



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES  
UNIDAD LEÓN**

**TÍTULO: EFECTOS BIOLÓGICOS DE UN AGENTE  
DE REMOCIÓN QUÍMICO-MECÁNICA DE CARIES**

**FORMA DE TITULACIÓN: TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
LICENCIADO EN ODONTOLOGÍA**

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

**GRECIA YAZMÍN RODRÍGUEZ PÉREZ**



**TUTOR: RENÉ GARCÍA CONTRERAS**

**ASESOR: PALOMA SERRANO DÍAZ,  
LAURA SUSANA ACOSTA TORRES.**

**(LEÓN GUANAJUATO, 2021)**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

## ÍNDICE

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>IV</b>
<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>V</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>VI</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>2. MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>2</b>
2.1. TEJIDO DENTINARIO .....	2
2.1.1. <i>Colágeno tipo I</i> .....	2
2.2. CARIES .....	5
2.2.1 <i>Caries en dentina</i> .....	6
2.3. REMOCIÓN QUÍMICO-MECÁNICA DE CARIES .....	6
2.3.1. <i>Hipoclorito de sodio</i> .....	8
2.3.2. <i>GK1019, GK101 O N-Monocloroglicina (NMG)</i> .....	8
2.3.3. <i>Caridex, GK101E O N-monocloro-DL-2aminobutirato (NMAB)</i> .....	9
2.3.3.1. Mecanismo de acción .....	9
2.3.4. <i>Carisolv™</i> .....	10
2.3.4.1. Mecanismo de acción .....	11
2.3.4.2. Desarrollo .....	12
2.3.4.3. Modo de uso .....	12
2.3.5. <i>Nuevo sistema de Carisolv™</i> .....	15
2.3.6. <i>Dentisolv®</i> .....	16
2.3.7. <i>Papacarie®</i> .....	16
2.3.7.1. Compuestos:.....	17
2.3.7.2. Mecanismo de acción .....	18
2.3.8. <i>Biosolv®</i> .....	19
2.3.9. <i>Brix 3000®</i> .....	19
2.3.10. <i>Carie-care (2010)</i> .....	20
2.3.11. <i>Carie-ozon</i> .....	20
2.3.12. <i>Agente experimental</i> .....	20
2.3.12.1. Compuestos:.....	20
<b>3. ANTECEDENTES</b> .....	<b>25</b>
<b>4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	<b>26</b>
<b>5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN</b> .....	<b>26</b>
<b>6. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>27</b>
<b>7. OBJETIVO GENERAL</b> .....	<b>28</b>
<b>8. OBJETIVO ESPECÍFICOS</b> .....	<b>28</b>
<b>9. HIPÓTESIS</b> .....	<b>28</b>
<b>10. HIPÓTESIS NULA</b> .....	<b>28</b>
<b>11. METODOLOGÍA</b> .....	<b>29</b>
10.1. FASE I:.....	31
10.1.1. <i>Elección del espesante</i> .....	31

Grecia Rodríguez  
EFECTOS BIOLÓGICOS DE UN AGENTE DE RQMC

10.1.2. Elección de la tinción.....	31
10.1.3. Elección del conservante .....	32
10.2. FASE II:.....	35
10.2.1 Citotoxicidad: .....	35
10.2.2. Inflamación: .....	36
10.2.3. Prueba antimicrobiana: .....	37
10.3. FASE III:.....	39
10.3.1. Eliminación de caries:.....	39
10.3.1.1. Desmineralización de dientes: .....	39
10.3.1.2. Modelo de caries .....	39
10.3.1.3. Prueba antimicrobiana .....	40
10.3.1.4. Remoción de caries: .....	40
10.3.1.5. Prueba antimicrobiana: .....	40
<b>11. RESULTADOS .....</b>	<b>41</b>
11.1. FASE I .....	41
11.2. FASE II .....	41
11.2.1. Citotoxicidad .....	41
11.2.2. Inflamación .....	42
11.2.3 Actividad antimicrobiana .....	43
11.2.3.1 Difusión en agar .....	43
.....	45
11.2.3.2. Microdilución .....	46
11.3. FASE III .....	48
11.3.1. Remoción de caries .....	48
11.3.1.1 Prueba antimicrobiana .....	48
11.3.1.2 Tiempo de remoción de caries. ....	49
<b>12. DISCUSIÓN .....</b>	<b>50</b>
<b>13. CONCLUSIÓN.....</b>	<b>52</b>
13.1. RELEVANCIA CLÍNICA .....	52
<b>14. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>53</b>

## Agradecimientos

A mis padres, por todo su apoyo, admiro todo lo que han hecho para que yo llegara hasta esta etapa de mi vida, no existen palabras para expresar todo el agradecimiento que siento por ustedes.

A mi tutor por darme la oportunidad y la confianza de formar parte de este proyecto, por instruirme en el trabajo en laboratorio, por dedicarle tanto tiempo y paciencia a esta investigación, por el interés que ha mostrado con el proyecto y por llevarlo a otro nivel, gracias doctor René García Contreras.

A mis asesores la doctora Laura Acosta y la doctora Paloma Serrano por compartir sus conocimientos conmigo y por todo el tiempo que también le dedicaron a este proyecto. A mis profesores, al doctor Abraham Mendoza, a la doctora Silvia Hernández, el doctor Alejandro Ito, la doctora Ana Lilia Guerra, la doctora Regina Soria, La doctora Karla Aguirre y a todos los docentes que me ayudaron a seguir adelante, que me brindaron todo su conocimiento y me enseñaron con su ejemplo a ser una persona responsable y con ganas de seguir aprendiendo.

A mi coordinadora del área de profundización en ortodoncia y odontología pediátrica Tatiana Mondragón, por estar al pendiente de nuestras necesidades tanto en el área clínica como en nuestras clases teóricas.

Agradezco de una manera especial al doctor Federico Morales Corona quien me enseñó y orientó a ser mejor persona y profesional, reconocimientos por su manera de involucrarse con sus alumnos para que ellos puedan no solo aprender sino comprender de verdad, muchas gracias por su paciencia y por la gran persona que es.

A la ENES, León, por darme tanto, porque se convirtió en mi segunda casa y porque me dio la oportunidad de adquirir nuevos conocimientos y nuevas amistades. No hay palabras para expresar lo orgullosa que me hace sentir formar parte de esta institución.

## Dedicatoria

A Dios, por siempre ponerme en el lugar en el que debía de estar.

A mis padres, Graciela y Alejandro, en primer lugar por siempre tratar de darme lo mejor, por siempre apoyarme y siempre saber guiarme por el mejor camino, han sido los pilares más importantes y fuertes de mi vida para que yo siga siempre hacia adelante, a mis hermanas por ser parte de todo el esfuerzo que he dado, porque ellas también se esforzaron conmigo.

A mi familia, a los que siempre creyeron en mí y me echaron porras para que nunca decayera por las dificultades que se presentaron, por hacerme creer que podía ser la mejor.

A mis amigos que siempre me apoyaron incondicionalmente y que se alegraron con cada uno de mis triunfos, por ayudarme y darme la mano cuando la necesitaba, por confiar en mí y hacerme saber que también yo podía confiar en ellos, por todos los buenos y malos momentos de los cuales aprendí y me hicieron más fuerte.

A todos mis profesores, que compartieron conmigo y mis compañeros todo su conocimiento, por sus regaños y enseñanzas, no solo en el área académica si no en muchos aspectos de la vida, nos enseñaron a ser mejores personas y profesionales, gracias por comprendernos y llevarnos por el mejor camino.

## Resumen

**INTRODUCCIÓN:** La caries es un problema de salud pública, afecta principalmente poblaciones de bajo nivel socio-económico y el tratamiento convencional se vuelve inaccesible, los agentes químico-mecánicos para la remoción de caries han sido propuestos e investigados durante mucho tiempo como alternativa para la preservación de los órganos dentales. **OBJETIVO:** Desarrollar un agente experimental para la remoción químico-mecánica de caries y conocer su efecto citotóxico, proinflamatorio y antimicrobiano en cultivo con células pulpares humanas (HPC) y *Streptococcus mutans*, además conocer el tiempo de remoción de caries y comparar los resultados con los agentes de remoción de caries comerciales. **METODOLOGÍA:** Se realizaron dos agentes experimentales basados en la fórmula de Carisolv® utilizando dos colorantes (fucsina y ponceau). Se utilizó Carisolv® y Papacarie® como grupos controles. La viabilidad celular de HPC fue determinado por el ensayo de MTT a 15, 30 y 60 segundos de contacto a concentraciones de 0-20% y se determinó la actividad pro-inflamatoria por ensayo de ELISA por expresión de PGE<sub>2</sub>, se utilizó interleucina-1β (IL-1β) para inducir a un estado inflamatorio previo. La actividad antimicrobiana fue determinada por difusión en agar y microdiluciones. Se realizó un modelo de caries *in vitro* en dientes extraídos (n=5/agente) y se llevó a cabo una prueba antimicrobiana antes y después de la remoción de caries con cada uno de los agentes, se utilizó como control fresas de carburo de tungsteno. La estadística descriptiva consistió en determinar el promedio y desviación estándar, la estadística inferencial correspondió a pruebas de normalidad de Saphiro-Wilks y pruebas de ANOVA pos hoc de Tukey, la significancia estadística fue con un p<0.05. **RESULTADOS:** La viabilidad celular, independientemente del tiempo, correspondió dosis dependiente de la siguiente manera: Carisolv®= 79.6-99.7%, Papacarie®= 79.6-105.2%, Fucsina= 26-45.5% (p<0.05), Ponceau= 34.9-103.6%. La expresión de PGE<sub>2</sub> no se vio alterada por la presencia de ninguno de los agentes (p>0.05) inclusive en sinergia con IL-1β. El único agente que mostró actividad antimicrobiana significativa (p<0.01) fue el agente a base de fucsina con zonas de inhibición de 28.01±4.5 mm. El tiempo de remoción promedio fue de Grupo control= 1.8±0.31 min, Carisolv= 5.4±1.1 minutos, Papacarie= 3.6±0.37 min, Fucsina 2.4±0.34 min, Ponceau S= 2.3±0.38 min. En todos los grupos se observa una notable disminución de bacterias a las 48 horas después de la remoción de caries. **CONCLUSIONES:** Los agentes experimentales mostraron una citotoxicidad moderada sin incremento en su efecto pro-inflamatorio en cultivo con HPC y con una actividad antimicrobiana (bactericida) en el caso del agente con fucsina en cultivo con *S. mutans*, el tiempo de remoción de caries resultó ser corto en comparación con los tiempos invertidos con los agentes comerciales. El crecimiento bacteriano se vio disminuido visiblemente a las 48h. Los agentes experimentales para la remoción químico-mecánica de caries tienen un alto

Grecia Rodríguez  
EFECTOS BIOLÓGICOS DE UN AGENTE DE RQMC

potencial para su probable aplicación clínica, sin embargo más estudios son necesarios para su uso seguro.

**PALABRAS CLAVE:** Remoción químico-mecánica, caries, Carisolv®.



## 1. Introducción

En la actualidad existen diversos tratamientos para la caries dental, siendo esta uno de los principales problemas de salud pública, la cual afecta a niños de todo el mundo principalmente en poblaciones de bajo nivel socio-económico, por lo que el tratamiento convencional de eliminación de caries se vuelve inaccesible en estas zonas, el uso de removedores de caries ha sido propuesto e investigado durante mucho tiempo como alternativa a dicho tratamiento.<sup>1, 2</sup>

Por otra parte, el uso de rotatorios para la eliminación de caries puede ser un tratamiento incómodo debido a la vibración generada, al calentamiento de los tejidos dentales y a la presión sobre la pulpa, todo esto causa ansiedad y posible dolor o sensación de dolor al paciente, por lo que se requiere colocar anestesia local. Este procedimiento es temido por muchos de los pacientes, en especial por los niños, el uso de removedores químico-mecánicos de caries ha demostrado ser más aceptado por los pacientes en comparación con el uso de rotatorios.<sup>3, 4</sup>

Por último cabe mencionar que con la utilización de agentes removedores de caries se busca preservar más tejido dentinal, por su selectividad de colágeno desnaturalizado, pudiendo así mantener intacta la dentina sana y afectada y eliminando la dentina infectada.<sup>3, 5, 6</sup>

El objetivo de la presente investigación fue el de desarrollar un agente experimental para la remoción químico-mecánica de caries a base de agentes comercialmente disponibles y modificados con ponceau y fucsina S. Todos los agentes comerciales y experimentales fueron evaluados para conocer su efecto citotóxico, pro-inflamatorio y antimicrobiano en cultivo con células pulpaes humanas (HPC) y *Streptococcus mutans*, además conocer el tiempo de remoción de caries y comparar los resultados con los agentes de remoción de caries comerciales.

