



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**  
**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**



**EFFECTIVIDAD BACTERICIDA DEL DIAMINO FLUORURO DE PLATA A  
DIFERENTE CONCENTRACIÓN SOBRE ESTREPTOCOCOS CARIOGÉNICOS  
EN MUESTRAS DE SALIVA Y DENTINA DE ESCOLARES. UN ESTUDIO IN  
VITRO.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**ESPECIALISTA EN ESTOMATOLOGÍA DEL NIÑO  
Y DEL ADOLESCENTE**

**P R E S E N T A:**

**MARÍA TERESA PÉREZ MORALES**

**DIRECTOR DE TESIS: DRA. RAQUEL RETANA UGALDE**

**ASESOR DE TESIS: QFB. JOSÉ OSCAR GONZÁLEZ MORENO**

México D.F. Junio 2015.





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## AGRADECIMIENTOS

*A la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme ser parte de ella y a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por mi formación profesional para la vida.*

*A mi directora de tesis Raquelita Retana Ugalde por su gran apoyo en todos y cada uno de los momentos de este trabajo, aunque al comienzo difícil siempre conté con su apoyo, muchas gracias maestra por su tiempo y dedicación en mi trabajo.*

*A mi asesor de tesis José Oscar González Moreno, con su excelente guía y dedicación pude concluir con éxito este proyecto de investigación, gracias maestro por darme de su tiempo, gracias por guiarme y corregir todos y cada uno de mis errores con la finalidad de poder culminar este proyecto.*

*A mí misma, por ser una persona que siempre mira hacia delante, que no le tiene miedo a los nuevos retos y en la mente lleva el lema "éxito como profesional, amiga, madre, esposa, hermana y estudiante"*

## DEDICATORIAS

*A Jehová Dios por permitirme estar viva hasta este momento y poder culminar mi trabajo, gracias por acompañar mi camino y bendecirme de esta manera.*

*A Joel Enrique Barrientos Nicolás mi compañero de vida incondicional, que llegó en el mejor momento de mi vida que ha soportado conmigo dificultades de todo tipo y siempre está a mi lado, muchas gracias mi vida, eres un ser maravilloso que nunca me dejas sola y soportas todos mis buenos y malos momentos te amo por ser parte de mi vida.*

*A Mayte Romina Barrientos Pérez, que con su inocencia y gran amor que me demuestra día a día es lo que me impulsa a seguir a delante, que ha soportado muchas veces mi ausencia en su vida, pero me sigue amando, muchas gracias hija de mi vida.*

*A Juana Pérez Morales, mi gran amiga, confidente, socia y sobre todo la hermana que Dios me dio, muchas gracias por todo tu apoyo, no tengo manera de pagártelo, pues siempre estabas cuando más te necesitaba te amo mucho hermana mía.*

## ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRAC	2
I. INTRODUCCIÓN	3
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1 CARIES DENTAL	4
2.2 ETIOPATOGENIA DE LA CARIES DENTAL	5
2.3 BIOPELÍCULA ACELULAR ADQUIRIDA.	6
2.3.1 MECANISMO DE FORMACIÓN	6
2.3.2 COLONIZACIÓN PRIMARIA	7
2.3.3 COLONIZACIÓN SECUNDARIA:	8
2.4 LESIÓN CARIOSA EN ESMALTE	9
2.4.1 ASPECTO HISTOPATOLÓGICO DE LA CARIES DE ESMALTE	10
2.4.2. LESIÓN CARIOSA EN DENTINA	10
2.4.4 LESIÓN NO CAVITADA EN DENTINA	12
2.4.5 LESIÓN CAVITADA EN DENTINA	12
2.5. CLASIFICACIONES DE LESIONES POR CARIES DENTAL	13
2.5.1 CARIES DENTAL POR GRADO DE SEVERIDAD ICDAS (Sistema internacional de detección y valoración de caries) EE.UU 2005. <sup>9</sup>	13
2.5.2 CLASIFICACIÓN POR GRADO DE AFECTACIÓN A LOS TEJIDOS	14
2.5.3 CLASIFICACIÓN SEGÚN SU LOCALIZACIÓN. GREENE VARDIMAN BLACK:	15
2.6 TAXONOMÍA DE LOS ESTREPTOCOCOS VIRIDANS	16
2.6.1 CARACTERÍSTICAS OBSERVADAS EN PLACAS DE LAS COLONIAS DE ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO VIRIDANS.	17
2.7 EPIDEMIOLOGÍA DE LA CARIES DENTAL	18
III. SALIVA	19
3. EL PROCESO DE REMINERALIZACIÓN – DESMINERALIZACIÓN COMO EQUILIBRIO NATURAL CONTRA LA CARIES DENTAL.	20
IV FLUORUROS	21
4.1. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS FLUORUROS	21
4.2. DIAMINO FLUORURO DE PLATA Ag (NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> F.	22
4.3. MECANISMO DE ACCIÓN	23
4.4. EFECTO SOBRE LAS BACTERIAS DEL BIOFILM	24
4.5. PROPIEDADES FÍSICO- QUÍMICAS	25
4.6. ASPECTOS DE SU APLICACIÓN CLÍNICA	26
4.7. DESVENTAJAS DE SU APLICACIÓN CLÍNICA	26
4.8. COMPOSICIÓN Y PRESENTACIONES COMERCIALES DEL DIAMINO FLUORURO DE PLATA:	28
4.9. RECOMENDACIONES DE USO EN ODONTOLOGÍA	29
V. EPIDEMIOLOGÍA DEL DIAMINO FLUORURO DE PLATA	30

Efectividad Bactericida del Diamino Fluoruro de Plata a diferente concentración sobre estreptococos cariogénicos en muestras de saliva y dentina de escolares. Un estudio in vitro.

<b>VI. CUADRO DE REVISIÓN SISTEMÁTICA</b>	<b>34</b>
<b>VII. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>37</b>
<b>VIII. HIPÓTESIS</b>	<b>38</b>
<b>IX. OBJETIVO</b>	<b>39</b>
<b>X. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>40</b>
<b>10.1 TIPO DE ESTUDIO</b>	<b>40</b>
<b>10.2 UNIVERSO DE ESTUDIO</b>	<b>40</b>
<b>10.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN</b>	<b>40</b>
<b>10.4 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN</b>	<b>40</b>
<b>10.5 VARIABLES</b>	<b>41</b>
<b>10.6. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.</b>	<b>42</b>
<b>10.7 TÉCNICAS</b>	<b>43</b>
<b>10.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b>	<b>45</b>
<b>XI. RESULTADOS</b>	<b>48</b>
<b>XII. DISCUSIÓN</b>	<b>50</b>
<b>XIII. CONCLUSIONES</b>	<b>52</b>
<b>XIV. PERSPECTIVAS</b>	<b>53</b>
<b>XV. REFERENCIAS</b>	<b>54</b>
<b>XVI. ANEXOS</b>	<b>59</b>

## RESUMEN

La OMS y la FDI han dictaminado que del 60-90% de niños en edad escolar están afectados por caries dental. En nuestro país el sistema de vigilancia epidemiológica de patologías bucales (SIVEPAB) 2007. Reporta que el 100% de la población a nivel nacional padece caries dental en diversos grados. En otro informe (SIVEPAB) 2012. Reporta un índice de 85% de caries dental a nivel nacional en población pediátrica. Agentes anticariogénicos como el diamino fluoruro de plata son un alentador en el tratamiento para disminuir estos altos índices de caries dental en nuestro país, este agente puede comportarse como bactericida o bacteriostático con base en su concentración y su capacidad de inhibir metaloproteinasas endógenas. (MMPs-2, 8,9).

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál será la efectividad bactericida del Diamino fluoruro de plata a diferente concentración sobre Estreptococos cariogénicos tomados de muestras de saliva y dentina de escolares?

## OBJETIVO

Determinar la efectividad bactericida del diamino fluoruro de plata (Saforide<sup>R</sup>) a diferente concentración sobre el crecimiento bacteriano de *Streptococcus mitis*, *S. salivarius* y *S. mutans* en muestras de saliva y dentina en escolares.

## MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio experimental, como variable independiente se tomó el efecto bactericida del diamino fluoruro de plata y como dependiente el halo de inhibición. Se utilizaron medidas descriptivas, y como prueba de comparación análisis de varianza utilizando como Pos hoc Tukey con un 95% de confianza, así como análisis exploratorio de datos.

## RESULTADOS

Se analizaron 100 muestras de las cuales el 48.3% correspondió a *S. mutans*, un 41.4% a *S. salivarius* y un 10.3% de *S. mitis*, obtuvimos un mayor halo de inhibición para los tres microorganismos al 38% mostrando una diferencia estadísticamente significativa con respecto al 12% ( $p < 0.05$ ). También se observó que al 12% muestra efecto bacteriostático, no así para la concentración del 38% encontrándose un efecto bactericida.

## CONCLUSIONES

Nuestros resultados sugieren que la concentración al 38% tiene un efecto bactericida sobre estreptococos del grupo Viridans y al 12% mostro un efecto bacteriostático, no recomendable para el arresto o detención de caries dentinaria.

## ABSTRACT

WHO and IDF have ruled that 60-90% of schoolchildren are affected by dental caries. In our country the system of epidemiological surveillance of oral pathologies (SIVEPAB) 2007 Report that 100% of the national population suffers from dental caries in varying degrees. In another report (SIVEPAB) 2012. Report a rate of 85% of dental caries nationally in pediatric population. Diamino anticariogenic agents such as silver fluoride are an encouraging decrease in treatment for these high rates of tooth decay in our country, this agent can act as bactericidal or bacteriostatic based on their concentration and their ability to inhibit endogenous metalloproteinase. (MMP-2, 8, 9).

### PROBLEM

What will be the bactericidal effectiveness of Diamino Silver Fluoride different concentration on cariogenic Streptococci saliva samples taken from school and dentin?

### OBJECTIVE

Determine the bactericidal effectiveness Diamino silver fluoride (DFP) to different concentration on bacterial growth of *Streptococcus mitis*, *S. mutans* and *S. salivarius* in saliva samples and dentin in school.

### MATERIALS AND METHODS

An experimental study was conducted as an independent variable the bactericidal effect of silver diamine fluoride was taken as dependent inhibition halo. Descriptive measures were used as comparison test and analysis of variance using Pos hoc Tukey with 95% confidence, and exploratory data analysis.

### RESULTS

100 samples of 48.3% which corresponded to *S. mutans* 41.4% to 10.3%, *S. salivarius* and *S. mitis* were analyzed, we obtained a larger zone of inhibition for all three organisms at 38% showing a statistically significant difference from 12% ( $p < 0.05$ ). It was also observed that the 12% sample bacteriostatic effect, not to the concentration of 38% was found a bactericidal effect.

### CONCLUSION

Our results suggest that 38% concentration has a bactericidal effect on streptococci Viridans group and 12% showed not recommended for the arrest or detention of dentine caries bacteriostatic effect.

## I. INTRODUCCIÓN

La caries dental es un problema de salud pública a nivel mundial de ahí que la Organización Mundial de la Salud (OMS) en su último informe en el 2007, dictaminara que la caries dental se encuentra en un 60% a 90 % de los niños en edad escolar en todo el mundo siendo estos los valores más devastadores en países en vías de desarrollo donde el acceso a los servicios de salud bucal es limitado, tal es el caso de nuestro país donde de acuerdo con los resultados del sistema de vigilancia epidemiológica de patologías bucales (SIVEPAB) 2007, con información de usuarios que acuden a los servicios de salud odontológicos, el 100% padece caries dental en diversos grados, lo que genera un índice de necesidades de tratamiento de más de 70% en nuestro país. En otro informe cinco años después (SIVEPAB) 2012, de un total de 4764 de niños y adolescentes revisados de las 32 entidades federativas del país que acuden a las diferentes instancias del sector salud con edades comprendidas de 2 a 10 años de edad presentaron un índice de caries dental de más del 85 %. Lamentablemente, el empleo de agentes anticariogénicos como el diamino fluoruro de plata (Saforide ®) en nuestro país es limitado, sin embargo se ha reportado una efectividad del 90% en la detención de caries dentinarias y remineralización del esmalte en caries incipientes, por tanto, sería de gran utilidad emplearlo ampliamente en poblaciones pediátricas que no cuentan o son pocas sus posibilidades de acceder a los servicios de salud bucal, es importante mencionar que este agente es relativamente de bajo costo, no requiere equipo especializado y es de fácil manipulación, por lo cual fue posible realizar esta investigación específicamente en población pediátrica, asimismo, los estudios que se han hecho en el campo microbiológico son escasos de ahí la importancia de este estudio mediante el cual se pretende determinar la efectividad bactericida del diamino fluoruro de plata a diferente concentración 12% y 38% sobre estreptococos cariogénicos, así como determinar la sensibilidad de cada microorganismo mediante la formación de halos de inhibición en cultivo in vitro lo cual fue la pieza clave de esta investigación para poder determinar la sensibilidad y el efecto bactericida. El propósito final de este estudio es promover futuras investigaciones encaminadas a determinar concentraciones mínimas inhibitorias sobre metaloproteinasas para cada microorganismo, en una dilución que sea microbiológicamente viable y efectiva para la detención de caries y así ser usada en poblaciones pediátricas de comunidades alejadas y contribuir a disminuir los altos índices de caries dental en la población pediátrica de nuestro país.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 CARIES DENTAL

Una de las enfermedades de mayor prevalencia e incidencia en los niños preescolares y escolares es la caries dental, causando ausentismo escolar, dolor y pérdida prematura de órganos dentarios deciduos y sus posteriores consecuencias sobre el desarrollo dental y óseo.<sup>1</sup>

Fejerskov 2004, la define como una enfermedad infecciosa, compleja, transmisible y multifactorial, en la que un amplio grupo de factores biológicos, socio-económicos y culturales interactúan, directa o indirectamente en el establecimiento y desarrollo de los microorganismos cariogénicos incluidos en la comunidad microbiana de la biopelícula dental natural, afectando a la estructura dura de las piezas dentarias y se caracteriza por su desintegración molecular, localizada y progresiva que lleva, si no se detiene su avance natural, a una lesión irreversible.<sup>2</sup>

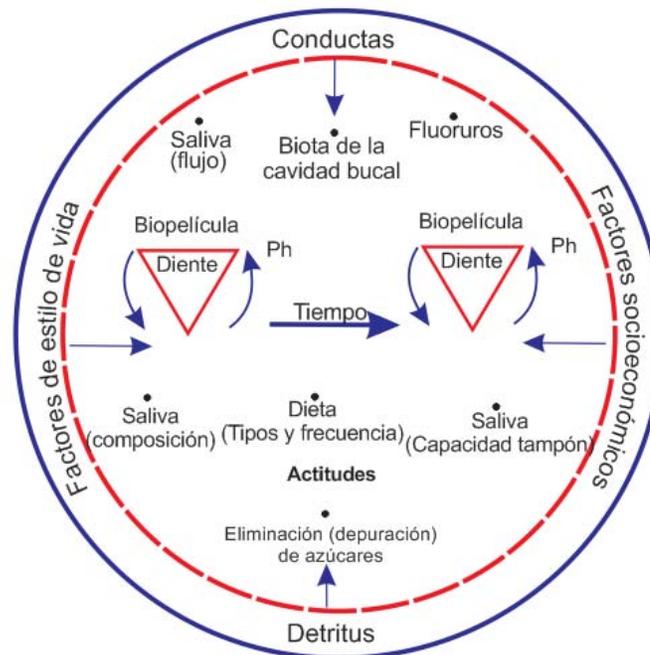


Figura 1. Factores etiológicos de la Caries. Diagrama de Fejerskov. Tomada de Negróni M.2009.<sup>2</sup>

## 2.2 ETIOPATOGENIA DE LA CARIES DENTAL

Los microorganismos acidogénicos comienzan a establecerse en la cavidad bucal desde los primeros días de vida del individuo. Según Keyes, existen tres factores primarios que deben estar presentes para que se produzca la caries dental. Estos son el huésped representado por el diente y el fluido salival, la dieta constituida por los hidratos de carbono ingeridos y el biofilm dental.<sup>3,4</sup>

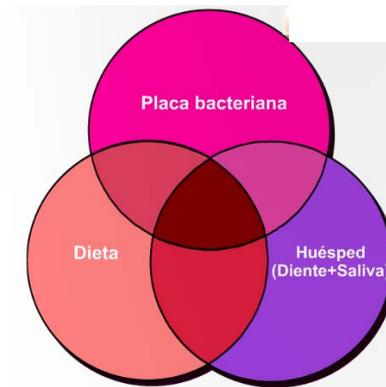


Figura 2. Triada de Keyes. Tomada de Meneses G. 2015.<sup>3</sup>

Ernest Newbrun añade a la triada de Keyes el factor tiempo. Este proceso patológico requiere que exista un huésped susceptible, una flora oral cariogénica, y un sustrato apropiado que deberán estar presentes durante un tiempo determinado para que la lesión se desarrolle.

