nm) sintetizados y caracterizados por distintos medios.

Uno de los principales problemas observados al revisar la literatura fue la diversidad de mezclas antibióticas existentes en la actualidad utilizadas en la técnica LSTR, y aunado a esta gran variedad, la aplicación de las pastas antibióticas sin tener un reporte previo o un estudio *in vitro* que justifique la dosis utilizada (5, 7, 12, 13, 32, 33). Estos estudios usualmente reportan la creación de la pasta basada en proporciones, algunos incluso sin control en su concentración y dosis, obteniendo el antibiótico directamente de la pastilla al retirar la capa entérica cuidando que se encuentren en partes iguales. Incluso en la pasta comercial CTZ de México®, pudimos constatar que cada cápsula tenía una variación en su peso, lo que nos hace pensar que su fabricación no está estandarizada al no tener la misma concentración en cada cápsula. En nuestro estudio los componentes fueron pesados de manera precisa estandarizando su uso en una concentración conocida (10%) de la cual se partió para poder determinar una concentración mínima inhibitoria y bactericida en primera instancia con las cepas ATCC, y posteriormente con el *E. faecalis* silvestre, información de la cual se puede partir para tener una dosis eficaz sin submedicar o sobremedicar al paciente. Lo anterior como un primer paso antes de aplicarlo de manera clínica en pacientes odontopediátricos.

Aunque la necrosis pulpar es una infección polimicrobiana con patógenos de amplio espectro, en ella podemos destacar al *E. faecalis*. Cocco gram positivo, anaerobio facultativo reconocido como el principal causante de las recidivas y fracasos en terapia pulpar tanto de dientes deciduos como permanentes; resistente a aminoglucósidos, aztreonam, cefalosporinas, clindamicina, penicilinas semisintéticas y trimetoprima con sulfametoxazol, además es capaz de sobrevivir a ambientes que para otras bacterias serían inhóspitos como pH altamente alcalino (34). Por lo anterior, en el presente estudio utilizamos para la estandarización de la evaluación microbiológica y la concentración de la nanopasta antibiótica, 4 cepas bacterianas ATCC, que correspondieron a *E. faecalis*, por sus implicaciones ya citadas, *S. aureus*, *S. mutans*, y *E. Coli*, bacterias reconocidas por su patogenicidad y relevancia microbiológica al causar infecciones importantes en el cuerpo humano, sugiriendo que si nuestra pasta muestra una eficacia antimicrobiana para estas bacterias estaríamos cubriendo otras cepas bacterianas con características similares. Los resultados obtenidos con las cepas ATCC por el método de microdilución muestran CMI muy similares para la pasta comercial CTZ de México® y la nanopasta antibiótica, mientras que de manera general a excepción del *S. aureus*, las CMB que se reportan son menores para la pasta CTZ de México® (véase Tabla 2), sin embargo, es importante recordar que la concentración inicial (C1) de la pasta comercial fue de 13% en comparación con la nano pasta antibiótica que fue del 10%. Lo anterior debido a que usamos el contenido total de la cápsula de la pasta CTZ de México® ya que es la dosis propuesta por el fabricante, además debemos recordar que la nanopasta contenía 4% menos antibiótico que la comercial. Para el método Kirby Bauer se utilizaron 3 concentraciones (C1 basal, 7.5% y 5%) y ambas pastas mostraron halos sensibles e intermedios para los componentes antibióticos tetraciclina y cloranfenicol (31), las cepas de *S. aureus*, *E. coli*, y *S. mutans* mostraron halos sensibles a las tres concentraciones para las dos pastas antibióticas (Pasta AB y CTZ de México®), mientras que el *E. faecalis* mostró halos de sensibilidad para C1 y C2, y para C3 mostró halos intermedios para ambas pastas, sugiriendo que por el método Kirby Bauer, el comportamiento de

ambas pastas antibióticas fue muy similar, reportando misma actividad antimicrobiana.

