





Caracterización de un nuevo material basado en nanoclústeres de plata sintetizados en ácido polimetacrílico para la infiltración de estructuras dentarias afectadas por caries*

Characterization of a new material based on silver nanoclusters synthesized in polymethacrylic acid for the infiltration of dental structures affected by caries

Caracterização de um novo material à base de nanoclústeres de prata sintetizados em ácido polimetacrílico para a infiltração de estruturas dentárias afetadas por cárie

 **María Belén Cabalén**¹,
 **Gustavo Ariel Pino**^{2,3},
 **Juan Pablo Aranguren**^{2,3},
 **Gustavo Fabian Molina**^{1,2}

¹ Universidad Católica de Córdoba, Facultad de Ciencias de la Salud. Córdoba, Argentina.

² Universidad Nacional de Córdoba, Centro Láser de Ciencias Moleculares. Córdoba, Argentina.

³ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Instituto de Investigaciones en Físico-Química de Córdoba (INFIQC). Córdoba, Argentina.

RESUMEN

Objetivo: Caracterizar las propiedades físicas y biológicas de una solución de nanoclústeres de plata (AgNcls) sintetizados en ácido polimetacrílico (PMAA) para la infiltración de estructuras dentarias afectadas por caries.

Materiales y métodos: Se sintetizaron AgNcls en PMAA mediante fotorreducción de AgNO_3 . Las propiedades físicas evaluadas fueron: cambio de color (por espectrofotómetro), resistencia adhesiva al corte (SBS) del cemento ionómero de vidrio (GIC) a la dentina desmineralizada, dureza superficial (medida con la prueba de dureza Vickers) y profundidad de penetración del ion plata (rastreada mediante microscopía electrónica de barrido con espectroscopía de energía dispersiva de rayos X [SEM-EDS]). Las propiedades biológicas incluyeron el efecto antibacteriano (concentración inhibitoria mínima [CIM], concentración bactericida mínima [CBM] y recuento de unidades formadoras de colonias [UFC]) en *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*, y la citotoxicidad en células pulpares (mediante ensayo MTT). Se usó fluoruro diamino de plata (SDF) al 38 % como referencia y se aplicaron análisis estadísticos específicos. **Resultados:** Las superficies tratadas con AgNcls en PMAA mostraron estabilidad de color y valores altos de microdureza y de SBS del GIC. Se detectó una presencia constante de plata en toda la profundidad de la lesión. El efecto antibacteriano fue significativo con CIM y CBM, a partir de diluciones del 1,25 % y 2,5 %, respectivamente. La viabilidad celular se mantuvo alta, entre 92 % y 89 % (de 24 a 72 h). **Conclusiones:** La solución de AgNcls en PMAA no provocó tinción, mejoró la SBS del GIC, recuperó la dureza superficial, presentó una citotoxicidad aceptable y un excelente efecto antibacteriano, con penetración de iones de plata a través de la profundidad de la lesión de las estructuras dentarias afectadas por caries.

Palabras claves: tratamiento no invasivo; caries dental; ácidos polimetacrílicos; nanotecnología médica.

Recibido: 28-01-2026

Aceptado: 04-03-2026

En línea: 29-06-2026



Artículo de acceso abierto

© Los autores

Citar como:

Cabalén MB, Pino GA, Aranguren JP, et al. Caracterización de un nuevo material basado en nanoclústeres de plata sintetizados en ácido polimetacrílico para la infiltración de estructuras dentarias afectadas por caries. Rev Estomatol Herediana. 2026;36(2):e7209. doi:10.20453/reh.v36i2.7209

* El presente artículo fue elaborado a partir de la tesis de María Belén Cabalén para obtener el título de doctor en Ciencias de la Salud.

ABSTRACT

Objective: To characterize the physical and biological properties of a solution of silver nanoclusters (AgNcls) synthesized in polymethacrylic acid (PMAA) for the infiltration of dental structures affected by caries. **Materials and methods:** AgNcls were synthesized in PMAA via photoreduction of AgNO₃. The physical properties evaluated were: color change (measured by spectrophotometer), shear bond strength (SBS) of glass ionomer cement (GIC) to demineralized dentin, surface hardness (measured using the Vickers hardness test), and penetration depth of silver ions (tracked using scanning electron microscopy with energy-dispersive X-ray spectroscopy [SEM-EDS]). Biological properties included antibacterial activity (minimum inhibitory concentration [MIC], minimum bactericidal concentration [MBC], and colony-forming unit [CFU] count) against *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*, and cytotoxicity in pulp cells (using the MTT assay). Silver diamine fluoride (SDF) at 38% was used as a reference, and specific statistical analyses were performed. **Results:** Surfaces treated with AgNcls in PMAA exhibited color stability and high microhardness and SBS values for the GIC. A consistent presence of silver was detected throughout the entire depth of the lesion. The antibacterial effect was significant against CIM and CBM, starting at dilutions of 1.25% and 2.5%, respectively. Cell viability remained high, ranging from 92% to 89% (from 24 to 72 h). **Conclusions:** The AgNcls solution in PMAA did not cause staining, improved the SBS of the GIC, restored surface hardness, exhibited acceptable cytotoxicity, and demonstrated an excellent antibacterial effect, with silver ions penetrating the full depth of the lesion in dental structures affected by caries.

Keywords: noninvasive treatment; dental caries; polymethacrylic acids; medical nanotechnology.

RESUMO

Objetivo: Caracterizar as propriedades físicas e biológicas de uma solução de nanoclústeres de prata (AgNcls) sintetizados em ácido polimetacrílico (PMAA) para a infiltração de estruturas dentárias afetadas por cárie. **Materiais e métodos:** Os AgNcls foram sintetizados em PMAA por meio da fotorredução de AgNO₃. As propriedades físicas avaliadas foram: mudança de cor (por espectrofotômetro), resistência adesiva ao corte (SBS) do cimento ionômero de vidro (GIC) na dentina desmineralizada, dureza superficial (medida pelo teste de dureza de Vickers) e profundidade de penetração do íon prata (rastreada por microscopia eletrônica de varredura com espectroscopia de energia dispersiva de raios X [SEM-EDS]). As propriedades biológicas incluíram o efeito antibacteriano (concentração inibitória mínima [CIM], concentração bactericida mínima [CBM] e contagem de unidades formadoras de colônias [UFC]) em *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*, e a citotoxicidade em células pulpares (por meio do ensaio MTT). Utilizou-se fluoreto de diamino de prata (SDF) a 38% como referência e foram aplicadas análises estatísticas específicas. **Resultados:** As superfícies tratadas com AgNcls em PMAA apresentaram estabilidade de cor e altos valores de microdureza e de SBS do GIC. Foi detectada uma presença constante de prata em toda a profundidade da lesão. O efeito antibacteriano foi significativo com CIM e CBM, a partir de diluições de 1,25% e 2,5%, respectivamente. A viabilidade celular manteve-se alta, entre 92% e 89% (de 24 a 72 h). **Conclusões:** A solução de AgNcls em PMAA não provocou coloração, melhorou a SBS do GIC, recuperou a dureza superficial, apresentou citotoxicidade aceitável e um excelente efeito antibacteriano, com penetração de íons de prata em toda a profundidade da lesão das estruturas dentárias afetadas pela cárie.

Palavras-chave: tratamento não invasivo; cárie dentária; ácidos polimetacrílicos; nanotecnologia médica.