## 2. Marco teórico

### 2.1. Tejido dentinario

La dentina es un tejido conjuntivo diferenciado que está calcificado, es segregada por los odontoblastos, constituido por un 50% de materia inorgánica (cristales de hidroxiapatita más pequeños que los del esmalte, calcio en menor cantidad y 5% de carbonatos), 30% de materia orgánica y 20% de fluidos.<sup>3</sup>

El 90% del contenido orgánico del tejido dentinario es colágeno.<sup>3, 7</sup>

#### 2.1.1. Colágeno tipo I

El colágeno es una proteína fibrosa, insoluble con gran resistencia a la tracción cuya unidad estructural constituyente es el tropocolágeno, constituido por tres cadenas polipeptídicas, dos de ellas idénticas, llamadas  $\alpha 1$ , y otra ligeramente distinta, la  $\alpha 2$ , que se enrollan sobre sí mismas formando una súper hélice con una longitud de 300 nm, un diámetro de 1.5 nm y un peso molecular de 300 kDa. La estructura a su vez, se divide en dos segmentos: la parte central (helicoidal) y la parte no helicoidal conocida como telopéptido correspondiente a los extremos terminales de la cadena (N-terminal y C-terminal). En los extremos amino y carboxilo terminales, están implicados unos 15-30 aminoácidos. Estas regiones son susceptibles de proteólisis, mientras que la triple hélice es resistente al ataque de la mayoría de las enzimas proteolíticas y en la forma nativa sólo es digerida por colagenasas específicas.<sup>3, 8-10</sup>

Las tres cadenas están unidas entre sí por puentes de hidrógeno. Los donadores de hidrógeno son los grupos peptídicos  $-\text{NH}-$  de los residuos de glicina y los aceptores son los grupos peptídicos  $-\text{CO}-$  de los aminoácidos de otras hebras. Los grupos de hidroxilo de los residuos de hidroxiprolina también participan en la unión por puentes de hidrógeno.<sup>10</sup>

El tropocolágeno se estabiliza por puentes de hidrógeno entre las tres cadenas que lo forman mientras que, la fibra de colágeno se estabiliza por enlaces cruzados covalentes entre las unidades de tropocolágeno que involucran residuos de lisina, hidroxiprolina e histidina.<sup>3</sup>

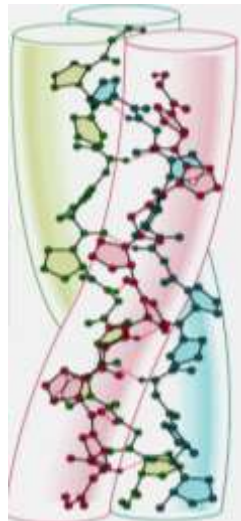


Imagen 1. Triple hélice del colágeno. Navas, J. (s. f.). Estructura secundaria, terciaria y cuaternaria de las proteínas. TEMA 5 08-09.ppt. Recuperado 29 de noviembre de 2020, de [https://ocw.unican.es/pluginfile.php/1327/course/section/1638/Tema5\\_estructuras\\_proteinas.pdf](https://ocw.unican.es/pluginfile.php/1327/course/section/1638/Tema5_estructuras_proteinas.pdf)

Grecia Rodríguez  
EFECTOS BIOLÓGICOS DE UN AGENTE DE RQMC

Los fibroblastos lo secretan como procolágeno y de las regiones amino y carboxilo terminales de cada una de sus tres cadenas, son escindidas enzimáticamente por procolágeno peptidasas extracelulares. Así se generan las moléculas de tropocolágeno de menor masa molecular que el procolágeno. La formación de fibras de colágeno tiene lugar en el espacio extracelular, cerca de la superficie celular y no dentro de los fibroblastos.<sup>3</sup>

La molécula del colágeno posee una composición de aminoácidos característica e inusual, pues un 33% de sus aminoácidos son residuos de glicina y un 10% de prolina. Además, muchos residuos de prolina y lisina están modificados covalentemente, dando lugar a 4-Hidroxiprolina (10%), 3-Hidroxiprolina (0.5%) y 5-Hidroxilisina (1%). En el código genético no aparecen codificadas ni la hidroxiprolina ni la Hidroxilisina, estos aminoácidos se incorporan a las cadenas polipeptídicas como prolina y lisina y son hidroxilados después de haber sido sintetizado el colágeno. En realidad los polipéptidos del colágeno están formados por una secuencia que se repite de forma regular e ininterrumpida, en la que aparece un residuo de glicina cada tercer aminoácido. Esta secuencia se puede escribir como (Gly-X-Y), donde X con frecuencia es prolina, Y es con frecuencia 4-hidroxiprolina.  
3, 10

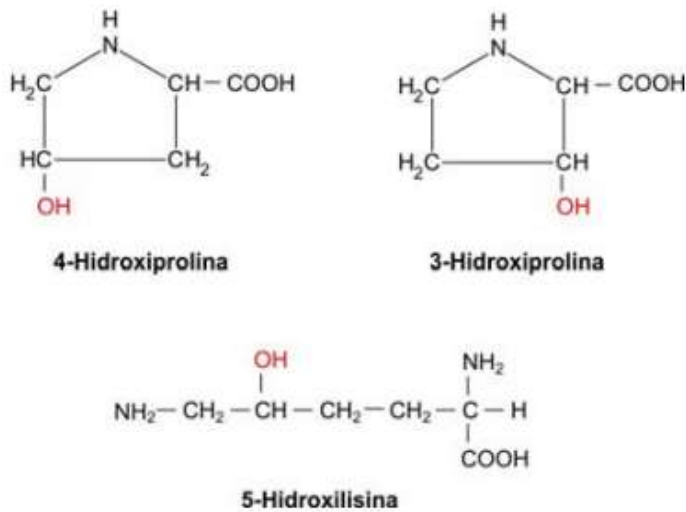


Imagen 2. Aminoácidos presentes en el colágeno.

De Paz, P. (2006). Estimulación de la síntesis de colágeno en cultivos celulares. Posible tratamiento de enfermedades degenerativas mediante la dieta (E. Meléndez, Ed.). Granada: Universidad de Granada.

<https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=47720>

La importancia de los residuos de glicina consiste en que su grupo R es un átomo de hidrógeno por lo que ocupa muy poco espacio, esto permite que las tres cadenas polipeptídicas se aproximen.

El número y tipo de enlaces varía con la función y la edad del tejido. El colágeno intacto es una estructura densa inaccesible a los solventes, en cambio en su forma desnaturalizada las enzimas proteolíticas tienen capacidad de actuar sobre alguna

de sus moléculas. En esta característica del colágeno desnaturalizado es que se basa la acción selectiva de los “removedores del tejido dentinario cariado.”<sup>7</sup>

## 2.2. Caries

La caries dental es una enfermedad infecciosa, la cual es un proceso dinámico que ocurre en la estructura dentaria que está en contacto con los ácidos producidos por los depósitos bacterianos (debido a la fermentación de los carbohidratos), induciendo a una alteración del equilibrio entre la superficie dental y el fluido de la placa, lo que con el pasar del tiempo lleva a la pérdida de mineral.<sup>5, 7, 11, 12</sup>

Cuando esta progresa, los túbulos dentinarios proporcionan un acceso para los ácidos y la invasión posterior de bacterias, lo cual se traduce en una disminución del pH (por debajo de 5,5) y un fuerte ataque ácido con la consecuente desmineralización. Cuando la matriz orgánica ha sido desmineralizada, el colágeno y otros componentes son susceptibles a la degradación enzimática, principalmente por proteasas bacterianas y otras hidrolasas.<sup>11-13</sup>

Fejerskov define la lesión cariosa como un mecanismo dinámico de desmineralización y remineralización como resultado del metabolismo microbiano agregado sobre la superficie dentaria, en la cual con el tiempo, puede resultar una pérdida neta de mineral y es posible que posteriormente se forme una cavidad.<sup>11</sup>

El origen de la caries dental es multifactorial en la que existe interacción de tres factores principales: el **huésped** (higiene bucal, la saliva y los dientes), la **microflora** (infecciones bacterianas) y el **sustrato** (dieta cariogénica). Además de estos factores, deberá tenerse en cuenta uno más, el tiempo. Para que se forme una caries es necesario que las condiciones de cada factor sean favorables; es decir, un huésped susceptible, una flora oral cariogénica y un sustrato apropiado que deberá estar presente durante un período determinado de tiempo.<sup>11</sup>

Del gran número de bacterias que se encuentran en la cavidad bucal, los microorganismos pertenecientes al género estreptococo, básicamente las especies *mutans* (con sus serotipos c, e y f, *sanguis*, *sobrinus* y *crictetus*), han sido asociados con la caries.<sup>2</sup>

La bacteria obtiene su energía del alimento que ingerimos, su flexibilidad genética le permite romper toda una amplia gama de hidratos de carbono. Entre las sustancias que aprovecha figuran la glucosa, fructosa, sacarosa, galactosa, maltosa, rafinosa, ribulosa, melibiosa e incluso el almidón. La bacteria fermenta todos estos compuestos al disponer de enzimas y proteínas que rompen las moléculas de hidratos de carbono, y los convierte en varios subproductos de su metabolismo, como el etanol o el ácido láctico.<sup>2</sup>

Los microorganismos involucrados sintetizan enzimas, las cuales catalizan la formación de glucanos extracelulares bacterianos los que además de facilitar la adhesión de las bacterias pueden ser utilizados por estas, como fuente de energía.<sup>11</sup>

La difusión de metabolitos bacterianos en el tejido dentinario provoca inicialmente una desorganización de la capa odontoblástica y la dentina establece un mecanismo de remineralización como respuesta fisiológica (zona oscura).<sup>7</sup>

### 2.2.1 Caries en dentina

El avance del proceso de caries en dentina es bastante más irregular y mucho más rápido que en el esmalte principalmente porque el contenido mineral es menor.<sup>7</sup>

Histológicamente la caries en dentina se encuentra compuesta por dos capas:  
**Capas de la dentina según Fusayama (1975)**<sup>7</sup>

**a) dentina infectada:** Es la capa exterior también llamada *outer*, no es vital y está altamente contaminada por bacterias las cuales sellan junto con material amorfo la luz de los túbulos dentinarios alargados por la pérdida de la dentina peritubular. Su consistencia es suave y húmeda y se tiñe con colorantes; se observan fisuras en el espesor del tejido dentinario por ruptura de muchos túbulos dentinarios y colágeno completamente desorganizado. Estudios bioquímicos demuestran que los precursores de colágeno y de hidroxapatita y los enlaces intermoleculares están disminuidos y no hay procesos odontoblásticos vivos; la colágena se encuentra desnaturalizada, cuando el colágeno se desnaturaliza se reduce su capacidad de servir como núcleos de cristalización. No cuenta con capacidad remineralizable debido a la degradación irreversible de las fibras de colágena, por lo que debe eliminarse.<sup>6, 7, 11</sup>

**b) dentina afectada:** es definida como la capa interna del tejido cariado llamada *inner* que contiene fibras de colágena ricas en fibronectina, la cual conserva su conformación de triple hélice y entrecruzamientos intermoleculares, es vital y sensible. Histológicamente es muy similar a la dentina sana. Contiene dentina peritubular densa menos desmineralizada que la dentina infectada, en la cual las fibras de colágena se aprecian intactas, no existe invasión bacteriana y es más resistente al ataque proteolítico y progresión de la lesión cariosa. Al examinarse mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM), la matriz de colágena muestra bandas cruzadas, con diferentes grados de desmineralización por lo que es fisiológicamente remineralizable.<sup>6, 7, 11</sup>

Esta se puede dividir en tres áreas, teniendo en común que la estructura dentinaria está conservada.<sup>6</sup>

La **capa turbida** se caracteriza por procesos odontoblásticos vivos, aunque hay desmineralización de la dentina intertubular, las fibras de colágena no están desnaturalizadas.

La **zona transparente o translúcida** se caracteriza por una dentina intertubular desmineralizada parcialmente, una característica importante es que los túbulos

dentinarios están llenos de cristales de Whitlockita de mayor tamaño y ácido-resistentes, la esclerosis tubular da el aspecto translúcida o transparente. La **zona subtransparente** es una zona de transición entre la transparente y la dentina sana subyacente, ahí encontramos menos calcificaciones intertubulares y áreas de dentina no afectada. <sup>6</sup>

### **2.3. Remoción químico-mecánica de caries**

En la actualidad la máxima conservación de tejido sano representa la mejor manera de asegurar vida útil de un diente restaurado en la cavidad oral, debido a esta necesidad diversas técnicas alternativas al tratamiento convencional de la caries han sido introducidas en los últimos años, como lo es la remoción químico-mecánica de caries (RQMC), con esta se pretende ganar mayor selectividad para la eliminación de dentina infectada por caries y evitar de esta forma la eliminación excesiva de dentina sana. <sup>12</sup>

La RQMC es un método de mínima invasión removiendo la dentina cariada basándose en principios biológicos. <sup>6, 14</sup>

Este método consiste en la aplicación de agentes químicos específicos que reblandecen la dentina que ya está alterada por la acción del proceso carioso, que está desnaturalizada e infectada, seguido de una leve excavación utilizando instrumentos manuales no cortantes quedando al final del tratamiento dentina sana o afectada. <sup>3, 5, 7, 12</sup>

La RQMC como un método de medida de la presencia de caries en términos de colágeno denaturado, ofrece al clínico un instrumento adicional para el diagnóstico de las lesiones de caries. <sup>14</sup>

Los compuestos que integran los removedores del tejido dentinario cumplen con los siguientes objetivos:

- Remover por medios químico-mecánicos los tejidos cariados
- Cumplir lo anteriormente citado de forma atraumática (con instrumentos de mano, sin filo)
- Minimizar y aún eliminar los estímulos dolorosos
- Preservar al máximo los estructuras sanas
- Sumar propiedades antimicrobianas <sup>3, 7</sup>

#### **Ventajas de utilizar RQMC:**

- ° Aminorar la necesidad de anestesia local
- ° Conservación de estructura dental sana

- ° Disminuir riesgo de exposición pulpar
- ° Se puede usar en pacientes comprometidos sistémicamente
- ° Moderar el miedo y ansiedad del paciente
- ° Mejor remoción de caries en pacientes discapacitados <sup>1, 6, 15</sup>

