

Biocompatibilidad y actividad microbiana de sulfuro de plata nanoestructurado para aplicación en biomateriales: revisión sistemática[◇]

Biocompatibility and microbial activity of silver sulfide nanostructured for application in biomaterials: a systematic review

Aimee Marlene Mendoza Avilés,* Mercedes Guadalupe Mendoza Ornelas,* Lilia Michelle Andrade Martínez,* Héctor Javier Miranda Fernández,* Sayra Susana Mares Muñoz,* Edna Pamela Vilchis Valadez,** Jesús Enrique Castañeda Cisneros,*** María Concepción Arenas-Arrocena[†]

ABSTRACT: We are currently facing a difficult outlook due to the marked antibiotic resistance to existing antimicrobial agents. Microbial infections represent an important clinical threat, which is why it is necessary to look for alternatives for new agents, carrying out tests for microbial sensitivity and biocompatibility. The aim of this review is to do a systematic search about the microbial activity and the biocompatibility of silver sulfide nanostructured for biomaterial applications. The search was carried out in October 2020 in the ScienceDirect, Web of science y PubMed databases by using the keywords, biocompatibility, cell viability, antimicrobial activity or antifungal effect. The PRISMA recommendations for systematic reviews were used. From thirteen full-text articles included about *in vitro* or *in vivo* studies shown that silver sulfide nanostructures inhibited Gram (+) and Gram (-) microorganisms such as, *S. aureus* and *E. coli*, respectively, regardless of size of nanoparticles. Quantum dots smaller than 5 nm of silver sulfide presented over 65% cell viability with fibroblasts or human cells. It is concluded that the antimicrobial activity and cell viability exhibited by the silver sulfide nanostructures do not show a dependence with size and concentration, but it could be used in biomaterials.

KEYWORDS: biocompatibility, metallic chalcogenide, microbial inhibition, silver sulfide.

RESUMEN: Actualmente nos enfrentamos a un panorama difícil por la marcada resistencia antibiótica a los agentes antimicrobianos existentes. Las infecciones microbianas representan una importante amenaza clínica por lo que es necesario buscar alternativas de nuevos agentes, realizando pruebas de sensibilidad microbiana y de biocompatibilidad. El objetivo de esta revisión es realizar una búsqueda sistemática sobre la actividad microbiana y la biocompatibilidad de

Recibido: 28 de diciembre de 2020.

Aceptado: 2 de febrero 2021.

[◇]Agradecimientos: a los proyectos PAPIIT-DGAPA IN115018 y PAPIIT-DGAPA IN112921.

* Universidad Nacional Autónoma de México, licenciatura en odontología, Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad León, León, Guanajuato, México.

** Universidad Nacional Autónoma de México, Posgrado en Ciencias Odontológicas, Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad León, León, Guanajuato, México.

*** Universidad Politécnica de Sinaloa, Unidad Académica de Ingeniería en Nanotecnología, Mazatlán, Sinaloa, México.

[†] Universidad Nacional Autónoma de México, Nanoestructuras y Biomateriales, Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad León, León, Guanajuato, México.

Autora de correspondencia: carenas@enes.unam.mx



nanoestructuras de sulfuro de plata, para aplicaciones en los biomateriales. La búsqueda se realizó en las bases de datos ScienceDirect, Web of science y PubMed en octubre de 2020, utilizando las palabras clave: biocompatibilidad, viabilidad celular, actividad antimicrobiana o efecto antifúngico. Se siguieron los lineamientos del PRISMA para las revisiones sistemáticas. Los trece artículos incluidos de estudios *in vitro* o *in vivo* mostraron que las nanoestructuras de sulfuro de plata inhiben microorganismos Gram(+) y Gram (-) como *S. aureus* y *E. coli*, respectivamente, sin importar el tamaño. Puntos cuánticos menores a 5 nm de sulfuro de plata presentan más del 65% de viabilidad celular con fibroblastos o células humanas. Se concluye que la actividad antimicrobiana y viabilidad celular que presentan las nanoestructuras de sulfuro de plata no mostraron una dependencia con el tamaño y la concentración, pero podrían utilizarse en biomateriales.

PALABRAS CLAVE: biocompatibilidad, calcogenuro metálico, inhibición microbiana, sulfuro de plata.

Introducción

El desarrollo de nanopartículas metálicas (NPs) como agentes antimicrobianos es altamente valorado por la comunidad científica debido a su potencial microbiano contra bacterias, hongos y virus (Subramaniyan *et al.*, 2018). También por sus propiedades dependientes del tamaño para aplicación en optoelectrónica, fotocatalisis o biomedicina (Ayoghya y Veerabhadram, 2016; Huo *et al.*, 2018).

El sulfuro de plata (Ag_2S) es un calcogenuro metálico semiconductor con tres acomodos cristalográficos: monoclinico, cúbico centrado en el cuerpo y cúbico centrado en la cara (Sadovnikov *et al.*, 2018). El Ag_2S presenta una banda de energía directa de 1.1 eV, es químicamente estable y presenta excelente emisión en la segunda región del infrarrojo cercano que va de 1000 a 1400 nm (NIR-II) (Feng Lu *et al.*, 2019). El Ag_2S puede ser utilizado en biomedicina debido a sus propiedades antimicrobianas contra una amplia gama de microorganismos Gram positivos y Gram negativos (Subramaniyan *et al.*, 2018; Xiong *et al.*, 2019) y por su baja citotoxicidad con diversas células (Vardar *et al.*, 2018; Aydemir *et al.*, 2020). Puntos cuánticos (QDs) de este tipo de semiconductor se han aplicado en sistemas de imagen *in vivo* para la detección de células cancerosas en etapa temprana (Javidi *et al.*, 2017; Zhong *et al.*, 2020). Imágenes de vasos sanguíneos de cuerpo entero e imágenes de tumores fueron obtenidos con puntos cuánticos de sulfuro de plata pegilados (Ag_2S -PEG) (Feng Lu *et al.*, 2019).

El Ag_2S puede tener varias aplicaciones en diferentes áreas de la ciencia, sin embargo, la conjugación de estas nanopartículas con otras nanoestructuras o agentes limitantes pueden otorgarle propiedades diferentes. Por ejemplo, nanopartículas recubiertas con oleamina con un tamaño mayor a 10 nm no presentan propiedades fotoluminiscentes, mientras que una mezcla 1-dodecanotiol y octadeceno, una banda de emisión a 1190 nm está presente bajo una excitación de 500 nm (Mohamed *et al.*, 2017). A pesar de que la oleamina afecta las propiedades fotoluminiscentes del sulfuro de plata, esta previene la formación de plata, lo cual facilita el manejo de la síntesis (Feng Lu *et al.*, 2019).