INTRODUCCIÓN

La caries dental constituye la enfermedad crónica no transmisible más prevalente a nivel mundial (1). Los enfoques contemporáneos para el manejo de las lesiones provocadas por caries priorizan estrategias mínimamente invasivas orientadas a preservar la estructura

dentaria y favorecer los procesos de remineralización. En este contexto, el fluoruro diamino de plata (SDF, del inglés *silver diamine fluoride*) ha demostrado ser un agente cariostático eficaz para detener la progresión de las lesiones cariosas (2). El incremento de la dureza superficial de la dentina afectada y su acción antibacteriana sobre el *biofilm* cariogénico representan los principales

atributos clínicos de este material, especialmente cuando se emplea en concentraciones del 38 %.

A partir de 2013, el interés científico en torno al SDF experimentó un crecimiento exponencial. En 2014, la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) aprobó su uso como dispositivo médico de clase II para el tratamiento de la hipersensibilidad dentinaria. Adicionalmente, su eficacia como alternativa de tratamiento no restaurador de lesiones de caries, tanto en dentición primaria como permanente, ha sido ampliamente documentada en publicaciones de alto impacto (3).

No obstante, el SDF presenta limitaciones relevantes, entre las que destaca la intensa pigmentación oscura de la superficie tratada. Este efecto adverso compromete la estética dental y con frecuencia resulta inaceptable para los pacientes (4). Diversas estrategias han sido propuestas para mitigar la tinción, incluyendo la aplicación de yoduro de potasio (KI), fluoruro de potasio (KF) o el recubrimiento posterior con materiales restauradores; sin embargo, estas intervenciones no han demostrado eliminar de manera consistente la tinción residual, que continúa siendo una desventaja clínica significativa (5, 6). Estas limitaciones han impulsado la búsqueda de tecnologías innovadoras capaces de conservar y recuperar las estructuras dentarias afectadas sin generar alteraciones cromáticas. En este sentido, la incorporación de plata a escala nanométrica combinada con compuestos fluorados ha mostrado potencial para reducir los efectos estéticos indeseables asociados a la producción de óxidos metálicos por fotorreducción de este metal.

El desarrollo presentado en este estudio incorporó herramientas de nanotecnología para sintetizar nanorracimos (nanoclústeres) de plata (AgNCl) en ácido polimetacrílico (PMAA, del inglés *polymethacrylic acid*), con el objetivo de superar las desventajas estéticas del SDF, sin comprometer sus propiedades antibacterianas y remineralizantes. Asimismo, como valor agregado, se planteó la hipótesis de que el empleo de un ácido policarboxílico como vehículo de las nanopartículas podría actuar como promotor de adhesión de los cementos restauradores de ionómero vítreo, de manera análoga a los acondicionadores utilizados clínicamente.

Por lo anterior, el objetivo principal de este estudio fue caracterizar las propiedades físicas y biológicas de una solución de AgNCl sintetizados en PMAA. Para ello, se evaluaron los cambios cromáticos y la microdureza superficial de las superficies tratadas, la profundidad de penetración de la solución en dentina desmineralizada y la resistencia de unión al cizallamiento (SBS, del inglés *shear bond strength*) de cementos de ionómero de vidrio (GIC, del inglés *glass ionomer cement*) restauradores aplicados sobre dichas superficies. Adicionalmente, se determinó la actividad antibacteriana del compuesto

frente a patógenos cariogénicos y su citotoxicidad en células pulpares.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio

Se planteó un estudio observacional con diseño experimental *in vitro*, en el cual se estableció una primera etapa para describir la síntesis, la caracterización y la estabilidad del complejo AgNCl/PMAA, seguido de la evaluación de su eficacia a través de las variables de sus propiedades físicas y biológicas.

Criterios de inclusión y exclusión

Para evaluar las propiedades físicas, se utilizaron terceros molares sanos obtenidos del Banco de Dientes Humanos de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba (FO-UNC), mientras que, para las propiedades biológicas, se utilizaron cultivos de células pulpares y cepas bacterianas de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*.

Como criterios de exclusión, se descartaron aquellos terceros molares que presentaron lesiones de caries, grietas estructurales o defectos luego del proceso de corte y estandarización.

Determinación del tamaño de la muestra

Para evaluar las propiedades físicas se determinó el tamaño de la muestra utilizando una prueba bilateral mediante la fórmula de comparación de proporciones, considerando un nivel de significación del 5 % y una potencia estadística del 80 %. Para tal fin, se tomaron como referencia los resultados obtenidos en un estudio que informó valores de SBS de GIC a superficies de dentina tratadas con SDF (5), lo que dio como resultado la necesidad de contar con muestras mayores o igual a 7 para cada grupo.

Definición de las variables

Síntesis

Se determinó la caracterización del complejo AgNCl/PMAA mediante espectroscopia de fluorescencia y absorción, y se evaluó su estabilidad a lo largo del tiempo.

Variables físicas

1. *Cambios de color*: Se evaluó la estabilidad de color mediante el sistema CIE-L*a*b*, que interpreta las lecturas en tres dimensiones: L (brillo), a (rojo-verde) y b (amarillo-azul), determinando la variación total de color (ΔE).

2. *Resistencia adhesiva al corte (SBS)*: Se cuantificó la fuerza de unión del material restaurador a la dentina tratada, expresada en megapascales (MPa).
3. *Dureza superficial*: Determinada mediante la prueba de microdureza Vickers (VHN) y expresada en unidades de presión (MPa) para comparar la recuperación estructural de la dentina.
4. *Profundidad de penetración*: Cuantificada mediante la concentración de plata en porcentaje de peso/volumen (% p/v) a diferentes niveles de profundidad.

Variables biológicas

1. *Actividad antibacteriana*: Evaluada a través de la concentración inhibitoria mínima (CIM), la concentración bactericida mínima (CBM) y el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC/mL).
2. *Citotoxicidad*: Determinada por el porcentaje de viabilidad celular (%) mediante el ensayo colorimétrico MTT en cultivos de células pulpares.

Procedimientos y técnicas

Todos los protocolos experimentales fueron aprobados por la Secretaría de Investigación y Desarrollo de la Universidad Católica de Córdoba, Argentina (subsidios de investigación SI-UCC) y por la Agencia Nacional de Promoción de la Investigación, bajo el subsidio de investigación FONCYT-PICT2020 Serie A #00539 y PICT2019 N.º 241, CONICET-PIP, PRIMAR2017 (SeCyT-UNC).

Todos los métodos se llevaron a cabo de acuerdo con las directrices y regulaciones pertinentes. Asimismo, para asegurar la calidad lingüística del manuscrito, se empleó la herramienta de inteligencia artificial Google Gemini en la revisión gramatical y ortográfica del texto. Todo el contenido resultante fue supervisado, editado y validado críticamente por los autores antes de su inclusión final.

Síntesis, caracterización y estabilidad del complejo AgNCl_s/PMAA

La síntesis de la solución AgNCl_s/PMAA se llevó a cabo a temperatura ambiente mediante la fotorreducción de AgNO₃ en presencia de PMAA, utilizando una lámpara de 355 nm de acuerdo con la literatura (7, 8). Para tal fin, se prepararon soluciones acuosas utilizando agua destilada de calidad Milli-Q®: se empleó PMAA en forma de sal sódica al 30 % en peso en solución acuosa (Sigma-Aldrich®, Mw = 9500) y nitrato de plata (Sigma-Aldrich®, >99,8 %), los cuales se mezclaron para obtener una concentración final de Ag⁺ de 5×10⁻⁴ M, con una proporción molar de polímero PMAA en relación 5:1 (Ag⁺:MAA). Esta relación equivale a 5 iones Ag⁺ por cada unidad de MAA. Durante todo el procedimiento, se controlaron y ajustaron las condiciones de pH, manteniéndolas en un rango óptimo de 5,5 a 6,5.