La estandarización de los métodos de evaluación antimicrobiana arrojó datos importantes que permitieron sentar las bases para la evaluación de las cepas silvestres. Se recolectaron un total de 30 muestras de *E. faecalis* de conductos necróticos de dientes temporales, las cuales fueron aisladas en medios selectivos y guardadas hasta su uso en medio CTA. De manera inicial, la concentración utilizada para las cepas silvestres correspondió al 10% para ambas pastas, sin embargo, al realizar los experimentos iniciales, se observó una actividad antimicrobiana mayor que la reportada por las cepas ATCC. Estudios recientes, mencionan que las cepas naturales o silvestres presentan una variabilidad genética considerablemente mayor que las cepas de referencia ATCC, debido a que están sometidas a procesos evolutivos activos como mutación, recombinación, transferencia horizontal de genes y presión ambiental constante. En contraste, las cepas ATCC son líneas estandarizadas, seleccionadas y estabilizadas en laboratorio; lo anterior significa que poseen genomas más homogéneos, muestran menor variabilidad fenotípica, y presentan perfiles de sensibilidad antimicrobiana más consistentes. La literatura reciente confirma que en general las cepas ATCC suelen ser más sensibles a los antimicrobianos porque no han estado expuestas a presiones ambientales reales, mientras que las cepas silvestres pueden haber adquirido genes de resistencia en plásmidos, mutaciones adaptativas, bombas de eflujo más activas, o mecanismos de tolerancia inducidos por estrés ambiental (35). En nuestro estudio, ocurrió a la inversa, las cepas silvestres mostraron mayor sensibilidad antimicrobiana, de tal manera que la concentración final de las pastas fue del 1%, comparada con las cepas ATCC que fue a partir de una concentración al 10%. Dichos datos sugieren una gran variabilidad genética de las cepas bacterianas, tomando en cuenta que la edad de los pacientes de donde fueron recuperados fue en promedio de 5.5 años representando a una población infantil con poca memoria y exposición bacteriana. Shane y cols. (2017), sugieren en un ensayo clínico controlado, que los niños tienen microbiotas más sensibles a los antibióticos, esto porque las bacterias que los colonizan no han sido seleccionadas para resistir antibióticos (36, 37). Por lo tanto,

sus cepas salvajes tienden a ser más susceptibles, coincidiendo con lo observado en nuestro estudio.

Los resultados obtenidos permiten evaluar de manera integral la actividad antimicrobiana de las cuatro pastas analizadas mediante tres parámetros complementarios: Método Kirby Bauer o halos de inhibición, CMI y CMB. Un aspecto metodológico relevante es que la nanopasta antibiótica la cual incorporó nanopartículas de plata fue preparada con un 4% menos de antibiótico que el resto de las pastas probadas. Diversos estudios han demostrado que incluso reducciones pequeñas en la concentración del antibiótico pueden modificar de manera significativa su actividad inhibitoria y bactericida. Andrews y cols., (2001) señala que la CMI es altamente sensible a variaciones mínimas en la concentración del fármaco, especialmente en antibióticos con mecanismos dependientes de concentración (38). De forma similar, Ocampo y cols. (2014) demostraron que reducciones subinhibitorias de antibióticos β -lactámicos pueden alterar la eficacia bactericida y favorecer respuestas fenotípicas distintas (39). Además, investigaciones recientes han confirmado que pequeñas disminuciones en la concentración efectiva del antibiótico pueden reducir la potencia antimicrobiana al modificar la cinética de unión a sus dianas celulares (40, 41); sin embargo, en nuestro estudio la disminución de los antibióticos no fue relevante en su desempeño microbiológico, sugiriendo que la adición de las nanopartículas de plata principalmente fue efectiva.