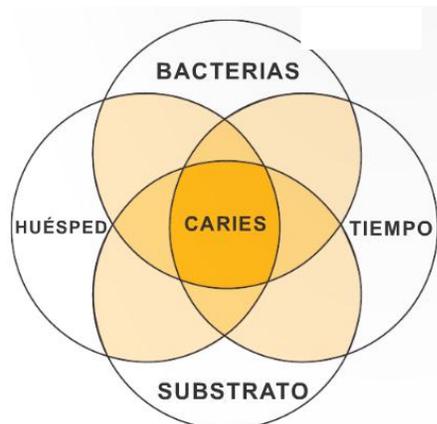


Figura 3. Triada y tiempo de Newbrun. Tomada de Meneses G. 2015.<sup>3</sup>

En el inicio del proceso de la caries dental se ha descrito a la biopelícula como una estructura primordial en el inicio de la caries dental formada por dos matrices principales a saber:

1. La capa salival o cutícula acelular adquirida
2. La capa formada por microorganismos y sus polímeros extracelulares.<sup>3,4</sup>

### **2.3 BIOPELÍCULA ACELULAR ADQUIRIDA.**

El esmalte del diente de recién erupción se encuentra cubierto por una delgada capa proteínica denominada cutícula del esmalte, la cual es producto final de la actividad generadora del ameloblasto y desaparece con rapidez para así permitir el contacto directo del diente con el medio bucal. Pocos minutos después posteriores a la higiene oral, se forma una nueva cubierta, la película adquirida, de aspecto claro y translúcido, su grosor se ha estimado de 1-2  $\mu\text{m}$ , siendo esta película el primer estadio que dará lugar a la formación del biofilm dentario. La película adquirida a diferencia del biofilm dental no se remueve con el cepillado manual, sólo desaparece con un abrasivo fuerte, pero vuelve a formarse de inmediato al contacto con la saliva a los 90 minutos donde ya están integradas sus primeras capas, y a las tres o cuatro horas como máximo está completa.<sup>3,4</sup>

Dentro de su composición, es importante destacar que carece de bacterias y se compone principalmente de proteínas salivales (principalmente glucoproteínas salivales y fosfoproteínas), enzimas e inmunoglobulinas del huésped que se desnaturalizan posteriormente. Los componentes bacterianos tales como la enzima glucosiltransferasa (GTFs) y el glucano también han sido detectados en la película, y desempeñan un papel significativo en la unión y coagregación de microorganismos en la superficie dental. Las fosfoproteínas de la saliva participan en el proceso de remineralización-desmineralización, y así controlan las superficies desmineralizadas.<sup>3</sup>

#### **2.3.1 MECANISMO DE FORMACIÓN**

Se han propuesto varios mecanismos para explicar la adsorción selectiva de las bacterias sobre la película, sobre otras bacterias o sobre biopelícula formada con anterioridad. La existencia de cargas negativas sobre las bacterias y las glucoproteínas tienden a dificultar la unión entre ambas. Los iones calcio presentes en la saliva pueden neutralizar estas cargas y actuar como puentes entre la película y las bacterias; y así se forman agregados de glucoproteínas-calcio- bacterias.<sup>3,4</sup>

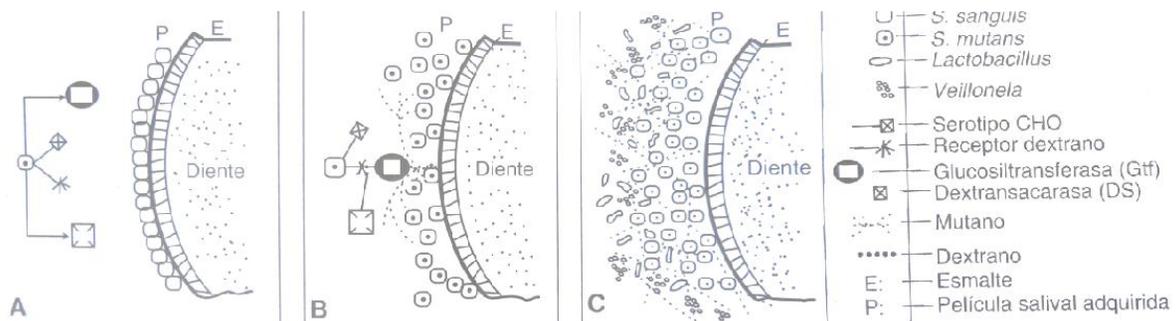


Figura 4. Interacciones entre los receptores de la película adquirida y las adhesinas de las bacterias. Tomado de Negroni M. 2009.<sup>2</sup>

### 2.3.2 COLONIZACIÓN PRIMARIA

Una vez establecida la película adquirida, comienzan a adherirse las primeras poblaciones bacterianas (aerobios Gram positivos en colonias aisladas o domos). Este biofilm suele estar compuesto por 20-30 especies de bacterias distintas, esta colonización es selectiva pues al parecer la película adquirida tiene receptores para las bacterias. No obstante, mientras que el resto de los factores se mantengan constantes, las bacterias de la biopelícula se encuentran en equilibrio; caso contrario, se produce un desequilibrio (consumo de azúcares, bajo pH, mala higiene bucal) en la población bacteriana y se favorece el desarrollo de especies que estaban en bajo número *S. mutans* y *Lactobacillos sp*, esta etapa tiene un tiempo de duración de 48 horas.<sup>3</sup> El desarrollo inicial de la enfermedad comienza con *Streptococcus mitis*, *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. sanguis*, que presentan adhesinas de alta afinidad con los componentes de la película salival adquirida. Al mismo tiempo la capacidad que poseen para la producción de IgA1- proteasas enzima producida por estos microorganismos que inhibe la función protectora de la inmunoglobulina IgA favoreciendo así su adhesión a la superficie del diente. Sin embargo, numerosos estudios han demostrado que *S. mutans* está relacionado con la biopelícula cariogénica y asociado con su comienzo; al mismo tiempo, en la saliva hay un aumento significativo de estos microorganismos antes de la formación de la caries dental.<sup>3,4</sup>

### 2.3.3 COLONIZACIÓN SECUNDARIA:

Es la etapa de agregación interbacteriana que comienza entre los tres y cinco días posteriores, produciéndose fenómenos de coadhesión interbacteriana relacionados a los constituyentes de la saliva a través de los polisacáridos extracelulares y fenómenos de adhesión intergenérica relacionados a la superficie de la bacteria, es decir, el que posean fibrillas o fimbrias en su superficie. Los microorganismos que participan en esta fase pueden ser: *Lactobacillus acidophilus*, este género es el primero relacionado con caries de dentina; actúan principalmente como “invasores secundarios” que aprovecha las condiciones ácidas y la retentividad existente en la lesión cariosa. *Actinomyces viscosus*, y otros microorganismos capaces de sobrevivir y proliferar en medios ácidos además de su capacidad de formar levanos a partir de la sacarosa; los levanos representan un elemento de nutrición más que de adherencia, inclusive poseen fimbrias que le permiten adherirse y agregarse con otras especies tales como *Actinomyces naeslundii* y *Streptococcus mutans*.<sup>3,4.</sup>

Cuadro 1. Según el tipo de caries, los microorganismos patógenos que predominan son:<sup>5,6</sup>

Superficies lisas	Fosetas y fisuras	Caries de dentina profunda
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Streptococcus salivarius</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>	<i>Actinomyces viscosus</i>
	<i>Streptococcus mitis</i>	<i>Actinomyces naeslundii</i>
	<i>Streptococcus salivarius</i>	<i>Streptococcus mutans</i>

En los modelos animales de laboratorio, los microorganismos que han demostrado ser cariogénicos a nivel coronal son, en mayor o menor proporción, especies homo y heterofermentativas; entre las más frecuentes están cuatro tipos de Estreptococos: *Streptococcus mutans*, *S. salivarius*, *S. mtis* y *S. sanguis*. Además, se encuentran dos tipos de Lactobacilos: cepas de *Lactobacillus casei* y de *Lactobacillus acidophilus*. Todas estas bacterias son acidógenas y acidófilas y comprenden menos del 1% del total de microorganismos cultivables de la flora bucal.<sup>7</sup> Estos microorganismos forman en conjunto, un grupo denominado Estreptococos Viridans debiendo su nombre a su tipo de hemólisis predominando el tipo alfa o en menor grado el tipo gamma en agar sangre de carnero al 5%.<sup>7</sup>

## 2.4 LESIÓN CARIOSA EN ESMALTE

La caries de esmalte, de manera general se encuentra limitada a superficies libres del diente como la zona vestibular, lingual, caras proximales y paredes que limitan los puntos y fisuras, de ahí la importancia de considerar la morfología dentaria como un factor que determina las características de propagación de la caries de esmalte es por lo que en las superficies libres se produce una desmineralización en forma de cono truncado con base hacia la superficie exterior y en fosetas y fisuras el sentido es inverso. El punto crítico para la desmineralización y con ello la lesión cariosa se encuentra en un pH de 5.5 o 5.6, dando como resultado la primera evidencia clínica de la caries de esmalte manifestándose como una “mancha blanca”, que se distingue del esmalte sano por su aspecto opaco y falta de translucidez al secar la superficie del diente. La pérdida de minerales se inicia en la subsuperficie, aunque el ácido que ocasiona la disolución pasa a través de la superficie, que durante esta etapa se encuentra intacta, hasta después de que se afecta la dentina, la lesión no visible mediante una radiografía. Si la desmineralización avanza, aparece una rugosidad superficial y cuando la pérdida mineral es de 30-50% se produce desmoronamiento, que permite a las bacterias tener acceso directo al esmalte más profundo. En fosetas y fisuras, la enfermedad se inicia como manchas blancas enfrentadas en las paredes de las fisuras, y al aumentar de volumen convergen en el fondo de la fisura progresando a lo largo de los prismas y las estrías de Retzius llegando hasta la unión entre esmalte y dentina, es importante destacar que esta lesión antes de su llegada a la dentina es indolora, extensa y poco profunda. La mancha blanca es la primera manifestación clínica de una lesión adamantina.<sup>4,5</sup>

### **2.4.1 ASPECTO HISTOPATOLÓGICO DE LA CARIES DE ESMALTE**

La lesión de esmalte, antes de formar cavidad, analizada desde la superficie externa hacia la dentina presenta las siguientes zonas:

1.- Zona superficial a prismática o capa de Darling: Es una franja permeable a la entrada de los productos bacterianos, especialmente a los ácidos. Presenta una porosidad del 5% y una pérdida de minerales de esta zona en torno a un 5%. En un corte transversal esta capa muestra un grosor de 20-40 micrómetros, sin daños significativos ni irreversibles en su estructura, debido a la mayor concentración de flúor en la superficie externa del esmalte. Además se observan pequeños túneles que atraviesan esta zona, a través de los cuales se desplazan los productos bacterianos hacia las zonas más profundas del esmalte, dando lugar a la zona correspondiente al cuerpo de la lesión, que es más oscura.<sup>5,8</sup>

2.- Cuerpo de la lesión o zona sub-superficial. La zona sub-superficial o cuerpo de la lesión, es la porción más desmineralizada de la lesión adamantina, tiene una porosidad del 25% y una pérdida de minerales entre el 18-50%. Este cuerpo de la lesión se delimita, hacia la parte interna, por esmalte que muestra alteraciones ligeras en prismas y sustancia interprismática, correspondiente a la zona oscura.<sup>5,8</sup>

3.- Zona oscura: Es una banda ubicada por debajo del cuerpo de la lesión. Presenta una porosidad de 2-4% de su volumen y una pérdida de minerales de 5-8%. Los cortes transversales han determinado una extensión de 20-30 micrómetros.<sup>5,8</sup>

4.- Zona translucida: Se ubica en la zona más profunda de la lesión, que corresponde al frente de avance o ataque interno. Esta zona es más porosa que el esmalte sano, siendo su porosidad de un 1% en contraste con el 0.1% del esmalte no afectado, Presenta una pérdida mineral de 1.0-1,5% siguiendo la morfología dentaria.<sup>5,8</sup>

### **2.4.2. LESIÓN CARIOSA EN DENTINA**

Al llegar al límite amelodentinario, el proceso carioso se difunde en dirección lateral, formándose como si fuera un cono de base interna. La dentina es un tejido poco calcificado y por ello el proceso evoluciona con mayor rapidez, avanzando a través de los túbulos dentinarios, los cuales se infiltran de bacterias y se dilatan a expensas de la matriz adyacente. Las bacterias acidógenas y las productoras de enzimas proteolíticas e hidrolíticas desmineralizan la dentina y posteriormente digieren la matriz de colágena; en consecuencia, la dentina se reblandece, se decolora y forma una masa. Un síntoma clásico de la caries de dentina es el dolor

ocasionado por los cambios de temperatura, las bebidas frías, los alimentos calientes y la ingestión de carbohidratos o cítricos pueden ocasionar dolor, que desaparece al cesar el estímulo.<sup>4,5</sup>

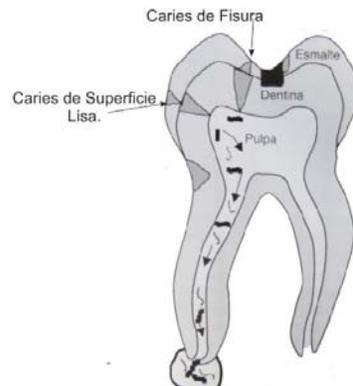


Figura 5. Caries de fosetas, fisuras y superficies libres. Formas de difusión. Tomado de Liébana Ureña, 2002.<sup>4</sup>

### 2.4.3 ASPECTO HISTOPATOLÓGICO DE LA CARIES EN DENTINA

En el tejido dentinario la lesión cariosa avanza dos veces más rápido que en el esmalte, pero por otra parte, la capacidad de reaccionar de manera vital ante la agresión es propia sólo del complejo dentinopulpar, dada su naturaleza celular. Por ende la reacción que la enfermedad produce en la dentina, guarda relación con la magnitud del avance de la lesión. Así, básicamente veremos situaciones diferentes según la lesión haya formado una cavidad o no, descrita desde la superficie externa hacia la profundidad puede ser histológicamente dividida en:

- a) Zona de destrucción o necrótica: Altamente poblada por bacterias y con su matriz colágeno totalmente destruida.
- b) Zona de desmineralización avanzada o superficial: Destrucción parcial de la matriz orgánica.
- c) Zona de invasión bacteriana: Porción dentinaria que durante la progresión de la lesión es alcanzada por las bacterias.
- d) Zona de desmineralización inicial o profunda: Porción más superficial de la dentina esclerótica, más reblandecida que la dentina sana. Zona que precede a la invasión bacteriana y, por lo tanto, aun no presenta su matriz orgánica degradada.

- e) Zona de esclerosis: Depósito de minerales, con la finalidad de contener la invasión bacteriana.
- f) Zona de dentina terciaria o de irritación: Corresponde a un depósito situado en el límite pulpodentinario, es una dentina menos mineralizada y organizada. Pueden existir dos tipos: La reaccional (formada por los odontoblastos) y reparadora (formada por los odontoblastoides).<sup>8</sup>

#### **2.4.4 LESIÓN NO CAVITADA EN DENTINA**

En las primeras etapas de la lesión dentinaria, cuando aún no se ha producido cavitación, puede haber invasión bacteriana de los túbulos en forma muy localizada y confinada a la dentina superficial.<sup>8</sup>

#### **2.4.5 LESIÓN CAVITADA EN DENTINA**

Cuando el esmalte cede, se presenta la cavidad franca y las bacterias invaden la dentina en forma generalizada, siendo la progresión de la lesión mucho más rápida. La actividad metabólica progresiva de estas bacterias determina la continuación del proceso de desmineralización y luego sobreviene la degradación de la matriz orgánica por acción proteolítica de las (MMP) metaloproteinasas que incluyen MMP-8, MMP-2 y MMP-9. Antes que se produzca la cavitación del esmalte y la invasión generalizada de la dentina, con ayuda del microscopio se pueden observar cuatro zonas en la lesión dentinaria, las que desde la pulpa hacia la superficie son:

- a) Dentina terciaria: Estrato dentinario contiguo a la pulpa, que se deposita por la reacción del complejo dentinopulpar frente a la agresión cariogénica.
- b) Dentina normal: La que se encuentra intermedia entre el frente de avance de la lesión y la dentina terciaria.
- c) Dentina esclerótica o zona translúcida: Es la zona más profunda de la lesión propiamente dicha. Se caracteriza por presentar esclerosis de los túbulos dentinarios, lo cual le otorga la apariencia translúcida.
- d) Cuerpo de la lesión: Corresponde a la zona más desmineralizada y desorganizada.<sup>5,8,23</sup>

Debido a las múltiples características de las lesiones cariosas se han propuesto algunas clasificaciones actuales de gran utilidad para su identificación clínica.