El objetivo de esta revisión sistemática es conocer las propiedades de las nanopartículas de sulfuro de plata con o sin un agente adicional, así como la concentración adecuada para su aplicación en los biomateriales y conocer su efectividad como agente antimicrobiano.

Métodología

La revisión sistemática se realizó considerando los lineamientos de la declaración PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses)[<https://n9.cl/n1np>]. Se incluyeron artículos publicados en los últimos 6 años, en texto completo y en idioma inglés. También artículos con estudios *in-vitro* o *in-vivo* sobre biocompatibilidad o actividad antimicrobiana de nanopartículas o puntos cuánticos de sulfuro de plata con o sin agentes adicionales.

Se excluyeron artículos de revisiones sistemáticas y meta-análisis, así como estudios con nanopartículas diferentes al sulfuro de plata.

En octubre de 2020, se realizó una búsqueda de información científica en tres bases de datos: ScienceDirect, Web of science y PubMed con la siguiente estrategia PICO:

Problema: Crecimiento microbiano y citotoxicidad.

Intervención: Sulfuro de plata con o sin agentes adicionales.

Comparación: Sulfuro de plata con y sin agentes adicionales.

O (resultados): Efecto antimicrobiano y biocompatibilidad de nanopartículas de sulfuro de plata en función de la concentración para aplicarse en biomateriales.

Las palabras clave utilizadas fueron: *silver sulfide, biocompatibility, antimicrobial activity, cytotoxicity, antifungal effect, cell viability*. En todas las bases de datos se conjuntaron palabras clave para la búsqueda con el operador de búsqueda AND.

Para la selección de los estudios individuales, primero se revisaron los títulos y después la información que aportaban en el resumen con base en los criterios de inclusión.

Para extraer datos de los artículos seleccionados, se leyeron el resumen, objetivo, materiales y métodos, resultados y conclusiones; obteniendo los siguientes: métodos de síntesis, tamaño y morfología del sulfuro de plata, así como los agentes o compuestos adicionales utilizados para su obtención. Asimismo, se obtuvieron las técnicas o métodos utilizados en los ensayos, así como la concentración de nanopartículas empleada para comparar la efectividad antimicrobiana y viabilidad celular con los microorganismos y células expuestas, respectivamente.

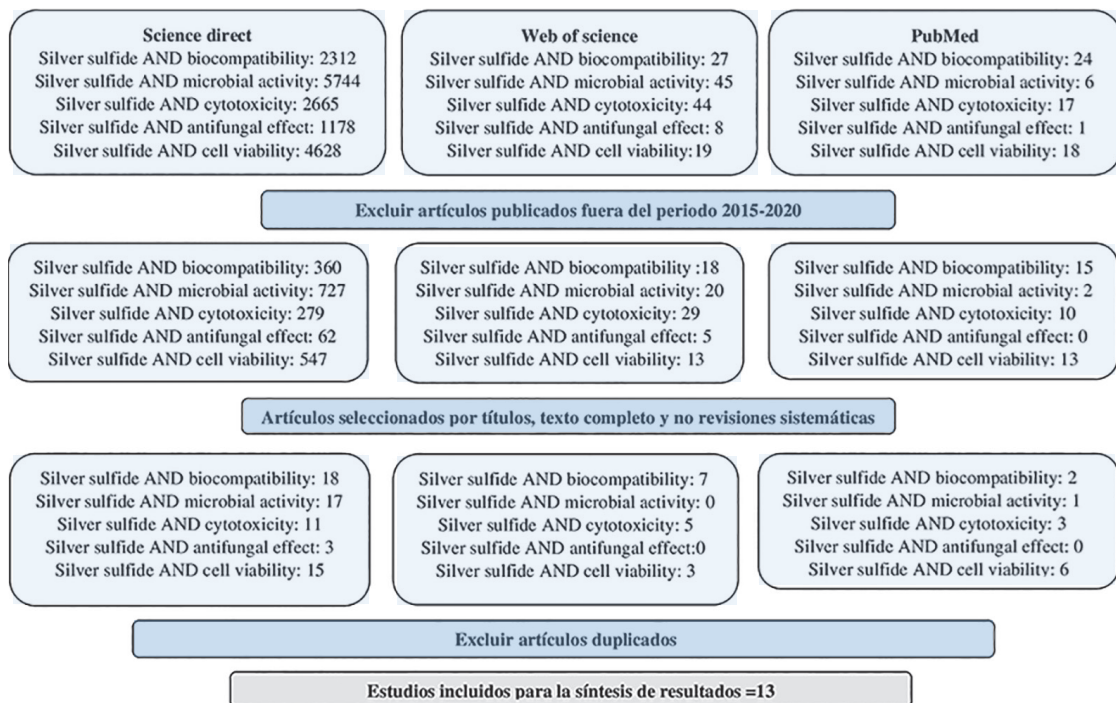
La calidad de la evidencia de los estudios individuales se evaluó con el sistema GRADE (Grades of Recommendation, Assessment, Development, and Evaluation).

Resultados

Los frutos de esta indagación se muestran en la figura 1. Se encontraron un total de 16,736 artículos, en las tres bases de datos, que contenían las palabras clave de interés. Después de filtrar la información de los últimos 6 años, obtuvimos 2,100 artículos, de los cuales, al realizar el cribado por título, resumen y texto completo, solo 91 fueron seleccionados. Para esta revisión sistemática se incluyeron solo 13 artículos que cumplieran los criterios de elegibilidad.

Esto se resume en la tabla 1, donde se exhibe la evidencia de los estudios individuales. Se encontró presencia de riesgo de sesgo en la mayoría de los artículos seleccionados, debido a que 8 de los 13 artículos incluidos no especificaron claramente si los ensayos de actividad microbiana y biocompatibilidad se realizaron por triplicado. En la mayoría no se incorporaba un grupo control positivo para un análisis completo. Por otro lado, el tiempo de seguimiento de los ensayos antimicrobianos y de biocompatibilidad fue de 12, 24 y 48 horas (Javidi *et al.*, 2016, Delgado-Beleño, *et al.*, 2018, Vardar *et al.*, 2018, Vardar *et al.*, 2019, Zhong *et al.*, 2020), sin embargo, en esta revisión solo se reportan los datos a las 24 horas.

Figura 1. Diagrama PRISMA que representa la selección de los estudios.



Fuente: Elaboración de los autores.

Tabla 1. Análisis de calidad de los estudios incluidos para la síntesis de resultados.