El análisis del método Kirby Bauer o bien halos de inhibición mostró diferencias significativas entre las pastas, con mayor actividad para la pasta AB y la nanopasta antibiótica. Sin embargo, no se observaron diferencias entre ellas, ni entre la pasta CTZ de México® y su homóloga con nanopartículas de plata. La ausencia de disminución en el halo sugiere que la presencia de nanopartículas pudo compensar la reducción del antibiótico, manteniendo la actividad inhibitoria en niveles comparables. Estudios recientes han documentado que las nanopartículas de plata pueden potenciar la permeabilidad de la membrana bacteriana y favorecer la

entrada del antibiótico, incluso cuando este se encuentra en menor concentración (42, 43)

Con relación al Método de microdilución, para la concentración mínima inhibitoria (CMI), aunque el análisis estadístico mostró diferencias significativas, los análisis post hoc no identificaron diferencias entre pares. Esto sugiere que, en términos de concentración mínima necesaria para inhibir el crecimiento, las pastas con nanopartículas lograron mantener una eficacia comparable a pesar de contener menos antibiótico. La literatura indica que las nanopartículas pueden reducir la CMI de ciertos antibióticos al alterar la integridad de la membrana bacteriana o interferir con sistemas antioxidantes (42, 43). Los valores de CMB tampoco mostraron diferencias significativas entre las pastas. Esto indica que la capacidad bactericida se mantuvo estable incluso cuando la concentración del antibiótico se redujo en 4% en las formulaciones con nanopartículas.

Estudios recientes han señalado que la acción bactericida de las nanopartículas depende de la liberación de iones Ag^+ , la cual puede verse limitada por la matriz del vehículo o por interacciones con componentes orgánicos (44), esto podría explicar por qué las nanopartículas no generaron un efecto bactericida adicional. La literatura reciente coincide en que la sinergia antibiótica–nanopartículas no es universal y depende de múltiples factores fisicoquímicos que podrían no haberse optimizado en esta formulación. En conjunto, los resultados indican que las pastas con nanopartículas mantienen una actividad antimicrobiana comparable a las pastas sin nanopartículas, a pesar de contener menos antibiótico, lo cual puede ser relevante para el diseño de formulaciones más seguras o con menor carga farmacológica.

CONCLUSIONES

1. Las pastas antibióticas evaluadas mostraron actividad antimicrobiana comparable, tanto en CMI como en CMB, sin diferencias estadísticamente significativas entre formulaciones. Esto indica que, bajo las condiciones

experimentales utilizadas, todas las pastas poseen una eficacia inhibitoria y bactericida similar frente a las cepas analizadas.