Esta técnica ha demostrado disminuir el riesgo al dolor debido a la eliminación selectiva de la caries. El agente separa los enlaces de hidrógeno entre cadenas peptídicas que constituyen la triple hélice. Es importante tener presente que para la ruptura de los enlaces mencionados se requiere que algunas uniones covalentes que existen en la triple hélice se encuentren divididas. Esta situación del colágeno dentinario es producto de la acción de las enzimas proteolíticas que producen las bacterias por el avance del proceso carioso y también por enzimas propias de la dentina como las metaloproteasas que se activan por la acción de iones metálicos como el calcio. El fenómeno mencionado genera que la aplicación de agentes químicos como los removedores de caries no actúen sobre el colágeno íntegro sino que disuelven solamente la dentina que se encuentra alterada por la caries dental (los enlaces destruidos se encuentran en la dentina infectada) permitiendo la remoción selectiva. <sup>7, 11, 12, 16</sup>

Se han llevado a cabo estudios detallados sobre la naturaleza de la superficie de la dentina que queda después de la eliminación completa de la caries por remoción químico-mecánica. El microanálisis de la sonda electrónica mostró que la dentina es sólida y está mineralizada adecuadamente y que la superficie formada es muy irregular. Los estudios histológicos han confirmado la naturaleza irregular de la superficie de la dentina y también han demostrado que algunos túbulos dentinarios contienen bacterias, pero su nivel no es más alto que en las cavidades preparadas mecánicamente. <sup>15</sup>

La eliminación de caries juega un papel importante en los enfoques de la odontología restaurativa, ya que para tener un soporte adecuado de la restauración debemos eliminar completamente el tejido infectado, eliminando la dentina necrótica reblandecida, así además podremos detener la progresión de la lesión. <sup>12</sup>

Es importante establecer que los diferentes procedimientos de remoción manual del tejido cariado se complementa obligatoriamente con la utilización de materiales de obturación denominados bio activos que cumplen con los siguientes objetivos:

- Capacidad de sellar la cavidad
- Inhibir la desmineralización y
- Favorecer la remineralización <sup>7</sup>

Los ionómeros de vidrio convencionales de alta densidad son los materiales bio activos que además de asegurar una buena adhesión a los tejidos dentarios, han



demostrado tener las mejores propiedades para cumplir los otros objetivos antes mencionados, ya que se recargan de fluoruros, presentan un coeficiente de expansión térmica similar al diente, buena resistencia compresiva pudiendo prepararse con consistencia fluida o condensable.<sup>7</sup>

Es recomendable utilizar resinas compuestas o ionómeros de vidrio ya que estos se unen a la superficie de la dentina sin la necesidad de diseñar mecánicamente una cavidad retentiva como lo es con las amalgamas.<sup>15</sup>

Los productos utilizados para obtener una acción química sobre el tejido dentinario desnaturalizado han ido variando y evolucionando con el tiempo y pueden clasificarse en agentes a base de hipoclorito de sodio o en agentes enzimáticos.<sup>7, 17, 18</sup>

### **2.3.1. Hipoclorito de sodio**

En 1972, Habib, Goldman y Kronman en Nueva Jersey, Estados Unidos, realizaron estudios enfocados en conocer el efecto del hipoclorito de sodio (NaClO) sobre la dentina cariada, se basaron en el efecto proteolítico no específico de este, ya que aclaraba y disolvía el tejido cariado, descubrieron que el hipoclorito al 5% era capaz de promover la disolución de dentina cariada. Este sistema fue introducido por primera vez en 1975. Sin embargo era inestable y carecía de selectividad y eliminaba tanto la dentina infectada como la afectada y la sana.<sup>4, 5, 6, 15, 16, 17, 18, 19, 20</sup>

### **2.3.2. GK1019, GK101 O N-Monocloroglicina (NMG)**

En 1976 Goldman y Kronman incorporaron la solución buffer de Sorensen que contenía hidróxido de sodio, cloruro de sodio, glicina e hipoclorito de sodio para reducir la corrosividad. En el mismo año el producto dado a conocer como GK101 fue aprobado por la FDA (Food and Drug Administration).<sup>5, 12, 15, 17, 18, 19</sup>

Este producto contenía: 0.10 % n-monocloroglicina, hipoclorito de sodio al 0.05% y se preparó mezclando dos soluciones, la solución A consistía en 25 mL con 2M de NaCl, 2M de NaOH y 2M de glicina y la B consistió en 10 mL de 4-6% de NaClO.<sup>17, 19</sup>

El modo de acción de esta solución se basaba en la clorinación y como consecuencia se quebraban puentes de hidrógeno de colágeno libre, parcialmente degradados por la desmineralización del proceso carioso, afectando la estructura secundaria y facilitando la remoción del tejido cariado. Gk101 interrumpía la estructura orgánica de la dentina por conversión de hidroxiprolina (factor esencial para la estabilidad del colágeno) a pirrol-2-carboxiglicina (que es friable y puede eliminarse fácilmente).<sup>17, 18, 19</sup>

El producto resultante fue más eficaz en la eliminación de la dentina cariada e implicó la cloración de glicina para formar N-monocloroglicina pero su potencial de acción era muy lento (8.5 minutos) y no llegó a ser popular debido a su precio, sabor desagradable, dificultades para su aplicación, la acción proteolítica



inespecífica del hipoclorito, la necesidad de usar una gran cantidad de material para conseguir el resultado deseado, y requería de un sistema para calentar la solución recién preparada a 41 °C, además estudios demostraron que aun con el uso del GK101, era necesario el uso de fresas para obtener un acabado ideal. <sup>4, 5, 12, 15, 17, 18</sup>

Los hallazgos del laboratorio mostraron que GK-101 no tuvo efectos adversos en glóbulos rojos o blancos o en el recuento de plaquetas. Kurosaki y colaboradores informaron que GK-101 no tenía efecto adverso sobre el tejido pulpar de los perros; sin embargo, concluyeron que GK-101 no era eficiente para eliminar toda la lesión cariosa. <sup>17</sup>

### **2.3.3. Caridex, GK101E O N-monocloro-DL-2aminobutirato (NMAB)**

Consiste en una solución química que ablanda la parte degradada del diente. <sup>19</sup>

Este producto fue el resultado de la modificación de la fórmula del GK101 en 1984 por Schutzbank, basado en elevar el PH alcalino, sustituyendo la glicina por ácido amino butírico. Se afirmó que esta fórmula aumentaba la especificidad de la solución hacia la proteína desnaturalizada de la dentina infectada por caries. <sup>5-7, 12, 15, 17, 18</sup>

Registrado bajo la marca de Caridex TM (National Patent Medical Products New Brunswick N.J., USA). Este producto fue aprobado por la Asociación Dental Americana y la FDA (Food and Drug Administration) en el año 1984 <sup>5, 15, 17, 19</sup>

Este sistema usa N- monocloro- DL-2-ácido amino butírico mezclando dos soluciones: usando volúmenes iguales de una solución con 0.014 mol/L de hipoclorito de sodio (0.1%), con otra solución con 0.1 mol/L de DL-2- aminobutarato, 0.1 mol/L de hidróxido de sodio y 0.1 mol/L de Cloruro de sodio. Las dos soluciones se mezclaron inmediatamente antes de su uso para dar el reactivo de trabajo (pH aproximadamente 11) que fue estable durante una hora. <sup>15, 17, 21</sup>

#### **2.3.3.1. Mecanismo de acción**

Esto causa el rompimiento del colágeno de la dentina infectada facilitando su remoción. Se consideraba que el mecanismo de acción del NMAB incluye la clorinación del colágeno parcialmente degradado y la conversión de hidroxiprolina en pirrol-2-ácido carboxílico, el que inicia una disrupción de las fibras colágenas alteradas de la estructura dentinaria, más recientemente se sugiere que además de la reacción de cloración, podría haberse producido la escisión de las fibras de colágeno desnaturalizadas como resultado de la oxidación de los residuos de glicina. Esto provoca la disrupción de las fibras de colágeno que se vuelven más friables y luego pueden ser removidas. <sup>5, 7, 15, 17, 18, 21</sup>

También estaba disponible un sistema de suministro que consistía en un depósito para la solución, un calentador y una bomba que pasaba el líquido calentado a

36.6°C a través de un tubo a una pieza de mano y una punta de aplicador que tenía varias formas y tamaños. <sup>15, 19</sup>

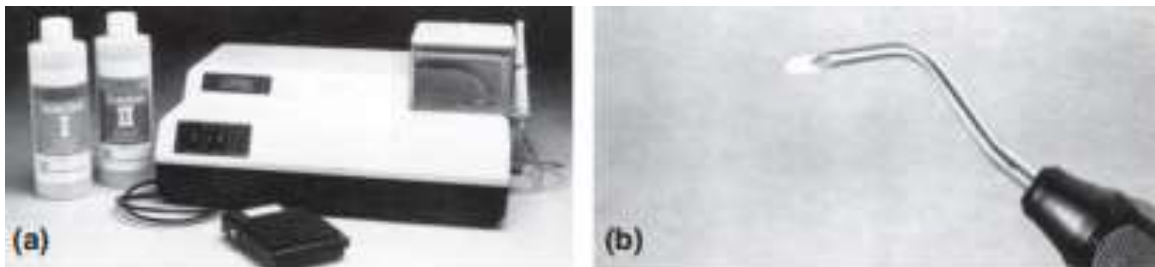


Imagen 3. a) Sistema de suministro de Caridex b) Aplicador de Caridex

Hamama, H., Yiu, C., & Burrow, M. (2014a). Current update of chemomechanical caries removal methods. *Australian Dental Journal*, 59(4), 446-456. <https://doi.org/10.1111/adj.12214>

El sistema Caridex™ fue evaluado críticamente, demostrando su eficiencia de eliminación de caries, biocompatibilidad y seguridad pulpar.<sup>17</sup>

Su fracaso se dio debido a que era muy difícil de mantener en stock, necesitaba de un reservorio para su transporte, se aplicaba con un instrumento de mano que a la vez se utilizaba como excavador, requería grandes cantidades de producto (200 a 500 mL), los tiempos clínicos de solución de los casos eran muy largos (10-15 min) (4 a 10 minutos más que los métodos convencionales), su tiempo de vida útil era muy corto, se requería un sistema de aplicación su elevado costo (Sistema de aplicación \$884.00, solución \$55.00 y puntas aplicadoras \$12.95) y de la necesidad de implementar siempre instrumental rotatorio durante la remoción de la dentina cariada remineralizada.<sup>5, 15, 18, 19</sup>

Yip y cols. Sugirieron el uso de urea para aumentar el potencial de eliminación de caries.<sup>15, 17, 18</sup>

El uso clínico y la aceptación de las soluciones GK-101 y GK-101E fueron muy limitadas porque ninguna mostró una mejora significativa en la excavación de caries en comparación con los métodos convencionales de extracción de caries.<sup>17</sup>

#### 2.3.4. Carisolv™

Apareció en 1999, inicialmente llamado Demex™, desarrollado a partir del sistema Caridex™ en la universidad de Gotemburgo, Suecia.<sup>4, 5, 7, 18</sup>

Este tratamiento se basa en el conocido efecto de la degradación que el hipoclorito de sodio tiene sobre la dentina cariada e incluso, en altas concentraciones (8-10%) puede disolver los minerales presentes en la dentina.<sup>21</sup>

Es un sistema compuesto por dos agentes: Hipoclorito de sodio al 0.5% (desinfectante y disolvente de materia orgánica) y un gel rosa cuya base es carboximetilcelulosa con una solución de tres aminoácidos con diferente carga eléctrica: lisina (aa básico o hidrófobo, analgésico y antiinflamatorio), leucina y ácido

glutámico (bacteriostático). La solución además contiene hidróxido de sodio (Sustancia buffer), cloruro de sodio (sal) y agua purificada (vehículo). Adicionalmente se encuentra la eritrosina un evidenciador de dentina cariada como una forma de garantizar la eficacia del método. <sup>1, 5, 6, 7, 18, 19</sup>

#### 2.3.4.1. Mecanismo de acción

Ericsson y col. indicaron que la estructura química y el mecanismo de acción de Carisolv eran similares a los de Caridex™, excepto que el ácido monoaminobutírico fue reemplazado por los aminoácidos mencionados anteriormente. <sup>17</sup>

Se presume que estos tres aminoácidos tienen polaridades diferentes que permiten reaccionar con diferentes partes del colágeno.<sup>1</sup>

Se demostró que estos aminoácidos reaccionan con diferentes restos de lesiones cariosas, estos reducen el potencial tóxico del hipoclorito de sodio aumentando sus concentraciones y la velocidad de degradación del tejido cariado. Además, la adición de carboximetilcelulosa creó una mayor viscosidad, lo que hace que haya un mejor contacto con la lesión cariada y por lo tanto la penetración del producto sea más profunda aumentando su acción en el lugar donde fue colocado, el volumen requerido es inferior a 1 mL y es mucho más fácil de aplicar en comparación con la solución Caridex. <sup>1, 5, 12, 15, 17, 18</sup>

El mecanismo de acción se explica dado que el hipoclorito de sodio produce la degradación de la sustancia orgánica a temperatura ambiente. La descomposición del tejido necrótico se produce porque el cloro rompe las uniones no covalentes de la estructura del colágeno, es decir, los enlaces de hidrógeno entre cadenas peptídicas que constituyen una triple hélice., a pH 12. La selectividad de la acción sobre el tejido desnaturalizado está dada por las cloraminas. Al contacto del gel con el tejido desnaturalizado se produce una cloración de las fibras de colágeno parcialmente degradadas con la conversión de la hidroxiprolina en ácido pirrol 2-carboxílico, lo cual inicia la ruptura de las fibras colágenas y un selectivo ablandamiento de la capa superficial de dentina. <sup>5, 7</sup>

Por su elevado pH solamente la fase orgánica de la dentina es afectada. Tiene un efecto selectivo sobre el colágeno denaturado, no afectando la dentina sana. <sup>5, 7</sup>

La alcalinidad de la preparación también contribuye a mantener la estabilidad de la cloramina, el alto pH contribuye por sí mismo a degradar el tejido necrótico y adiciona su efecto al de la cloramina. <sup>21</sup>

Cuando se mezcla el hipoclorito de sodio con aminoácidos en un PH elevado, el cloro reacciona con los grupos de amina resultando una forma de aminoácidos N-clorado. El cloro naturalmente ligado está activo y puede atacar al colágeno desnaturalizado en la lesión de caries. El aminoácido N-clorado es inestable, se quiebra relativamente rápido dejando sus componentes inactivos. <sup>1</sup>

Cerca de 30 minutos después de ser mezclado, el gel se torna ineficaz y con esto su habilidad para suavizar la dentina cariada disminuye. <sup>1</sup>

#### 2.3.4.2. Desarrollo

El Carisolv® original era de color rojo, consistía en dos jeringas; uno que contenía geles y aminoácidos a base de carboximetilcelulosa (ácido glutámico, leucina y lisina) y el otro contenía 0.25% de NaOCl. <sup>17</sup>



Imagen 4. Sistema original de Carisolv™.