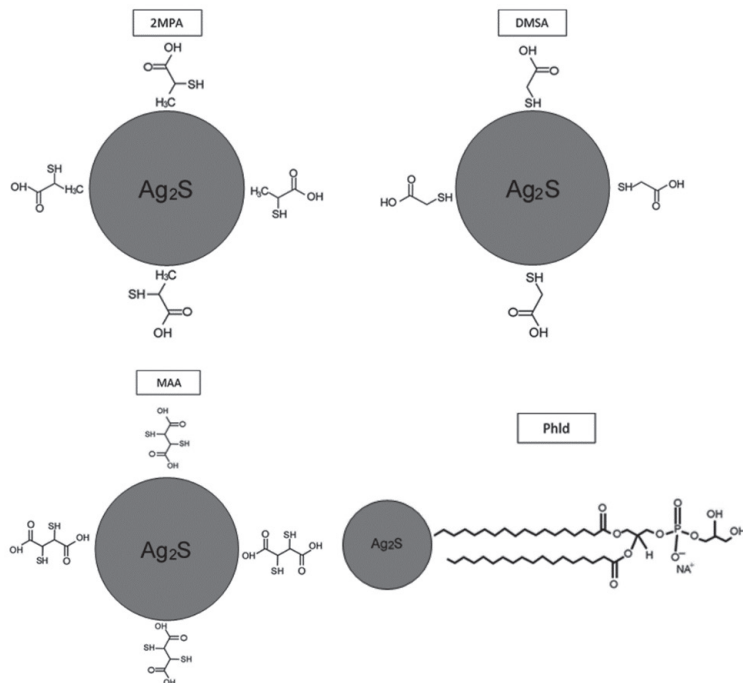
Referencia	Tamaño de muestra 1=Inespecífica/ estudio piloto 2=Presente	Cegado 0=No presenta 1=Intención a tratar/ otro método de análisis 2=Presente y descrito	Seguimiento 0=Incompleto 1=Intención de tratar/otro método 2=Completo	Variable de respuesta 0=Cualitativa subjettiva 1=Cualitativa objetiva 2=Cuantitativa	Concordancia en los métodos de medición 0=No presenta 1=No es claro 2=Presente	Resultados 0=Incompleto 2=Completo	Total
Javidi <i>et al.</i> , 2016	1	2	2	1	2	2	10
Ayoghya y Veerabhadram, 2017	1	0	1	2	2	2	8
Jafari <i>et al.</i> , 2017	2	0	1	1	2	2	8
Delgado- Beleño, <i>et al.</i> , 2018	1	1	2	1	2	2	9
Huo, <i>et al.</i> , 2018	1	1	1	2	2	2	9
Subramaniyan <i>et al.</i> , 2018	2	1	1	2	1	2	9
Vardar <i>et al.</i> , 2018	2	1	2	2	2	2	11
Iqbal <i>et al.</i> , 2019	1	0	1	1	2	2	7
Xiong <i>et al.</i> , 2019	1	2	1	2	2	2	10
Wiercigroch- Walkosz <i>et al.</i> , 2019	2	0	1	1	1	2	7
Vardar <i>et al.</i> , 2019	1	1	2	2	2	2	10
Aydemir <i>et al.</i> , 2020	1	2	1	2	2	2	10
Zhong <i>et al.</i> , 2020	2	1	2	2	2	2	11

Fuente: Elaboración de los autores.

El tamaño y la morfología del sulfuro de plata varía en función del agente o compuesto adicional que se utilizó durante la síntesis (tablas 2, 3, 4). Por caso, aglomerados o nanopartículas cuasi-esféricas son obtenidas al utilizar como soporte óxido de grafeno reducido (rGO) (Huo *et al.*, 2018), goma de kondagogu (GK) (Ayoghya y Veerabhadram, 2017), agentes limitantes (*capping agents*, por sus siglas en inglés) o zeolitas (Delgado-Beleño *et al.*, 2018). Mientras que, puntos cuánticos esféricos con diámetros menores a 5 nm fueron obtenidos en medios acuosos u orgánicos al utilizar ácidos orgánicos (Javidi *et al.*, 2016; Vardar *et al.*, 2018; Vardar *et al.*, 2019), fosfolípidos (Wiercigroch-Walkosz *et al.*, 2019) o aminoácidos (Aydemir *et al.*, 2020) (figura 2).

En la tabla 2, se describen los métodos de síntesis y las propiedades estructurales del sulfuro de plata obtenidos de los estudios individuales. Para la síntesis, el nitrato de plata fue utilizado como precursor de plata, mientras que la tiourea, la tioacetamida y el sulfuro de sodio como precursores de azufre. La fase cristalina monoclinica (α -Ag₂S) conocida como acantita (JCPDS: 00-014-0072) fue la más utilizada debido a su gran estabilidad a temperaturas < 178 °C (\approx 450K) (Sadovnikov *et al.*, 2017; Ibrahim *et al.*, 2016).

Figura 2. Representación esquemática de los agentes limitantes utilizados en la síntesis de puntos cuánticos de sulfuro de plata con un tamaño < 5 nm.



Fuente: Elaboración de los autores.

En la tabla 2, se describen los métodos de síntesis y las propiedades estructurales del sulfuro de plata obtenidos de los estudios individuales. Para la síntesis, el nitrato de plata fue utilizado como precursor de plata, mientras que la tiourea, la tioacetamida y el sulfuro de sodio como precursores de azufre. La fase cristalina monoclinica (α - Ag_2S) conocida como acantita (JCPDS: 00-014-0072) fue la más utilizada debido a su gran estabilidad a temperaturas < 178 °C (\approx 450K) (Sadovnikov *et al.*, 2017; Ibrahim *et al.*, 2016).

Los resultados de la actividad antimicrobiana y de citotoxicidad del sulfuro de plata se presentan en las tablas 3 y 4, respectivamente.

Actividad antimicrobiana

Al momento de comparar los resultados del efecto antimicrobiano se observa que todos los estudios utilizaron *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) y *Escherichia coli* (*E. coli*) como microorganismos Gram-positivos y Gram-negativos, respectivamente. Otros microorganismos Gram-positivos, tales como *Bacillus thuringiensis* (*B. thuringiensis*), *Streptococcus agalactiae* (*S. agalactiae*) y *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*), así como especies de la familia de pseudomonas (Gram-negativos) se han utilizado para los ensayos de inhibición.

Tabla 2. Métodos de síntesis de nanoestructuras de sulfuro de plata con o sin un compuesto adicional.