2. En el análisis de halos de inhibición, la pasta antibiótica y la nanopasta antibiótica, presentaron diámetros significativamente mayores que la pasta CTZ de México®.
3. En conjunto, los resultados sugieren que, si bien las nanopartículas de plata no aumentaron la potencia antimicrobiana, sí permiten mantener la eficacia incluso con una menor concentración de antibiótico, lo cual abre la posibilidad de desarrollar formulaciones con menor carga farmacológica sin comprometer su desempeño.
4. Finalmente, el estudio demuestra la importancia de evaluar la actividad antimicrobiana mediante múltiples parámetros (halo de inhibición, CMI, CMB), ya que la difusión en agar no siempre refleja la potencia inhibitoria o bactericida real del antimicrobiano.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sijini OT, Sabbagh HJ, Baghlaf KK, Bagher AM, El-housseiny AA, Alamoudi NM, et al. Clinical and radiographic evaluation of triple antibiotic paste pulp therapy compared to Vitapex pulpectomy in non-vital primary molars. *Clin Exp Dent Res*. octubre de 2021;7(5):819–28. doi:10.1002/cre2.434
2. Aparna Achanta, Amit Reche, Rishika Dakhale, Rudra R. Bharate. A Comprehensive Review of Lesion Sterilization and Tissue Repair: An Alternative for Pulpectomy in Deciduous Teeth. 11/03/2023. el 3 de noviembre de 2023;15(11):7.
3. Portes Zeno AP, Marañon-Vásquez GA, Guimarães Primo L, Braga Pintor AV, De Castro Costa M. Pasta CTZ para abordaje endodóncico de dientes primarios: Una revisión narrativa de la literatura. *Rev Odontopediatría Latinoam*. el 7 de marzo de 2022;12(1). doi:10.47990/alop.v12i1.218
4. Sain S, J R, S A, George S, Issac JS, John SA. Lesion Sterilization and Tissue Repair—Current Concepts and Practices. *Int J Clin Pediatr Dent*. octubre de 2018;11(5):446–50. doi:10.5005/jp-journals-10005-1555
5. Garrocho-Rangel A, Jalomo-Ávila C, Rosales-Berber MÁ, Pozos-Guillén A. Lesion Sterilization Tissue Repair (LSTR) Approach Of Non-Vital Primary Molars With A Chloramphenicol-Tetracycline-ZOE Antibiotic Paste: A Scoping Review. *J Clin Pediatr Dent*. el 1 de diciembre de 2021;45(6):369–75. doi:10.17796/1053-4625-45.6.1
6. Chouchene F, Masmoudi F, Baaziz A, Maatouk F, Ghedira H. Antibiotic Mixtures in Noninstrumental Endodontic Treatment of Primary Teeth with Necrotic Pulps: A Systematic Review. Nuvvula S, editor. *Int J Dent*. el 27 de mayo de 2021;2021:1–12. doi:10.1155/2021/5518599
7. Dhakshinamoorthy S, Jayakaran TG, Bommareddy CS. Comparison of Modified Triple Antibiotic Paste in Two Concentrations for Lesion Sterilization and Tissue Repair in Primary Molars: An In Vivo Interventional Randomized Clinical Trial. *Int J Clin Pediatr Dent*. el 29 de septiembre de 2021;14(3):388–92. doi:10.5005/jp-journals-10005-1951

8. Parakh K, Shetty RM. Evaluation of Paste Containing Gentamicin, Amoxicillin and Metronidazole in Endodontic Treatment of Primary Molars in Vivo. *Chin J Dent Res.* el 28 de febrero de 2019;22(1):57–64. doi:10.3290/j.cjdr.a41776
9. Portenier I, Waltimo T, Haapasalo M. Enterococcus faecalis-the Root Canal Survivor and ‘Star’ in Post-Treatment Disease. *Endod Top.* el 1 de noviembre de 2003;6:135–59. doi:10.1111/j.1601-1546.2003.00040.x
10. Mahmoudpour A, Rahimi S, Sina M, Soroush MH, Shahisa S, Asl-Aminabadi N. Isolation and identification of Enterococcus faecalis from necrotic root canals using multiplex PCR. *J Oral Sci.* 2007;49(3):221–7. doi:10.2334/josnurd.49.221
11. Santos PS, Oliveira NMD, Ramos T, Dornellas AP, Rocha ADO, Vitali FC, et al. Efficacy of the non-instrumentation endodontic treatment with CTZ paste in primary molars: Protocol of a multicenter randomized clinical trial with two years of follow-up. *Res Soc Dev.* el 1 de diciembre de 2022;11(16):e111111637140. doi:10.33448/rsd-v11i16.37140
12. Luengo Ferreira J, Ramos Medina A, Hernández Montoya ME, Díaz Rosas CY, Medrano LEC, Toscano García I. Efectividad Clínica y Radiográfica de la Pasta Antibiótica CTZ en Pulpotomías de Molares Primarios: Ensayo Clínico Aleatorio Controlado. *Int J Odontostomatol.* diciembre de 2016;10(3):425–31. doi:10.4067/S0718-381X2016000300008
13. Almarji W, Laflouf M, Tolibah YA. Evaluation of the modified 3Mix-Simvastatin combination in non-instrumental endodontic therapy of necrotic primary molars: A two-arm randomized controlled trial. *Clin Exp Dent Res.* abril de 2024;10(2):e860. doi:10.1002/cre2.860
14. Campos V, Huerta O, Chaires L. Nanoparticulas de plata y su aplicación en estomatología. Vol. 15. el 11 de enero de 2019;15:12–5.
15. Song W, Ge S. Application of Antimicrobial Nanoparticles in Dentistry. *Molecules.* el 14 de marzo de 2019;24(6). doi:10.3390/molecules24061033