Hamama, H., Yiu, C., & Burrow, M. (2014a). Current update of chemomechanical caries removal methods. *Australian Dental Journal*, 59(4), 446-456. <https://doi.org/10.1111/adj.12214>

Más recientemente, se ha introducido un nuevo sistema de mezcla de jeringas gemelas que contiene material suficiente para 10-15 tratamientos. <sup>15</sup>

Esto dispensa la cantidad exacta requerida a través de una punta de mezcla desechable, y puede estar activo hasta por un mes si se almacena en un refrigerador después de abrirlo. <sup>15</sup>



Imagen 5. Jeringas gemelas utilizadas actualmente en el sistema de Carisolv™.  
Hamama, H., Yiu, C., & Burrow, M. (2014a). Current update of chemomechanical caries removal methods. *Australian Dental Journal*, 59(4), 446-456. <https://doi.org/10.1111/adj.12214>

#### 2.3.4.3. Modo de uso

El gel se aplica a la lesión cariada con uno de los instrumentos de mano y después de 30 segundos la dentina cariada se puede quitar suavemente. No requiere calefacción ni un sistema de entrega. <sup>15, 18</sup>

Luego se aplica más gel y el procedimiento se repite hasta que no quede más dentina cariada, una guía para esto es cuando el gel extraído del diente está limpio.<sup>15</sup>

Sin embargo, aún se pueden requerir instrumentos rotatorios para algunas cavidades, pero los informes preliminares indican que la aceptación del paciente es muy buena.<sup>15</sup>

Clínicamente se consideró que la fricción necesaria entre el excavador y el tejido cariado se redujo porque el gel actuaba como una “crema de afeitar”.<sup>21</sup>

Para la remoción del tejido cariado con este producto, Maillefer diseñó instrumentos manuales específicos: curetas no cortantes de diferentes tamaños y formas.<sup>19</sup>

- CARISOLV 1: Biangulado para remover tejido cariado en la cara distal
  - PLANA 0: En forma de cincel, puede ser usada en el borde del esmalte /dentina u otras áreas de difícil acceso. No utilizar próximos a la pulpa.
  - ESTRELLA 3: Lesiones grandes y accesibles.<sup>1</sup>
- CARISOLV 2:
  - ESTRELLA 3: Movimientos rotacionales en lesiones grandes de fácil acceso.
  - CLAVA: Para utilizarse en lesiones remineralizadas y duras. Puede ser utilizada en esmalte, cuando la broca no es una alternativa viable para facilitar la penetración del gel, siempre con movimientos de rotación. No utilizar próximos a pulpa.<sup>1</sup>
- CARISOLV 3:
  - ESTRELLA 1: Usada con movimientos rotatorios, posibilita remover tejido cariado sobre cúspides en el cual instrumentos más grandes no tienen acceso.
  - ESTRELLA 2: Para lesiones de caries de tamaño medio.<sup>1</sup>
- CARISOLV 4:
  - PLANA 2: Usada con movimientos de escareación en las lesiones de tamaño medio.
  - PLANA 3: Ideal para remover tejido cariado, próximo a pulpa y para lesiones grandes.<sup>1</sup>

- CARISOLV 5:

- PLANA 0: En forma de cincel, puede ser usada en el borde del esmalte/dentina de otras áreas de difícil acceso. No utilizar próximo a la pulpa.
- PLANA 1: Para lesiones pequeñas.<sup>1</sup>

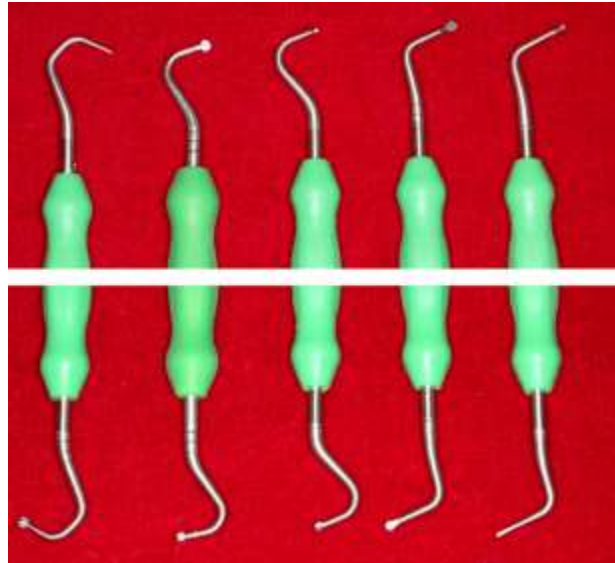


Imagen 6. Instrumentos manuales utilizados para remover tejido reblandecido del método de eliminación de caries con Carisolv™.

Hamama, H., Yiu, C., & Burrow, M. (2014a). Current update of chemomechanical caries removal methods. *Australian Dental Journal*, 59(4), 446-456. <https://doi.org/10.1111/adj.12214>

Se ha evaluado la eficacia y seguridad clínica del gel de cloramina, y se ha observado que la mayoría de los pacientes no sintió malestar durante el tratamiento.<sup>19</sup>

Cuando se logra la eliminación completa de la caries mediante esta técnica, se ha demostrado que la superficie de la cavidad es tan sólida como la que queda después del tratamiento convencional.<sup>15</sup>

El producto es un material que emplea más tiempo para la remoción de la dentina cariada que el método rotatorio convencional, su vida útil es corta y su costo es elevado (haciendo imposible su uso en unidades públicas, especialmente en los países en desarrollo), además es necesario obtener curetas específicas, diseñadas especialmente para la extracción de la dentina infectada, lo que elevaba todavía más el costo del procedimiento. Es por eso que las diversas ventajas del producto no fueron suficientes para globalizar el uso del sistema, restringiendo a una pequeña parte de la población.<sup>4, 19</sup>

TABLA 1

**Comparación de Caridex™ y Carisolv™**

	CARIDEX™	CARISOLV™
Solución I	1% NaClO	0.5% NaClO ↯
Solución II	0.1M ácido amino butírico	0.1 M ácido glutámico/leucina/lisina ↯
	0.1M NaCl	0.1 M NaCl ↯
	0.1M NaOH	NaOH* ↯
Colorante	-	Eritrosina (rosa)
pH	11	11 ↯
Propiedades físicas	Líquido	Gel
Volumen necesario	100- 500 mL	0.2 - 1 mL
Tiempo requerido	5- 15 minutos	5- 15 minutos
Equipo requerido	Aplicador de unidad	Ninguno
Instrumentos	Consejos de aplicador	Diseño especial
Tiempo que permanece activo después de ser mezclado	1 hora	20 minutos

\* Concentración no establecida ↯ 16

Tabla 1. Comparación de Caridex™ y Carisolv™ 15

### 2.3.5. Nuevo sistema de Carisolv™

Fue presentado por Rubicon Life Science e incluye un gel avanzado, una nueva técnica de excavación y un nuevo detector de caries patentado. En este kit se han incorporado excavadoras manuales especiales con ángulos de corte romos y la tecnología Komet Bur. Las fresas para preservar el tejido comprenden la fresa de cerámica CeraBur K1SM y la fresa de polímero redonda PolyBur P1. Mediante una tecnología patentada única, las fresas ofrecen un tratamiento considerablemente más mínimamente invasivo que las técnicas tradicionales. CeraBur ayuda al dentista a distinguir entre el tejido sano y el cariado de manera táctil, lo que se refuerza cuando se usa con Carisolv® Gel. El PolyBur desechable es más suave que la dentina sana y, por lo tanto, es autolimitante y, por lo tanto, puede usarse en tratamientos cerca de la pulpa. Este nuevo sistema proporciona una excelente superficie de unión para restauraciones.<sup>1</sup>





Imagen 7. Nuevo Carisolv System™. El puntero del dedo muestra Cera-bur (Komet), la punta de la flecha apunta a la fresa de polímero (Komet), y el puntero de la mano muestra el tinte del detector de caries Carisolv®.

Hamama, H., Yiu, C., & Burrow, M. (2014a). Current update of chemomechanical caries removal methods. *Australian Dental Journal*, 59(4), 446-456. <https://doi.org/10.1111/adj.12214>

### 2.3.6. Dentisolv®

Es un producto similar a Carisolv™, producido en Brasil, este producto continuó siendo de costo elevado.<sup>5</sup>

### 2.3.7. Papacarie®

A mediados de 2002, con la intención de presentar un producto para la RQMC que tuviera la misma eficacia que el Carisolv™ pero más accesible se iniciaron varias investigaciones y pruebas utilizando como principio activo la papaína. De esta manera surge el Papacarie® en el año de 2003, creado por la Dra. Sandra Kalil Bussadori y la Dra. Marcí Miziara en la UNINOVE (Universidad de Sao Paulo/Brasil) 3-7, 12, 16-20, 22

Papacarie es una palabra portuguesa que quería significar por un lado de donde proviene, la papaya, y que significa “come caries”.<sup>5, 17</sup>

Fue patentado, registrado y aprobado por la ANVISA (Reglamento técnico que establece los requerimientos esenciales de seguridad y eficacia aplicable a los productos para la salud en Brasil).<sup>5, 22</sup>

Este removedor de caries surge fundamentalmente para promover su uso en el ámbito de la salud pública ya que este producto, por ser a base de papaína, es de bajo costo.<sup>3, 4, 5, 19</sup>

Está constituido por Papaína, cloramina, azul de toluidina, sales, espesantes, estabilizadores y agua desionizada y un pH de 8.<sup>3, 4, 5, 7, 12, 17, 18, 22</sup>



### 2.3.7.1. Compuestos:

#### Papaína

Es una enzima proteolítica extraída del látex de hojas y frutos del árbol de papaya verde adulto (carica papaya) perteneciente a la familia caricaceae, cultivada en regiones tropicales como Brasil, India, Ceilán, Sudáfrica y Hawái. <sup>3, 5, 6, 7, 12, 17, 18, 19, 22</sup>

Es una tiolproteasa cuyo centro activo es Cis 25, His 159 y Asp 158. Las proteasas con tiol son un grupo de enzimas que contiene un centro activo con cisteína, la cual realiza una función análoga a la de la serina 195 de la quimotripsina. <sup>5, 7</sup>

Presenta una amplia actividad proteolítica ante las proteínas, péptidos de cadena corta, enlaces amida y ésteres de aminoácidos. Su peso molecular es de 23,000 Dalton y su pH óptimo es entre 3 y 7 el cual varía según el sustrato. <sup>5, 7</sup>

Pertenece a la clase de las hidrolasas, tiene una amplia especificidad sobre las uniones peptídicas siendo una endopeptidasa (rompe enlaces peptídicos de sus sustratos que no están cerca de los extremos terminales de la proteína a romper). <sup>5, 7</sup>

Actúa de forma similar a la pepsina humana, interviniendo solo en tejido infectado, como un agente antiinflamatorio, promoviendo el desbridamiento químico, la granulación y la epitelización, lo cual acelera las fases de cicatrización. Su acción es facilitada por medio de una incisión o perforación en las costras, proporciona alineamiento de las fibras de colágeno, promoviendo el crecimiento tisular uniforme. Además presenta propiedades bacteriostática, bactericida y desinfectante. <sup>3-7, 16-19, 22</sup>

La papaína es responsable de las conocidas propiedades digestivas de la papaya y es ampliamente aprovechada en la industria alimenticia (como reblandecedor de carnes), farmacéutica, médica (en la remoción de tejido necrótico, facilitando la cicatrización y absorción de otros fármacos como los transdérmicos) y cosmética. <sup>5, 7</sup>

En relación con otras enzimas naturales posee algunas ventajas como calidad y actividad enzimática y estabilidad en condiciones desfavorables de temperatura, humedad y presión atmosférica. <sup>5, 22</sup>

#### Cloramina

Es un compuesto formado por hipoclorito de sodio y nitrógeno de amonio que tiene propiedades bactericidas y desinfectantes. <sup>3, 5, 19, 22</sup>

La cloramina mejora la eliminación de los tejidos desnaturalizados mediante la cloración de la porción degradada del colágeno. <sup>18, 19</sup> Se utiliza adicionalmente como

ablandador químico de la dentina cariada, de modo que la estructura secundaria y/o cuaternaria del colágeno se ve afectada, ya que se rompen los puentes de hidrogeno, lo que facilita la remoción del tejido cariado. <sup>5, 22</sup>