Referencia	Nanoestructuras Ag ₂ S/Agente o compuesto adicional	Método síntesis	Descripción	Estructura cristalina/ información relevante
Javidi <i>et al.</i> , 2016	QDs esféricos/ MAA	Síntesis por co-precipitación con agente estabilizador MAA	0.2 g de AgNO ₃ se disolvieron en una solución de PEG y agua (20:80 v/v), la solución se puso en agitación continua a 800 rpm, 100 °C, 0.5 hora mientras se agregaba gota a gota el ácido mercaptoacético (MAA). Los puntos cuánticos (QDs) fueron centrifugados a 14,000 rpm, 20 min.	La cristalinidad es mostrada por rayos X, pero solo hace referencia a que es similar a la reportada por otros autores.
Ayoghya y Veerabhadram, 2017	NPs esféricas/GK	Síntesis verde y método hidrotermal	50 mL de AgNO ₃ (0,1 mol/L) se le agrega 1% (w/v) de polvo de goma Konda Goku (GK); después de 2 horas de agitación a temperatura ambiente, se añadieron gota a gota 50 mL de Na ₂ S (0,1 mol/L) y se dejó en agitación 1 hora. El producto se introdujo a una autoclave a 15 libras de presión a 120 °C, 1 hora, después el producto se dejó enfriar para lavarlo con agua bidestilada y filtrarlo.	Ag ₂ S de estructura cristalina monocínica (acantita) JCPDS: 00-014-0072
Jafari <i>et al.</i> , 2017	NPs/RHA-MCM-41	Síntesis verde y método de intercambio iónico	Una solución de 50 mL de AgNO ₃ (0.05mol/L) con 1 g de RHA-MCM-41 se agitó a 25 °C, 5 horas. La muestra se lavó y se secó al aire y posteriormente se extrajo 1g del Ag ⁺ /RHA-MCM-41 para mezclar con 50 mL de 0.1M de Na ₂ S, se agitó 5 horas a una temperatura constante. El producto se lavó con agua desionizada y se recolectó por filtración.	Estructura cristalina monocínica (acantita) JCPDS: 00-014-0072. Las micrografías de TEM mostraron NPs de Ag ₂ S incorporadas a las RHA-MCM-41.
Delgado-Beleño <i>et al.</i> , 2018	NPs cuasi-esféricas-zeolita A4	Síntesis de intercambio iónico	Se realizó la incrustación de iones de plata en la zeolita A4 mezclando 8g de A4 hidratado y 25 mL de AgNO ₃ a 0.02M y se dejó en agitación magnética durante 0.5 horas a 50 °C. La muestra se filtró y se lavó con 200 mL de agua desionizada. 0.2g del producto obtenido (A4 + Ag ⁺) se expusieron a un tratamiento térmico a 400 °C, 3 horas. Se colocó A4 + Ag ⁺ en 0.5 mL a 0.05M de tiourea (TU), 0.5 horas a 50 °C, para obtener los nanocompuestos de la zeolita con Ag ₂ S.	Por medio de imágenes de HRTEM se identificaron las distancias interplanares de 2.18, 2.35 y 2.61 Å, que concuerdan con los planos (031), (120) y (120) de la estructura monocínica (acantita) del α-Ag ₂ S. JCPDS: 00-014-0072. Morfología cuasi-esférica, se encontraron NPs de Ag ₂ S en la matriz de zeolita A4.
Huo <i>et al.</i> , 2018	Ag/Ag ₂ S/rGO	Método hidrotermal a baja temperatura	10 mL de AgNO ₃ y 10 mL de TU fueron depositados gota a gota en una solución de óxido de grafeno y se dejó agitar 2 horas. 50 mL de la solución fue transferido a un reactor de teflón, el cual se puso en un horno de aire seco 10 horas a 170 °C. El producto de óxido de grafeno con las nanopartículas de sulfuro de plata (Ag ₂ S/rGO) fue filtrado y lavado con alcohol etílico absoluto y agua desionizada 3 veces y se dejó secar toda la noche a 80 °C. El compuesto Ag/Ag ₂ S/rGO fue obtenido por reducción del Ag ₂ S/rGO usando una luz UV con potencia de 250W, 3 minutos.	Estructura cristalina monocínica (acantita) JCPDS: 00-014-0072. Las NPs de Ag ₂ S mostraron una morfología irregular.
Subramaniyan <i>et al.</i> , 2018	NPs/N14E	Síntesis por reducción con agente estabilizador N14E	0.3 mM de N-miristoiletanolamina (N14E) disuelto en hidróxido de sodio 1mM y 1mL de etanol se mezclaron en 50 mL de una solución acuosa de AgNO ₃ (0.25mM). A la solución se añadió NaBH ₄ (10 μM) y se dejó reposar 24 horas para obtener AgNPs. Para la sulfuración se extrajeron 25 mL de AgNPs y se mezclaron con 0.25mM de sulfuro de sodio (Na ₂ S).	No presenta difracción rayos X. Nanopartículas semiesféricas.
Vardar <i>et al.</i> , 2018	QDs esféricos/ 2-MPA	Síntesis química	Se disolvió el ácido 2-mercaptopropiónico (2-MPA) (1.25 mmol) en 375 mL de agua desionizada, desoxigenada; se ajustó el pH a 7.5 usando las soluciones de NaOH y CH ₃ COOH (2M). Después se añadió el precursor AgNO ₃ (0.25mmol) y se ajustó de nuevo el pH a 7.5, posteriormente la mezcla se puso en agitación 5 horas a temperatura ambiente y se añadieron 125 mL de solución acuosa desoxigenada de Na ₂ S (0.0625 mmol) con agitación vigorosa. Finalmente, la muestra se lavó con agua desionizada usando filtros centrifugos y los QDs de Ag ₂ S/2-MPA fueron almacenados en la oscuridad a 4 °C y secados en un liofilizador.	En la micrografía realizada por TEM se observó que los QDs de Ag ₂ S/2-MPA presentaban una morfología esférica.