16. Torrenegra-Alarcón M, Ortega-Toro R, Herrera-Barros A. Recent advances in the use of nanomaterials with antimicrobial capacity [Internet]. el 17 de febrero de 2021. doi:10.5281/ZENODO.4544021
17. Wang L, Hu C, Shao L. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *Int J Nanomedicine*. el 14 de febrero de 2017;12:1227–49. doi:10.2147/IJN.S121956 PubMed PMID: 28243086.
18. Lövestam G, Rauscher H, Roebben G, Klüttgen, BS, Gibson N, Putaud JP, et al. Considerations on a definition of nanomaterial for regulatory purposes [Internet]. LU: Publications Office; 2010 [citado el 11 de octubre de 2024]. Disponible en: <https://data.europa.eu/doi/10.2788/98686>
19. Song W, Ge S. Application of Antimicrobial Nanoparticles in Dentistry. *Molecules*. el 15 de marzo de 2019;24(6):1033. doi:10.3390/molecules24061033 PubMed PMID: 30875929; PubMed Central PMCID: PMC6470852.
20. Raura N, Garg A, Arora A, Roma M. Nanoparticle technology and its implications in endodontics: a review. *Biomater Res*. el 4 de diciembre de 2020;24:21. doi:10.1186/s40824-020-00198-z PubMed PMID: 33292702; PubMed Central PMCID: PMC7716480.
21. De Almeida J, Cechella B, Bernardi A, De Lima Pimenta A, Felipe W. Effectiveness of nanoparticles solutions and conventional endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilm. *Indian J Dent Res*. 2018;29(3):347. doi:10.4103/ijdr.IJDR_634_15
22. Bhandi S, Mehta D, Mashyakhy M, Chohan H, Testarelli L, Thomas J, et al. Antimicrobial Efficacy of Silver Nanoparticles as Root Canal Irrigant's: A Systematic Review. *J Clin Med*. el 10 de marzo de 2021;10(6):1152. doi:10.3390/jcm10061152
23. Carrouel F, Viennot S, Ottolenghi L, Gaillard C, Bourgeois D. Nanoparticles as Anti-Microbial, Anti-Inflammatory, and Remineralizing Agents in Oral Care Cosmetics: A Review of the Current Situation. *Nanomaterials*. el 13 de enero de 2020;10(1):140. doi:10.3390/nano10010140 PubMed PMID: 31941021; PubMed Central PMCID: PMC7022934.

24. Figueiras AL, Paschoal D, Dos Santos HF, Sant'Ana AC. Adsorption study of antibiotics on silver nanoparticle surfaces by surface-enhanced Raman scattering spectroscopy. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* el 5 de febrero de 2015;136:979–85. doi:10.1016/j.saa.2014.09.120
25. Khurana C, Vala AK, Andhariya N, Pandey OP, Chudasama B. Influence of antibiotic adsorption on biocidal activities of silver nanoparticles. *IET Nanobiotechnol.* abril de 2016;10(2):69–74. doi:10.1049/iet-nbt.2015.0005
26. Bruniera JFB, Gabriel-Silva L, Goulart RS, Silva-Sousa YTC, Lara MG, Pitondo-Silva A, et al. Green Synthesis, Characterization and Antimicrobial Evaluation of Silver Nanoparticles for an Intracanal Dressing. *Braz Dent J.* septiembre de 2020;31(5):485–92. doi:10.1590/0103-6440202003897
27. Abebe B, Zereffa EA, Tadesse A, Murthy HCA. A Review on Enhancing the Antibacterial Activity of ZnO: Mechanisms and Microscopic Investigation. *Nanoscale Res Lett.* diciembre de 2020;15(1):190. doi:10.1186/s11671-020-03418-6
28. Mendes CR, Dilarri G, Forsan CF, Sapata VDMR, Lopes PRM, De Moraes PB, et al. Antibacterial action and target mechanisms of zinc oxide nanoparticles against bacterial pathogens. *Sci Rep.* el 16 de febrero de 2022;12(1):2658. doi:10.1038/s41598-022-06657-y
29. Martínez-Castañón GA, Nino N, Martínez-Gutiérrez F, Martinez JR, Ruiz F. Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles with different sizes. *J Nanoparticle Res.* el 1 de diciembre de 2008;10:1343–8. doi:10.1007/s11051-008-9428-6
30. M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. [Internet]. [citado el 4 de enero de 2025]. Disponible en: <https://www.standards-global.com/wp-content/uploads/pdfs/preview/2247002>
31. Yelle S, Mascarenhas J. Detection of ESBL Producing Gram-Negative Bacteria in Public Drinking Water Sources from South Mumbai. el 1 de marzo de 2020;288–300.