Además es utilizada para la irrigación de conductos radiculares. <sup>5, 6, 19</sup>

El azul de toluidina

Es un colorante antimicrobiano que actúa fijándose a la membrana bacteriana, además fotosensibiliza a las bacterias bucales ya que ellas es un fotosensibilizador no tóxico utilizado para detectar caries ya que la mayoría de las bacterias bucales no absorben la luz visible <sup>3, 4, 5, 6, 12, 19</sup>

### 2.3.7.2. Mecanismo de acción

El mecanismo de acción preciso de los agentes químico-mecánicos de eliminación de caries basados en enzimas sigue sin estar claro, sin embargo se dice que su acción principal depende de la presencia de la enzima papaína; se basa en el reblandecimiento químico de la dentina cariada y la ruptura de las moléculas de colágeno parcialmente degradadas, facilitando la remoción del tejido infectado con curetas sin filo, sin dañar el tejido sano subyacente. <sup>4, 17, 18</sup>

Según Flindt la papaína actúa solamente sobre el tejido cariado ya que carece de la proteasa plasmática alfa-1-antitripsina, presente en tejidos sanos, la cual inhibe la digestión de proteínas. La ausencia de la a1-anti-tripsina en los tejidos infectados, permite a la papaína romper las moléculas del colágeno parcialmente degradado, ésta digiere las células muertas y degrada los proteoglicanos de la matriz dentinaria, lo cual facilita su remoción. La papaína contribuirá a la degradación y eliminación de la “capa de fibrina” formada por el proceso carioso. <sup>4, 5, 6, 12, 18, 22</sup>

El gel de papaína rompe los enlaces entre las fibras de colágeno de la dentina cariada. La dentina sana que por no estar desmineralizada ni tener fibras de colágeno expuestas, no sufre la acción del producto actuando solamente en las fibras colágenas desnaturalizadas, ya sea por acción proteolítica de la papaína o la cloramina a través de la cloración de las fibras colágenas desestructuradas del tejido necrosado <sup>19</sup>

La cloramina se agregó para mejorar la eliminación de los tejidos desnaturalizados, tiene propiedades antimicrobianas, desinfectantes y bactericidas inhibiendo el crecimiento de organismos grampositivos y gramnegativas, y actúa ablandando la dentina infectada al romper los puentes de hidrogeno del colágeno afectando su estructura secundaria y/o cuaternaria. Tiene efectividad antimicrobiana, principalmente cuando se investiga contra *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*. <sup>4, 5, 6, 12, 17</sup>

Aunque Papacarie® contiene una pequeña cantidad de cloramina, la acción principal depende de la presencia de la enzima papaína. <sup>17</sup>

Como la mayoría de las bacterias bucales no absorben la luz visible, el fotosensibilizador no tóxico de su composición, se fija a la pared bacteriana, Da Silva refiere que el uso de láser de baja potencia activa el fotosensibilizador demostrando efecto letal sobre microorganismos como el *Streptococcus mutans* y la acción antibacteriana aumenta de acuerdo con el aumento de la dosis de energía láser. De esta forma la utilización de azul de toluidina en este sistema en conjunto con el láser de baja potencia, potencializa la acción antimicrobiana del gel.<sup>3, 5, 19, 22</sup>

El fabricante recomienda usar la parte posterior de una excavadora de cuchara roma durante la excavación de caries; sin embargo, se han reportado buenos resultados al usar el instrumento de mano Carisolv® No. 4.<sup>17</sup>

Además de la eficacia en la remoción de caries, es de bajo costo, lo cual permite su empleo en el ámbito de la salud pública.<sup>19</sup>

La presentación comercial del gel de papaína es en jeringa de 3 mL.<sup>5, 19</sup>

### **2.3.8. Biosolv®**

Biosolv (SFC-V y SFC-VIII, 3M-ESPE AG, Seefeld, Alemania) es un nuevo agente de eliminación de caries químico-mecánico enzimático experimental. La información sobre Biosolv sigue siendo muy limitada y se basa principalmente en las afirmaciones del fabricante.<sup>17</sup>

Es un agente de eliminación de caries químico-mecánico enzimático experimental que no está disponible comercialmente. Según la información del fabricante, consiste en la enzima pepsina en un tampón de ácido fosfórico / bifosfato de sodio. Se afirma que el ácido fosfórico puede disolver los componentes inorgánicos de la dentina infectada con caries, al tiempo que permite que la pepsina altere selectivamente las fibras de colágeno desnaturalizadas. Mientras tanto, esta masa ablandada puede ser fácilmente eliminada por los instrumentos de plástico especialmente diseñados (Star V1.3) sin afectar el tejido sano.<sup>17, 18</sup>

### **2.3.9. Brix 3000®**

Desarrollado recientemente en Argentina. Es un gel para la remoción de tejido cariado, que comprende una actividad enzimática de 3.000 U/ mg, en donde la papaína se encuentra bioencapsulada con la exclusiva tecnología E.B.E. (Emulsión Buffer encapsulante) que inmoviliza y le confiere mayor estabilidad, lo cual aumenta la actividad enzimática. Consecuentemente, se logra una mayor efectividad proteolítica para remover fibras de colágeno en tejido cariado, una menor disolución del principio activo por los fluidos bucales, una mayor resistencia al almacenamiento aún en condiciones desfavorables no requiriendo de refrigeración, y una mayor potencia antibacteriana y antifúngica con aumento de su poder antiséptico a nivel de los tejidos. Contiene excipientes autorizados por la ANMAT, asegurando así una máxima seguridad toxicológica.<sup>12, 20</sup>

### 2.3.10. Carie-care (2010)

Es una solución más reciente desarrollada por Uni-Biotech Pharmaceuticals Private Limited, Chennai, India, en colaboración con la Fundación de Investigación Científica Vittal Mallya. Incluso esta es una formulación a base de gel que contiene enzima papaína junto con los beneficios del aceite de clavo. La papaína rompe los enlaces peptídicos e implica la desprotonación de Cys-25 por His-159. El aceite de clavo es un analgésico y anestésico natural. <sup>18</sup>

### 2.3.11. Carie-ozon

Se distribuye en México desde el 2013. Contiene papaína y bromelina (enzima extraída del fruto de la piña) y en 2016 se comercializo en argentina. <sup>12</sup>

Carisolv® y Papacarie® Dúo son los dos sistemas de eliminación de caries químico-mecánicos más populares. <sup>16</sup>

### 2.3.12. Agente experimental

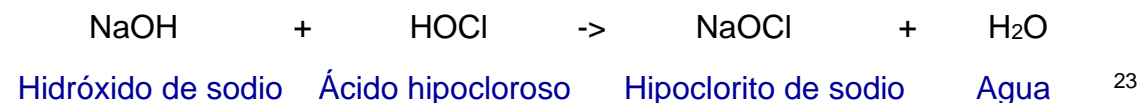
#### 2.3.12.1. Compuestos:

#### HIPOCLORITO DE SODIO

Es un compuesto halogenado definido como un líquido claro, pálido, verde amarillento, extremadamente alcalino (pH 11.8) y con fuerte olor clorino. Presenta una acción disolvente sobre el tejido necrótico y restos orgánicos; además, es un potente agente antimicrobiano.

Químicamente el hipoclorito de sodio (NaOCl) es una sal formada de la unión de 2 compuestos químicos: el ácido hipocloroso y el hidróxido de sodio. Ambos presentan características dentro de las cuales la más importante es su propiedad oxidante. <sup>23</sup>

Formula química:



El hipoclorito de sodio se encuentra en equilibrio dinámico y puede ser representado por la siguiente ecuación:



En el momento en que el hipoclorito de sodio entra en contacto con materia orgánica, varias reacciones químicas se procesan. Estas reacciones entre el hipoclorito de sodio y los tejidos orgánicos necróticos o vivos, promueven la disolución de estos tejidos. El hidróxido de sodio es un potente disolvente orgánico y de grasas, saponifica los ácidos grasos transformándolos en jabones solubles de fácil eliminación. Es el responsable de la elevada alcalinidad del hipoclorito de sodio.

El ácido hipocloroso es un potente antimicrobiano que actúa a través de la liberación de cloro y oxígeno nascente. El hipoclorito de sodio multiplica su acción por los dos compuestos antes mencionados. <sup>23</sup>

### **Mecanismo de acción antimicrobiana**

Según Litter los hipocloritos ejercen su actividad antibacteriana por transformación en ácido hipocloroso NO disociado, la cual es dependiente del pH del medio, El ácido hipocloroso NO disociado actúa por dos mecanismos:

- 1) Por oxidación de la materia orgánica, combinándose con las proteínas bacterianas y reaccionando con el hidrógeno del grupo amino de un aminoácido. Como consecuencia se forma un compuesto N- Clorado llamado cloramina, que presenta una elevada y directa acción bactericida.
- 2) Por oxidación simple, es decir por liberación de oxígeno.

El pH del medio y la concentración de la solución son dos importantes factores condicionantes de su actividad. Si el medio posee pH ácido o neutro, el efecto del hipoclorito será mayor al no disociarse el ácido hipocloroso. En cambio, si el pH es alcalino su acción se ve mermada necesitando más tiempo para ejercer su efecto e incluso podría volverse inestable y tóxico. El porcentaje de ácido hipocloroso no disociado y con ello su acción antibacteriana, es inversamente proporcional al pH de la solución. Esto es particularmente importante porque solamente los hipocloritos neutralizados, como por ejemplo la solución de Dakin, poseen mayor cantidad de ácido hipocloroso y menos cantidad de hidróxido de sodio, a diferencia de los hipocloritos de sodio no neutralizados y marcadamente alcalinos que tienen una menor cantidad de ácido hipocloroso y mayor de hidróxido de sodio.

La influencia de la concentración es bastante evidente: a mayor concentración del hipoclorito de sodio tendremos una mayor acción antimicrobiana. Esto es porque una solución más concentrada proporciona más ácido hipocloroso NO disociado. <sup>23</sup>

### **Farmacocinética y toxicidad**

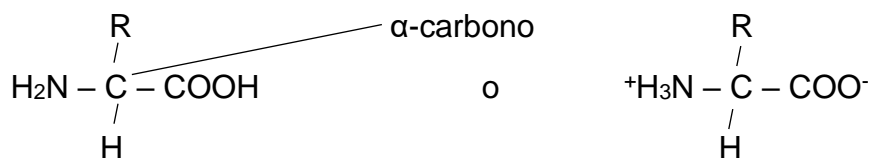
El hipoclorito de sodio es particularmente tóxico en nuestros tejidos. Esto es consecuencia de la liberación de grupos hidroxilos, derivados del hidróxido de sodio, si el hipoclorito de sodio es ingerido, se absorbe en forma de cloruro, el cual pasa a la sangre y es excretado por el riñón. Aun así su ingesta provoca efectos irritantes sobre tracto digestivo, especialmente si son soluciones concentradas como la soda clorada. Es irritante para la piel y el tejido subcutáneo en el cual provoca citotoxicidad en fibroblastos y células endoteliales, y reacción a cuerpo extraño. <sup>23</sup>

### **AMINOÁCIDOS**

Un aminoácido es una molécula que contiene un grupo amino,  $-NH_2$ , y un grupo ácido carboxílico,  $-COOH$ . Las unidades básicas estructurales de todas las proteínas son los  $\alpha$ -aminoácidos, donde  $\alpha$  (alfa) indica que el grupo amino se

localiza en el átomo de carbono inmediatamente adyacente al grupo ácido carboxílico. Así siempre hay un átomo de carbono entre el grupo amino y el grupo ácido carboxílico.

La fórmula general para un  $\alpha$ -aminoácido está representada por:



Nombre	Abr	Símbolo	Formula estructural
Leucina	leu	L	$(\text{CH}_3)_2 - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH}$
Lisina	lys	K	$\text{H}_2\text{N} - (\text{CH}_2)_4 - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH}$
Ácido Glutámico	glu	E	$\text{HOOC} - (\text{CH}_2)_2 - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH}$

Tabla 2. Aminoácidos componentes del Carisolv™.

### Clasificación

	Leucina	Lisina	Ácido Glutámico
Esqueleto de C	Cetónico	Glucogénico y cetónico	Glucogénico
pH	Neutro	Básico	Acido
PK	5.98	10.53	4.25
Energía libre de su Grupo R	3.8	-3.9	-3.5
Grupo R	Apolar, alifático	Cargado positivamente	Cargado negativamente
Comportamiento	Hidrofóbica	Hidrofílica	Hidrofílico
% de presencia en proteínas:	9.1	5.9	6.3

Tabla 3. Aminoácidos componentes del Carisolv™.

24

## ESPESANTE

### CARBOXIMETILCELULOSA

**Sinónimos:** Carmelosa sódica. Carboximetil éter de celulosa sal sódica. Glicolato de celulosa sódica. NaCMC. CMCS. E466.

**Descripción:** Sal sódica de un éter policarboximetílico de la celulosa.

**Datos Físico-Químicos:** Polvo granuloso, blanco o casi blanco, higroscópico tras su desecación. Prácticamente insoluble en acetona, en etanol al 96%, y en tolueno. Se dispersa fácilmente en agua dando disoluciones coloidales.