Continúa ►

Tabla 2. Métodos de síntesis de nanoestructuras de sulfuro de plata con o sin un compuesto adicional. (Continuación)

Referencia	Nanoestructuras Ag ₂ S/Agente o compuesto adicional	Método síntesis	Descripción	Estructura cristalina/información relevante
Iqbal <i>et al.</i> , 2019	NPs/CdS	Método de co-precipitación	Se agregaron 60 mL de Na ₂ S (0.1M) y 0.2g de polivinilpirrolidona (PVP) a una solución de 120 mL de AgNO ₃ 0.1M con agitación vigorosa, 1 hora a temperatura ambiente. Después se añadieron gota a gota 60 mL de acetato de cadmio (Cd(CH ₃ COO) ₂) 0.5 M y se dejó en agitación 2.5 horas. Se obtuvo una precipitación de color marrón oscuro la cual fue filtrada y lavada muchas veces con etanol y acetona, después se dejó secar a una temperatura de 50 °C, 4 horas.	Los resultados de XRD concordaron con la estructura monoclinica (acantita) JCP DS: 00-014-0072. Morfología esférica del sulfuro de plata.
Xiong <i>et al.</i> , 2019	NPs/NC(ZIF-8)	Método de síntesis asistida por ultrasonido	20 mg de nanocubos (NC) de imidazolato zeolítico (ZIF-8) se depositaron en 5 mL de etanol y se dejó con tratamiento ultrasónico 1 hora. Posteriormente se añadieron 2 mL de etanol de AgNO ₃ (34 mg) y la mezcla fue sometida a ultrasonido 2 horas para obtener un precipitado, el cual fue lavado con agua y extraído por medio de centrifugación a 8000 rpm. El producto se dejó secar al vacío a temperatura ambiente. Los nanocubos con plata (Ag ⁺ /NC) fueron sulfurados agregando 5 mL de etanol, 5 mL de tioacetamida (TA) en etanol (0.5 mg/mL). Se dejó reaccionar durante 8 horas y el polvo resultante se lavó tres veces con etanol, fue recolectado por centrifugación a 8000 rpm, 15 minutos y se dejó secar a 60 °C.	NPs se encuentran homogéneamente distribuidas en la superficie del nanocubos de ZIF-8 que presentan una morfología de dodecaedro rómbico.
Wiercigroch-Walkosz <i>et al.</i> , 2019	QDs esféricos/ PhLd	Método de descomposición térmica y método de hidratación con agente de recubrimiento dodecanotiol	0.1 mmol de plata recubierta con dodecanotiol (C ₂₂ H ₄₄) 2NC ₂ Na 3H ₂ O (Na (DDTC) se añadieron a un matraz schlenk con 12 mL de dodecanotiol, se calentó a 70 °C y se desgasificó 1 hora al vacío. después el matraz se llenó con N ₂ y la temperatura se elevó a 150 °C en 3 minutos y se mantuvo por 2 minutos más. La solución fue enfriada rápidamente sumergiendo el matraz en agua fría y la mezcla fue centrifugada y lavada con metanol obteniendo así la precipitación de los puntos cuánticos de Ag ₂ S. Luego fueron dispersados con cloroformo con una concentración de 1.3 mg/mL. Los QDs de Ag ₂ S se cargaron en nanoestructuras de fosfolípidos (Phld) mediante una técnica de hidratación de película delgada. Primero se disolvieron en 10 mL de cloroformo y para la encapsulación se mezcló 1 mL de la suspensión de los QDs con una solución de cloroformo de fosfolípidos en un matraz de fondo redondo. Después se usó un evaporador rotatorio al vacío en baño de agua a temperatura ambiente para evaporar el cloroformo, luego se calentó en un baño de agua a 75 °C, 5 minutos. Después se agregó 1 mL de agua caliente a 75 °C de calidad HPLC, se agitó a 75 °C durante 15 minutos y la mezcla resultante se extrajo a través de un filtro con poros de 200 nm de diámetro. Finalmente, se centrifugó a 12.000 rpm, 10 minutos, el sobrenadante fue descartado y el precipitado fue puesto en agua o tampón PBS y fue almacenado a 4 °C.	Los QDs de Ag ₂ S fueron eficazmente encapsulados y las estructuras de fosfolípidos presentaron un tamaño de 134 ± 28 nm.
Vardar <i>et al.</i> , 2019	QDs esféricos/ DMSA	Método en un solo paso con agente estabilizador DMSA	Se disolvió la cantidad de 42.5 mg de AgNO ₃ (0.25 mmol) en 75 mL de agua desionizada. Después se disolvieron 113.89 mg de ácido meso-2,3-dimercaptosuccínico (DMSA) (0.625 mmol), se agregaron a 25 mL de agua desionizada a un pH de 7.5 y se añadieron a la mezcla con AgNO ₃ . El pH fue ajustado a 7.5 usando las soluciones de NaOH y CH ₃ COOH (2M), posteriormente la mezcla fue agitada 4 horas a 70 °C, luego fue lavada con agua desionizada y fue centrifugada para obtener los puntos cuánticos coloidales de Ag ₂ S/DMSA y fueron almacenados toda una noche a 4 °C.	El tamaño de los QDs fue medido por dispersión dinámica de luz la cual mostró que los QDs no se aglomeraban en el medio de cultivo celular.
Aydemir <i>et al.</i> , 2020	QDs esféricos/ GSH	Síntesis química	Se disolvieron 0.25 mmol de AgNO ₃ en 75 mL de agua desoxigenada y 0.125 mmol de Na ₂ S en una solución de 25 mL de agua desoxigenada. Después se agregaron 0.5 mmol de glutatión (GSH) a la solución de AgNO ₃ y luego se ajustó el pH a 9 utilizando NaOH y CH ₃ COOH (1M) a 50 °C. Después se añadió la solución de Na ₂ S a la solución de AgNO ₃ . con	Los QDs presentaron una morfología esférica cristalina, pero no muestran patrones de rayos X.

Continúa ►

Tabla 2. Métodos de síntesis de nanoestructuras de sulfuro de plata con o sin un compuesto adicional. (Continuación)

Referencia	Nanoestructuras Ag ₂ S/Agente o compuesto adicional	Método síntesis	Descripción	Estructura cristalina/información relevante
			agitación mecánica vigorosa a 500 rpm, 2 horas. Para la extracción de los puntos cuánticos de GSH-Ag ₂ S se utilizaron filtros centrifugos sartorius (corte de 3kDa) y fueron lavados con agua desionizada. El producto de GSH-Ag ₂ S QDs fue almacenado en la oscuridad a 4 °C	
Zhong <i>et al.</i> , 2020	NDS/QE-PEG	Síntesis química y ultrasónico con agente estabilizador PEG	A un matraz de tres bocas se agregaron 20mmol de 1-octadecano (ODA), 10 mmol de octadecilamina (ODE) y 10 mmol de ácido oléico (OA). La mezcla se calentó a 70 °C y se desoxigenó durante 10 minutos. Se inyectaron 0.1 mmol de dietilditiocarbamato de plata (Ag-DDTC) en 1.5 ml de piridina, se puso al vacío 30 minutos a 200 °C. El producto se lavó tres veces con exceso de etanol y fue dispersado en 10 mL de ciclohexano. Después se realizó una mezcla con 3 mg de poli (etilenglicol) – poli (β-amino ésteres) (PEG 5k-PAE 10K) y 1.5 mg del producto, y se puso en ultrasónico 10 minutos. Posteriormente, se agregó 1 mg de quercetina (QE), se dejó otros 10 minutos en ultrasónico. La solución obtenida se añadió gota a gota en agua ultrapura a 40 °C, se dejó otros 10 minutos en ultrasónico y luego la mezcla se sometió a evaporación rotatoria. Se mezclaron 3 mg de PEG 5k-PAE 10k y 1.5 mg de nanodots (NDs) Ag ₂ S hidrófobos y se dejó en ultrasónico 10 minutos, luego se le añadieron 0.5 mg de QE y 0.25 mg de DCM-NH ₂ y fue ultrasonificada 10 minutos. Posteriormente, la mezcla fue añadida gota a gota a agua ultrapura a una temperatura de 40 °C. Después la mezcla fue agitada otros 10 minutos en ultrasónico, se sometió a evaporación rotatoria y el producto fue dispersado en agua.	No se menciona estructura cristalina.