## **2.5. CLASIFICACIONES DE LESIONES POR CARIES DENTAL**

### **2.5.1 CARIES DENTAL POR GRADO DE SEVERIDAD ICDAS (Sistema internacional de detección y valoración de caries) EE.UU 2005. <sup>9</sup>**

#### **Código 0**

##### **Descripción: Sano**

No hay evidencia de caries después de secado prolongado (5 seg.). Superficies con defectos de desarrollo (hipoplasias de esmalte, fluorosis), desgastes dentarios (atriciones, abrasiones, erosiones), tinciones intrínsecas o extrínsecas, deben ser consideradas como sanas. <sup>9</sup>

#### **Código 1**

##### **Descripción: Primer cambio visual en esmalte**

Al estar húmedo el diente, no hay evidencia de ningún cambio de color atribuible a actividad de caries, pero después de secar de forma prolongada el diente (5 seg.) una opacidad cariosa o tinción (lesión de mancha blanca o mancha café) se hace visible y no es consistente con la apariencia clínica del esmalte sano. Histológicamente corresponde a desmineralización del esmalte en su mitad externa. <sup>9</sup>

#### **Código 2**

##### **Descripción: Cambio visual distintivo en esmalte**

El diente húmedo puede tener una opacidad cariosa (lesión de mancha blanca) y/o una tinción cariosa café, que es más ancha que la fosa o fisura natural y persiste después de secar. No es consistente con la apariencia clínica del esmalte sano. No hay destrucción de estructura. En surcos se extiende hacia las paredes y en superficies lisas abarca 1 mm del margen gingival y no se observan sombras subyacentes. Histológicamente la profundidad se relaciona con la mitad interna de esmalte y el tercio externo de dentina. <sup>9</sup>

#### **Código 3**

**Descripción:** Ruptura localizada de esmalte debido a caries sin dentina ni sombras subyacentes.

En húmedo, el diente tiene una clara opacidad (lesión de mancha blanca) y/o tinción cariosa café, que es más ancha que la fosa o fisura natural. Una vez secado por 5 seg., hay una ruptura localizada de esmalte por caries, a la entrada o dentro de la fosa o fisura, sin dentina expuesta ni sombras

subyacentes. Puede usarse sonda de extremo redondeado en caso de duda para confirmar microcavitación, pasándola a través de la superficie dentaria. Histológicamente la profundidad se relaciona con dentina, hasta su tercio medio.<sup>9</sup>

#### **Código 4**

**Descripción:** Sombra subyacente desde la dentina con o sin ruptura de esmalte  
Tinción intrínseca de la dentina que se visualiza a través del esmalte aparentemente indemne, que puede o no presentar solución de continuidad (sin exponer dentina) y se percibe como una sombra gris, azul o café. En superficies libres se detecta como una sombra a través de esmalte indemne. Histológicamente se relaciona con dentina en el tercio medio de su espesor.<sup>9</sup>

#### **Código 5**

**Descripción:** Cavitación con dentina visible

Cavitación en un esmalte opaco o con tinción, exponiendo dentina subyacente. Involucra menos de la mitad de la superficie dental. Se puede usar sonda para comprobar pérdida de estructura. Histológicamente se relaciona con el tercio interno de dentina.<sup>9</sup>

#### **Código 6**

**Descripción:** Cavitación extensa con dentina visible

Cavitación extensa con dentina visible, tanto en profundidad como en extensión. Tanto piso como paredes exponen dentina y la cavitación involucra más de la mitad de la superficie dentaria, pudiendo incluso alcanzar la pulpa. Histológicamente la profundidad abarca el tercio interno de la dentina.<sup>9</sup>

### **2.5.2 CLASIFICACIÓN POR GRADO DE AFECTACIÓN A LOS TEJIDOS**

#### **Caries de primer grado.**

Situada en esmalte, indolora, se pueden observar surcos transversales y oblicuos de color opaco, blanco, amarillo o café. En este grado, si el proceso de desmineralización excede al de remineralización, se formará una lesión inicial de caries o “mancha blanca”.<sup>10</sup>

#### **Caries de segundo grado.**

La caries ha atravesado la línea amelodentinaria y se ha implantado en la dentina, el proceso carioso ocurre con mayor rapidez, pues los túbulos dentinarios se

encuentran en mayor número y su diámetro es más grande y esto ofrece menor resistencia a la caries.<sup>10</sup>

### **Caries de tercer grado**

En este grado la caries ha llegado a la pulpa produciendo inflamación en este órgano pero conserva su vitalidad, presentando dolor espontáneo y provocado que aumenta por las noches debido a la compresión nerviosa y la congestión sanguínea.<sup>10</sup>

### **Caries de cuarto grado.**

La pulpa ha sido destruida totalmente, por lo tanto no hay dolor, pero pueden existir posibles complicaciones que si son dolorosas y pueden ser desde un absceso apical hasta una osteomielitis.<sup>10</sup>

## **2.5.3 CLASIFICACIÓN SEGÚN SU LOCALIZACIÓN. GREENE VARDIMAN BLACK:**

**Clase I.** Aquí se incluyen las caries que se encuentran en fosetas y fisuras de premolares y molares, cíngulos de dientes anteriores y en cualquier anomalía estructural de los dientes.

**Clase II.** Se localizan en las caras proximales de todos los dientes posteriores (premolares y molares).

**Clase III.** Son caries en las caras proximales de todos los dientes anteriores sin abarcar el ángulo incisal.

**Clase IV.** Las caries de clase IV se encuentran en las caras proximales de todos los dientes anteriores y abarcan el ángulo incisal.

**Clase V.** Estas caries se localizan en el tercio gingival de los dientes anteriores y posteriores, solo en sus caras linguales y bucales.<sup>5</sup>

## 2.6 TAXONOMÍA DE LOS ESTREPTOCOCOS VIRIDANS

Los estreptococos Viridans son hemolíticos alfa en mayor proporción, no se pueden clasificar con ninguno de los grupos serológicos antígenos de Lancefield debido a que no poseen carbohidratos de superficie antígeno en su pared celular por tanto, son patógenos de baja virulencia y se les ha clasificado solo como estreptococos del grupo Viridans, Este grupo abarca varias especies que incluyen a *S. salivarius*, *S. mitis* y *S. mutans*. Los estreptococos Viridans son miembros de la flora bucal normal de los seres humanos. Rara vez demuestran cualidades invasivas, estos microorganismos crecen mejor en medios enriquecidos en condiciones de microaerofilia. Se prefiere el agar sangre debido a que satisface las necesidades de crecimiento y también sirve como un indicador de los patrones de hemólisis. Las colonias son pequeñas y abarcan desde un tamaño equivalente a la punta de una aguja hasta 2mm de diámetro y es posible que estén rodeadas por una zona donde se han hemolizado los eritrocitos suspendidos en el agar. Cuando la zona está clara este estado se denomina beta hemólisis, cuando la zona es nebulosa con una decoloración verdosa del agar recibe el nombre de alfa hemólisis. Los estreptococos son metabólicamente activos y degradan a diversos carbohidratos, proteínas y aminoácidos. La fermentación de la glucosa produce ácido láctico en su mayoría. En contraste con los estafilococos los estreptococos con catalasa negativos. El siguiente cuadro muestra su morfología colonial sobre cultivos en placa, su temperatura idónea de crecimiento, sus necesidades de oxígeno y sus características fisiológicas.<sup>11</sup>

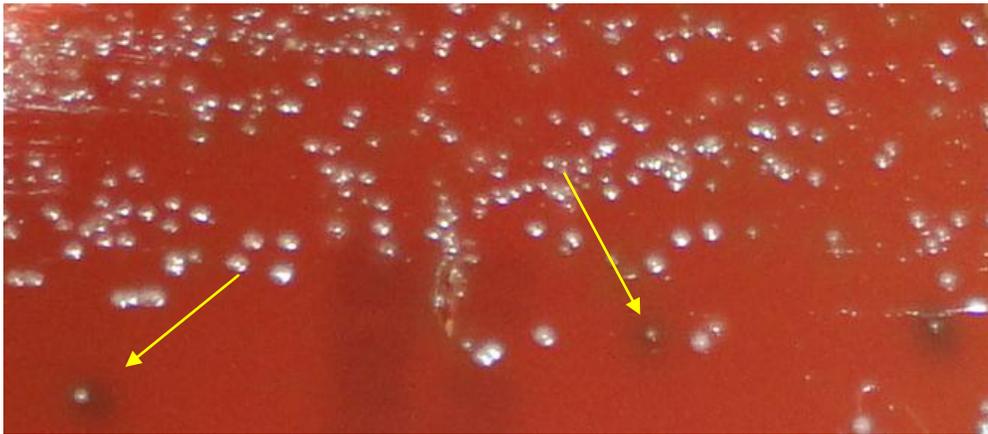


Figura 6. Vista de colonias en cultivo in vitro en agar sangre con hemólisis alfa y su característico halo verdoso.

## 2.6.1 CARACTERÍSTICAS OBSERVADAS EN PLACAS DE LAS COLONIAS DE ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO VIRIDANS.

ESTREPTOCOCOS GRUPO VIRIDANS	Grupo de Lancefield.	HEMÓLISIS	CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LAS COLONIAS EN AGAR SANGRE DE CARNERO AL 5%	TEMPERATURA IDÓNEA DE CULTIVO.	CONDICIONES DE OXIGENO IDÓNEAS.	CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS
<b><i>S. salivarius.</i></b>  Es el más común de los estreptococos salivales y el más abundante de las bacterias aeróbicas salivales. <sup>8</sup>	K, aunque no es concluyente. <sup>8</sup>	Alfa hemólisis. <sup>8,10,13</sup>	Colonias esféricas u ovaladas, convexas, rugosas, color gris a blanco grisáceo, de menos de 2µm de diámetro al microscopio, sus colonias tiene un tamaño de 0.5-2.0 mm de diámetro, hemólisis alfa, carecen de antígenos carbohidrato en su pared celular, proteínas de superficie, y capsula, por lo que no entra en la clasificación de lancefield. <sup>8,9,10,12,13</sup>	37°C pH. Óptimo de 7.0. Crecen bien en medios enriquecidos con sangre. <sup>8</sup>	Anaeróbicos facultativos catalasa negativos. <sup>8</sup>	Almidón (-) <i>Ocurren excepciones ocasionales</i>  Manitol (-). <sup>8,12,13</sup>
<b><i>S. mitis.</i></b>  En lesiones en dentina es donde mejor se puede aislar. <sup>8</sup>	O, aunque no es concluyente. <sup>8</sup>	Alfa hemólisis o gamma hemólisis. <sup>8,10,13</sup>	Colonias esféricas u ovaladas, convexas, de menos de 2µm de diámetro. Fermentación de manitol negativa. <sup>8,9,10</sup>	37°C pH. Óptimo de 7.0. <sup>8</sup>	Anaeróbicos facultativos catalasa negativos. <sup>8,10</sup>	Almidón (-)  Manitol (+). <sup>12,13</sup>
<b><i>S. mutans</i></b>	Sin clasificar, aunque se clasifica en el E, pero no es concluyente. <sup>8</sup>	Al principio es gamma hemolítico, y después de 24-48 horas se transforma hemolítico alfa, pero se ha observado que unas pocas cepas producen hemólisis beta. <sup>8,10,13</sup>	Colonias duras, elevadas, que se adhieren a la superficie del agar de color gris a blanco grisáceo sobre agar sangre, varían en tamaño de 0.5 a 2.0 mm de diámetro y con frecuencia aparecen en pares. <sup>8,9,10</sup>	37°C. <sup>8</sup>	Anaeróbicos facultativos catalasa negativos / aunque se desarrolla mejor en condiciones anaeróbicas. <sup>10</sup>	Almidón (-)  Manitol(+). <sup>8,12,13</sup>

11, 12, 13, 14, 15,16

## 2.7 EPIDEMIOLOGÍA DE LA CARIES DENTAL

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) en su informe del 2007, la caries dental se encuentra en 60 % a un 90 % de los niños en edad escolar en todo el mundo .<sup>17</sup>

De acuerdo con los resultados del sistema de vigilancia epidemiológica de patologías bucales 2007 (SIVEPAB), con información de usuarios que acuden a los servicios de salud odontológicos, el 100% padece caries dental en diversos grados, lo que genera un índice de necesidades de tratamiento de más de 70% en nuestro país. <sup>18</sup>

De acuerdo con los resultados del sistema de vigilancia epidemiológica de patologías bucales 2012 (SIVEPAB), de un total de 4764 de niños y adolescentes revisados de las 32 entidades federativas del país que acuden a las diferentes instancias del sector salud con edades comprendidas de 2 a 10 años de edad presentaron un índice CPOD promedio fue de 3.8, de los cuales 3.4 fueron cariados, 0.1 perdidos y 0.3 obturados. El número promedio de dientes cariados fue el mayor componente, representando más del 85 % del índice total para todos los grupos de edad.<sup>19</sup>

### III. SALIVA

La saliva es un fluido complejo secretado por las glándulas salivares mayores y menores súper saturada en calcio y fosfato que contiene flúor. Está compuesta por agua en cerca del 99 %, mientras que el 1 % restante lo constituyen compuestos inorgánicos, proteínas, carbohidratos, lípidos, células epiteliales descamadas, bacterias y sus productos, virus y hongos, restos de alimentos, algunas secreciones bronquiales y componentes del fluido crevicular como células sanguíneas e inmunoglobulinas. La saliva cumple con múltiples funciones como la limpieza de la cavidad bucal, lubricación, conservación y reparación de las membranas mucosas y de los tejidos dentales duros; gracias al mantenimiento del pH y su amortiguación, también participa en la eliminación de bacterias, la digestión y el habla. Es el factor singular de mayor importancia en el medio bucal. Este fluido mantiene la integridad dentaria por medio de su acción de limpieza mecánica, la limitación de la difusión ácida y la regulación del medio iónico que favorece la remineralización.<sup>4, 20</sup>

### 3.1. EL PROCESO DE REMINERALIZACIÓN – DESMINERALIZACIÓN COMO EQUILIBRIO NATURAL CONTRA LA CARIES DENTAL.

El balance en el proceso de desmineralización y remineralización se ha considerado como la forma única o natural de mantener los dientes sanos y fuertes generando con esto un impacto muy importante en la prevención de la caries dental.<sup>21</sup>

#### DESMINERALIZACIÓN

Sucedee a un pH. Bajo (5.5), cuando el medio ambiente oral es bajo en la saturación de iones minerales en relación al contenido mineral del diente. La estructura de los cristales del esmalte (apatita carbonata en forma de Fosfato de Calcio) es disuelta por la presencia de ácidos orgánicos de las bacterias (láctico y acético), generando una mancha blanca conocida como lesión incipiente de caries.<sup>21</sup>

#### REMINERALIZACIÓN

El proceso de remineralización permite que la perdida previa de iones fosfato, calcio y otros minerales, puedan ser reemplazados por los mismos u otros iones similares provenientes de la saliva, ya que esta es el principal factor para favorecer la remineralización pues contiene una solución súper saturada de calcio, fosfato y fluoruros haciendo mucho más resistente al ataque ácido con este reemplazo al esmalte original.<sup>22</sup>

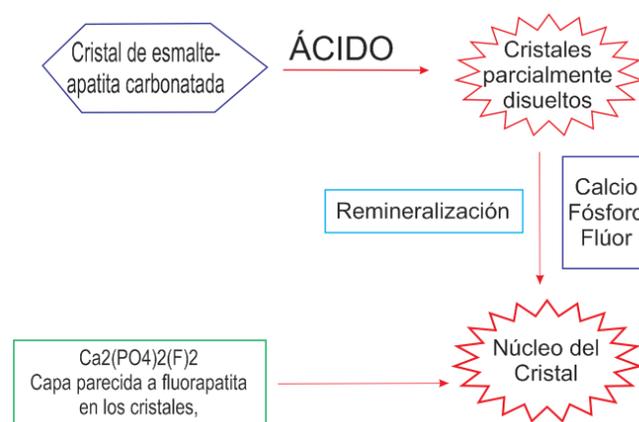


Figura 7. Representación esquemática de la desmineralización seguida de remineralización en el proceso carioso. Tomado de Castillo Mercado R, 2011.<sup>22</sup>

## IV FLUORUROS

El fluoruro, identificado hace unos 50 años como un agente anti-caries, se utiliza de forma rutinaria en una multitud de aplicaciones para la prevención de la caries, incluyendo barniz, gel, pasta de dientes, agua, enjuagues etc. Las propiedades anti-caries de los fluoruros fueron descubiertas casi de casualidad, después de que en algunas poblaciones de Estados Unidos, se encontró individuos con manchas marrones en los dientes, pero al mismo tiempo se dieron cuenta de que estas personas tenían menos susceptibilidad a la caries dental. Después de unos años Trendley Dean (2006) determinó que si se adiciona 1 ppm de flúor al agua de consumo, se produciría una reducción significativa en los niveles de caries dental.