La mezcla se preparó en un matraz completamente sellado mediante un septum de teflón. Posteriormente, se expuso a luz UV de 355 nm durante 1 hora. Finalizada la irradiación, el matraz fue envuelto en papel de aluminio y almacenado a 4 °C. Se empleó esta composición como referencia comparativa frente a la solución comercial de SDF al 38 % (Fagamin®, lote #8252 08/24, Tedequim; Córdoba, Argentina).

La composición de la solución AgNCl_s/PMAA, cuya concentración total de plata fue de 54 ppm, se empleó como referencia comparativa frente a la solución comercial de SDF al 38 % (248 400 ppm de plata). La estabilidad de este complejo se evaluó utilizando espectroscopía de fluorescencia mediante el análisis de la matriz de excitación-emisión (EEM, del inglés *Excitation-Emission Matrix*), registrando la intensidad de emisión durante un período de 9 meses posteriores a la síntesis (9-12).

Propiedades físicas

Preparación de las muestras

Se obtuvieron 24 terceros molares no cariados del Banco de Dientes (FO-UNC, Argentina), con Ordenanza 3/16 HCD y Resolución 333/17 HCD. Los dientes se esterilizaron mediante radiación gamma durante 24 h antes de la sección. Se obtuvieron bloques de dentina de 4 mm de espesor mediante la eliminación del esmalte oclusal y el empleo de una máquina de corte de baja velocidad (Buehler®; Alemania), con abundante refrigeración acuosa, realizando cortes perpendiculares al eje longitudinal del diente para obtener superficies planas de dentina. Estos fueron posteriormente pulidos con papel de carburo de silicio de grano 400 y recubiertos con esmalte de uñas (Revlon®; Nueva York, EE. UU.), exponiendo una ventana de 5×5 mm en la superficie de la dentina oclusal para la producción de dentina desmineralizada con el objetivo de simular caries dental. Las muestras se sumergieron durante 66 h en una solución compuesta por tampón de acetato 0,05 M y fosfato de calcio 2,2 mM, ajustada a pH 5,0, con el fin de generar una capa desmineralizada de aproximadamente 150 μm de profundidad que simulara una lesión de caries.

Cambios de color de las superficies tratadas

Constituyen el efecto secundario que se pretende mejorar con la nueva formulación. Se aplicó el sistema de color CIE-L*a*b*. Las mediciones fueron replicadas tres veces para obtener un valor medio. En tal sentido, la ΔE perceptible por el ojo humano en restauraciones dentales se establece generalmente cuando es superior a 1,0-1,2 en dicho sistema, aunque valores menores de 3,3 a menudo se consideran clínicamente aceptables. Valores superiores a 3,7 son comúnmente detectados como un desajuste de color por observadores no entrenados.

Los especímenes se dividieron en dos grupos de tratamiento (A y B) y un grupo control (C) sin tratamiento superficial (n = 8 para cada uno):

- Grupo A: Tratado con AgNCl/PMMA. La solución se aplicó sobre la superficie desmineralizada expuesta con un microcepillo durante 10 segundos, luego se incubó a 37 °C y 100 % de humedad relativa durante 24 h.
- Grupo B: Tratado con SDF al 38 %. La solución se aplicó sobre la superficie desmineralizada expuesta con un microcepillo durante 10 segundos, luego se incubó a 37 °C y 100 % de humedad relativa durante 24 h.
- Grupo C: Control (sin tratamiento). Las superficies desmineralizadas expuestas se dejaron sin tratar y luego se incubaron durante 24 h a 37 °C y 100 % de humedad relativa.

Tras 24 h de incubación, las muestras se analizaron para detectar cambios de color iniciales después de la aplicación de los diferentes tratamientos y se sumergieron nuevamente durante 6 días más a 37 °C y 100 % de humedad relativa. Las mediciones se realizaron con un espectrofotómetro (CM-600D Konica Minolta®), calibrado previamente. Para asegurar la reproducibilidad de los datos y evitar interferencias por la translucidez de la dentina, todas las mediciones se llevaron a cabo colocando las muestras sobre un fondo blanco mate.

Se registraron las diferencias de coordenadas de color (ΔL , Δa , Δb) en cuatro momentos (R0, R1, R2, R3). La ΔE total se calculó mediante la fórmula:

$$\Delta E = ((\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2)^{\frac{1}{2}}$$

Para la interpretación de los resultados, se estableció un umbral de aceptabilidad clínica de $\Delta E = 3,7$. Valores superiores a este límite se consideraron cambios de color perceptibles y clínicamente significativos. Finalmente, la influencia de los tratamientos se evaluó comparando los resultados de los grupos A y B con los del grupo control sin tratamiento (grupo C).

Resistencia adhesiva al corte

Se estableció la SBS como una variable relevante para determinar la influencia del tratamiento superficial sobre la capacidad de unión del material restaurador (GIC). En tal sentido, se evaluó la resistencia a las fuerzas de cizalla aplicadas sobre el cemento adherido a la superficie de dentina tratada con los diferentes productos de estudio.

Los grupos A y B recibieron una segunda aplicación de AgNCl/PMMA y SDF al 38 %, respectivamente, utilizando un microcepillo durante 10 segundos. Inmediatamente después, se procedió a la colocación de un GIC convencional de alta viscosidad (Fuji IX Gold

Label®), el cual fue mezclado manualmente sobre una loseta de vidrio durante 20 a 30 segundos, siguiendo las instrucciones del fabricante. Posteriormente, se insertó el material en un molde cilíndrico (4 mm de diámetro × 3 mm de altura), colocado sobre las superficies dentinarias desmineralizadas, tratadas o no según el grupo experimental. Durante el fraguado del GIC, se colocó sobre el molde una losa de vidrio recubierta con vaselina (Vaseline®), la cual se mantuvo en posición durante 5 minutos. Finalizado este tiempo, las muestras fueron almacenadas a 37 °C y 100 % de humedad relativa durante 24 h, previo a la realización del ensayo mecánico.

La SBS se evaluó en una máquina de prueba universal (Digimess®), aplicando una carga de cizalladura con una cuchilla biselada a una velocidad de 1 mm/min hasta conseguir la falla. Los valores se calcularon en megapascales mediante la fórmula $\text{MPa} = \text{N}/12,6 \text{ mm}^2$. Finalmente, el tipo de falla (adhesiva, cohesiva o mixta) se analizó con un microscopio láser confocal (Olympus LEXT® OLS 4000) a 100x.

Dureza superficial

Se procuró determinar si la aplicación de los diferentes tratamientos sobre la superficie de dentina cariada lograba recuperar o superar la dureza de la dentina sana. Para ello, se realizaron cuatro cortes de 2 mm de grosor a cada muestra, desde la región oclusal hasta la apical, obteniéndose cuatro grupos de tratamiento:

- Grupo A: Tratado con AgNCl/PMMA. La solución se aplicó sobre la superficie desmineralizada expuesta con un microcepillo durante 10 segundos, luego se incubó a 37 °C y 100 % de humedad relativa durante 24 h.
- Grupo B: Tratado con SDF al 38 %. La solución se aplicó sobre la superficie desmineralizada expuesta con un microcepillo durante 10 segundos, luego se incubó a 37 °C y 100 % de humedad relativa durante 24 h.
- Grupo C: Correspondió a una sección de dentina sana, protegida con esmalte durante la generación de caries artificial e incubada durante 24 h a 37 °C y 100 % de humedad relativa.
- Grupo D: Control (sin tratamiento). La superficie desmineralizada expuesta se dejó sin tratar y se incubó durante 24 h a 37 °C y 100 % de humedad relativa.