Notas: NPs: nanopartículas; GK: goma de ondagogu (*Cochlospermum gossypium*); RHA-MCM-41: nanopartículas de la ceniza de cáscara de arroz; rGO: óxido de grafeno reducido.

Fuente: Elaboración de los autores.

El método para el ensayo antimicrobiano más empleado para las nanopartículas de Ag₂S es el de difusión en disco o en placa, pero no en todos los estudios compararon los resultados con un control positivo como la ampicilina o la gentamicina (Ayoghya y Veerabhadram, 2016; Jafari *et al.*, 2017). La actividad antimicrobiana del sulfuro de plata se potencializa cuando es sintetizado con agentes estabilizadores o con un compuesto adicional para formar nanocompuestos. No obstante, la zona de inhibición para *S. aureus* varía de 11 a 38 mm independientemente del tamaño y del agente o compuesto adicional con el que se encuentre el Ag₂S. Podemos citar el trabajo de Jafari y colaboradores (2017), quienes reportaron un halo de inhibición de 11 mm y una concentración mínima inhibitoria (MIC) de 15 µg/mL en Ag₂S sintetizadas con nanopartículas de cáscara de arroz (RHA-MCM-41) con un tamaño de 70 nm. Iqbal y colaboradores (2019) reportaron un halo de 22 mm y un valor de MIC de 470 µg/mL en nanopartículas de Ag₂S de 50-100 nm. Mientras que, Ayodhya y Veerabhadram (2016) reportaron 38 mm a 10 µL de nanopartículas Ag₂S/GK con un tamaño de 25 nm. Los mismos autores Jafari *et al.* (2017), Ayoghya Veerabhadram (2016) e Iqbal *et al.* (2019) reportan la inhibición contra *E. Coli* de 11 mm, MIC=15 µg/mL (Ag₂S-RHA-MCM-41); 28 mm, MIC=135 µg/mL (Ag₂S) y 22.38 mm y 10 µL (Ag₂S/GK), respectivamente.

Tabla 3. Comparación de propiedades antimicrobianas de los artículos de estudio a una incubación de 24 h.

Referencia	Nanoestructuras Ag ₂ S / Agente o compuesto adicional	Tamaño nanopartículas de Ag ₂ S (nm)	Método de ensayo antimicrobiano	Control positivo	Microrganismos de estudio	Concentración de Ag ₂ S	Zona de Inhibición (mm)
Ayoghya y Veerabhadram, 2017	NPs esféricas/ GK	25 nm	Método difusión de disco (Kirby- Bauer)	Ampicilina	<i>E. coli</i> (Gram -)	10 µL	NPs = 10.34 mm
					<i>P. aeruginosa</i> (Gram -)		NPs /GK = 22.38 mm
					S. aureus (Gram +)		NPs = 13.68 mm
					<i>B. thuringiensis</i> (Gram +)		NPs /GK = 28.82 mm
							NPs = 15.81 mm
NPs /GK = 38.34 mm							
Jafari et al., 2017	NPs/RHA-MCM-41	70 nm	Método de difusión de disco (Kirby-Bauer)	Gentamicina	<i>E. coli</i> (Gram -)	MIC = 15 µg/mL	11 mm
					S. aureus (Gram +)		11 mm
Huo et al., 2018	Ag/Ag ₂ S	Aglomerados con morfología irregular	En tubo de ensayo (Test tube)	No menciona	<i>E. coli</i> (Gram -)	100 µg/mL	86.14 %
	Ag ₂ S/rGO						79.12 %
	Ag/Ag ₂ S/rGO						97.76%
Delgado-Beleño et al., 2018	NPs cuasi-esféricas-zeolita A4	9.2 ± 3.5 nm	Método de difusión de disco (Kirby-Bauer)	Gentamicina	<i>E. coli</i> (Gram -)	20,000 µg	9.5 mm
					<i>K. pseudomona</i> (Gram -)		10 mm
					S. aureus (Gram +)		15 mm
					<i>S. agalactiae</i> (Gram +)		11 mm
Subramaniyan et al., 2018	NPs/N14E	8-30 nm	Ensayo en placa microtitulación de resazurina (REMA)	No menciona	<i>E. coli</i> (Gram -)	MIC = 50 µM	~ 62% Fluorescencia (λ _{ex} = 350 nm)
					<i>P. aeruginosa</i> (Gram -)		~ 65% Fluorescencia (λ _{ex} = 350 nm)
					<i>S. aureus</i> (Gram +)		~ 65% Fluorescencia (λ _{ex} = 543 nm)
					<i>B. subtilis</i> (Gram +)		~ 72% Fluorescencia (λ _{ex} = 543 nm)
Iqbal et al., 2019	NPs/CdS	~ 50-100 nm	Método difusión en Agar (Agar Well difusión)	No menciona	<i>E. coli</i> (Gram -)	NPs MIC=135 µg/mL	28.10 mm
						NPs/CdS (10%) MIC=169 µg/mL	39.24 mm
					<i>P. aeruginosa</i> (Gram -)	NPs MIC=69 µg/ml	25.10 mm
						NPs/CdS (10%) MIC=87 µg/mL	35.88 mm
					S. aureus (Gram +)	NPs MIC=470 µg/mL	22.77 mm
						NPs/CdS (10%) MIC=565 µg/mL	30.23 mm

Nota: NPs: nanopartículas; GK: goma de kondagogu (*Cochlospermum gossypium*); RHA-MCM-41: nanopartículas de la ceniza de cáscara de arroz; rGO: óxido de grafeno reducido.
 Fuente: Elaboración de los autores.