**Propiedades y usos:** Se puede preparar mediante adición de cloroacetato sódico a la celulosa en medio alcalino. Es un coloide hidrófilo de acción y usos similares a la metilcelulosa. Da geles de buena consistencia pero sin una gran transparencia y de color pardo acaramelado. Tienen una gran adhesividad, lo que les hace muy útiles como excipientes semisólidos bucales. Los geles que forma con el agua son de carácter aniónico y estables a pH = 4 – 10. Sin embargo los aumentos de temperatura provocan una pérdida de viscosidad. Admiten la incorporación de hasta un 15 – 20 % de alcohol. Soportan bastante bien los electrolitos, aunque los cationes trivalentes provocan un precipitado. Conviene humectarla con glicerina previamente a su gelificación, a fin de evitar la desecación del gel. Se emplea también en la protección mecánica de lesiones orales y periorales formando parte de excipientes como el orabase, y como sustituto de la saliva fisiológica en la xerostomía (sequedad de boca). Puede esterilizarse a 160 °C durante 1 h, aunque puede perder características de viscosidad.

**Dosificación:** -Gelificante: 3 – 6 %. Se puede aumentar más aún la consistencia de los geles elevando la concentración hasta el 8 – 10 %. -Emulgente en emulsiones O/W: 0,25 – 1 %. -En comprimidos: 1 – 6 %. -En soluciones orales: 0,1 – 1,0 %.

**Incompatibilidades:** Ácidos fuertes, sales de metales (en particular hierro, aluminio, mercurio, cinc, y plata), goma xantán, gelatina, pectina, y colágeno.

**Observaciones:** Apto uso cosmético. Uso tópico.

**Conservación:** En envases bien cerrados. PROTEGER DE LA LUZ Y DE LA HUMEDAD.

De este elemento agregamos 0.0242g por cada mL de agua bidestilada. <sup>25</sup>

## TINCIONES

Para este agente experimental se tienen dos muestras: una con ponceau S y otra con fucsina.

### PONCEAU S:

La solución de tinción Ponceau S se suministra lista para usar. Este producto está recomendado para la tinción de proteínas rápida y reversible en membranas de nitrocelulosa o fluoruro de polivinilideno. Esta técnica de tinción se utiliza a menudo para confirmar la electrotransferencia de proteínas en ensayos de transferencia Western antes de la detección basada en anticuerpos.

Ponceau S es una mancha roja cargada negativamente que se une a grupos amino cargado positivamente y regiones no polares de proteínas. Tiene un límite de detección de alrededor de 250 ng de proteína después de SDS-PAGE y electrotransferencia a membranas de nitrocelulosa.

Almacenar a temperatura ambiente. Este producto es estable durante 12 meses. <sup>26</sup>



## **FUCSINA:**

Es uno de los colorantes nucleares más enérgicos, con tendencia a sobre-coloración. Es muy empleado en el diagnóstico de la tuberculosis. La fucsina básica decolora con el sulfito y es empleada en química como indicador para detectar aldehídos, ya que estos toman color rojo-violeta con este colorante. Igual empleo tiene en histología para determinar la presencia de aldehídos en el núcleo.<sup>27</sup>

Para microscopia, tinción de núcleos y bacilos de Koch

- Sinónimos: Basic Violet 14, Fucsina, Magenta I, Rosanilina Cloruro
- Apariencia color verde oscuro, polvo fino color verde
- Espectrometría de infrarrojo auténtica
- Contenido de tinte > = 83 % (sobre sustancia seca)
- Peso molecular: 337,8555
- Fórmula molecular: C<sub>20</sub> H<sub>20</sub> ClN<sub>3</sub>
- Composición: C= 71,10 %. H= 5,97 %. Cl= 10,49 %. N= 12,44 %
- Embalaje: 500 g<sup>28, 29</sup>

## **CONSERVANTE:**

### **BISULFITO DE SODIO**

Nombre Químico: Bisulfito Sódico

Fórmula Química: NaHSO<sub>3</sub>

Otras denominaciones: Solución de bisulfito de sodio, solución de sulfito de hidrógeno sódico.

Uso general: Conservante alimentario y farmacéutico, agente de decoloración de aguas residuales, reactivo de laboratorio, agente reductor, suplemento dietario y conservante de color.

Número CAS (identificación numérica única): 7631-90-5<sup>30, 31</sup>

El bisulfito de sodio presenta la ventaja de ser de uso corriente como aditivo alimentario, y que la ingesta crónica de sulfitos demuestra que no poseen efectos tóxicos, salvo que se utilicen a dosis muy altas.<sup>32</sup>

El sulfito inactiva ciertas enzimas tales como la citocromo oxidasa.<sup>30</sup>



### 3. Antecedentes

René García y colaboradores en el 2014 llevaron a cabo un estudio, para investigar la posible citotoxicidad y actividad proinflamatoria de Papacarie y Carisolv utilizando un cultivo de células pulpares, el estudio fue justificado debido a la amplia utilización de ya removedores químicos y su uso frecuente en lesiones cariosas amplias, donde la cavidad pulpar se encuentra muy cercana a la lesión.<sup>16</sup>

En el 2001 un estudio realizado por Dammaschke y colaboradores utilizaron dientes de ratas para observar la reacción pulpar al 1, 10 y 20 minutos luego de estar expuesta al gel de Carisolv®.<sup>33</sup>

En 2006 los mismos autores llevaron a cabo un estudio similar, solo que en este caso se colocó el nuevo sistema de Carisolv® e igual analizaron la reacción pulpar a distintos tiempos de exposición.<sup>34</sup>

En 2008 Sterer y colaboradores llevaron a cabo un estudio en pacientes que presentaban lesiones cariosas clase V, con el fin de conocer la reducción de la lesión cariosa y restos bacterianos utilizando uno de los métodos de excavación: (i) eliminación de caries con Carisolv, (ii) excavación convencional con broca.<sup>14</sup>

Se realizó un estudio en 2016 por Suzan Sahana y colaboradores con Papacarie® y Carie-care™ utilizando molares con caries interproximales para analizar el tiempo que se requiere para la remoción de caries con estos agente.<sup>35</sup>

#### 4. Planteamiento del problema

En la actualidad la caries dental constituye la enfermedad más frecuente en el ser humano, en un estudio reciente en 590 escolares de entre 13 y 16 años de la Ciudad de México se encontró una prevalencia de caries dental del 92.2%. La caries es un problema de salud pública que afecta principalmente a zonas con bajo nivel socio-económico, por lo que el tratamiento convencional se vuelve inaccesible, la utilización de removedores químico-mecánicos de caries es una alternativa al tratamiento rehabilitador en poblaciones marginales y rurales, donde hay dificultades para practicar una odontología convencional, por falta de equipos y/o energía eléctrica. <sup>1, 2, 11, 36</sup>

Los rotatorios causan miedo, ansiedad y sensación de dolor, principalmente en el área de odontopediatría, inclusive en mayor grado que el uso de anestesia local, con los removedores químico-mecánicos de caries se pretende disminuir o evitar dicha sensación, ya que han demostrado una mejor aceptación por los pacientes. <sup>1</sup>

Por otro lado los rotatorios carecen de selectividad, con estos es común eliminar no solo el tejido infectado sino tejido afectado y sano, debido al mecanismo de acción de los removedores de caries estos solamente reblandecen el tejido infectado, pudiendo así, preservar tejido afectado y sano. <sup>1, 12</sup>

#### 5. Pregunta de investigación

¿Cuáles son las diferencias entre la citotoxicidad, actividad antimicrobiana y proinflamatoria, actividad antimicrobiana antes y después de la remoción de caries y tiempo de remoción de los agentes experimentales de remoción químico-mecánica de caries a base de fucsina y ponceau S en comparación con los agentes comerciales?

## 6. Justificación

La caries dental es una enfermedad que afecta a personas de todo el mundo, principalmente en zonas con bajo nivel socioeconómico por lo que el tratamiento convencional se vuelve inaccesible, con este estudio se pretende elaborar un agente que pueda ser usado de manera segura con un bajo costo, para que pueda ser utilizado en cualquier zona, sobre todo en zonas rurales y marginales.

Por otro lado, es bien sabido que el uso de instrumentos rotatorios en odontología causa muchísima ansiedad a los pacientes, incluso llega a ser mayor que la generada con el uso de anestesia local, ya que el sonido de la turbina suele dar la sensación de dolor o inclusive generar dolor por la presión que esta ejerce sobre la pulpa. Se ha demostrado que el uso de agentes de remoción químico-mecánico de caries ha resultado ser más aceptado por los pacientes que el uso de instrumentos rotatorios.

Desde hace mucho tiempo la odontología conservadora ha tratado de establecer estrategias de tratamiento menos invasivas, con el uso de fresas de alta velocidad es común eliminar tejido afectado y posiblemente también tejido sano; en cambio los agentes químicos removedores de caries tienen un mecanismo de acción específico, reblandeciendo únicamente el tejido infectado y preservando así el tejido alterado y sano. Existen diversos removedores químico-mecánicos de caries, sin embargo, éste agente experimental contiene un colorante extra el cual es una herramienta visual extra que ayudará al clínico a tener mayor certeza de que se ha eliminado el tejido infectado ya que la observación del operador no es lo suficientemente desarrollada para distinguir a simple vista detalles como la presencia de caries recidivante o en ocasiones inclusive no distinguir el tejido que debe eliminar del que debe conservar.<sup>37</sup>

En estudios realizados se ha visto una notable reducción en la concentración bacteriana cariogénica después de la eliminación de caries con tratamiento convencional y con agente removedor de caries mostrando una disminución de hasta 2.9% y 2.8% respectivamente.<sup>14</sup> Además se ha determinado que no existen diferencias significativas en la resistencia adhesiva en la dentina tratada con un agente químico removedor de caries dental, comparado con métodos convencionales de eliminación de caries.<sup>20</sup>

Este estudio se lleva a cabo con el fin de conocer la citotoxicidad, actividad antimicrobiana y proinflamatoria, actividad antimicrobiana antes y después de la remoción de caries y tiempo de remoción de los agentes experimentales a base de fucsina y ponceau s y compararlos con los agentes comerciales y así en un futuro poder usarlo de manera segura en boca.

## 7. Objetivo general

Desarrollar un agente experimental para la remoción químico-mecánica de caries y conocer su efecto citotóxico, proinflamatorio y antimicrobiano en cultivo con células pulpaes humanas (HPC) y *Streptococcus mutans*.

## 8. Objetivo específicos

Conocer el efecto citotóxico de los agentes experimentales y compararlo con el efecto citotóxico de Carisolv® y Papacarie® en cultivo de células pulpaes humanas (HPC).

Determinar la actividad proinflamatoria de los agentes experimentales.

Estimar la actividad antimicrobiana de los agentes experimentales.

Identificar los efectos antimicrobianos antes y después de la remoción de caries con los agentes experimentales en un modelo de caries in vitro.

Conocer el tiempo promedio para la eliminación de caries con los agentes experimentales.

## 9. Hipótesis

El agente experimental muestra actividad antimicrobiana en cultivo con *S. mutans*  $\geq$  a los agentes comerciales, no es citotóxico y no aumenta la actividad proinflamatoria en células pulpaes humanas en mayor grado que los agentes experimentales.

## 10. Hipótesis nula

El agente experimental no muestra actividad antimicrobiana en cultivo con *S. mutans*  $\geq$  a los agentes comerciales, es citotóxico y aumenta la actividad proinflamatoria en células pulpaes humanas en mayor grado que los agentes experimentales.

## 11. Metodología

- ✓ **Tipo de estudio:** Ensayo *in vitro*
- ✓ **Diseño de estudio:** Experimental puro *in vitro*, descriptivo, comparativo y prospectivo.
- ✓ **Universo de estudio:** Agentes de remoción química-mecánica de caries
- ✓ **Muestra:** Carisolv, Papacarie, Agente experimental con fucsina, Agente experimental con ponceau.
- ✓ **Tipo de Muestreo:** No probabilística por conveniencia.
- ✓ **Tamaño de muestra:** Citotoxicidad n= 9 pocillos por cada grupo, Inflamación n= 9 pocillo por cada grupo, Actividad antimicrobiana n= 9 por cada grupo, remoción de caries n= 5 por cada grupo.
- ✓ **Criterios de selección:**
  - Inclusión:**
    - ✓ Molares y premolares permanentes sanos (obtenidos del Laboratorio de investigación Interdisciplinaria (LII), Área de Nanoestructuras y Biomateriales de la ENES-León UNAM) para la remoción de caries
    - ✓ Dientes extraídos con caries (1 mes) para la elección del colorante.
    - ✓ Papacarie (obtenidos del Laboratorio de investigación Interdisciplinaria (LII), Área de Nanoestructuras y Biomateriales de la ENES-León UNAM)
    - ✓ Carisolv (obtenidos del Laboratorio de investigación Interdisciplinaria (LII), Área de Nanoestructuras y Biomateriales de la ENES-León UNAM)
  - No inclusión:**
    - ✓ Dientes anteriores
    - ✓ Otros agentes comerciales para la remoción químico-mecánica de caries.
  - Eliminación:**
    - ✓ Dientes con perforación en cámara pulpar
    - ✓ Cultivos contaminados.