22

### 4.1. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS FLUORUROS

Está comprobado que el flúor tiene propiedades antibacterianas. Se sabe que el flúor ingresa a la célula bacteriana como ácido fluorhídrico y este luego se desdobra dentro del citoplasma en los iones flúor e hidrogeno. El protón producirá una disminución en la acidez del citoplasma, reduciendo la capacidad de sus componentes, y el flúor tendrá influencia directa en la enolasa una enzima que es parte de la vía glucolítica. Es así que se ha demostrado que al administrar flúor se produce una disminución de la producción de ácidos por las bacterias. Además es posible que actúe sobre los mecanismos de transporte activo de glucosa hacia la célula, entre otros. Podemos entonces resumir el mecanismo de acción del flúor:

1. Promueve la remineralización y mineralización en la superficie del Cristal. (Recambio de Hidroxiapatita por Fluorapatita)
2. Inhibe la desmineralización en las superficies del cristal dentro del diente.
3. Disminuye el metabolismo bacteriano.<sup>22</sup>

## 4.2. DIAMINO FLUORURO DE PLATA $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ .

El fluoruro diamino de plata ha sido un agente carioestático efectivo utilizado desde 1960, y ha sido usado en la detención de caries dental en países como Inglaterra, Brasil, Hong Kong y Japón. Primariamente, es desarrollado por la búsqueda de la reducción de caries en Japón, ya que existía una población infantil con altos índices de caries, por lo cual se introdujo el fluoruro diamino de plata a los programas de salud y con ello se redujo este índice de caries en los niños.<sup>23</sup>

Sin embargo en este país hace miles de años, fue utilizado un preparado de limadura de hierro, ácidos de azúcares, almidón, vino de arroz llamado "saque" y nueces amargas de un árbol llamado "fushiko", al producto de la mezcla se le llamo "ohaguro", la reacción resultante de la solución de fierro y el ácido tánico producía pigmentación de los dientes similar a la que causa el diamino fluoruro de plata, esta mezcla se utilizaba con el fin de distinguir a las mujeres comprometidas, esta práctica se prohibió ya hace cientos de años, pero se observó que había una reducción importante en el índice de caries, en las mujeres en las que fue aplicada esta mezcla.<sup>24,25</sup>

El Interés en la investigación por "ohaguro" era debido al hecho de que el hierro es el componente principal y al reaccionar con los componentes inorgánicos del diente, causaba arrestar y prevenir la caries. Desde esta comprensión inicial, académicos japoneses comenzaron la investigación con otros iones metálicos como la plata, para verificar si puede ser un carioestático con propiedades similares a las de "ohaguro".<sup>24</sup>

Con el objetivo de lograr una mayor resistencia del diente, varios experimentos se llevaron a cabo utilizando diversos productos químicos. Entre ellos, se hace hincapié sobre el nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) y fluoruro de sodio ( $\text{NaF}$ ). Estas soluciones, cuando se aplican por vía tópica sobre las superficies de los dientes, forman respectivamente: Fosfato de plata ( $\text{Ag}_3\text{PO}_4$ ) y fluoruro de calcio ( $\text{CaF}_2$ ), que confieren mayor resistencia al esmalte dental. Con estos resultados beneficiosos, reacciones indeseables también se producían, es decir, había pérdida de iones de calcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ), iones de fosfato ( $\text{PO}_4^{-3}$ ), estos fenómenos podrían considerarse una forma artificial de descalcificación. Con base en las investigaciones realizadas hasta ese momento, y buscando mejorar las propiedades de los primeros carioestáticos investigados, Yamaga y Yokomizo introdujeron un nuevo agente carioestático que fue nombrado diamino fluoruro de plata o fluoruro de plata amoniacal. Se trata de un líquido incoloro con un pH de

ocho además de las ventajas añadidas del nitrato de plata con el fluoruro de sodio, sin pérdida mineral.<sup>24</sup>

Este material se ha utilizado en gran parte de Asia y en partes de América del Sur para prevenir y detener la caries. Tanto la OMS y el Instituto de Medicina OIM en los EE.UU. tienen determinado que el diamino fluoruro de plata Saforide<sup>®</sup> es un material beneficioso que se utilizará en la lucha contra la caries dental.<sup>25</sup>

### 4.3. MECANISMO DE ACCIÓN

La reacción con el tejido del diente: En principio, las reacciones químicas propuestas entre la plata y los componentes del diente como la (hidroxiapatita) presentan la siguiente reacción:



La formación de  $\text{CaF}_2$  (fluoruro de calcio) y  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  (fosfato de plata) fue confirmada por estudios in vitro y son considerados como los principales productos de reacción de diamino fluoruro de plata (Saforide<sup>®</sup>) con los tejidos del diente.  $\text{CaF}_2$  se considera un producto de reacción importante y actúa como un pH regulador y es un depósito de liberación lenta de flúor sobre la superficie del diente durante los desafíos cariogénicos. Aunque  $\text{CaF}_2$  es menos resistente a los ácidos que la fluorapatita (FAP), durante el proceso de remineralización el ion fosfato monoácido ( $\text{HPO}_4^{-2}$ ) es absorbido sobre la superficie de cristales de  $\text{CaF}_2$  y facilita su transformación en FAP. Por otro lado,  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  es más soluble que la hidroxiapatita o la fluorapatita, este podría actuar como un reservorio de iones fosfato facilitando la transformación del  $\text{CaF}_2$  a fluorapatita. Esta reserva de flúor permite hacer más resistentes los tejidos del diente. Los estudios in vitro han indicado que Diamino fluoruro de plata (Saforide<sup>®</sup>) penetra en el esmalte a una profundidad de 25 micras, y aproximadamente 2-3 veces más que diversos fluoruros NaF, o fluoruro de estaño ( $\text{SnF}_2$ ). Esto sugiere que el efecto de (Saforide<sup>®</sup>) es mayor que el de NaF o  $\text{SnF}_2$  aplicados de manera tópica.<sup>24,25.</sup>

#### 4.4. EFECTO SOBRE LAS BACTERIAS DEL BIOFILM

Debe tenerse en cuenta que la naturaleza de la plata en los compuestos de plata no se precisa claramente en la literatura. Los iones de plata ( $\text{Ag}^+$ ) han demostrado un efecto antibacteriano, mientras que la plata metálica Ag es relativamente inerte, puede interactuar con la humedad en el ambiente oral y posteriormente liberar iones de plata. Los iones de plata se ha sugerido que tiene los siguientes efectos antibacterianos:

- (1) La destrucción de la estructura de la pared celular
- (2) Desnaturalización de las enzimas citoplasmáticas
- (3) La inhibición de la replicación del ADN bacteriano<sup>26</sup>
- (4) Interactúan con la cadena lateral reactiva de la colagenasa bacteriana , para inactivar sus funciones catalíticas.<sup>27</sup>
- (5) Efecto Inhibitorio sobre metaloproteinasas (MMPs) endógenas, de manera selectiva MMPs 2,8 y 9.<sup>28</sup>

En relación al primer punto, los iones de plata se pueden unir con el disulfuro ( $\text{S}_2$ ) de las proteínas de la membrana bacteriana; permitiendo así una fácil penetración a través de las membranas celulares de la bacteria alterando así el enlace de hidrógeno y la inhibición de los procesos respiratorios, la anulación de su ADN, de la síntesis de su pared celular y su división celular. También se ha reportado que los iones de plata se pueden unir a peptidoglicanos con carga negativa de la pared celular bacteriana, e interrumpir las funciones de transporte de la membrana que a su vez conduce a la distorsión celular y pérdida de viabilidad bacteriana.<sup>26</sup>

En relación al segundo punto, un blanco molecular primordial del ión plata son los grupos thiol (-SH) celular, que se encuentran comúnmente en las enzimas citoplasmáticas, éstas enzimas se desnaturalizan debido a cambios en la conformación de su molécula, los cuales son el resultado de la reacción de la  $\text{Ag}^+$ . Muchas de las enzimas que el ion  $\text{Ag}^+$  desnaturaliza son necesarias para la generación de energía en la célula. Si se perturba suficientemente la capacidad de generación de energía de la célula de la bacteria ésta morirá rápidamente. Se ha informado que los compuestos de plata pueden oxidar los grupos sulfhidrido y por tanto, disminuir la producción de ácidos teniendo como consecuencia un aumento en el pH de la placa dental.<sup>28</sup>

En relación al tercer punto, se ha informado que los iones de plata también se pueden unir a la guanina, que es un componente esencial del ADN bacteriano, lo que deshabilita la capacidad de reproducción de las bacterias en el biofilm dental de cavidad oral.<sup>26</sup>

Finalmente, se ha estudiado como el diamino fluoruro de plata a una concentración al 38% inhibe específicamente a las enzimas metaloproteinasas (MMPs 2, 8, y 9) producidas por los odontoblastos que al ser activadas por variaciones en el pH en el tejido dentinario degradan la matriz de colágeno extracelular de la dentina, en contraste también se ha reportado que Saforide al 12% inhibe básicamente a la MMPs-2 y pobremente las MMPs 8 y 9 esto podría explicar porque SFD al 12% no es efectivo para la disminución de caries en dentina. Incluso la concentración al 38% ha demostrado mayor efectividad clínica sobre la concentración al 30% de diamino fluoruro de plata logrando así tener los mejores resultados de éxito clínico al ser aplicado en caries de dentina.<sup>28,29</sup>

#### 4.5. PROPIEDADES FÍSICO- QUÍMICAS

- Acción bactericida en caries incipientes como activas en dentina de dientes primarios o permanentes jóvenes.
- El fluoruro de calcio producto de su reacción con el diente se deposita sobre la superficie del esmalte haciéndolo más resistente a los ácidos bacterianos.
- Anticariogénico, actuando sobre *S. mutans*, impidiendo su adhesión al inactivar a las enzimas glucosiltransferasas responsables de la síntesis de glucanos responsables de la adhesión bacteriana a la superficie del diente.
- Acción preventiva, haciendo que el esmalte sea más resistente, mediante la conversión de hidroxiapatita a fluorapatita.
- Acción remineralizante, invirtiendo desmineralización y favoreciendo la remineralización de las superficies del esmalte que hayan sido afectadas.
- Desensibilizante, bloqueando los túbulos dentinarios, al obturar los túbulos dentinarios expuestos previene el avance de la caries.
- Inhibe la desmineralización de la dentina y la degradación del colágeno tipo I de la dentina.<sup>23,32,27.</sup>

La solución del diamino fluoruro de plata al 38% aumenta la resistencia de los dientes contra los ataques de bacterias acidógenas y tiene un efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* debido a que inhibe la adherencia y el crecimiento de estas bacterias en superficies dentales.<sup>29</sup>

#### **4.6. ASPECTOS DE SU APLICACIÓN CLÍNICA**

- Es económicamente accesible y excelente rendimiento.<sup>26</sup>
- El tratamiento se realiza de una a cuatro sesiones y su fácil aplicación posibilita que no se requiera equipo costoso.<sup>9</sup>
- Se aplica con una torunda pequeña de algodón de 3-5 minutos.
- Revisar al paciente cada 3-6 meses en los dientes tratados.
- Detiene el avance de las lesiones cariosas localizadas en esmalte remineralizándolas y evita que se formen nuevas lesiones cariosas.<sup>28,30</sup>

#### **4.7. DESVENTAJAS DE SU APLICACIÓN CLÍNICA**

- La aplicación clínica del diamino fluoruro de plata presenta algunas desventajas, de acuerdo con Guedes- Pinto (1999) como:
- Pigmentación negruzca por la alta precipitación de plata.
- En altas concentraciones, puede causar irritación pulpar si es colocado cercano a la pulpa dental.
- En el tratamiento con el fluoruro diamino de plata al 38% en cavidades profundas se vio comprometida la pulpa con el inicio de abscesos. En la concentración al 10% estos efectos no se observan.
- Un pequeño número de informes han demostrado que los pacientes pueden experimentar un aumento leve y transitorio de eritema en la encía alrededor de los dientes, o la aparición de algunas lesiones pequeñas, incómodas de color blanco en la mucosa, que por lo general desaparecen después de 48 horas sin tratamiento.
- La solución del diamino fluoruro de plata tiene un sabor metálico.<sup>23,24</sup>



Figura 8. Tinción de Saforide® en dientes tratados. El efecto puede ser observado en caries incipientes (derecha) y el lesiones cavitadas (izquierda) usando diamino fluoruro de plata. Tomado de Chen A, 2012.<sup>31</sup>

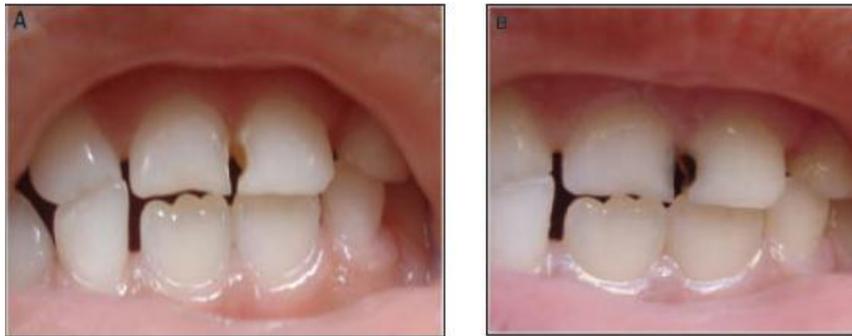


Figura 9. Fotografías clínicas antes y después de la aplicación de Diamino fluoruro de plata. (A) las fotografías clínicas de lesiones interproximales de caries en incisivos superiores de una niña de 5 años de edad. (B) Fotografía clínica de la coloración marrón tras una aplicación de 60 segundos de Cariestop ® 12%. Tenga en cuenta que sólo la lesión de caries se tiñe, no el diente. Tomado de Rosenblatt A, 2009.<sup>32</sup>

#### 4.8. COMPOSICIÓN Y PRESENTACIONES COMERCIALES DEL DIAMINO FLUORURO DE PLATA:

También conocido como solución cariostática, presenta en su composición:

Hidróxido de amonio, nitrato de plata, hidróxido calcio, ácido fluorhídrico y agua destilada como disolvente. En Brasil es comercializado en concentraciones de 10%, 12%, 30% y 38%, con la marca comercial: Cariestop 12%® el cual contiene 14,150 ppm F y 80 000 ppm de Ag, Saforide 38%®, contiene 44800 ppm F y 255 000 ppm Ag, la cual ha demostrado ser un agente bactericida.<sup>23</sup>

Producto	Forma de Presentación	Fabricante	Concentración (%)	Ingredientes
<b>Cariestop 12%®</b>	Solución	Biodinamica, Brazil	12	Acido fluoridico Nitrato de plata Amonio Hidróxidos Agua desionizada
<b>Cariostal 16%®</b>	Solución	Iodontec	16	Acido fluoridico Nitrato de plata Amonio Hidróxidos Agua desionizada
<b>Cariestop 30%®</b>	Solución	Biodinamica, Brazil	30	Acido fluoridico Nitrato de plata Amonio Hidróxidos Agua desionizada
<b>Saforide 38%®</b>	Solución	Toyo Seiyaku Kasei, Japón	38	Diamino fluoruro de plata.

Figura 10. Composición química y presentaciones comerciales del Diamino fluoruro de plata. Tomada de Mei Lei.2012.<sup>33, 34</sup>

#### 4.9. RECOMENDACIONES DE USO EN ODONTOLOGÍA

- Para el uso clínico del diamino fluoruro de plata, se recomienda al paciente se enjuague la boca con agua o solución salina después de su aplicación tópica a fin de eliminar el exceso de agente y evitar su ingestión.<sup>24,25</sup>
- Uso de dique de goma y vaselina es recomendable para evitar el contacto accidental de la mucosa gingival ya que es un medicamento que produce lesiones quelantes en la mucosa oral y labial.<sup>24,25</sup>
- En dientes primarios se recomienda dar un seguimiento al paciente de por lo menos dos años para asegurar la correcta exfoliación del diente temporal libre de procesos cariosos.<sup>35</sup>
- Para la aplicación clínica de del diamino fluoruro de plata a la concentración del 6% de flúor, a esta concentración es recomendable aplicar un minuto sobre el diente, tomando esto en cuenta es improbable el riesgo de fluorosis, no obstante, se debe tener especial cuidado en niños muy pequeños y evitar aplicaciones frecuentes o por largos periodos de tiempo.<sup>36</sup>
- La aplicación profesional del diamino fluoruro de plata, está destinada de 2-3 aplicaciones por año con la finalidad de evitar predisponer al paciente a fluorosis o toxicidad por exposición prolongada a los componentes de la plata contenida en este agente antibacteriano. Sin embargo sus riesgos son mínimos con un uso razonable por parte del profesional.<sup>36</sup>

## V. EPIDEMIOLOGÍA DEL DIAMINO FLUORURO DE PLATA

Mei ML. Et al (2014). Realizaron un estudio comparativo en una población de estudio de 98 niños de un jardín de niños de la provincia de Hong Kong a los cuales se le realizaron dos aplicaciones bianuales de SFD al 38% contra un grupo control de niños los cuales presentaban caries activas en dentina. Estos niños fueron seguidos por dos años, de estos niños en el curso de dos años se conservaron 12 dientes anteriores exfoliados de los niños que participaron en el estudio, 6 con tratamiento a base de Diamino fluoruro de plata al 38% y 6 sin tratamiento del grupo control. A estas 12 órganos dentarios se les realizaron pruebas de densidad mineral encontrándose una capa de 150  $\mu\text{m}$  de espesor en los dientes con aplicación bianual de Diamino fluoruro de plata al 38% rica en calcio y fosfato lo que da la micro dureza de la caries detenida.<sup>37</sup>

García G. et al (2011). Realizaron un estudio de casos y controles en el Instituto Mexicano del Seguro Social el cual se aplicó en una muestra de 102 niños y reveló que el consumo de alimentos cariogénicos sin una revisión bucodental de por lo menos una vez al año ni hábitos correctos de higiene bucodental, tiene un 0.76 de probabilidad de favorecer el desarrollo de caries dental, contrarrestando con el 0.18 donde existe un consumo de alimentos cariogénicos, pero hay buenos hábitos de higiene bucodental aunque no hay revisiones periódicas  $P= 0.00$ .<sup>38</sup>