Tabla 4. Viabilidad celular y citotoxicidad del sulfuro de plata a 24 h.

Referencia	Tipo de Ag ₂ S/ Agente o compuesto adicional	Tamaño nanopartículas de Ag ₂ S (nm)	Método de ensayo	Células de estudio	Concentración (µg/mL)	Resultados de biocompatibilidad
Javidi <i>et al.</i> , 2016	QDs esféricos/ MAA	< 5	MTT	HCL A549	6.25–200	~ 95-90%
				Hep G2		~ 80-100%
Vardar <i>et al.</i> , 2018	QDs esféricos/ 2-MPA	3.74 ± 0.33	MTT	V79	IC ₅₀ = 1361	80%-40% a 200-2000 µg/mL
			NRU			IC ₅₀ = 1269
Xiong <i>et al.</i> , 2019	NPs/NC(ZIF-8)	15 nm	MTT	NIH3T3	50-200	~ 68-78%
Wiercigroch- Walkosz <i>et al.</i> , 2019	QDs esféricos/ PhLd	< 5 nm	MTS	NIH3T3	1300	No cambió la morfología celular en la mayoría de las células tratadas, los cambios fueron visibles solo en las células NIH3T3.
				HCT116		
Vardar <i>et al.</i> , 2019	QDs esféricos/ DMSA	2.9 nm	MTT	V79	5-2000	54.0 ± 4.8% a 2000 µg/mL
			NRU			65.7 ± 4.1% a 2000 µg/mL
Aydemir <i>et al.</i> , 2020	QDs esféricos/ GSH	3.16 nm	MTT	293 T	0-300	~ 98-65 %
				CFPAC-1		~ 98-75%
Zhong <i>et al.</i> , 2020	NDs/QE-PEG	52 nm	MTT	HepG-2	10-300	~ 90%
				HL-7702		

Nota: Se considera la viabilidad superior al 80% como base no tóxica en ISO 10993-5. MTT: método colorimétrico que utiliza Bromuro de 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazolio; NRU: ensayos de captación de rojo neutro; MTS: ensayo de proliferación celular; CellTiter 96 Aqueous One Solution. NIH3T3: línea celular de fibroblastos embrionarios de ratón; HCT116: línea celular de carcinoma colorrectal humano; 293 T: células de riñón embrionario humano; CFPAC-1: células de adenocarcinoma ductal humano; HCL A549: células humanas A549 (lung carcinoma). QE-PEG: inhibidor de HSP70; GSH: glutatión; NC: nanocubos; PhLd: nanoestructuras de fosfolípidos.

Fuente: Elaboración de los autores.

Viabilidad celular

La comparación de los resultados de viabilidad celular en función de la concentración de sulfuro de plata en los estudios individuales se describe en la tabla 4. Se observa que los puntos cuánticos < 5 nm de sulfuro de plata y el método de MTT para determinar la biocompatibilidad son los más utilizados. Los estudios que usaron ácidos orgánicos (ácido mercaptoacético, MAA; ácido meso-2,3-dimercaptosuccínico, DMSA; ácido 2-mercaptopropiónico, 2-MPA) como agentes estabilizadores en la síntesis de los puntos cuánticos, mostraron porcentajes bajos de viabilidad celular. Puntos cuánticos esféricos de Ag₂S/DMSA de 2.9 nm presentan el 65% de viabilidad celular a 2000 µg/mL con células de fibroblastos de pulmón de hámster chino (V79) (Vardar *et al.*, 2019). En un rango de 10 a 300 µg/mL de nanopuntos (NDs) de Ag₂S/QE-PEG (52 nm de diámetro) exhibieron alrededor del 90% de viabilidad celular con una línea celular de carcinoma hepatocelular (HepG-2) (Zhong *et al.*,

2020). La concentración utilizada en los estudios varía de 5 a 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de nanopartículas de sulfuro de plata.

Discusión

En los artículos seleccionados se observó una gran variedad de resultados, tanto en los métodos de síntesis como en los métodos de los ensayos biológicos y antimicrobianos. A pesar de que en algunos estudios utilizaron diferentes microorganismos Gram (+) y Gram (-), no se observan diferencias en las medidas de los halos de inhibición.

Por otro lado, la comparación de la viabilidad celular y el rango de concentración de nanopartículas fue complicada debido a la utilización de distintas células. Sin embargo, se pudo observar que el tamaño de la partícula de Ag_2S influye en la viabilidad celular. Al exponer fibroblastos NIH3T3 con nanopartículas $\text{Ag}_2\text{S}/\text{NC}(\text{ZIF}-8)$ de 15 nm, se presentó una viabilidad celular entre el 68 y el 78% en un rango de concentración de 50-200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Xiong *et al.*, 2019). Mientras que con una concentración de 1300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de QDs- Ag_2S (< 5 nm) no se observó un cambio en la morfología celular con el mismo tipo de fibroblastos (Wiercigroch-Walkosz *et al.*, 2019). Javidi y Zhong reportaron una biocompatibilidad de 80-100% con células Hep G2 en un rango de concentración de 6.25 a 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Javidi *et al.*, 2016, Zhong *et al.*, 2020).

Aunque la falta de evidencia es abundante, se puede decir que el tamaño de las partículas de sulfuro de plata influye, efectivamente, en su biocompatibilidad y efecto inhibitorio, pero sin dependencia clara alguna.

Limitaciones

Las restricciones encontradas en esta revisión sistemática fueron: a) una insuficiente cantidad de artículos que estudiaran específicamente las partículas de sulfuro de plata sin algún agente o compuesto; b) descripción cualitativa o cuantitativa de los resultados de citotoxicidad, de efecto antimicrobiano de las partículas de sulfuro de plata, esto es, falta de un formato universal para la expresión de los resultados, con el fin de comparar entre estudios con la misma bacteria o células.

Otra de las limitaciones es la falta de artículos que hablaran sobre las diferentes estructuras cristalinas del sulfuro de plata (monoclínica, cúbica centrada en el cuerpo y cúbica centrada en las caras), pues solo se estudiaron partículas con estructura monoclínica. Por lo cual, también es importante evaluar los resultados que presentarían cada una de las estructuras cristalinas al ser sometidas a estudios de citotoxicidad, inhibición bacteriana y genotoxicidad.

Conclusiones

La mayoría de los artículos seleccionados revelan que las nanoestructuras de Ag_2S poseen efectividad contra microorganismos Gram(+) y Gram(-) indepen-

dientemente del tamaño de la partícula y la concentración. La viabilidad celular que presentan los puntos cuánticos menores a 5 nm no muestran una tendencia clara con el tamaño y la concentración.