La dureza superficial se evaluó mediante la prueba VHN, realizada a temperatura ambiente con un durómetro Microhardness Tester FM-300 (Future-Tech Corp.). Se realizaron cinco indentaciones por muestra, aplicando una carga de 100 g durante 10 segundos por cada uno. Los valores promedio por espécimen fueron registrados en Excel para su análisis estadístico.

Profundidad de penetración

Su análisis se justifica en tanto una de las incógnitas en la aplicación de agentes cariostáticos es la capacidad de penetrar en la totalidad de la lesión. Para tal fin, se intentó determinar la trazabilidad de los iones metálicos en un espesor mínimo de 200 micras, que era el promedio de desmineralización obtenida por medio de la generación de lesiones artificiales de caries.

La composición elemental de las muestras se determinó mediante EDS, acoplado a un microscopio electrónico de barrido (SEM, del inglés *scanning electron microscope*) (JSM 7800F, JEOL Ltd.). Las muestras se recubrieron previamente con oro por pulverización catódica (23 mA por 45 s) y las superficies se examinaron con el SEM (5 kV de tensión, aumento de 2500x a 20 000x).

Para rastrear la penetración de los iones de plata, se definieron bandas de 50 μm desde la superficie hasta la base de la lesión. Las mediciones se realizaron en tres zonas por banda (20 000x y 5 kV), registrando un valor elemental medio de plata (%peso/volumen). Se realizó un análisis cuantitativo incremental de 50 μm hasta alcanzar los 400 μm (ocho subsegmentos).

Propiedades biológicas

Efecto antibacteriano

Se investigó la capacidad bactericida y bacteriostática de diferentes concentraciones del producto desarrollado para compararla con los ya conocidos efectos del SDF y, de este modo, poder evaluar su eficacia comparativa con un producto. Para tal fin, se cultivaron cepas de *S. Mutans* y *L. acidophilus* y se determinaron las siguientes propiedades biológicas: CIM, CBM y UFC.

1. *Cultivo de microorganismos*: Las cepas congeladas de *S. mutans* y *L. acidophilus* se sembraron en agar sangre y se incubaron a 37 °C durante 24 h en una atmósfera compuesta por 85 % de N_2 , 5 % de CO_2 y 10 % de H_2 . Se inoculó una sola colonia en 10 mL de caldo BHI y se incubó durante 24 h bajo las mismas condiciones. Las células se recogieron por centrifugación, se lavaron en una solución salina y *buffer* de fosfato (PBS, del inglés *phosphate buffered saline*) (pH 7,2), se midió su densidad óptica (DO) a 660 nm y se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-6} en PBS (13).
2. *Concentración inhibitoria mínima (CIM)*: Se prepararon diluciones seriadas de AgNCl /PMAA (54 ppm a 0,1 ppm de plata) y de SDF (248 400 ppm a 485 ppm de plata). En placas de 96 pocillos, se añadieron 100 μL de cada dilución, 100 μL de cultivo bacteriano y 100 μL de caldo BHI. Se incluyeron controles positivos y negativos. La CIM se determinó registrando la DO inicial y midiendo el crecimiento a 660 nm tras 24 h de incubación anaeróbica a 37 °C.

3. *Concentración bactericida mínima (CBM)*: La CBM se determinó mediante la prueba de difusión en agar (ADT, del inglés *Agar Diffusion Test*). Se sembraron por separado alícuotas de 10 μL de los pocillos tratados (24 h de incubación anaeróbica) en placas de agar BHI. Las placas se incubaron 48 h a 37 °C con la finalidad de verificar la presencia o ausencia de bacterias.
4. *Unidades formadoras de colonias (UFC)*: Se extrajo una alícuota de 10 μL de la dilución de AgNCl /PMAA, se sembró en placas de agar BHI y se distribuyó uniformemente. Las placas se incubaron 48 h a 37 °C. Las UFC/mL de ambas cepas mencionadas se cuantificaron con un contador digital, repitiendo las mediciones tres veces.

Citotoxicidad

Su determinación se justifica en tanto que, para que el producto sea factible de aplicación clínica, debe demostrar no ser tóxico ni irritante para los tejidos y/o estructuras circundantes. Para esta comprobación, se utilizaron cultivos de células pulpares, ya que son más susceptibles a la irritación por su proximidad con el fondo cavitario en lesiones dentales por caries. Se seleccionó la prueba MTT para evaluar esta propiedad.

1. *Cultivo celular*: Se obtuvieron células de la pulpa dental (DPSC, del inglés *dental pulp stem cells*) de un proveedor comercial y se cultivaron en un medio esencial mínimo α (α -MEM), suplementado con 10 % (v/v) de suero bovino fetal (FBS) y 1 % (v/v) de penicilina/estreptomicina (P/S). Las células se incubaron a 37 °C y 5 % de CO_2 . Para garantizar un crecimiento óptimo, el medio de cultivo se cambió cada 3-4 días hasta que las células alcanzaron la confluencia.
2. *Prueba MTT*: Las DPSC se sembraron en placas de 96 pocillos (7000 células/pocillo) y se incubaron durante 24 h. Luego se sustituyó el medio por 200 μL de medio fresco con diferentes concentraciones de AgNCl /PMAA (de 20 % a 0,03 %, por dilución seriada). El SDF al 38 % se usó como control positivo. Las placas se incubaron durante 24 h y 72 h. Tras la observación morfológica por microscopía invertida, se midió la función mitocondrial mediante el ensayo MTT. Se añadieron 20 μL de MTT (5 mg/mL) y las muestras se incubaron durante 4 h. Posteriormente, se añadió 100 μL de dimetilsulfóxido (DMSO) y las placas se mantuvieron en oscuridad. Un lector ELISA cuantificó la DO en 570 nm. El ensayo se realizó por triplicado en tres experimentos independientes. El porcentaje de viabilidad celular se calculó como:

$$\text{Viabilidad (\%)} = \frac{\text{DO de las células tratadas}}{\text{DO de las células no tratadas}} \times 100$$

Plan de análisis

Los datos fueron procesados mediante el *software* SPSS 20.0. Se estableció un nivel de confianza del 95 % y una significancia estadística de $p < 0,05$. El análisis se estructuró de la siguiente manera:

Propiedades físicas

1. *Cambios de color*: Se evaluó la estabilidad de color mediante la comparación de las coordenadas de color en cuatro tiempos: inicial (R0), tras la desmineralización (R1), a las 24 h (R2) y a los 7 días de tratamiento (R3). El análisis estadístico se realizó mediante la prueba t de Student para muestras relacionadas, utilizando la lectura R1 como valor de referencia para determinar la significancia de los cambios producidos por los agentes terapéuticos (AgNCl_s/PMAA y SDF).
2. *Resistencia adhesiva al corte*: Se utilizó ANOVA y prueba *post hoc* de Scheffé, estableciendo un nivel de significancia del 95 % ($p < 0,05$).
3. *Dureza superficial*: Las diferencias entre los grupos de tratamiento se evaluaron mediante ANOVA, complementada con la prueba *post hoc* de Bonferroni para identificar los grupos con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).
4. *Profundidad de penetración*: Para comparar las opciones de tratamiento en cada profundidad, se aplicó la prueba t de Student ($p < 0,05$). Para analizar las diferencias en la concentración de plata a través de todas las profundidades de penetración, se utilizó la prueba de Student-Newman-Keuls (SNK) ($\alpha = 0,05$).