Hung Chu et al. (2012) demostraron que el Diamino fluoruro de plata redujo significativamente los recuentos de CFU de *S. mutans* y *A. naeslundii* in vitro. Después de la aplicación de Diamino fluoruro de plata al 38% y al evaluar el crecimiento a los 7 días, el recuento de bacterias se redujo a cero en las biopelículas de ambas tanto de *S. mutans* y *A. naeslundii*. Muy pocas bacterias vivas fueron detectadas en los dos grupos de cada biopelícula. En contraste, el crecimiento confluyente de *S. mutans* y *A. naeslundii* y altos recuentos de CFU fueron observados en el grupo control tratado con agua destilada.<sup>39</sup>

Zhi, H.C. et al. (2012). El estudio se llevó a cabo en el periodo del 2007-2009 en un suburbio de Guangzhou, provincia de Guangdong en el sur de China. Se Comparó la eficacia de la aplicación tópica anual de Diamino fluoruro de plata al 38%, cada seis meses y la aplicación anual de un fluido de ionómero de vidrio de alta liberación de flúor en la detención de caries de dentina activa en dentición temporal. En un total de 212 niños, con edades entre 3-4 años, fueron asignados al azar a uno de tres grupos para el tratamiento de la caries de dentina en los dientes primarios: GP1- aplicación anual de Diamino fluoruro de plata, GP2-

aplicación cada seis meses de Diamino fluoruro de plata, y GP3-aplicación anual de ionómero de vidrio. Los exámenes de seguimiento se llevaron a cabo cada seis meses para evaluar si las lesiones tratadas de caries se habían detenido. Después de 24 meses, 181 (85%) niños permanecieron en el estudio. Las tasas de detención de caries fueron 79%, 91% y 82% para GP1, GP2 y GP3, respectivamente ( $p = 0,007$ ). Si bien la aplicación anual de la solución de Diamino fluoruro de plata y la aplicación anual de un fluido de alta liberación de flúor de ionómero de vidrio en la detención de la caries activa en dentina no difieren significativamente, aumentando la frecuencia de aplicación de Diamino fluoruro de plata a cada 6 meses puede aumentar la tasa de detención caries<sup>40</sup>

Guedes-Pinto A. (2011). Refiere que de acuerdo con los datos reportados por el Ministerio de Caries en Salud (Brasil, 2004), casi el 27% de los niños de 18 a 36 meses presentan por lo menos un diente decíduo con lesión de caries, y esa prevalencia llega casi al 60% en niños de 5 años de edad.<sup>41</sup>

Gupta A. et al. (2011). Evaluaron la eficacia microbiológica por zonas de inhibición del Diamino Fluoruro de plata al 38%, cemento de ionómero de vidrio tipo VII e hidróxido de calcio sobre 30 muestras de discos de dentina preparados en un cultivo puro para *Streptococcus mutans* y biota mixta midiéndose las placas a las 24 y 72 horas encontrándose que la zona más alta de inhibición bacteriana tanto para *S. mutans* se reportó para el Diamino fluoruro de plata seguido del hidróxido de calcio y la zona de inhibición mayor para la flora mixta se encontró para el Diamino Fluoruro de Plata al 38% seguido por el Hidróxido de calcio y el Ionómeros de Vidrio tipo VII.<sup>42</sup>

Almeida L.F.D et al (2011). Evaluaron el efecto antibacteriano in vitro del Diamino fluoruro plata al 12% y al 30% sobre *S. mutans* y estreptococos del grupo mutans de muestras de saliva de seis pacientes infantiles de la Clínica de Odontología Pediátrica de la Universidad Federal de Paraíba, Brasil. Seis cepas clínicas se obtuvieron, que fueron etiquetados como M2 a M8, M1 siendo la cepa estándar de *S. mutans*. Una vez sembradas, las cepas se aislaron en agar mitis-salivarius y se dividieron en siete grupos - M1 (Cepa patrón. *S. mutans*) a M7. La actividad antibacteriana se determinó por la máxima dilución inhibitoria y por el método de difusión en agar, utilizando diluciones seriadas (1:1 a 1:32) y las formulaciones puras de SDF y clorhexidina 0,12% como control positivo. Después de la incubación, las zonas de inhibición se midieron. Encontrándose: El Cariestop® 30% estuvo vigente hasta la última dilución (1:32) en todas las cepas. Para Cariestop® 12%, estuvo presente en casi todas las muestras, excepto para M3 (1:8). Clorhexidina estuvo presente en 5 muestras excepto en la dilución 1:8 tanto para M3 y M7. Se concluyó que la actividad antibacteriana del Diamino fluoruro de

plata tanto en menores como en mayores concentraciones demostró aun un mejor resultado en comparación con la clorhexidina, pues se mantuvo constante en todos los grupos de evaluación su actividad antibacteriana.<sup>43</sup>

Aguilera G, et al. (2009) Determinaron la presencia de *S. mutans* en saliva y su relación con la caries dental en una muestra de 139 niños de 6-13 años de edad, concurrentes a una escuela primaria de la comunidad de Tacoaleche Guadalupe, Zacatecas. Encontrándose que 100 niños presentaban una actividad de caries muy alta, ya que se obtuvieron valores por arriba de  $1 \times 10^6$  ufc/ml de saliva, lo cual corresponde al 71% de la muestra, 15 niños mostraron una actividad alta  $5 \times 10^5$ , 22 moderada  $5 \times 10^4$  y 2 con baja actividad.<sup>44</sup>

Yee R. et al. (2009) Realizaron un ensayo clínico aleatorio prospectivo en 976 alumnos de una primaria de Katmandú, Nepal 545 varones (56%) y 431 (mujeres) con edades que van de los 3-9 años divididos en 4 Grupos con un seguimiento de 24 meses teniendo como objetivo evaluar la eficacia microbiana de dos diferentes concentraciones de Diamino fluoruro de plata tanto al 38% así como al 12% usando ácido tánico té común como agente reductor (se comenta en este estudio que ayuda a que se formen más rápido los grupos fosfatos de plata acelerando su reacción química favoreciendo la mayor retención posible del producto sobre el diente) y un grupo control al que no se le dio tratamiento. Encontrándose lo siguiente:

Grupos	6 Meses. Promedio Caries detenidas	12 Meses. Promedio caries detenidas.	24 Meses. Promedio. Caries Detenidas.
<b>Diamino fluoruro de plata al 38%</b>	<b>4.2</b>	<b>3.4</b>	<b>2.1</b>
<b>Diamino fluoruro de plata al 38% con el uso de Té.</b>	4.5	4.1	2.2
<b>Diamino fluoruro de plata al 12%</b>	<b>2.3</b>	<b>1.7</b>	<b>1.5</b>
Control	1.6	1.3	1.0

Sólo una aplicación única semestral de 38% SDF con o sin ácido tánico fue eficaz en la detención de caries después 6 meses con un promedio de caries detenidas de 4.2, a los 12 meses de 3.4 y a los 24 meses de 2.1. Los resultados de este estudio apoyan que una aplicación al 12% de SDF 6 meses con un promedio de caries detenidas de 2.3, a los 12 meses un promedio de caries detenidas de 1.7, y a los 24 meses con un promedio de caries detenidas de 1.5, no tuvo un efecto significativo sobre la detención de caries con respecto al grupo control donde no se aplicó el agente cariostático. Una sola aplicación de Diamino fluoruro de plata al 38%, con o sin el uso de té como un agente reductor, fue

significativamente más eficaz para detener la caries dental tanto en los dientes anteriores como posteriores.<sup>45</sup>

Santos L.M. et al (2008). Evaluaron el efecto de la aplicación de diversos productos que contienen fluoruro sobre lesiones de caries en esmalte en dientes deciduos. Un total de 108 dientes deciduos fueron seleccionados para el estudio. Los dientes se asignaron aleatoriamente a uno de los siguientes nueve grupos: Grupo 1: Seleccionado como grupo control en el cual se usó pasta de dientes sin fluoruro, Grupo 2: Se utilizó del de fluoruro al 1, 23%. Grupo 3: Se aplicó barniz de flúor Duraflur®. Grupo 4: Se aplicó Duraphat® en barniz con flúor. Grupo 5): Se aplicó Fluorniz® o barniz de flúor. Grupo 6: Se aplicó Fluorphat® en barniz con fluoruro. Grupo 7: Se aplicó Duofluorid® en barniz con flúor. Grupo 8: Se aplicó Diamino fluoruro de plata al 12% (Cariestop®). Grupo 9: Se aplicó pasta de dientes para niños fluoruro (500 ppm). Después de la aplicación del producto a cada diente y de una incubación de 14 días, se seccionaron por el centro para evaluar la profundidad de la lesión en cada grupo encontrándose lo siguiente: Dentífrico sin flúor (efectividad nula) 2. Fluoruro en gel al 1.23% (33%).3. Duraflur (36%), 4. Duraphat® (58%). 5. Fluorniz ® (35%), 6.Fluorphat ® (33%),7.Duofluorid ® (34%).8. Cariestop® (54%).9. Pasta Fluorada (28%).Demostrando que los que tuvieron un efecto positivo sobre el avance de las lesiones fueron el Fluorophat® y el Cariestop® al 12%.<sup>29</sup>

Hung Chu et al. (2002) Realizaron un estudio clínico prospectivo de cohorte en 375 niños preescolares de la Comunidad de Guangzhou al sur de China con edades de 3-5 años los cuales se siguieron durante 30 meses y se encontró que una aplicación anual de Diamino fluoruro de plata al 38% fue más eficaz en la remineralización o detención de caries de dentina en los dientes anteriores superiores primarios comparado con la aplicación de un barniz de NaF al 5% usado en intervalos de 3 meses.<sup>46</sup>

## VI. CUADRO DE REVISIÓN SISTEMÁTICA

Autor Año	Universo de Estudio	Objetivo	Hallazgos	Relación Estadística.
Alves, et al (2010).	3 diferentes concentraciones de Diamino fluoruro de plata al 12%, 16% y 30% vs Flutop al 1.23% y Flúor care al 1.23%	Identificar la concentración mínima inhibitoria en 6 diluciones contra la concentración original y determinar los halos de inhibición sobre cepas de <i>S. mutans</i> , <i>S. oralis</i> y <i>L.caseii</i>	En relación con <i>Streptococcus mutans</i> , fue posible observar que cariostal 16% fue capaz de inhibir completamente <i>S mutans</i> en la concentración de 1:1 (100%) y hasta la dilución 1:4 (25%) se observaron halos de inhibición de 19,13 y 10mm respectivamente. En la cocentración al 12% sólo se observó efectividad clínica sobre streptotocos mutans y oralis en la solución sin diluir .Cuando se evaluaron los <i>Streptococcus oralis</i> , el cariestop al 30% mostró la más alta capacidad de inhibir a estas bacterias a la concentración de1:1 (100%) y hasta 1:2 (50%) se observaron halos de inhibición de 11.5mm y 9.5 mm respectivamente .Se observó que el gel Flutop era activo contra <i>S. oralis</i> con la concentración 1:1 (100%) y hasta 1:2 que es al 50% se observaron halos de inhibición de 33mm y 17mm respectivamente. Contrariamente con la espuma acidulada flúorcare, no se observaron afectos antibacterianos sobre ninguna de las cepas.	Sin dato
García, et al. (2011).	102 niños de 4 años de edad	Identificar los factores de riesgo y estimar la probabilidad para desarrollar caries dentaria.	Se encontró una alta probabilidad (0.76) si hay un consumo de alimentos cariogénicos, revisión bucodental ausente y hábitos de higiene bucodental ausente contra el (0.018) en el cual la revisión buco dental es ausente, consumo de alimentos cariogénicos presente y hábitos de higiene bucodental presente.	P=0.00. Sin significancia estadística.
Hung Chu et al. Hong Kong. China.(2012)	32 Bloques de dentina humana Artificial desmineralizada con cepas de <i>S. mutans</i> y <i>A. naeslundii</i> .	La efectividad del Diamino fluoruro de plata sobre lesiones de caries en dentina inducidas por <i>S.mutans</i> y <i>A. naeslundii</i> .	Se reportó que después de la aplicación SDF al 38% y el crecimiento a los 7 días, el recuento de bacterias se redujo a cero en las biopelículas de ambas tanto de <i>S. mutans</i> y <i>A. naeslundii</i> En contraste, el crecimiento confluyente de <i>S. mutans</i> y <i>A. naeslundii</i> y altos recuentos de unidades formadoras de colonia (CFU) fueron observadas en el grupo control tratado con agua destilada.	P < 0.05.
Zhi, H.C. et al. Guanzoug. China. (2012).	Un total de 212 niños, con edades entre 3-4 años.	Comparar la eficacia de la aplicación tópica anual de diamino fluoruro de plata al 38%(SDF), semi-anual y la	Los niños fueron asignados al azar a uno de tres grupos para el tratamiento de la caries de dentina en los dientes primarios siendo: GP1-anual de aplicación de Diamino fluoruro de plata, GP2 aplicación	P= 0.007 Sí, hay significancia estadística.

Efectividad Bactericida del Diamino Fluoruro de Plata a diferente concentración sobre estreptococos cariogénicos en muestras de saliva y dentina de escolares. Un estudio in vitro.

		aplicación anual de un fluido de ionómero de vidrio de alta liberación de flúor (Fuji Tipo VII, Tokio Japón) en la detención de caries de dentina activa en la dentición temporal	cada seis meses de Diamino fluoruro de plata, y GP3-aplicación anual de ionómero de vidrio con alta liberación de fluoruro. Las tasas de detención de caries fueron 79%, 91% y 82% para GP1, GP2 y GP3, respectivamente. Por lo tanto, aumentando la frecuencia de aplicación de Diamino fluoruro de plata solución a cada 6 meses puede aumentar la tasa de detención caries dental.	
<b>Gupta A. et al. Nueva Delhi India. (2011).</b>	45 discos de dentina humana desmineralizada provenientes de 45 primeros premolares extraídos con fines ortodonticos.	Evaluar la capacidad de re mineralización y eficacia antimicrobiana del Diamino Fluoruro de Plata (Saforide ®) como del Cemento Ionómero de Vidrio tipo VII. (GC Fuji VII) usándose por separado como materiales de recubrimiento pulpar indirecto. Tomado como grupo control el Hidróxido de calcio con los mismos fines.	Se encontró un incremento en los niveles de calcio y fosfato para el grupo control, ambos grupos, SDF y GC VII mostraron un incremento significativo en la concentración de iones fluoruro. Los ejemplares tratados con GC VII mostraron un incremento máximo al evaluar la microdureza. Se observó una amplia zona de inhibición bacteriana tanto para <i>S. mutans</i> y biota mixta en el grupo SFD. Comparado contra Hidróxido de calcio y GC VII:	-----
<b>Almeida L.F.D et al. Paraíba, Brasil.(2011)</b>	La biota microbiana fue obtenida de la saliva de seis niños pacientes de la clínica de Pediatría de la. (UFPB). Esta flora fue aislada y cultivada en agar Mitis-Salivarius y Dividida en 7 grupos. M1 (Control. Cepa de <i>S. mutans</i> ) a M7. Posteriormente la actividad antibacteriana fue determinada con la máxima dilución inhibitoria (MID) la cual fue hecha de (1:1 a 1:32) además de las formulaciones puras de Diamino Fluoruro de plata al 12%, 30% y Clorhexidina como control al 0.12%.	Determinar la actividad antibacteriana in vitro del diamino fluoruro de plata a diferentes concentraciones.	Después de la incubación, las zonas de inhibición se midieron. Encontrándose: El Cariestop ® 30% estuvo vigente hasta la última dilución (1:32) en todas las cepas. Para Cariestop ® 12%, estuvo presente en casi todas las muestras, excepto para M3 (1:8). Clorhexidina estuvo presente en 5 muestras excepto en la dilución 1:8 tanto para M3 y M7. Se concluyó que la actividad antibacteriana del Diamino fluoruro de plata tanto en menores como en mayores concentraciones demostró aun un mejor resultado en comparación con la clorhexidina, pues se mantuvo constante en todos los grupos de evaluación de actividad antibacteriana.	-----
<b>Aguilera G, et al. Zacatecas, México. (2009)</b>	139 niños con edades de 6-13 años.	Determinar el riesgo de caries de acuerdo a la concentración de UFC/ml de	Se encontró un a prevalencia de caries dental del 67.6%. Para determinar la actividad de caries se tomó como parámetro el número de unidades formadoras de colonia por ml de saliva de <i>S. mutans</i> .	-----

Efectividad Bactericida del Diamino Fluoruro de Plata a diferente concentración sobre estreptococos cariogénicos en muestras de saliva y dentina de escolares. Un estudio in vitro.