32. Chakraborty B, Nayak A, Rao A. Efficacy of lesion sterilization and tissue repair in primary tooth with internal resorption: A case series. *Contemp Clin Dent*. 2018;9(6):361. doi:10.4103/ccd.ccd_243_18
33. Sobral APT, Santos EM, Leal Gonçalves ML, Ferri EP, Junior WSB, Gimenez T, et al. Efficacy of antibiotic and iodoform pastes in non-instrumental endodontic treatment of anterior primary teeth—Protocol for a randomized controlled clinical. Muniz FWMG, editor. *PLOS ONE*. el 8 de septiembre de 2023;18(9):e0291133. doi:10.1371/journal.pone.0291133
34. Pardi G, Guilarte C, Cardozo EI, Briceño EN. Detección de enterococcus faecalis en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. *Acta Odontológica Venez*. marzo de 2009;47(1):110–21.
35. Park H, Kim JS, Kim DJ, Suk KT. Strain Diversity in the Human Microbiome: Personal Variation, Pathobionts, Therapeutics, and Methodological Challenges. *Microorganisms*. el 23 de marzo de 2026;14(3):720. doi:10.3390/microorganisms14030720
36. Doan T, Arzika AM, Ray KJ, Cotter SY, Kim J, Maliki R, et al. Gut Microbial Diversity in Antibiotic-Naive Children After Systemic Antibiotic Exposure: A Randomized Controlled Trial. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. el 1 de mayo de 2017;64(9):1147–53. doi:10.1093/cid/cix141 PubMed PMID: 28402408; PubMed Central PMCID: PMC5849050.
37. Shane AL, Mody RK, Crump JA, Tarr PI, Steiner TS, Kotloff K, et al. 2017 Infectious Diseases Society of America Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Infectious Diarrhea. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. el 19 de octubre de 2017;65(12):e45–80. doi:10.1093/cid/cix669 PubMed PMID: 29053792; PubMed Central PMCID: PMC5850553.
38. Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. *J Antimicrob Chemother*. el 1 de julio de 2001;48(suppl_1):5–16. doi:10.1093/jac/48.suppl_1.5 PubMed PMID: 11420333.