Propiedades biológicas

1. *Efecto antibacteriano*: Los respectivos tratamientos fueron comparados con un grupo control sin tratamiento mediante ANOVA ($p < 0,05$).
2. *Citotoxicidad*: Los grupos se compararon usando las pruebas de Mann-Whitney y chi-cuadrado. Las comparaciones intragrupo se realizaron con las pruebas de Wilcoxon y McNemar, estableciendo un nivel de significancia del 95 % ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Síntesis, caracterización y estabilidad del complejo AgNCl_s/PMAA

Los AgNCl_s/PMAA están compuestos por 3 a 5 átomos de plata, con un tamaño menor a 1 nm, por debajo del límite de resolución del microscopio de fuerza atómica; por ello, solo fue posible observar la rugosidad del sustrato (14, 15).

La figura 1A resume la síntesis y la caracterización espectroscópica. El mapa EEM y los espectros UV-Vis confirmaron una única señal ($\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 520 \text{ nm}/630 \text{ nm}$), lo que indica que estos AgNCl_s de 3-5 átomos constituyen las únicas partículas fluorescentes presentes en la solución.

En relación con la estabilidad, las posiciones de las bandas de absorción y emisión, así como la intensidad de fluorescencia, permanecieron invariables durante un período de 9 meses (figura 1B). Estos resultados indican que los nanoclústeres conservaron su tamaño y estructura originales, evidenciando una elevada estabilidad temporal y resistencia a la coalescencia, incluso en presencia de oxígeno.

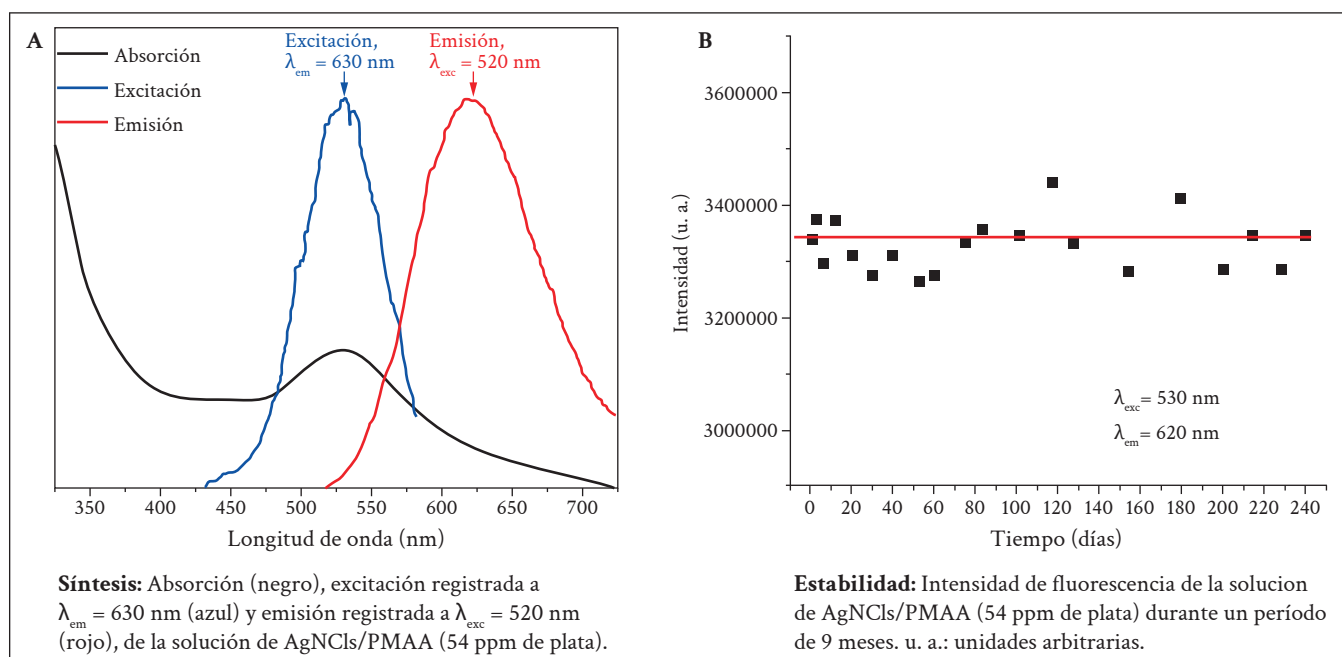


Figura 1. Síntesis y estabilidad de los AgNCl_s/PMAA.

Propiedades físicas

Cambios de color

Se observa que el grupo A (AgNClS/PMAA) presentó estabilidad de color ($p = 0,24$) en la dentina desmineralizada a las 24 h y a los 7 días. Por el contrario, se observaron cambios de color significativos en el grupo B (SDF) ($p = 0,02$) tras su aplicación en las superficies de dentina desmineralizada (tabla 1).

Resistencia adhesiva al corte

Los valores de SBS fueron significativamente mayores ($p < 0,01$) en el grupo A (AgNClS/PMAA) en comparación con el grupo B (SDF) y el grupo C (control) ($p < 0,05$). No se hallaron diferencias significativas entre los grupos B y C ($p > 0,05$) (tabla 1). Las muestras control y tratadas con SDF presentaron fallas adhesivas, mientras que en el grupo de AgNClS/PMAA se observaron fallas mixtas en 3 de las 8 muestras.

Tabla 1. Cambios de color y resistencia adhesiva al corte de los grupos de tratamiento.

Grupo	n	Cambios de color*			Resistencia adhesiva al corte**	
		ΔE 1-2	ΔE 1-3	p (t-Test)	SBS (MPa)	ANOVA (p-value)
A	8	4,4 ± 2,9	2,9 ± 1,7	0,24	10,4 ± 2,7 ^a	0,003
B	8	8,3 ± 2,6	12,6 ± 3,8	0,02	3,3 ± 1,3 ^b	0,05
C	8	2,2 ± 1,3	2,7 ± 1,6	0,68	4,0 ± 0,4 ^b	0,05

* Diferencias medias de color y desviaciones estándar de los grupos de tratamiento entre la aplicación del tratamiento superficial y las lecturas posteriores. ** Diferentes letras indican diferencias estadísticas significativas. ΔE : diferencia de color.

Dureza superficial

El análisis de microdureza Vickers reveló diferencias estadísticamente significativas entre los grupos evaluados (ANOVA: $F(3, 28) = 114,73$; $p = 0,0001$). Las comparaciones múltiples mediante el test de Bonferroni mostraron que el grupo A (AgNClS/PMAA: $111,2 \pm 8,2$ MPa) y el grupo C (Dentina sana: $103,3 \pm 7,2$ MPa) obtuvieron los valores de dureza más elevados, sin diferencias significativas entre ellos ($p > 0,05$), pero siendo significativamente superiores ($p = 0,001$) a los grupos B (SDF: $72,3 \pm 6,4$ MPa) y D (lesión artificial sin tratamiento: $50,5 \pm 3,0$ MPa). Estos resultados confirman que el tratamiento con AgNClS/PMAA permite alcanzar niveles de microdureza similares a los de la dentina sana.

Profundidad de penetración

Los análisis con espectroscopía de energía dispersiva de rayos X (EDS) confirmaron la ausencia de plata en la dentina sana (grupo C) y en el grupo control (dentina desmineralizada no tratada) (grupo D). En los grupos A y B, la plata se verificó hasta $400 \mu\text{m}$, cuantificada en porcentaje en peso. La figura 2 muestra que el grupo B (SDF al 38 %) fue la que tuvo mayor presencia de plata en la superficie (0 a $50 \mu\text{m}$), mientras que el grupo A (AgNClS/PMAA) mantuvo cantidades significativas y constantes de plata a lo largo de toda la profundidad (0 a $400 \mu\text{m}$).