Grecia Rodríguez  
EFECTOS BIOLÓGICOS DE UN AGENTE DE RQMC

**Variables de estudio.**

NOMBRE	DEFINICIÓN	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO	ESCALA
<b>DEPENDIENTES</b>				
<b>Citotoxicidad</b>	Es la propiedad que tienen ciertas sustancias o células de dañar a otras células. <sup>38</sup>	Se analiza la muerte de células pulpares en contacto con los agentes de remoción de caries.	Cuantitativa	Razón
<b>Inflamación</b>	La inflamación es la respuesta del sistema inmunológico a invasores extraños tales como virus y bacterias. <sup>39</sup>	Se observa la inflamación producida por el agente en células pulpares humanas. Usando en grupo control interleucina-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )	Cuantitativa	Razón
<b>Actividad Antimicrobiana</b>	Es la capacidad que presenta un compuesto para inhibir el aumento de una población bacteriana o para eliminarla <sup>40</sup>	Se determina el tamaño del halo de inhibición que tiene cada agente contra <i>S. mutans</i> . Y se realiza conteo de colonias de <i>S. mutans</i> antes y después de la remoción de caries con cada agente	Cuantitativa	Razón
<b>Tiempo</b>	Período determinado durante el que se realiza una acción o se desarrolla un acontecimiento. <sup>41</sup>	Se determina el tiempo empleado para la remoción de caries con cada uno de los agentes.	Cuantitativa	Razón

NOMBRE	DEFINICIÓN	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO	ESCALA
--------	------------	------------------------	------	--------

<b>INDEPENDIENTES</b>				
<b>Agente</b>	Sustancia, germen, energía, etc. que produce un efecto sobre el organismo <sup>42</sup>	Se utiliza cada agente para determinar los efectos biológicos estudiados.	Cualitativo	Nominal
<b>Dosis</b>	Cantidad de algo <sup>43</sup>	Se utilizan distintas dosis para determinar en qué grado suele tener efectos positivos.	Cuantitativo	Razón

El estudio se divide en tres fases:

### 10.1. Fase I:

Con base a las concentraciones de aminoácidos utilizados en Carisolv® las cuales son: ácido glutámico, leucina y lisina a 0.1 molar se realizaron distintos estudios para determinar los otros componentes necesarios para el agente removedor de caries experimental.

**10.1.1. Elección del espesante:** Se llevó a cabo un estudio con los siguientes espesantes: Carboximetilcelulosa, Polietilenglicol, almidón soluble, trietilenglicol.

Para esta prueba cada uno de los espesantes se mezclaron con agua bidestilada, la mezcla se llevó a cabo integrando el espesante al agua bidestilada mientras se agitaba con un agitador magnético; y se examinaron táctil y visualmente las mezclas obtenidas para valorar la viscosidad.

Los resultados revelaron que el espesante que mejor se adaptaba a la viscosidad deseada era la carboximetilcelulosa.

Se midió el pH antes de agregar el hipoclorito y este fue de 6, posteriormente se agregó el hipoclorito y su pH cambio a 11, después de un minuto seguía siendo 11, a los cinco minutos cambio a 10, a los 10 minutos bajo a 9, continuo en 9 a los 15 minutos, a los 20 y 25 minutos disminuyó a 8.

**10.1.2. Elección de la tinción:** Se llevó a cabo un estudio con las siguientes tinciones: fucsina básica, Ponceau S, Azul de anilina, seek de ultradent y una tricromía compuesta por azul de anilina, escarlata, Fucsina.

Se mezclaron cada uno de los colorantes con agua bidestilada y carboximetilcelulosa.

Todas estas mezclas fueron agitadas con un agitador magnético, se colocaron en cavidades de dientes extraídos con caries, se dejó durante 30 segundos y se lavó con agua durante 30 segundos, se observó la pigmentación que dejó cada tinción en la cavidad con lesión cariosa.

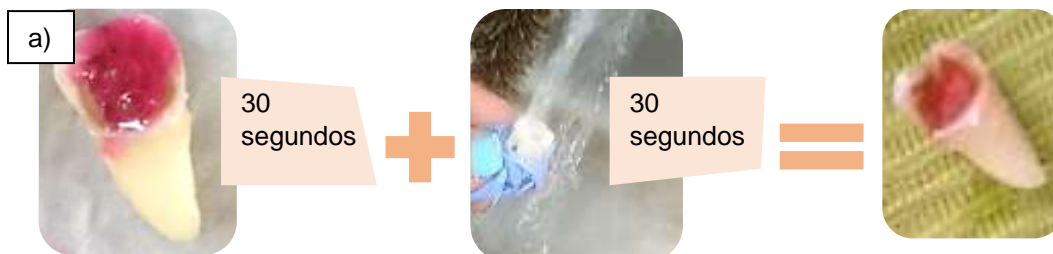


Imagen 8. a) Molar con caries cubierto con el colorante b) lavado con chorro de agua del molar c) molar teñido por el colorante después del lavado con agua. Fuente propia

**10.1.3. Elección del conservante:** Se llevó a cabo un estudio con los siguientes conservantes: Bisulfito de sodio, Nitrato de potasio, propóleo de distintas marcas y propóleo natural.

Se mezclaron los conservantes con agua bidestilada

Se realizó cultivo de 24 horas de *Streptococcus mutans* que se tomó de un tubo con *S. mutans* ATCC 25175.



Imagen 9. *Streptococcus mutans* Clarke ATCCS 25175. Fuente propia

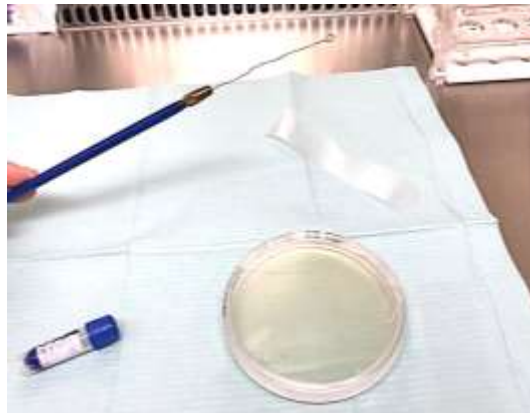


Imagen 10. Imagen de la realización de cultivo joven de *S. Mutans*. Fuente propia



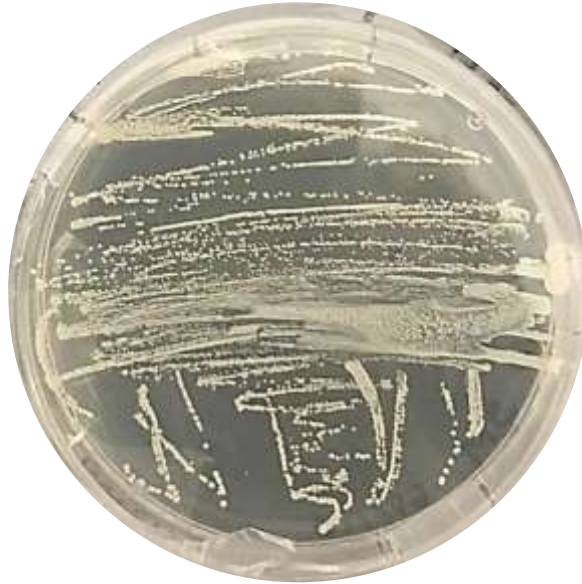


Imagen 11. Cultivo joven de *S. Mutans*. Fuente propia

Se utilizó cloruro de sodio para disolver la bacteria a 0.5 de concentración según Macfarland de *S. mutans*. Se colocaron 100  $\mu$ l de la solución en cada caja Petri con agar Mueller Hinton, colocando desde el centro de la caja, se difundió con un hisopo, se impregnó un disco de papel por cada una de las soluciones, agregando 20  $\mu$ l de cada una.

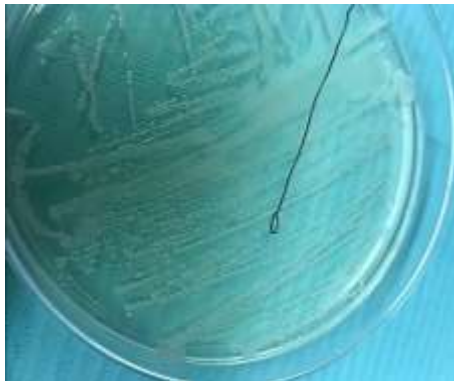


Figura 12. Así tomamos las colonias bacterianas para colocarlas en el cloruro de sodio. Fuente propia.

Grecia Rodríguez  
EFECTOS BIOLÓGICOS DE UN AGENTE DE RQMC

Se dejaron las muestras en la incubadora por 24 h, y al revisarlas se observaron las zonas de inhibición de cada muestra, concluyendo con esta prueba que la mejor opción era el bisulfito de sodio a 4000 ppm. (Imagen 13.)

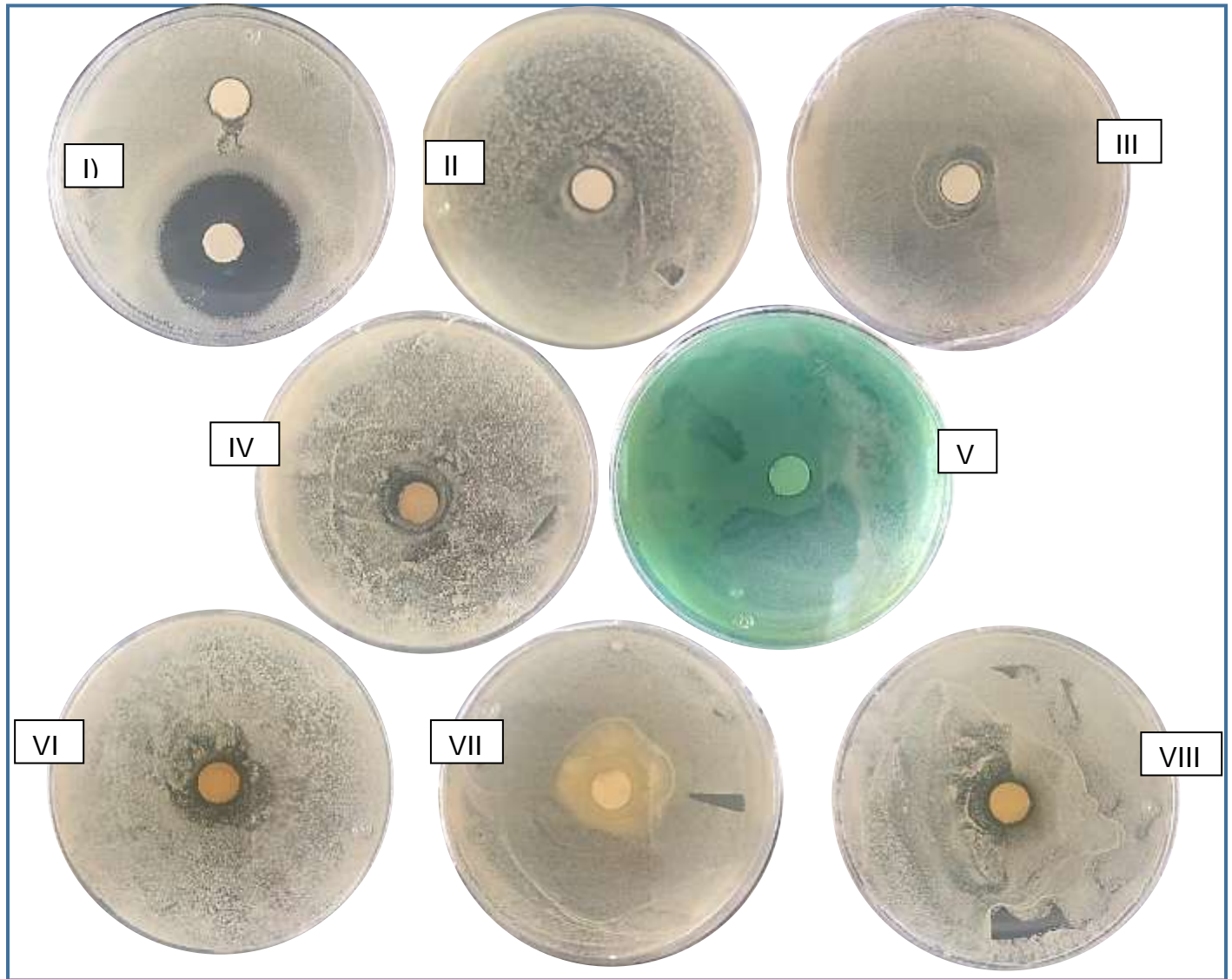


Imagen 13. I) Bisulfito de sodio (1000ppm y 4000ppm) II) Nitrato de potasio (1000ppm) III) nitrato de potasio (4000ppm) IV) Propóleo con agua estéril V) Propóleo con agua VI) Propóleo La colmena VII) Propóleo con Alcohol VIII) Propóleo Gto. Fuente Propia.

## 10.2. Fase II:

### 10.2.1 Citotoxicidad:

Para este ensayo se elaboraron dos muestras con los siguientes contenidos:

1.- Agua bidestilada, Fucsina a 0.018 M, Bisulfito de sodio a 500ppm (ya que a 4000ppm resulto ser muy citotóxico para las células pulpaes humanas), Lisina, Leucina, acido glutámico a 0.1 M, Carboximetilcelulosa a 0.05 M, hipoclorito de sodio al 0.95% e hidróxido de sodio

2.- Agua bidestilada, Ponceau S a 0.004 M, Bisulfito de sodio a 500ppm (ya que a 4000ppm resulto ser muy citotóxico para las células pulpaes humanas), Lisina, Leucina, acido glutámico a 0.1 M, Carboximetilcelulosa a 0.05 M, hipoclorito de sodio al 0.95% e hidróxido de sodio.

Además utilizamos Carisolv®, Papacarie® y un grupo control únicamente con medio de cultivo.