		<i>S. mutans.</i>	Encontrándose que 100 niños presentaron una actividad de caries muy alta. Ya que obtuvieron valores por arriba de $1 \times 10^6$ Ufc/ml, lo cual corresponde al 71% del grupo de estudio. 15 niños mostraron una actividad alta, 22 moderada y solo 2 baja actividad.	
<b>Yee R. et al. Katmandú, Nepal.(2009)</b>	975 niños de 3-9 años. divididos en 4 Grupos con un seguimiento de 24 meses	Evaluar la eficacia microbiana de dos diferentes concentraciones de Diamino Fluoruro de Plata tanto al 38% como al 12% usando ácido tánico como agente reductor (se comenta en este estudio que ayuda a que se formen más rápido los grupos fosfatos de plata acelerando su reacción química favoreciendo la mayor retención posible del producto sobre el diente) y un grupo control al que no se le dio tratamiento.	Se encontró que una aplicación única semestral al 38% Diamino fluoruro de plata con o sin ácido tánico (Té común) fue eficaz en la detención de caries después 6 meses con un promedio de caries detenidas de (4.2), a los 12 meses (3.4) y a los 24 meses (2.1). Los resultados de este estudio apoyan la demostraron que una aplicación al 12% de SDF 6 meses (2.3), 12 meses (1.7), 24 meses (1.5), no tiene un efecto significativo sobre la detención de caries aunado al grupo control donde no se aplico el cariostático. Una sola aplicación de 38% SDF, con o sin el uso del té como un agente reductor, fue significativamente más eficaz para detener la caries dental tanto en los dientes anteriores como posteriores.	6 meses P< 0.001 12 meses P < 0.001 24 meses P< 0.01
<b>Santos L.M. et al Brasil. (2008).</b>	108 Dientes deciduos.	Evaluar la efectividad de la aplicación de diversos productos que contienen fluoruro y su capacidad para detener el avance de lesiones de caries en esmalte de dientes deciduos.	Después de la aplicación del producto a cada diente y de una incubación de 14 días, se seccionaron por el centro para evaluar la profundidad de la lesión en cada grupo encontrándose lo siguiente: 1. Dentífrico sin flúor –control- (efectividad nula) 2. Fluoruro en gel al 1.23% (33%).3. Durafleur (36%), 4. Duraphat (58%). 5. Fluorniz (35%), 6.Fluorphat (33%), 7.Duofluorid (34%).8. Cariestop (54%).9. Pasta Fluorada (28%).Demostrando que los que tuvieron un efecto positivo sobre el avance de las lesiones fueron el Fluorophat y el Cariestop al 12%.	P < 0.05
<b>Hung Chu et al. Guangzhou, China. (2002)</b>	375 niños preescolares con edades de 3-5 años. Seguidos durante 30 meses.	Determinar la efectividad del Diamino Fluoruro de Plata al 38% y el Barniz de Fluoruro Duraphat al 5% de Sodio en la detención de caries en Dentina en niños chinos preescolares.	Los niños se dividieron en 5 grupos el primer y segundo grupo recibieron SFD al 38%, el tercero y cuarto Dutaphat al 5%. El quinto grupo fue el control. En el primer y tercer grupo el tejido reblandecido fue removido se encontró una detención de caries en promedio para el grupo 1 (2.49), 2 (2.82), 3 (1.45), 4 (1.54), 5 (1.27 control). Se concluyó que una aplicación anual de (Saforide ®) al 38% fue más eficaz en el endurecimiento o detención de caries de dentina en los dientes anteriores superiores primarios comparado con la aplicación de un barniz de NaF al 5% usado en intervalos de 3 meses.	P < 0.001.

## VII. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La caries dental es un problema de salud pública a nivel mundial donde 60-90% de niños en edad escolar están afectados por caries dental según la World Dental Federation (FDI) y la Organización mundial de la salud (OMS) y en nuestro país, de acuerdo a los resultados del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales (SIVEPAB) 2012 en un n total de 4764 de niños y adolescentes revisados de las 32 entidades federativas del país que acuden a las diferentes instancias del sector salud con edades comprendidas de 2 a 10 años de edad presentaron caries dental en un 85%, tomando en cuenta esta problemática, desde 1960 se han formulado agentes anticariogénicos como el diamino fluoruro de plata desarrollado primariamente en Japón, sin embargo, en nuestro país son escasos los estudios que se han realizado en investigación microbiológica así como de su uso clínico y sin duda sería de gran utilidad emplearlo a nivel masivo en poblaciones rurales de nuestro país, pues se ha encontrado una efectividad superior al 90% en la detención de caries dentinarias y remineralización del esmalte en la caries incipiente, es importante mencionar que estos materiales son relativamente de bajo costo, no requieren equipo especializado y son de fácil manipulación, por lo tanto es muy factible realizar esta investigación específicamente en población pediátrica , de ahí la relevancia del presente estudio para lo cual nos planteamos la siguiente pregunta de investigación:

**¿Cuál será la efectividad bactericida del Diamino fluoruro de plata a diferente concentración sobre estreptococos cariogénicos tomados de muestras de saliva y dentina de escolares?**

Efectividad Bactericida del Diamino Fluoruro de Plata a diferente concentración sobre estreptococos cariogénicos en muestras de saliva y dentina de escolares. Un estudio in vitro.

## VIII. HIPÓTESIS

Tomando en cuenta los estudios clínicos reportados sobre la efectividad tanto microbiológica como clínica del diamino fluoruro de plata suponemos que la efectividad sobre el crecimiento bacteriano de *Streptococcus mitis*, *S. salivarius* y *S. mutans* en muestras de saliva y dentina de escolares de 3 a 6 años será bactericida en ambas concentraciones tanto al 38% comparado contra la concentración al 12%.

Efectividad Bactericida del Diamino Fluoruro de Plata a diferente concentración sobre estreptococos cariogénicos en muestras de saliva y dentina de escolares. Un estudio in vitro.

## **IX.OBJETIVO**

Determinar la efectividad bactericida del diamino fluoruro de plata a diferente concentración sobre el crecimiento bacteriano de *Streptococcus mitis*, *S. salivarius* y *S. mutans* en muestras de saliva y dentina en escolares.

## **X. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **10.1 TIPO DE ESTUDIO**

Experimental

### **10.2 UNIVERSO DE ESTUDIO**

Se analizarán 100 muestras de microbiota cariogénica de escolares de 3-6 años de la clínica multidisciplinaria “Reforma” de la FES-Zaragoza de la UNAM en ciudad Nezahualcóyolt en 2014.

### **10.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- Niños de ambos sexos que deseen participar en la presente investigación.
- Niños cuyos padres firmen el consentimiento informado para la toma de la muestra.
- Niños y Niñas con lesiones de caries en fosetas, fisuras y superficies lisas. (Grado 1) o lesiones de caries en dentina sin exposición pulpar. (Grado 2).

### **10.4 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

- Niños que tengan lesiones de caries con exposición pulpar
- Padres que no firmen el consentimiento informado

Efectividad Bactericida del Diamino Fluoruro de Plata a diferente concentración sobre estreptococos cariogénicos en muestras de saliva y dentina de escolares. Un estudio in vitro.

## **10.5 VARIABLES**

### **INDEPENDIENTE:**

Diamino fluoruro de plata a 12% y al 38%

### **DEPENDIENTE:**

Halos de inhibición de la microbiota cariogénica aislada: *S. mutans*, *S. mitis* y *S. salivarius*,

Efectividad Bactericida del Diamino Fluoruro de Plata a diferente concentración sobre estreptococos cariogénicos en muestras de saliva y dentina de escolares. Un estudio in vitro.

## 10.6. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.

VARIABLE	DEFINICIÓN	NIVEL DE MEDICIÓN	CATEGORÍAS
<b>Efecto Bactericida</b>	Estado que denota una ausencia total de microorganismos en determinado medio de cultivo.	Cuantitativa Continua	Medición en milímetros de los halos de inhibición.
<b><i>S. mitis</i></b>	Estreptococo perteneciente al grupo Viridans, catalasa negativo, anaerobio facultativo, Gram positivo y alfa hemolítico. Dispuestos en pares o cadenas.	Cualitativa Nominal	Presente Ausente
<b><i>S. salivarius</i></b>	Estreptococo perteneciente al grupo Viridans, catalasa negativo, facultativo aerobio, Gram positivo y alfa hemolítico.	Cualitativa Nominal	Presente Ausente
<b><i>S. mutans</i></b>	Estreptococo perteneciente al grupo Viridans, catalasa negativo, facultativo aerobio, Gram positivo y Alfa hemolítico.	Cualitativa Nominal	Presente Ausente

## 10.7 TÉCNICAS

### SEMBRADO INICIAL, PRUEBAS BIOQUÍMICAS Y DE SENSIBILIDAD.

**1. Toma de muestra caries grado1 y grado 2.**

Depositar en tubo de 13X100. Con caldo nutritivo (preparar como lo indica el proveedor) colocar 2ml en cada tubo.

**2. Sembrar las muestras mediante técnica de agotamiento por estrías** en condiciones de esterilidad sembrar en agar sangre de carnero al 5%, e incubar en microaerofilia a 37°C de 24-48hrs.

**3. Morfología colonial:** Una vez incubadas se procede a leer la morfología colonial, tipo de hemolisis y características de las colonias aisladas.

**4. Preparación del cepario:**

Será elaborado de las colonias aisladas del agar sangre, que presenten una morfología colonial característica del genero *Streptococcus sp*, se prepara agar Müller Hinton (como lo indica el proveedor) en tubo con tapón de rosca de 18X150, colocando 10ml del medio y se inclina para su solidificación, una vez sembrados con las colonias se incuban en microaerofilia a 37°C durante 24-48 hrs.

**5. Proceder a realizar las siguientes pruebas bioquímicas y tinción de Gram:**

- Catalasa.

Se debe realizar en condiciones de esterilidad. Peróxido de Hidrógeno al 3%, se coloca una colonia aislada en el portaobjetos con el asa de inoculación estéril y se procede a colocar una gota de peróxido de hidrógeno, la prueba es positiva si aparecen burbujas en la suspensión. De lo contrario es negativa.

- Prueba de hidrólisis del almidón:

Del cepario, se tomara una asada y se siembra por aislamiento en una placa de agar almidón, se incuba en microaerofilia durante 24-48 hrs. A una colonia aislada, se le agrega una gota de lugol para evidenciar la hidrólisis.

- Prueba de caldo rojo de fenol y manitol.

Se tomara muestras de los ceparios, y se inoculan en los tubos de 13X100 con tapón que contendrán 4ml del medio cada tubo. Se incuba en microaerofilia a 37°C durante 24-48hrs. La lectura se dará por el viraje del indicador ácido-base rojo de fenol de la solución, a una tonalidad amarilla.

- Tinción de Gram.

Para esta técnica primero se coloca una gotita de agua con el asa de inoculación sobre el portaobjetos, posteriormente se procede a colocar la muestra sobre la gota de agua mezclándose, fijar la muestra pasándola por el mechero rápidamente sin sobrecalentarla, posteriormente se colocara cristal violeta durante 3 minutos, se lava con agua, se aplica lugol 3 minutos. Se lava con agua , se decolora con la mezcla Alcohol-Acetona por 10 segundos, se lava, y finalmente se agrega safranina por 3 minutos, se lava y se deja secar para observarse al microscopio a inmersión.

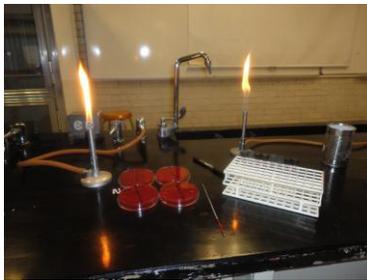
**6. Prueba de sensibilidad:**

Sembrar masivamente una placa de agar Müller Hinton con la cepa de prueba. Colocar los discos de papel filtro espaciados sobre el sembrado masivo, previamente impregnados con las diluciones del diamino fluoruro de plata al 12% y al 38% así como el control de clorhexidina al 2%. Incubar las placas en microaerofilia a 37°C durante 24-48 horas. Posteriormente medir los halos de inhibición con regla milimétrica.

**7. Determinación del efecto bactericida o bacteriostático:**

De los halos de inhibición tomar una muestra con el asa estéril presionando ligeramente la superficie del agar sangre. Sembrar por aislamiento en placas de agar sangre, incubar en microaerofilia de 24-48 hrs, a 37°C, si hay crecimiento el efecto es bacteriostático, en caso de no haber crecimiento el efecto es bactericida.

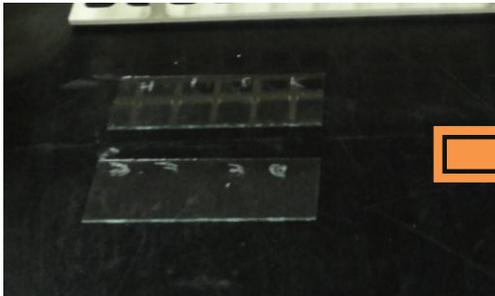
Efectividad Bactericida del Diamino Fluoruro de Plata a diferente concentración sobre estreptococos cariogénicos en muestras de saliva y dentina de escolares. Un estudio in vitro.



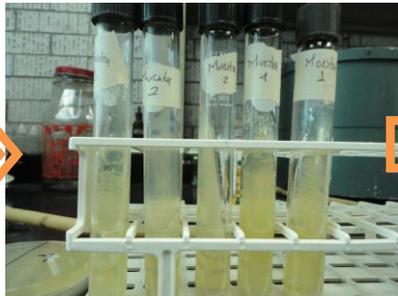
Toma de muestra caries grado 1 o caries grado 2, en tubos con caldo nutritivo como medio de transporte y llevadas al laboratorio. Sembrado en agar sangre y posterior incubación.



Después de 24 horas de incubación en microaerofilia se procede a la lectura de morfología colonial y hemólisis.



Prueba de catalasa para descartar que las bacterias aisladas sean microorganismos catalasa positivos.

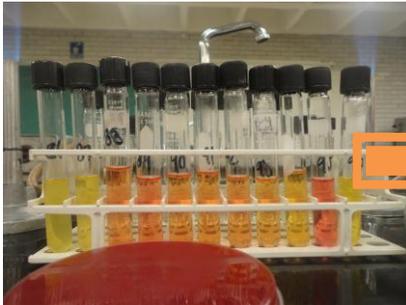


Siembra en tubo para cepario de microorganismos catalasa negativos.

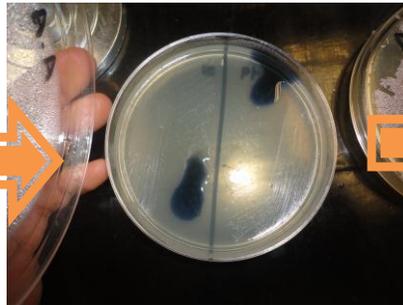


Incubación en microaerofilia de los tubos para cepario para favorecer el crecimiento de colonias.

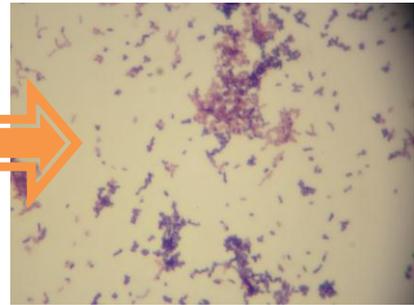
Efectividad Bactericida del Diamino Fluoruro de Plata a diferente concentración sobre estreptococos cariogénicos en muestras de saliva y dentina de escolares. Un estudio in vitro.



De los ceperos se proceden a realizar diversas pruebas bioquímicas para identificar a cada bacteria comenzando por sembrado en caldo rojo de fenol y manitol.



Posterior sembrado por estría cruzada en agar almidón y prueba de lugol para observar la degradación de almidón.



Posterior prueba de tinción de gram para observacion de microorganismos gram positivos propios de estreptococos cariogénicos.



Finalmente se procede a realizar un sembrado masivo de los estreptococos identificados con su respectivo sensidisco impregnado con la solución de diamino fluoruro de plata al 12% y al 38% con su respectivo control a base de Clorhexidina al 2%.

Efectividad Bactericida del Diamino Fluoruro de Plata a diferente concentración sobre estreptococos cariogénicos en muestras de saliva y dentina de escolares. Un estudio in vitro.

## **10.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los datos fueron analizados a través de medidas descriptivas, medianas frecuencias y porcentajes, y como prueba de comparación se utilizó ANOVA Pos hoc Tukey con un 95% de confianza así como análisis exploratorio de datos entre medianas.

## XI. RESULTADOS

Se analizaron 100 muestras de las cuales el 48.3% correspondió a *S. mutans*, un 41.4% a *S. salivarius* y un 10.3% de *S. mitis*, en este sentido, obtuvimos un mayor halo de inhibición para los tres microorganismos al 38% mostrando una diferencia estadísticamente significativa con respecto al control ( $p < 0.05$ ). Figura 1. Asimismo al evaluar los datos obtenidos con las concentraciones de Diamino fluoruro de plata pudimos observar que al 12% sólo se muestra un efecto bacteriostático contrastado contra el control usando clorhexidina al 2% encontrando el mismo efecto bacteriostático, no así para la concentración del 38% donde no hubo crecimiento encontrándose un efecto bactericida.