39. Ocampo PS, Lázár V, Papp B, Arnoldini M, Abel zur Wiesch P, Busa-Fekete R, et al. Antagonism between bacteriostatic and bactericidal antibiotics is prevalent. *Antimicrob Agents Chemother.* agosto de 2014;58(8):4573–82. doi:10.1128/AAC.02463-14 PubMed PMID: 24867991; PubMed Central PMCID: PMC4135978.
40. Yu W, Hallinen KM, Wood KB. Interplay between Antibiotic Efficacy and Drug-Induced Lysis Underlies Enhanced Biofilm Formation at Subinhibitory Drug Concentrations. *Antimicrob Agents Chemother.* enero de 2018;62(1):e01603-17. doi:10.1128/AAC.01603-17 PubMed PMID: 29061740; PubMed Central PMCID: PMC5740344.
41. Greulich P, Scott M, Evans MR, Allen RJ. Growth-dependent bacterial susceptibility to ribosome-targeting antibiotics. *Mol Syst Biol.* el 19 de marzo de 2015;11(3):0796. doi:10.15252/msb.20145949 PubMed PMID: 26146675; PubMed Central PMCID: PMC4380930.
42. Deng H, McShan D, Zhang Y, Sinha SS, Arslan Z, Ray PC, et al. Mechanistic Study of the Synergistic Antibacterial Activity of Combined Silver Nanoparticles and Common Antibiotics. *Environ Sci Technol.* el 16 de agosto de 2016;50(16):8840–8. doi:10.1021/acs.est.6b00998 PubMed PMID: 27390928; PubMed Central PMCID: PMC5300770.
43. Masadeh MM, Bany-Ali NM, Khanfar MS, Alzoubi KH, Masadeh MM, Al Momany EM. Synergistic Antibacterial Effect of ZnO Nanoparticles and Antibiotics against Multidrug-resistant Biofilm Bacteria. *Curr Drug Deliv.* 2025;22(1):92–106. doi:10.2174/0115672018279213240110045557 PubMed PMID: 38231065.
44. More PR, Pandit S, Filippis AD, Franci G, Mijakovic I, Galdiero M. Silver Nanoparticles: Bactericidal and Mechanistic Approach against Drug Resistant Pathogens. *Microorganisms.* el 31 de enero de 2023;11(2). doi:10.3390/microorganisms11020369

ANEXO 1: Consentimiento informado
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA

Con fundamento en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, título segundo. Capítulo I. De los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos. Artículo 17, fracción II. Artículos 20 y 22. Título Quinto, Capítulo único. Investigación para la Salud. Artículo 100, fracción IV, Artículo 102 y 103. NOM 012-SSA3-2012. Que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos en sus numerales 10.6, 10.7 y 10.8. NOM 004-SSA3-2012 del expediente clínico en su numeral 4.2.

SAN LUIS POTOSÍ, S.L.P. A ____ DE _____ DEL 20__.

Por _____ medio _____ de _____ la presente, yo, _____ representante legal y/o como de _____ acepto libre y voluntariamente participar en el proyecto de investigación que se realiza en el Doctorado en Ciencias Odontológicas de la Facultad de Estomatología de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, titulado **“Incorporación de nanopartículas de óxido de zinc y plata a una pasta antibiótica compuesta por cloranfenicol, tetraciclina y su eficacia microbiológica vs *E. faecalis*”**. El objetivo principal de esta investigación es incorporar nanopartículas de óxido de zinc y plata a una pasta antibiótica compuesta por cloranfenicol, tetraciclina evaluando su eficacia microbiológica contra *E. faecalis* recuperado de conductos necróticos de dientes temporales.

Declaro que se me ha informado en forma verbal y sin presión alguna, de manera amable, sencilla, clara y completa sobre los posibles inconvenientes y beneficios derivados de mi participación en este proyecto, el cual consiste en:

1. Aplicación de un cuestionario sobre datos personales y médicos.
2. Toma de muestra de tejido necrótico del conducto radicular (tejido de desecho).

Sé que la participación en la toma de muestra de este estudio no representará un riesgo y conservo el derecho de retirarme del estudio en el momento que considere conveniente, sin que ello afecte la atención que reciba.

Se me ha dado toda la seguridad de que no me identificaré en las publicaciones que deriven del estudio y que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma CONFIDENCIAL.

Tengo el conocimiento de que la información y los datos recopilados serán utilizados con fines científicos y se respetará la identidad de los pacientes.

Por lo anterior, firmo al margen y alcance para constancia y efectos que haya lugar.

Nombre y firma del tutor del participante en el estudio:

Teléfono: _____

Nombre y firma de testigo 1: _____

Teléfono: _____

Nombre y firma de testigo 2: _____

Teléfono: _____ -

Daniela Guzmán Uribe

Investigador

Facultad de Estomatología, UASLP