Por otro lado, la síntesis para obtener las nanopartículas de sulfuro de plata no muestran una modificación en la inhibición bacteriana y viabilidad celular, pero sí representan una importante diferencia en el tamaño del Ag_2S .

Es necesario realizar nuevos estudios *in vitro* o *in vivo* para determinar si existe dependencia de la concentración y del tamaño de las nanoestructuras en las propiedades biológicas y antimicrobianas de sulfuro de plata.

Referencias

- Aydemir, Duygu., Hashemkhani, Mahshid., Acar, Havva, Yagic y Ulusu, Nuriye, Nuriye. (2020). Evaluation of the biocompatibility of the GSH- coated Ag_2S quantum dots *in vitro*: a perfect example for the non-toxic optical probes. *Molecular Biology Reports*, 47: 4117-4129. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05522-3>
- Ayoghya, Dasari y Veerabhadram, Guttena. (2016). Green synthesis, characterization, photocatalytic, fluorescence and antimicrobial activities of *Cochlospermum gossypium* capped Ag_2S nanoparticles. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 157: 57-69. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.02.002>
- Delgado-Beleño, Y., Martínez-Nuñez, C. E., Cortez-Valadez, M. y Flores-Lopez, N. S. (2018). Optical properties of silver, silver sulfide and silver selenide nanoparticles and antibacterial applications. *Materials Research Bulletin*, 99: 385-392. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2017.11.015>
- Feng Lu, Yi Gong, Wenwen Ju, Feng Cheng, Kaiwei Zhang, Qi Wang, Wenjun Wang, Junbo Zhong, Quli Fan, y Wei Huang. (2019). Facile one-pot synthesis of mono-dispersed NIR-II emissive silver sulfide quantum dots. *Inorganic Chemistry Communications*, 106: 233-239. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2019.06.013>
- Jafari, Leila., Pourahman, Afshin y Asadpour, Leila. (2017). Rice husk based MCM-41 nanoparticles loaded with Ag_2S nanostructures by a green and room temperature method and its antimicrobial property. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 47(11): 1552-1559. <https://doi.org/10.1080/24701556.2017.1357609>
- Javidi, Javidi., Haeri, Azadeh., Shirazi, Farshad, Hosseini., Kobarfard, Farzad y Dardashzadeh, S. (2017). Synthesis, characterization, *in vivo* imaging, hemolysis, and toxicity of hydrophilic Ag_2S near-infrared quantum dots. *Journal of Cluster Science*, 28(1): 165-178. <https://doi.org/10.1007/s10876-016-1060-5>
- Huo, Pengwei., Liu, Chongyang., Wu, Dongyao., Guan, Jingru., Li, Jinze., Wang, Huiqin y Yuan, Shouqiu. (2018). Fabricated $\text{Ag}/\text{Ag}_2\text{S}/\text{reduced}$ graphene oxide composite photocatalysts for enhancing visible light photocatalytic and antibacterial activity. *Journal of industrial and engineering chemistry*, 57: 125-133. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2017.08.015>
- Ibrahim Khaleelullah, M. M. S., Dheivasigamani, T., Natarajan, P., Masuda, Y., Inami, W., Kawata, Y., y Hayakawa, Y. (2016). Size controlled synthesis of silver sulfide

- nanostructures by multi-solvent thermal decomposition method. *Journal of Crystal Growth*, 468: 119-124. <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgr.2016.10.081>
- Iqbal, Tahir., Ali, Faisal., Khalid, N.R., Tahir, M. Bilal y Ijaz, Mohsin. (2019). Facile synthesis and antimicrobial activity of CdS-Ag₂S nanocomposites. *Bioorganic Chemistry*, 90: 103064. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103064>
- Mohamed Mathar Sahib Ibrahim Khaleelullah, Thangaraju Dheivasigamani, Prakash Natarajan, Yuriko Masuda, Wataru Inami, Yoshimasa Kawata, Yasuhiro Hayakawa. (2017). Size controlled synthesis of silver sulfide nanostructures by multi-solvent thermal decomposition method. *Journal of Crystal Growth*, 468: 119-124. <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgr.2016.10.081>
- Subramaniyan, Siva, Bola., Megarajan, Segan., Vijayakumar, Santhash., Mariappan, Mariappan y Anbazhagan, Veerappan. (2018). Evaluation of the toxicities of silver and silver sulfide nanoparticles against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *IET nanobiotechnology*, 13(3): 326-331. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2018.5221>
- Sadovnikov, S. I., Rempel, A. A., y Gusev, A. I. (2018). Nanostructured silver sulfide Ag₂S nanostructured lead, cadmium, and silver sulfides. En *Nanostructured lead, cadmium, and silver sulfides*. Suiza: Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-56387-9>
- Vardar Deniz Özkan, Aydin Sevtap, Hocaoglu Ibrahim, Acar Havva Yağci y Basarán Nursen. (2018). Effects of silver sulfide quantum dots coated with 2-mercaptopropionic acid on genotoxic and apoptotic pathways *in vitro*. *Chemico-biological interactions*, 291: 212-219. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.06.032>
- Vardar Deniz Özkan, Aydin Sevtap, Hocaoglu Ibrahim, Acar Havva Yağci y Basarán Nursen. (2019). An *in vitro* study on the cytotoxicity and genotoxicity of silver sulfide quantum dots coated with Meso-2, 3-dimercaptosuccinic Acid. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16(3): 282-291. <https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2018.85619>
- Xiong, Ke., Li, Jun., Tan, Lei., Cui, Zhenduo., Li, Zhaoyang., Wu, Shuilin y Liu, Xiangmei. (2019). Ag₂S decorated nanocubes with enhanced near-infrared photothermal and photodynamic properties for rapid sterilization. *Colloid and Interface Science Communications*, 33: 100201. <https://doi.org/10.1016/j.colcom.2019.100201>
- Wiercigroch-Walkosz, Katarzyna., Cichos, Jakub., Wysokińska, Edyta., Rotko, Grzegorz., Kałas, Wojciech y Karbowiak, Mirosław. (2019). Near-infrared Ag₂S quantum dots loaded in phospholipid nanostructures: physical properties, stability and cytotoxicity. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 579: 123631. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.123631>
- Zhong, Yaping., Zou, Yibiao., Liu, Lingyan., Li, Ruohan., Xue, Fengfeng y Yi, Tao. (2020). pH-responsive Ag₂S nanodots loaded with heat shock protein 70 inhibitor for photoacoustic imaging-guided photothermal cancer therapy." *Acta Biomaterialia*. 115 (2020): 358-370. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.08.007>