Propiedades biológicas

Efecto antibacteriano

- Concentración inhibitoria mínima:** La figura 3 muestra que la inhibición del crecimiento bacteriano aumenta con la concentración de AgNClS/PMAA hasta la dilución 1:16 (1,25 %; 3,4 ppm de plata), donde se alcanza una meseta. Este bajo valor de CIM confirma el fuerte efecto antibacteriano de AgNClS/PMAA sobre ambas cepas utilizadas (*S. mutans* y *L. acidophilus*).
- Concentración bactericida mínima:** Tras observar el crecimiento en las placas de agar, se determinó que la CBM para ambas bacterias cariogénicas correspondió a una dilución de 1:8 (2,5 %). Este valor representa la concentración más baja necesaria para eliminar la mayor parte del inóculo bacteriano.
- Unidades formadoras de colonias:** Se determinaron las UFC de *S. mutans* y *L. acidophilus* para AgNClS/PMAA y SDF a una dilución comparativa de 1:16. El recuento de UFC/mL en el grupo de AgNClS/PMAA ($4,3 \pm 0,4$ para *S. mutans*; $6,3 \pm 0,3$ para *L. acidophilus*) fue significativamente menor que en los controles ($13,7 \pm 1,6$ y $15,9 \pm 0,8$, respectivamente; $p < 0,01$). Para SDF, a la misma dilución, se obtuvieron $8,6$ UFC/mL para *S. mutans* y $9,5$ UFC/mL para *L. acidophilus*. La solución AgNClS/PMAA demostró ser más eficaz que el SDF, a pesar de que su concentración de plata (6,75 ppm) es 4600 veces menor (15 525 ppm) a la misma dilución.

Citotoxicidad

Los resultados de los experimentos de viabilidad celular a diferentes concentraciones de AgNCl/PMAA y SDF, tras 24 h y 48 h de incubación, se presentan en

la tabla 2. Se observa que la densidad celular aumenta a medida que disminuye la concentración del extracto del material.

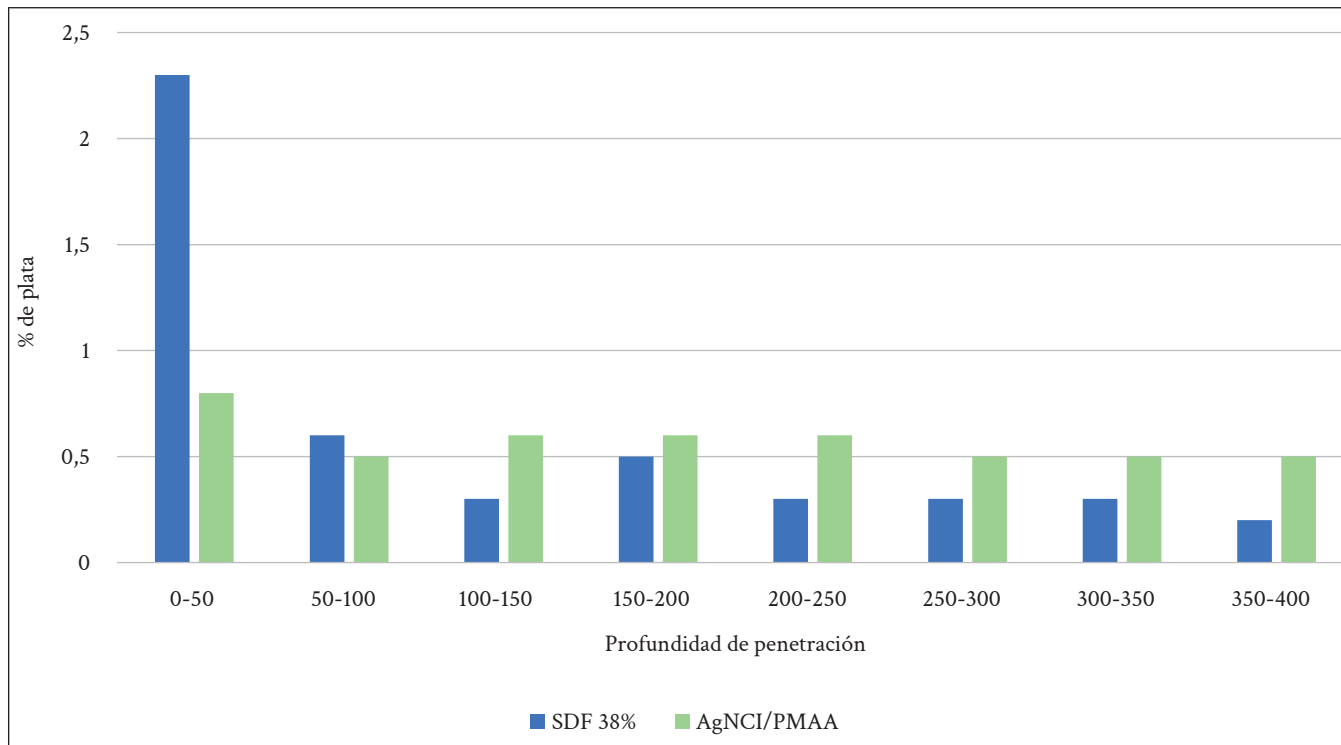


Figura 2. Penetración de iones de plata a diferentes profundidades de la dentina tratada, medida mediante EDS.