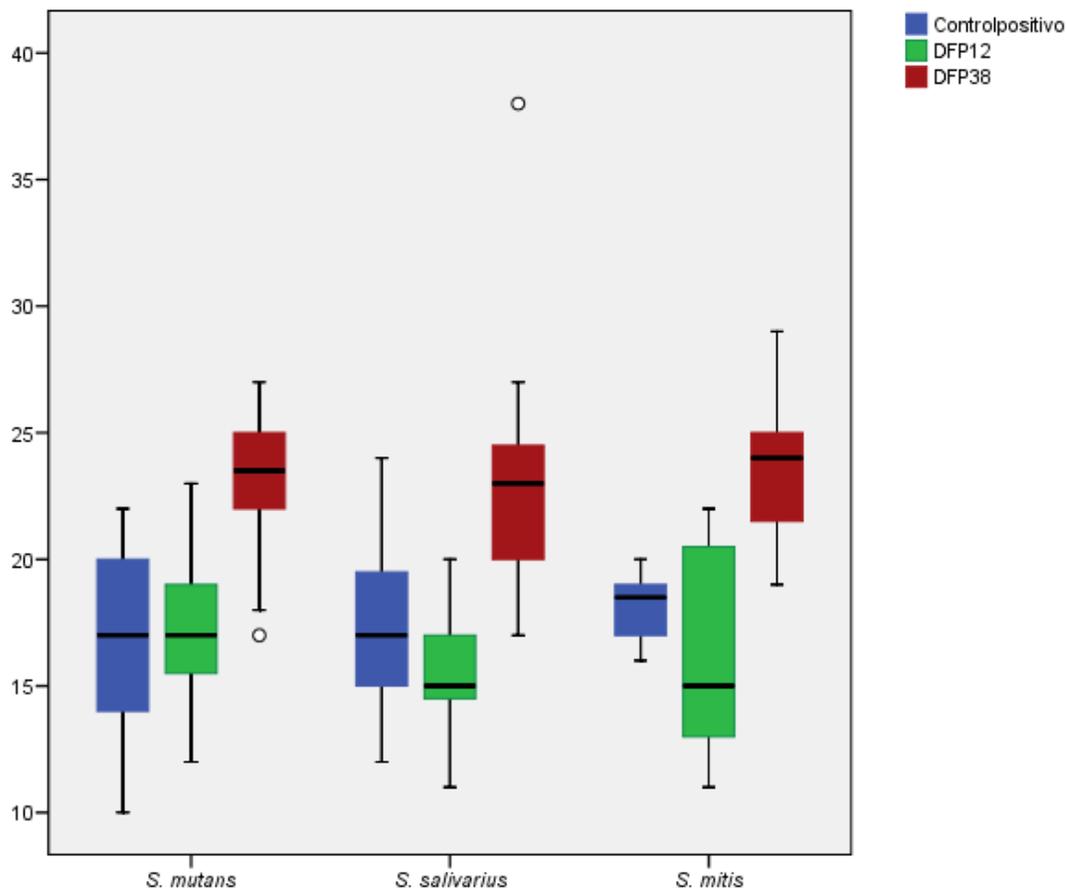


Figura 11. Observación del comportamiento de los halos de inhibición para cada microorganismo

Efectividad Bactericida del Diamino Fluoruro de Plata a diferente concentración sobre estreptococos cariogénicos en muestras de saliva y dentina de escolares. Un estudio in vitro.

**RESULTADOS MEDIALES DE HALOS DE INHIBICIÓN PARA CADA MICROORGANISMO**

<b>Microorganismo</b>	<b>Saforide al 38%</b>	<b>Saforide al 12%</b>	<b>Clorhexidina 2%</b>
<i>S.mutans</i>	<b>23mm</b>	<b>17mm</b>	<b>17mm</b>
<i>S.mitis</i>	<b>24mm</b>	<b>15mm</b>	<b>18.5mm</b>
<i>S.salivarius</i>	<b>23mm</b>	<b>15mm</b>	<b>17 mm</b>

En el presente cuadro se observa los valores de la mediana para los halos de inhibición a diferentes concentraciones que se obtuvieron con los diferentes microorganismos.  $p < 0.05$ .

## XII. DISCUSIÓN

El fluoruro diamino de plata es un agente anticariogénico que puede comportarse como bactericida o bacteriostático con base en su concentración empleada, ha sido utilizado desde 1960 en la detención de caries dental en países como Inglaterra, Brasil, Hong Kong y Japón. Los iones de plata ( $\text{Ag}^+$ ) contenidos en este agente anticariogénico, han demostrado un efecto antibacteriano, la plata metálica Ag es relativamente inerte, puede interactuar con la humedad en el ambiente oral y posteriormente liberar iones de plata ( $\text{Ag}^+$ ). Los iones de plata se ha investigado en diversos ensayos bacteriológicos que posee los siguientes efectos antibacterianos: Destrucción de la estructura de la pared celular, desnaturalización de las enzimas citoplasmáticas de la bacteria, la inhibición de la replicación del ADN bacteriano, interacción con la cadena lateral reactiva de la colagenasa bacteriana para inactivar así sus funciones catalíticas. Finalmente, se ha investigado el efecto Inhibitorio sobre metaloproteinasas (MMPs) endógenas presentes en el colágeno tipo I de la dentina actuando de manera selectiva sobre MMPs 2,8 y 9. Sin embargo, a pesar de las investigaciones reportadas, la caries dental sigue siendo una problemática de salud pública a nivel mundial y a nivel nacional reportando altos índices de esta enfermedad en la población pediátrica de nuestro país, tomando en cuenta esto, se realizó ésta investigación de evaluación in vitro sobre estreptococos cariogénicos en donde los resultados obtenidos reportaron un efecto bactericida del Diamino fluoruro de plata al 38%, y un efecto bacteriostático tanto para el Diamino fluoruro de plata al 12% como para la Clorhexidina al 2%, tomada como control positivo al ser considerada un potente agente antibacteriano en odontología, estos resultados, contrastan a lo reportado por investigadores como Almeida et al. 2011 y Medeiros et al. 2009, los cuales reportan una efectividad bactericida en ambas concentraciones tanto al 30% como para el 12%, con respecto a los halos de inhibición se reportaron resultados similares a los encontrados en nuestra investigación, es decir, que a mayor diámetro del halo mayor efecto antibacteriano, en especial observable para *S. mutans*. Sin embargo, investigadores como Mei Lei et al. 2012, han estudiado como el Diamino fluoruro de plata a una concentración al 38% inhibe específicamente las enzimas metaloproteinasas (MMPs 2, 8, y 9) producidas por los odontoblastos que al ser activadas por los cambios de pH degradan la matriz de colágeno extracelular de la dentina, incluso ha reportado como (Saforide®) al 12% inhibe básicamente a la MMPs-2 y pobremente las MMPs 8 y 9 corroborando que a la concentración al 12% no es efectivo para el arresto de caries en dentina.

Efectividad Bactericida del Diamino Fluoruro de Plata a diferente concentración sobre estreptococos cariogénicos en muestras de saliva y dentina de escolares. Un estudio in vitro.

La concentración al 38% ha demostrado mayor efectividad clínica sobre la concentración al 30% logrando así tener los mejores resultados de éxito clínico al ser aplicado en caries en dentina.

Efectividad Bactericida del Diamino Fluoruro de Plata a diferente concentración sobre estreptococos cariogénicos en muestras de saliva y dentina de escolares. Un estudio in vitro.

### **XIII. CONCLUSIONES**

Nuestros resultados sugieren que la concentración al 38% tiene un efecto bactericida sobre estreptococos del grupo Viridans y al 12% mostró un efecto bacteriostático, no recomendable para la detención de caries dentinaria.

#### **XIV. PERPECTIVAS**

- 1.Promover el uso clínico correcto de este agente anticariogénico y a la concentración al 38% siendo la más confiable en beneficio del paciente y del profesional.
- 2.Propone una línea de investigación en base a este proyecto como base, ahora enfocándonos en el efecto sobre metaloproteinasas endógenas a diferentes concentraciones 10%, 12%, 16 %, 30% y 38% existentes en el comercio con la finalidad de promover una concentración mínima inhibitoria que sea capaz de inhibir a los tres tipos de metaloproteinasas endógenas MMPs-2, MMPs-8 y MMPs-9 del colágeno tipo I de la dentina logrando por un lado limitar el avance de la lesión cariosa y por otro manteniendo su capacidad bactericida del Diamino fluoruro de plata.
- 3.Plantear el posterior desarrollo de una versión nacional segura, efectiva y accesible a poblaciones pediátricas distantes que no tienen facilidad de acceso a los servicios de salud pública con la finalidad de disminuir en lo posible los altos índices de caries dental en nuestro país y sus consecuencias desfavorables sobre el crecimiento y desarrollo músculo esquelético y cráneo facial del paciente pediátrico.

## **XV. REFERENCIAS**

- 1.-Guerrero RVM, Godínez MAG, Melchor SCG, Rodríguez GME, Lenguas QE. Epidemiología de caries dental y factores de riesgo asociados a la dentición primaria en preescolares. ADM.2009; 65(3):10-20.
- 2.-Marcantoni M. Caries Dental. Antimicrobianos y vacunas para su control. En: Negroni M. Microbiología Estomatológica. Fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2010.p. 247-261.
- 3.- Meneses-González I. Caries Dental y su relación con el consumo de alimentos chatarra y bebidas endulzadas. Revista Investigación y desarrollo en salud.2015; 1(1):10-19.
- 4.-Baca-Garcia P, Baca-García A, Maestre-Vera JR. Microbiología de la Caries. En: Liébana-Ureña J. Microbiología Oral.Madrid:Mc.Graw Hill; 2002.p. 561-570.
- 5.- Higashida HBY. Odontología Preventiva. 2da ed. México: Mc Graw Hill; 2009.
6. -Mouton C, Robert JC. Bacteriología bucodental. Barcelona: Masson; 1995.
- 7.-Sánchez-Pérez L, Acosta Gío E. Estreptococos cariogénicos predominantes, niveles de infección e incidencia de caries en un grupo de escolares. Estudio exploratorio. ADM.2007; 64(2):45-51.
- 8.-Alves TMS, Silva CA, Silva NB. Atividade Antimicrobiana de Produtos Fluoretados sobre Bactérias Formadoras do Biofilme Dentário: Estudo in vitro. Clinica integrada UEPB.2010;10(2):209-216.
- 9.-Xaus G, Leighton C, Martin J, Martignon S, Moncada G. Validez y Reproducibilidad del Udo del Sistema ICDAS en la Detección in vitro de lesiones de Caries Oclusal en Molares y Premolares Permanentes. Rev Dent Chile.2010; 101(1):26-33.
- 10.-Arredondo-Izquierdo GY, Juárez-López MLA. Morbilidad de caries dental en edad escolar en la zona de influencia a la FES Zaragoza: Revisión Bibliográfica. [Tesis]. México D.F: DGB UNAM; 2014.

Efectividad Bactericida del Diamino Fluoruro de Plata a diferente concentración sobre estreptococos cariogénicos en muestras de saliva y dentina de escolares. Un estudio in vitro.

- 11.-Mas LJ, Espinosa FR. Inicio y progreso de la lesión cariosa en esmalte, dentina y cemento. En: Hernostroza GH. Caries Dental. Principios y procedimientos para el Diagnostico. Perú: Ripano; 2007 .p.37-49.
- 12.- Chu CH, Lo EC. Promoting caries arrest in children with silver diamine fluoride: A review.Oral Health Prev Dent.2008; 6(4):315-321.
- 13.- Sánchez CC. Desmineralización y remineralización. El proceso en balance y la caries dental. ADM. 2010; 67(1):30-32.
- 14.-Nolte WA. Microbiología odontológica.3ª ed. México: Interamericana; 1986.
- 15.-Kenneth JR, Ray CG. Microbiología Médica.5a ed.México: Mc Graw Hill; 2010.
- 16.- Kingsbury DT, Wagner GE, Segal GP. Manual de Microbiología Médica. México: Limusa; 1991.
- 17.-Castillo-Cevallos JL, Lazo-Navarro R. Prevención de Caries Dental en Odontología Pediátrica. En: Castillo-Mercado R. Estomatología Pediátrica. Madrid: Ripano; 2011.p. 116-123.
- 18.-Secretaria de salud. Programa de acción específico 2007-2012 Salud Bucal. 1ra.ed.México.2008.Disponible: <http://www.spps.gob.mx/salud-bucal>
- 19.- Resultados del sistema de vigilancia epidemiológica de patologías bucales SIVEPAP 2011. 1ra. Ed. Julio 2012. México: 1-47ISBN 978-607-460-298-2 Disponible: [http:// www.spps.salud.gob.mx/](http://www.spps.salud.gob.mx/)
- 20.-Martínez-Pabón MC, Martínez –Delgado CM, López-Palacio AM., Patiño-Gómez LM, Arango-Pérez EA. Características fisicoquímicas y microbiológicas de la saliva durante y después del embarazo. Rev. Salud Pública. 2014; 16 (1): 128-138.
- 21.-De Almeida LF, Cavalcanti YW, Valença AM. In vitro antibacterial activity of silver Diamine Fluoride in diferent concentrations. Acta Odontol Latinoam. 2011; 24(2): 127-131.
- 22.-Triches TC, Cordeiro MMR Souza JGMV, Saltori EK, Franca BHS. Aceitação dos Pais Quanto ao Uso do Diaminofluoreto de Prata em Crianças de 0 a 3 Anos de Cascavel/PR. Pesqui Bras Odontopediatria Clin Integr.2009; 9(3):265-269.
- 23.-Ditterich RG, Romanelli-Vasconcellos MCMO, Rastelli MC, Czulniak GD, Stadler- Wambier D. Diamino Fluoreto de Pratã: Uma Revisao de literatura. UEPG. 2006; 12(2): 45-52.

Efectividad Bactericida del Diamino Fluoruro de Plata a diferente concentración sobre estreptococos cariogénicos en muestras de saliva y dentina de escolares. Un estudio in vitro.

24.-Hidalgo R. Las metaloproteinasas y el progreso de la lesión cariosa en dentina. Rev Estomatol Herediana 2006; 16(1): 64 - 72.

25.- Mei ML, Li QL, Chu CH, Lo EC, Inhibitory effect of silver diamine fluoride on dentine demineralisation and collagen degradation. Journal of Dentistry.2013: 809-817.

26.- Mei ML, Li QL, Chu CH, Lo EC, The inhibitory effects of silver diamine fluoride at different concentrations on matrix metalloproteinases. Journal of Dentistry.2012: 903-908.

27. Mei ML, Li QL, Chu CH, Lo EC, Samaranayake LP. Antibacterial effects of silver diamine fluoride on multi-species cariogenic biofilm on caries. Ann Clin Microbiol Antimicrob.2013: 3-7.

28.- Vasquez E, Zegarra G, Chirinos E, Castillo JL, Taves DR, Watson GE, et al. Short-term serum pharmacokinetics of diamine silver fluoride after oral application.BMC Oral Health. 2012; 12(60):1-7.

29.- Santos Lde M, Reis JI, Medeiros MP, Ramos SM, Araújo JM. In vitro evaluation of fluoride products in the development of carious lesions in deciduous teeth.Braz Oral Res.2009; 23(3):296-301.

30.-Mei ML, Chu CH, Lo EC, Samaranayake LP. Fluoride and silver concentrations of silver diammine fluoride solutions for dental use. Int J Paediatr Dent. 2013; 23(4):279-85.

31.-Chen A, Cho M, Kichler S, Lam J, Liaque A, Sultan S. Silver Diamine Fluoride: An Alternative to Topical Fluorides.JCDA. 2012; 20(10):1-14.

32.-Rosenblatt A, Stamford TCM, Niederman R. Silver diamine fluoride (SDF) may be better than fluoride varnish and no treatment in arresting and preventing cavitated carious lesions.J Dent Res 2009;88(2):116-25.

33.- JJY Peng, MG Botelho, JP Matinlinna. Silver Compounds used in dentistry for caries management: A review. Journal of Dentistry. 2012; 40(7):531-541.

34.-.Rosenblatt A, Stamford TCM, Niederman R. Silver Diamine Fluoride: A Caries “Silver- Fluoride Bullet”.JDR. 2009; 88(2):116-125.

35.-Elias-Podesta MC. Fluoruro Diamínico de Plata: Técnica de Pincel y Vaselina. Gaceta Odontológica.

36.- Alcorn M, Rogo E. Silver Diamine Fluoride. Clinical Feature. 2012; 18-20.

Efectividad Bactericida del Diamino Fluoruro de Plata a diferente concentración sobre estreptococos cariogénicos en muestras de saliva y dentina de escolares. Un estudio in vitro.

37.-Mei ML, Ito L, Cao Y, Lo ECM, Li QL, Chu CH. An ex vivo study of arrested primary teeth caries with silver diamine fluoride therapy. *Journal of Dentistry*.2014;30:1-8.

38.-García-García MR, Villarreal-Rios E, Galicia-Rodríguez L, Martínez González L, Vargas-Daza ER, Garcia-Kuri LA. Factores de riesgo y probabilidad de caries en niños de 4 años de edad.*Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2011; 49(1): 9-12.

39.-Chu CH, Mei L, Seneviratne CJ, Lo EMC. Effects of silver diamine fluoride on dentine carious lesions induced by *Streptococcus mutans* and *Actinomyces naeslundii* biofilms. *Int J Paediatr Dent*.2012; 22(1): 2-10.

40.- Zhi QH, Lo ECM, Lin HC. Randomized Clinical trial on effectiveness of silver diamine fluoride and glass ionomer in arresting dentine caries in preschool children. *Journal of Dentistry*. 2012: 962-967.

41.-Guedes PAC, Bonecker M, Delgado RCR. *Fundamentos de Odontología. Odontopediatría*. Sao Paulo: Santos Editora; 2011.

42.-Gupta A, Sinha N, Logani A, Shah N. An ex vivo study to evaluate the remineralizing and antimicrobial efficacy of silver diamine fluoride and glass ionomer cement type VII for their proposed use as indirect pulp capping materials- Part I.*J Conserv Dent*.2011;14(2):113-116.

43.-De Almeida LF, Cavalcanti YW, Valença AM. In vitro antibacterial activity of silver Diamine Fluoride in different concentrations. *Acta Odontol Latinoam*. 2011; 24(2): 127-131.

44.-Aguilera LA, Sánchez CG, Neri CA, Aceves MC, Padilla MP. *Streptococcus mutans* en saliva y se relación con caries dental en una población infantil de la comunidad de Tacoaleche Guadalupe, Zacatecas. *ADM*.2009; 65(6):48-52.

45.-Yee R, Holmgren C, Mulder J, Lama D, Walker D, van Palenstein Helder W. Efficacy of Silver Diamine Fluoride for Arresting Caries Treatment. *J.Dent Res*. 2009; 88(7):644-647.

46. -Chu CH, Lo ECM, Lin HC. Effectiveness of Silver Diamine Fluoride and Sodium Fluoride Varnish in Arresting Dentin Caries in Chinese Pre-school Children. *JDR*.2002; 8(11):767-770.

47.-Prats GP. *Microbiología y Parasitología Médicas*.Madrid: Médica Panamericana; 2013.

Efectividad Bactericida del Diamino Fluoruro de Plata a diferente concentración sobre estreptococos cariogénicos en muestras de saliva y dentina de escolares. Un estudio in vitro.

48.-Murray PR, Drew WL,Kobayashi GS,Thompson Jr JH.Microbiología Médica.Madrid:Mosby;1992.

49.- Struthers JK, Westran BP. Bacteriología Clínica. Barcelona España: Masson; 2005

50. Wistreich AG, Letchman DM. Prácticas de laboratorio en microbiología. 2ª ed.México: Limusa; 1983.

51.-Harvey RA, Champe PC,Fisher BD.Microbiología.2a ed.Barcelona:Lippincott Williams&Wilkins;2007.

52. -Mackie TJ, McCartney. Medical Microbiology: 2. 13 a ed. Churchil livingstone: Harcurt Brace; 1989.

53.-Burnett GW, Schuster G. Microbiología Oral y Enfermedad Infecciosa. Buenos Aires: Medica Panamericana; 1982.

54-Branson D. Métodos en Bacteriología Clínica. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1974.

55.-Molganiti S, Manto MC. Medios de Cultivo y Siembra. Cuarta Parte. En: Negroni,M. Microbiología Estomatológica. Fundamentos y Guía Práctica. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2010.p. 551-559.

56.-.Molganiti S, Manto MC.Pruebas de sensibilidad in vitro a los agentes antimicrobianos.QuintaParte.En:NegroniM.MicrobiologíaEstomatológica. Fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2010.p. 561-571.

57.-Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM. Bernardos MD.Microbiología.20ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1998.

58.-.Koneman EW, Allen SD, Dowell VR, Janda WM, Sommers HM, Winn WC.Diagnóstico Microbiológico Texto y Atlas Color.3a ed.México: Médica Panamericana; 1997.

## **XVI. ANEXOS**

### **ANEXO 1**

#### **DESCRIPCIÓN DE TÉCNICAS**

##### **1. PREPARACIÓN DE LA DILUCIÓN DEL DIAMINO FLUORURO DE PLATA AL 12%.**

1. El diamino fluoruro de plata (Saforide<sup>R</sup>) comercial se encuentra al 38% de concentración, para preparar la solución al 12% se hacen los cálculos necesarios en la siguiente formula

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

$$V_1 = \frac{(12\%) \times (5\text{ml})}{38\%} = 1.57\text{ml para preparar al 12\%}$$

Donde:

C2= 12%

V2= 5ml

C1= 38%

V1= Volumen de diamino fluoruro de plata que se debe medir.

##### **2. PREPARACIÓN DE LOS DISCOS DE PAPEL FILTRO CON EL DIAMINO FLUORURO DE PLATA**

1. Determinar la cantidad de liquido que puede absorber un disco de papel filtro (aproximadamente 0.02ml)
2. Esterilizar sin el antimicrobiano en una caja de petri a 15 Lbs. de presión, a 121 °C X 15 minutos.
3. Para el día que se realice la prueba de sensibilidad con una pipeta se depositará la cantidad de solución que puede absorber el disco; o sosteniendo

el disco con las pinzas esterilizadas, tocar la superficie de la solución a manera que el papel absorba la cantidad justa y colocarlos sobre la placa sembrada masivamente con la bacteria de prueba.

### 3. TÉCNICA DE ESTRIADO EN PLACA:

#### PROCEDIMIENTO:

1. Tomar una asada del cultivo del tubo de la muestra empleando técnica aséptica.
2. A continuación tomar en la mano izquierda la caja de Petri, de manera que la base de la caja repose sobre la palma la mano y la tapa pueda manipularse hacia arriba y abajo con el pulgar y el dedo medio.
3. Levantar la cubierta de la caja de Petri y colocar el inóculo en el borde del agar opuesto al operador, hacer estrías con el inóculo de lado a lado trazando estrías paralelas hasta cubran aproximadamente una cuarta parte de la placa.
4. Bajar la cubierta de la caja flamear el asa de inocular.
5. Hacer girar el disco petri un cuarto de vuelta, elevar la cubierta y enfriar el asa de inoculación tocando la superficie del agar lejos del conjunto de las estrías recién hechas.
6. Rozar una vez la superficie del conjunto original de estrías con el asa de inocular y hacer un segundo grupo de estilas. Tener cuidado de no cruzar ninguna de las estrías originales.
7. Bajar la tapa de la caja y repetir los pasos 5, 6,7. El resultado final debe presentar las diferentes regiones estriadas con una apariencia similar a la que se muestra en la figura.<sup>47, 48,49.</sup>

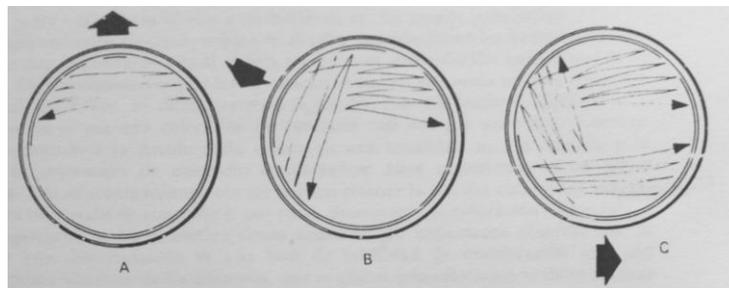


Figura 12. Ejemplificación de la técnica de estría cruzada. Tomada de Wistreich, 1983.<sup>50</sup>

#### **4. PRUEBA MONOENZIMÁTICA DE CATALASA**

La enzima catalasa, cataliza la degradación del peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno molecular  $H_2O_2 \rightarrow H_2O + O_2$ . Los organismos catalasa positivos producen en seguida burbujas cuando se exponen a una solución que contiene peróxido de hidrogeno. Esta es clave para diferenciar diversos organismos grampositivos; por ejemplo, los estafilococos son catalasa positivos, mientras que los estreptococos son catalasa negativos bacterias de nuestro interés.<sup>51</sup>

#### **5. TÉCNICA DE TINCIÓN DE GRAM**

La reacción la tinción de Gram fue descubierta en 1883 por Christian Gram, quien la encontró por accidente mientras trataba de teñir especímenes de biopsias para poder diferenciar los microorganismos del tejido circundante. Su procedimiento tenía una desventaja grave: Algunas bacterias se podían distinguir con suma facilidad mientras que otras no se veían en absoluto. En 1886 comprendió que su técnica podía usarse para dividir a las bacterias en dos grupos principales. La diferenciación de Gram se basa en el color que adquieren las bacterias en su pared celular cuando se tratan con el colorante cristal violeta seguido por una solución yodoyodurada de potasio. Ciertos microorganismos pierden la coloración violeta de su pared celular con suma rapidez cuando se aplica alcohol etílico, en tanto que otros la pierden con más lentitud. Después de la decoloración se usa una coloración de contraste casi siempre safranina. Las bacterias resistentes a la decoloración conservan una tonalidad azul o morada y no toman la coloración de contraste clasificándose estos organismos como Gram positivos. Los microorganismos que no pueden retener la tinción con cristal violeta toman la coloración de contraste y, por ende, presentan una coloración rosa o roja; a estos organismos se les denominan Gram negativos. Es importante observar que la base de esta diferenciación es más bien de velocidad de decoloración que una característica absoluta de las bacterias, por lo que el procedimiento se debe realizar con extremo cuidado en los tiempos de procesamiento.<sup>52, 53,54</sup>

Efectividad Bactericida del Diamino Fluoruro de Plata a diferente concentración sobre estreptococos cariogénicos en muestras de saliva y dentina de escolares. Un estudio in vitro.

## ANEXO 2.

### REGISTRO PARA EL CONCENTRADO DE DATOS INICIAL PARA CADA MUESTRA.

Paciente No.	Muestra de saliva	Muestra de dentina	
<b>Morfología colonial</b>			
<b>Hemólisis</b>			
<b>Catalasa</b>			
<b>Tinción de Gram</b>			
<b>Rojo de Fenol-Manitol</b>			
<b>Almidón</b>			
<b>Sensibilidad</b>		12%: mm 38%: mm Control: mm	
<b>Bacterias (s) encontradas</b>	<i>S. mutans</i>	<i>S. mitis</i>	<i>S. salivarius</i>

Efectividad Bactericida del Diamino Fluoruro de Plata a diferente concentración sobre estreptococos cariogénicos en muestras de saliva y dentina de escolares. Un estudio in vitro.

### ANEXO 3.

Pruebas bioquímicas para identificación de *S. mutans*, *S. mitis*, *S. salivarius*.

Prueba	<i>S. mutans</i>	<i>S. mitis</i>	<i>S. salivarius</i>
<b>Manitol</b>	+	-	-
<b>Almidón</b>	-	-	-
<b>Hemolisis</b>	gamma	Alfa o gamma	Alfa y gamma
<b>Crecimiento en aerobiosis</b>	Variable	Crece	Crece
<b>Crecimiento en Anaerobiosis</b>	Crece	Crece	Crece
<b>Crecimiento a 10° C</b>	No Crece	Crece	No crece
<b>Crecimiento a 45 ° C</b>	Variable	Variable	Buen crecimiento

Tomado de McCartney. 1989.<sup>55, 56, 57, 58.</sup>

## **ANEXO 4.**

### **CONSENTIMIENTO INFORMADO**

#### **Antecedentes y Objetivo**

La caries dental es un problema de salud pública a nivel mundial de ahí que la Organización Mundial de la Salud (OMS) en su último informe en el 2007, dictaminara que la caries dental se encuentra de un 60% a 90 % de los niños en edad escolar en todo el mundo siendo los valores más devastadores en países en vías de desarrollo donde el acceso a los servicios de salud oral son prácticamente inaccesibles en comunidades lejanas dando como resultado altos índices de caries dental tanto en la población infantil como adulta. El empleo de agentes anticaries en nuestro país es limitado y sin duda sería de gran utilidad emplearlo a nivel masivo en estas poblaciones pues se ha encontrado una efectividad por arriba del 90% en el arresto de caries dentarias y re mineralización del esmalte en la caries incipiente estos materiales son de bajo costo, no requieren equipo especializado y de fácil manipulación de ahí la importancia de realizar este estudio específicamente en población mexicana pues son nulos los estudios que se han hecho en el campo microbiológico y muy pocos los estudios a nivel clínico sobre estos agentes, por tal motivo en el presente estudio se determinara la efectividad bactericida del diamino fluoruro de plata a diferente concentración sobre microbiota cariogénica en niños de 3-6 años.

#### **Procedimiento**

Se seleccionarán 100 niños clínicamente sanos, voluntarios de la clínica reforma de la Ciudad de México. El total de la población se dividirá en dos grupos, a saber:

G1= 50 niños con caries grado 1, saliva G2= 50 niños con Caries Grado 2, dentina reblandecida. Las muestras de saliva como de tejido dentinario reblandecido obtenidas de cada niño serán analizadas en el laboratorio de bacteriología.

#### **Condiciones para ingresar al estudio**

- *Niños de 3-6 años*
- *Clinicamente sanos*
- *Firma o huella digital en la carta de compromiso*

Efectividad Bactericida del Diamino Fluoruro de Plata a diferente concentración sobre estreptococos cariogénicos en muestras de saliva y dentina de escolares. Un estudio in vitro.

**Riesgos:**

No existe ningún riesgo agregado para la salud de su hijo, tras la toma de la muestra que le realizaremos.

**Beneficios:**

La utilización de técnicas de reconstrucción del diente dañado sin anestesia en su hijo se podría aplicar de manera general con este estudio.

**Confidencialidad:**

Toda la información obtenida es *ESTRICTAMENTE CONFIDENCIAL*.

**CONSENTIMIENTO**

Consiento en participar en el estudio. He recibido una copia de este impreso y he tenido la oportunidad de leerlo.

Si yo tengo cualquier pregunta relacionada con este estudio, podré contactar a:

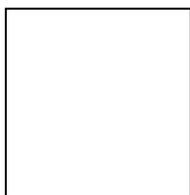
Dra. María Teresa Pérez Morales.

Nombre y firma del padre o tutor \_\_\_\_\_

Nombre y firma de un familiar/ testigo: \_\_\_\_\_

Nombre y firma del investigador: \_\_\_\_\_

México, D.F. a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del \_\_\_\_\_



Nota: En caso de no saber leer y escribir, poner huella digital.

Efectividad Bactericida del Diamino Fluoruro de Plata a diferente concentración sobre estreptococos cariogénicos en muestras de saliva y dentina de escolares. Un estudio in vitro.

## **ANEXO 5.**

### **MÉTODO DE PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO A EMPLEADOS.**

#### **MEDIO DE TRANSPORTE**

#### **CALDO NUTRITIVO:**

Medio para preservar los microorganismos.

Fabricante: 8g-----1000ml.

Fórmula para 1 L de agua destilada.

#### **Método de preparación.**

Rehidratar 8 gr del medio en un litro de agua destilada, dispensar en tubos de vidrio, tapar y esterilizar en autoclave a 121° a 15 lbs. de presión durante 15 minutos.

#### **Metodología en laboratorio:**

Se medirán en la probeta 300 ml de agua destilada, se vertieran en un matraz de 1 lt., se procede a calibrar la balanza y se procederá a pesar el recipiente para el polvo, que generalmente pesa 2.7g. Se necesitarán 2.4g estos también se vierten al matraz, se agita el mismo y se lleva a fuego bajo a la estufa hasta que se disuelvan los grumos. Dejar hervir 1 minuto y retirar del fuego para evitar que se derrame el medio, posteriormente se comenzará el vaciado a los tubos correspondientes y se colocará su tapón al tubo, para finalmente meter a esterilizar.

## **AGAR SANGRE**

### **METODOLOGÍA DE LABORATORIO:**

1. Medir en la probeta 450ml de agua destilada
2. Verter el agua en un matraz con capacidad de 1 Lt.
3. Calibrar la Bascula
4. Pesar el recipiente para el Agar
5. Sumarle los 18g del Agar
6. Verter al matraz y agitar hasta disolver
7. Realizar tapón de algodón y gorro de papel para tapar el matraz
8. Meter al autoclave a 15 Lbs. de presión a 121° por 15 minutos
9. Enfriar a temperatura de 45-50° y adicionar 10ml de sangre de camero
10. Llevar al cuarto estéril y encender los mecheros
11. Colocar una gasa al cuello del matraz sin tocar el tapón
12. Colocar las cajas en filas de 5, haciendo 3 filas.
13. Abrir el matraz, flamear y colocar aproximadamente 30ml de medio en cada caja, cerrar la caja después de haber vertido cada porción.
14. Flamear la boca del matraz y colocar su tapón
15. Flamear cada caja de agar 2 segundos con la finalizada de eliminar burbujas y tapar.
16. Reiniciar con la segunda fila de cajas y repetir el procedimiento a partir del paso 14.
17. El medio está listo para recibir la muestra.

## **AGAR MÜELLER-HINTON.**

### **METODOLOGÍA DE LABORATORIO:**

1. Medir en la probeta 450ml de agua destilada
2. Verter el agua en un matraz con capacidad de 1 Lt.
3. Calibrar la Bascula
4. Pesar el recipiente para el Agar
5. Sumarle los 17.1g del Agar
6. Verter al matraz y agitar hasta disolver
7. Realizar tapón de algodón y gorro de papel para tapar el matraz
8. Meter al autoclave a 15 Lbs. de presión a 121° por 15 minutos
9. Enfriar a temperatura de 40-45°
10. Quitar el gorro de papel
11. Llevar al cuarto estéril y encender los mecheros
12. Colocar una gasa al cuello del matraz sin tocar el tapón
13. Colocar las cajas en filas de 5
14. Abrir el matraz, flamear y colocar aproximadamente 30ml de medio en cada caja, cerrar la caja después de haber vertido cada porción.
15. Flamear la boca del matraz y colocar su tapón
16. Flamear cada caja de agar 2 segundos con la finalizada de eliminar burbujas y tapar.
17. Reiniciar con la segunda fila de cajas y repetir el procedimiento a partir del paso 14.
18. Se colocarán los sensidiscos con el diamino fluoruro de plata al 12%, 38% y el del grupo control y se tomara la lectura del halo de inhibición a las 24 hrs.