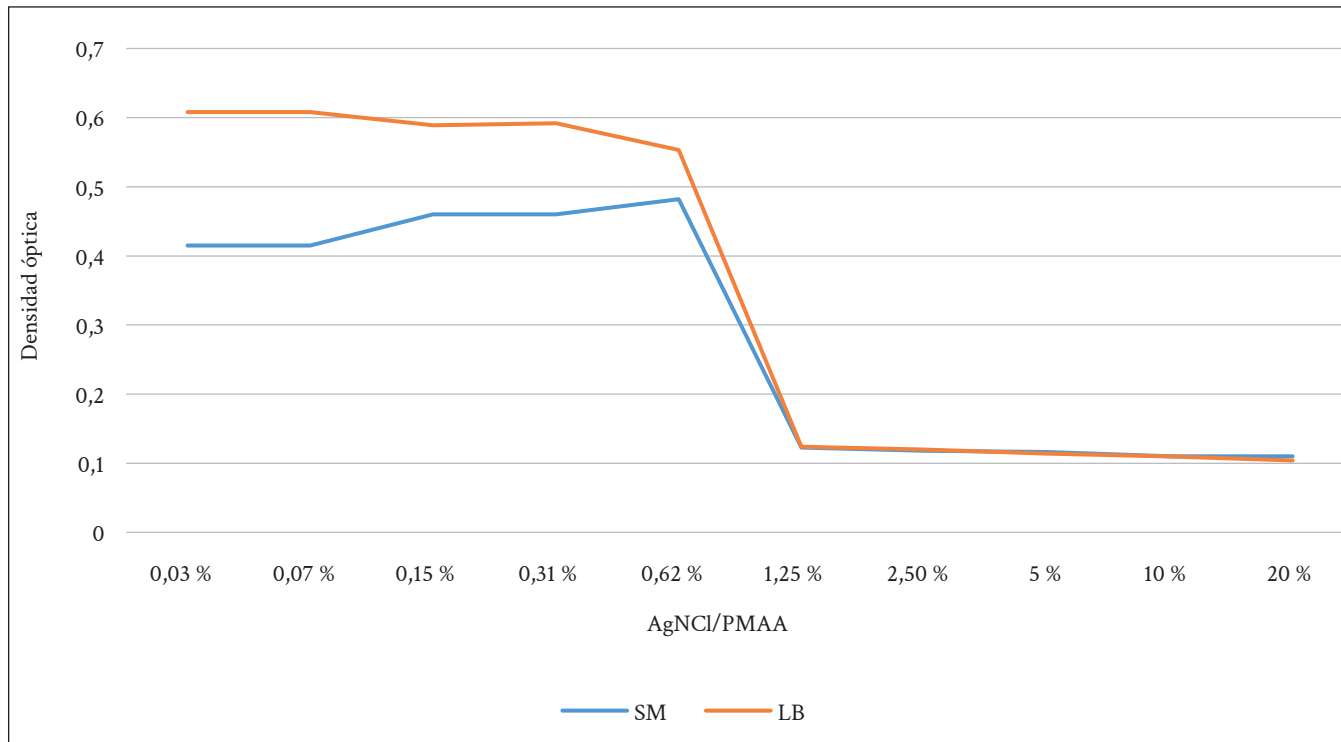


Figura 3. Gráfico de líneas que muestra la densidad óptica de *S. mutans* y *L. acidophilus* frente a diferentes concentraciones de AgNCl/PMAA. Factores de dilución de la solución: 20 % (1); 10 % (1:2); 5 % (1:4); 2,5 % (1:8); 1,25 % (1:16); 0,03 % (1:512).

Tabla 2. Resultados de MTT tras períodos de incubación de 24 h y 48 h para AgNClS/PMAA y SDF en diferentes concentraciones.

Dilución	Concentración de Ag (ppm)		A 24 h (media ± DE)		A 48 h (media ± DE)	
	AgNClS/PMAA	SDF	AgNClS/PMAA	SDF	AgNClS/PMAA	SDF
1	54,00	248 400	40,7 ± 0,01	19,2 ± 0,09	38,6 ± 0,05	21,4 ± 0,07
1:2	27,00	124 200	40,5 ± 0,01	45,3 ± 0,03	37,5 ± 0,06	40,4 ± 0,03
1:4	13,50	62 100	47,7 ± 0,07	46,3 ± 0,03	46,4 ± 0,05	39,9 ± 0,04
1:8	6,75	31 050	46,6 ± 0,05	49,3 ± 0,05	43,7 ± 0,06	43,7 ± 0,07
1:16	3,40	15 525	49,2 ± 0,06	52,9 ± 0,07	47,4 ± 0,04	44,2 ± 0,05
1:32	1,70	7762	53,3 ± 0,08	55,5 ± 0,09	50,3 ± 0,01	49,5 ± 0,02
1:64	0,85	3882	55,0 ± 0,03	57,8 ± 0,06	53,8 ± 0,07	52,7 ± 0,03
1:128	0,42	1941	63,0 ± 0,05	59,6 ± 0,01	61,2 ± 0,01	58,5 ± 0,05
1:256	0,21	970	78,7 ± 0,09	67,8 ± 0,07	75,6 ± 0,05	64,4 ± 0,03
1:512	0,10	485	87,9 ± 0,01	80,0 ± 0,07	88,1 ± 0,09	78,3 ± 0,03

DE: desviación estándar.

DISCUSIÓN

La evaluación integral de las propiedades físicas y biológicas posiciona al AgNClS/PMAA como una alternativa potencialmente superior al SDF. En primer lugar, destaca su estabilidad cromática: a diferencia del SDF, no produjo cambios de coloración clínicamente significativos en la dentina desmineralizada. Este aspecto representa una ventaja clínica relevante, al superar una de las principales barreras estéticas asociadas al uso del SDF.

En cuanto a las propiedades adhesivas, los valores de SBS del CIV fueron significativamente mayores en el grupo AgNClS/PMAA en comparación con el grupo tratado con SDF. Además, el predominio de fallas mixtas en el grupo experimental sugiere una mejor integración entre el material y el sustrato dentinario. Esta mejora podría atribuirse al vehículo empleado, el precursor polimérico PMAA, el cual ha demostrado previamente su capacidad de interactuar químicamente con las fibras de colágeno de la dentina desmineralizada.

Este comportamiento también se refleja en la recuperación de la dureza superficial, donde el grupo de AgNClS/PMAA alcanzó valores similares o incluso superiores a los de la dentina sana. En este sentido, la hipótesis de que el PMAA pueda inducir modificaciones en la organización o disposición de las fibras colágenas abre una interesante línea de investigación futura. El acondicionamiento con este ácido policarboxílico no solo favorecería una mayor disponibilidad de iones calcio capaces de unirse a los grupos carboxilo, sino que además podría contribuir a la formación de una red estructural más compacta y densa, con mejores propiedades mecánicas.

El análisis SEM-EDS confirmó, asimismo, la capacidad de penetración del material. Mientras que el SDF mostró una mayor concentración de plata restringida principalmente a la superficie (0-50 μm), los AgNClS/PMAA mantuvieron cantidades significativas y relativamente constantes de plata a lo largo de toda la profundidad analizada. Este hallazgo resulta particularmente relevante, ya que supera las limitaciones de penetración reportadas en estudios previos que emplearon precursores poliméricos de mayor viscosidad, los cuales no lograban infiltrarse más allá de los 20 μm , favoreciendo así una recuperación potencial hasta la base de la lesión cariosa (16).

Desde el punto de vista biológico, los resultados también son alentadores en términos de eficacia y seguridad. Los ensayos *in vitro* demostraron que la solución actúa como un potente agente antibacteriano frente a bacterias cariogénicas como *S. mutans* y *L. acidophilus*, incluso a concentraciones de plata significativamente inferiores a las utilizadas en el SDF (17, 18). Esto sugiere que la actividad cariogénica podría ser controlada sin comprometer la biocompatibilidad.

La seguridad del compuesto se ve reforzada por la observación de que la citotoxicidad de los AgNClS/PMAA disminuye según la concentración. Este perfil resulta particularmente favorable para el desarrollo de biomateriales clínicamente aplicables y podría atribuirse al menor tamaño de los nanoclústeres en comparación con las nanopartículas de plata convencionales, lo que sugiere un comportamiento biológico más controlado (19-21).

Una limitación inherente a este estudio radica en su diseño *in vitro*, que no permite reproducir completa-

mente la complejidad del entorno oral. El modelo de caries estático empleado no contempla los ciclos dinámicos de desmineralización y remineralización modulados por las fluctuaciones del pH salival y la capacidad *buffer* de la saliva *in vivo*. Asimismo, la ausencia de *biofilm* adquirida y de proteínas salivales constituye una limitación adicional, dado que estos componentes regulan el intercambio iónico y la energía superficial, factores que podrían influir tanto en la efectividad del AgNCl/PMAA como en su interacción con los materiales restauradores.

Además, la resistencia adhesiva fue evaluada utilizando un único tipo de cemento de ionómero vítreo de alta viscosidad. Considerando que las interacciones químicas entre el PMAA y el sustrato podrían variar según la composición del material restaurador, los resultados no pueden extrapolarse de manera generalizada a otras formulaciones. Del mismo modo, la ausencia de cargas mecánicas cíclicas refleja un comportamiento bajo condiciones ideales, potencialmente diferente del entorno clínico real. En consecuencia, serán necesarios estudios *in vivo* para validar la seguridad y eficacia clínica de esta solución.

A pesar de estas limitaciones, los hallazgos obtenidos en este modelo controlado proporcionan una base sólida

que respalda el potencial terapéutico del material. Las propiedades físico-químicas, mecánicas y biológicas observadas sugieren que el complejo AgNCl/PMAA podría superar varias de las limitaciones asociadas a los tratamientos basados en SDF y representar un avance significativo en el campo de la odontología mínimamente invasiva.

CONCLUSIONES

Este estudio *in vitro* confirma la viabilidad y el alto potencial de la formulación de AgNCl en PMAA como una alternativa prometedora y superior al SDF al 38 % para el tratamiento no invasivo de la caries dental. No solo eliminó el inconveniente estético de la tinción en la dentina, sino que también logró mejorar la adhesión de los cementos restauradores a la superficie tratada y restaurar la dureza superficial de la dentina a niveles comparables o superiores a la dentina sana. A nivel biológico, demostró tener menor citotoxicidad en células pulpares y un potencial efecto antibacteriano contra *S. mutans* y *L. acidophilus*. Además, la alta estabilidad de los nanoclústeres a largo plazo permitiría su almacenamiento sin comprometer sus propiedades.

Conflicto de intereses:

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Financiamiento:

Investigación financiada por la Secretaría de Investigación y Desarrollo de la Universidad Católica de Córdoba (a través de subsidios de investigación SI-UCC) y por la Agencia Nacional de Promoción de la Investigación bajo los subsidios FONCYT-PICT2020 Serie A #00539 y PICT2019 N° 241, así como por CONICET-PIP y PRIMAR2017 (SeCyT-UNC).

Contribución de autoría

CMB: investigación, adquisición de datos, análisis formal, redacción de borrador original.

PGA: conceptualización, metodología, investigación.

AJP: provisión de recursos.

MGF: conceptualización, metodología, supervisión, administración del proyecto, redacción (revisión y edición).

Aprobación de ética:

Todos los protocolos experimentales fueron aprobados por la Secretaría de Investigación y Desarrollo de la Universidad Católica de Córdoba, Argentina (a través de sus subsidios de investigación SI-UCC) y se llevaron a cabo de acuerdo con las directrices y regulaciones pertinentes.

Declaración de uso de herramientas de inteligencia artificial:

Se utilizó Google Gemini con el propósito de realizar la corrección de gramática, ortografía y puntuación, así como el apoyo en la edición del texto para mejorar su claridad y fluidez. Los autores revisaron y editaron el contenido resultante y asumen plena responsabilidad por la integridad y exactitud del manuscrito.

Correspondencia:

María Belén Cabalén

✉ belu_cabalen@hotmail.com

REFERENCIAS

- Li X, Li R, Wang H, et al. Global Burden of Dental Caries from 1990 to 2021 and future projections. *Int Dent J*. 2025;75(5):100904. doi:10.1016/j.identj.2025.100904
- ElGhandour RK, ElTekeya MMH, Sharaf AA. Effectiveness of silver diamine fluoride in arresting early childhood caries: a randomised controlled clinical trial. *Eur J Paediatr Dent*. 2024;25(3):202-7. doi:10.23804/ejpd.2024.2052
- Contreras V, Toro MJ, Elías-Boneta AR, et al. Effectiveness of silver diamine fluoride in caries prevention and arrest: a systematic literature review. *Gen Dent*. 2017;65(3):22-9. PMID:PMc5535266.
- Crystal YO, Janal MN, Hamilton DS, et al. Parental perceptions and acceptance of silver diamine fluoride staining. *J Am Dent Assoc*. 2017;148(7):510-8.e4. doi:10.1016/j.adaj.2017.03.013
- Mathur A, Chaudhary Y, Shekhar S. Effectiveness of tooth-colored restorative materials in masking discoloration caused by silver diamine fluoride: a systematic review of in vitro studies. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2026;19(2):262-70. doi:10.5005/jp-journals-10005-3420
- Islam MS, Salman NSM, Ahmed ZM, et al. Inhibition of silver diamine fluoride induced tooth discoloration – A literature review. *Int J Dent [Internet]*. 2022;15(4):707-17. Disponible en: <https://www.rakmhsu.ac.ae/downloads/publications/Inhibition-of-Silver-Diammine-Fluoride-Induced-Tooth-Discoloration-A-Literature-Review.pdf>
- Jandt KD, Watts DC. Nanotechnology in dentistry: present and future perspectives on dental nanomaterials. *Dent Mater*. 2020;36(11):1365-78. doi:10.1016/j.dental.2020.08.006
- Mulko LE, Rossa M, Aranguren-Abrate JP, et al. Micropatterning of fluorescent silver nanoclusters in polymer films by laser interference. *Appl Surf Sci*. 2019;485:141-6. doi:10.1016/j.apsusc.2019.04.149
- Kang X, Li Y, Zhu M, et al. Atomically precise alloy nanoclusters: syntheses, structures, and properties. *Chem Soc Rev*. 2020;49(17):6443-514. doi:10.1039/C9CS00633H
- Mallineni SK, Sakhamuri S, Kotha SL, et al. Silver nanoparticles in dental applications: a descriptive review. *Bioengineering*. 2023;10(3):327. doi:10.3390/bioengineering10030327
- Sahoo K, Gazi TR, Roy S, et al. Nanohybrids of atomically precise metal nanoclusters. *Commun Chem*. 2023;6:157. doi:10.1038/s42004-023-00958-7
- Yin IX, Zhang J, Zhao IS, et al. The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. *Int J Nanomedicine*. 2020;15:2555-62. doi:10.2147/IJN.S246764
- Sharma P, Dhawan P, Rajpal SK, et al. A comparison of antimicrobial efficacy of silver-based preventive restorations (silver nitrate, silver diamine fluoride, and silver nanoparticles) against *Streptococcus mutans* monospecies biofilm model. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2023;16(Suppl 1):S13-9. doi:10.5005/jp-journals-10005-2575
- Ruangchaithaweesuk S, Srirattanasakunsuk P, Poomuang C, et al. Poly(methacrylic acid)-stabilized silver nanoclusters as colorimetric sensors for the rapid and sensitive detection of ascorbic acid. *ChemistrySelect*. 2021;6(6):1248-54. doi:10.1002/slct.202004547
- Nag A, Pradeep T. Assembling atomically precise noble metal nanoclusters using supramolecular interactions. *ACS Nanoscience Au*. 2022;2(3):160-78. doi:10.1021/acsnanoscienceau.1c00046
- Kielbassa AM, Leimer MR, Hartmann J, et al. Ex vivo investigation on internal tunnel approach/internal resin infiltration and external nanosilver-modified resin infiltration of proximal caries exceeding into dentin. *PLoS ONE*. 2020;15(1):e0228249. doi:10.1371/journal.pone.0228249
- Xu GY, Zhao IS, Lung CYK, et al. Silver compounds for caries management. *Int Dent J*. 2024;74(2):179-86. doi:10.1016/j.identj.2023.10.013
- Yin IX, Zhao IS, Mei ML, et al. Use of silver nanomaterials for caries prevention: a concise review. *Int J Nanomedicine*. 2020;15:3181-91. doi:10.2147/ijn.s253833
- Darabi F, Farzam P, Ghavami-Lahiji M. Effect of silver diamine fluoride application methods on dentin microhardness and durability under pH cycling: an in vitro study. *Clin Exp Dent Res*. 2025;11(4):e70190. doi:10.1002/cre2.70190
- Agnihotri S, Mukherji S, Mukherji S. Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5-100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. *RSC Adv*. 2014;4(8):3974-83. doi:10.1039/C3RA44507K
- Pérez-Sáenz MG, Martínez-Martínez RE, Zaragoza-Contreras EA, et al. Antibacterial and anti-adherence efficacy of silver nanoparticles against endodontic biofilms: an in vitro and ex vivo study. *Pharmaceutics*. 2025;17(7):831. doi:10.3390/pharmaceutics17070831