Se inocularon células pulpaes agregado 100 µl en cada pocillo de una caja de 96 pocillos, se incubaron un día como mínimo. Se retiró el medio y se colocan 100 µl de medio de cultivo nuevo, agregamos 60 µl más en los pocillos de la concentración máxima de cada muestra, posteriormente se agregaron 40 µl de las muestras en cada pocillos de la concentración máxima, la cual fue de 20, se pipetea para que se diluya y se toman 40 µl de esa dilución para mezclarlos en los siguientes pocillos para obtener una concentración de 10 se pipetea nuevamente y se toman 40 µl de esta nueva dilución y se colocan en los siguientes pocillos para obtener una concentración de 5, Se toma tiempo, los intervalos de tiempo para cada muestra fueron de 60 segundos, 30 segundos y 15 segundos y en cada intervalo de tiempo se usaron las mismas concentraciones para cada muestra. Al termino de los 60, 30 y 15 segundos se eyecta la mezcla y posteriormente se coloca sal de bromuro a 0.2 mg por mililitro (MTT), se incuban por mínimo 7 h y posteriormente se retira el MTT, se agregan 100 µl de dimetil sulfoxido (DMSO) el cual rompe las membranas de las células para así poder hacer el conteo de las mitocondrias que existen en cada pocillo, con el DMSO se torna color morado, entre más fuerte sea el tono, más viabilidad celular hay. Posteriormente se utilizó un espectrómetro para el conteo.

Esta prueba se realizó 6 veces.

### 10.2.2. Inflamación:

Se determinó la actividad proinflamatoria, por ensayo de ELISA, se inocularon células pulpares en los pocillos, agregando 100  $\mu\text{L}$  de medio de cultivo, tomando en cuenta un control positivo y uno negativo, para inducir a inflamación, en el control positivo se agregaron 3  $\mu\text{L}$  de interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) lo que equivale a 3 ng por mL, se incubaron por 3 h. Se agregaron 40  $\mu\text{L}$  más de medio de cultivo, se incorporaron las muestras de Carisolv®, Papacarie®, Muestra experimental con Fucsina y muestra experimental con Ponceau S, además de mantener un grupo control. Se recolectaron las muestras en tubos de eppendorf, se cerraron bien y se almacenaron en refrigeración a -20° C durante 48 h. Posteriormente se utilizó el kit de ELISA, en primer lugar se colocaron 80  $\mu\text{L}$  de cada muestra en cada pocillo (Carisolv®, Papacarie®, Agente experimental con fucsina, agente experimental con ponceau S y grupos control), se agregaron 40  $\mu\text{L}$  de conjugado azul, se tapó con la mica que viene incluida en el kit, se incubó a temperatura ambiente a 500 revoluciones por minuto durante dos horas. Se lavó con wash buffer, colocando la sustancia y después eyectándola, siguiendo el mismo procedimiento por 4 veces. Se agregaron 200  $\mu\text{L}$  de p-nitrofenil fosfato a cada pocillo, Se incubó durante 45 minutos en un lugar libre de luz (se colocó en un cajón). Finalmente se colocaron 50  $\mu\text{L}$  de stop solutions, y se llevó al espectrómetro a 405 nm y agitando por 10 segundos previamente.

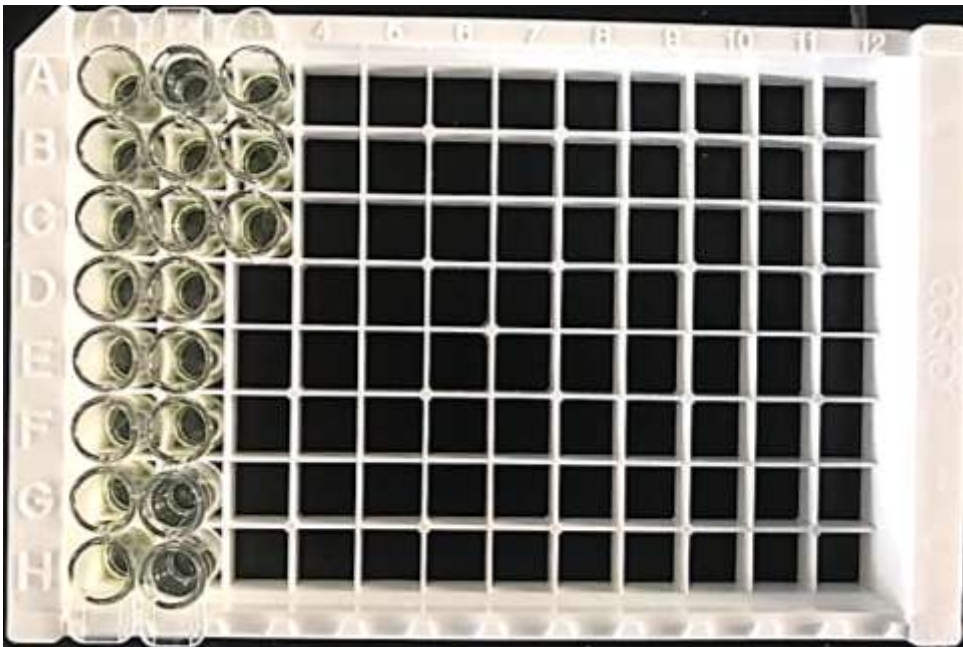


Imagen 14. Ensayo de ELISA. Fuente propia.

### 10.2.3. Prueba antimicrobiana:

Se realizó un cultivo joven, este se dejó incubar por 24 h, se usaron cajas Petri con agar mueller Hinton para inocular la bacteria, la cual estaba diluida en cloruro de sodio al 0.85% a una concentración de 0.5 según la escala de Macfarland de *S. mutans*, se colocaron 200 microlitros de la concentración de la bacteria en cada plato, y se difundió en el plato con un hisopo. Se colocaron 20 microlitros de cada muestra en un disco de papel, este se colocó en la caja Petri, se utilizó una caja para cada muestra con concentraciones de 100, 50, 25 y 0 (diluyendo con agua destilada estéril), en el grupo control positivo se colocó clorhexidina y en el negativo agua destilada estéril. Se deja incubar por 24 h. Se observan los resultados analizando la zona de inhibición que tenía cada disco y haciendo cuatro mediciones a lo largo del diámetro del halo de inhibición, y calculando un promedio de estas.

Para esta prueba, se realizó un ensayo piloto con una caja para cada muestra, posteriormente un ensayo utilizando 3 cajas Petri para cada muestra y al final se realizó un ensayo con cada uno de los componentes de la muestra con fucsina, además otras tres cajas para el agente experimental con Fucsina.

Además se realizaron estudios de microdilución en 3 repeticiones. Para esto se llevó a cabo un cultivo joven de *S. mutans*, se diluyeron 6-7 colonias de aproximadamente 0.5 mm de diámetro en 10 mL de caldo Mueller Hinton en un tubo falcón de 50 mL, se dejó en incubación durante 18 h en agitación constante, posterior a esto se colocaron 10mL de caldo Mueller Hinton en un tubo de ensayo de cristal de 15 mL a esto se inoculó la bacteria hasta tener una concentración de 0.5 según la escala de Macfarland de *S. mutans*, de esta solución se tomaron 3 microlitros y se colocaron en un tubo falcón de 50mL agregando además 30 mL de caldo Mueller Hinton y se dio vortex. Se utilizó una caja con 96 pocillos y se agregaron 200 µl de bacteria y 200 µl del agente experimental con fucsina, además en una fila de la caja se colocaron 200 µl de bacteria con 200 µl de clorhexidina, en el control positivo se colocaron 200 µl de bacteria y 200 µl de caldo y en el control negativo se colocaron 400 µl de caldo.



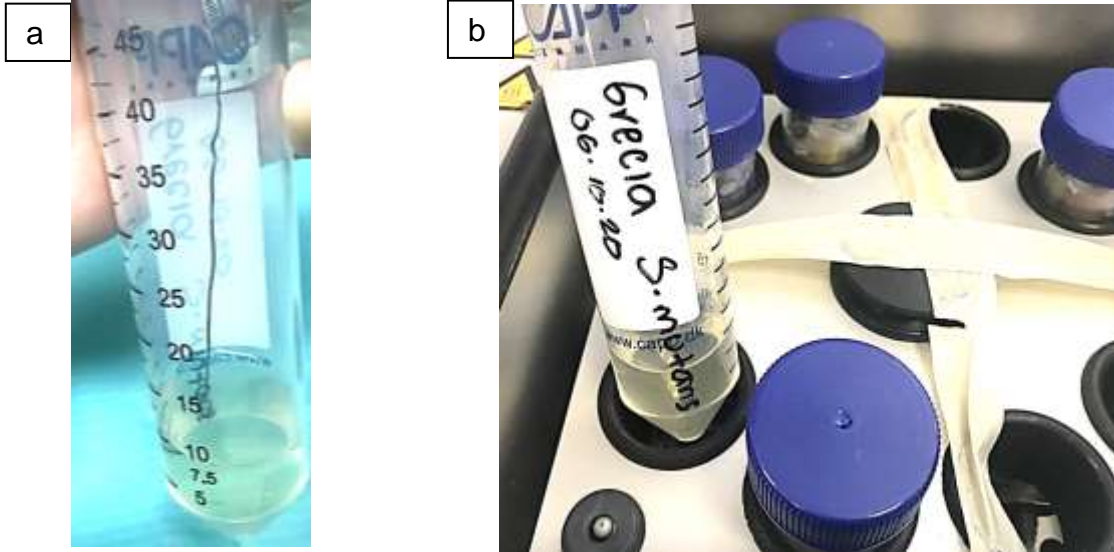


Imagen 15. a) Colocando *S. mutans* en caldo mueller Hinton b) Se coloca el caldo mueller Hinton en agitación constante durante 18 horas. Fuente propia

Se incubó durante 24 h y al día siguiente se leyó en el espectrofotómetro a 620 nm y posteriormente se colocaron 3 gotas de cada concentración en tres platos de agar, se incubaron las 3 cajas durante 24 h, se observaron las gotas para observar la concentración de *S. mutans* que existía en cada gota.

Este procedimiento se realizó tres veces.

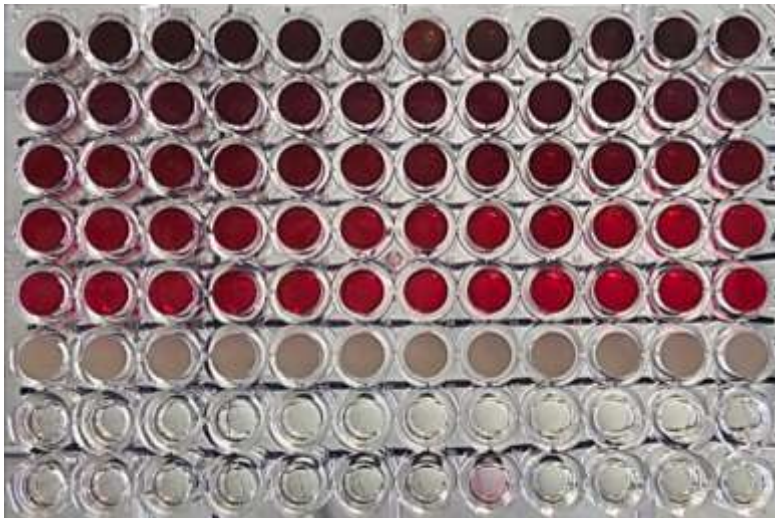


Imagen 16. a) Plato de 96 pocillos con concentración de 100, 50, 25, 12 y 6 del agente experimental con fucsina, clorhexidina, control negativo y control positivo. Fuente propia

Imagen 17. Plato de agar con gotas de cada concentración del agente experimental con fucsina. Fuente propia



### 10.3. Fase III:

#### 10.3.1. Eliminación de caries:

Se recolectaron 15 premolares y 10 molares sin caries, con corona íntegra, se colocaron en cubos de acrílico para su fácil manipulación, se realizaron cavidades clase I según Black, con pieza de alta velocidad marca NSK y con fresas de carburo 256, con dimensiones de aproximadamente: mesio-distal= 5 mm, profundidad de 3 mm, y solo se abarcó la dentina. Posterior a realizar las cavidades, se colocó esmalte de uñas transparente en las coronas para protegerlo.

##### 10.3.1.1. Desmineralización de dientes:

Se preparó una solución desmineralizante utilizando un litro de agua destilada y añadiendo a esta 0.9mM de fosfato de potasio, 1.5 mM de cloruro de calcio, 150 mM de cloruro de potasio, 0.1 mM de acetato de sodio, se agregaron 20 microlitros de HCL para llevarla a un pH de 4. Se colocaron los dientes en un frasco de vidrio en el cual se agregó la solución desmineralizante, se tapó y se colocaron en un agitador a una temperatura de 37 °C. Se cambió la solución del frasco cada tercer día, ya que su pH aumentaba a 6.5. Se dejaron los dientes en esta condición durante 15 días (360 h).

##### 10.3.1.2. Modelo de caries

Se aisló un cultivo bacteriano con *Streptococcus mutans*, con una concentración de 0.5 escala de Macfarland, fueron cultivadas en Muller-Hinton (Becton Dickinson, NJ,

EUA) por 18 h en un ambiente de anaerobiosis parcial. Se colocaron 20 µL en una torunda de algodón con medio de cultivo, se colocó una torunda en cada cavidad y fueron obturadas con IRM (Dentsply™, New York, USA). Se incubaron a una temperatura de 37°C, durante 15 días, y cada tercer día se retiraba el material de obturación, y se adicionaba más medio de cultivo, obturando de nuevo cada vez que se realizaba este procedimiento.

#### **10.3.1.3. Prueba antimicrobiana**

Se retiró la obturación provisional, se raspó el piso con cucharillas estériles y este material fue suspendido en caldo de cultivo mueller-Hinton para cada muestra, se agitaron y posteriormente se cultivaron en agar mueller Hinton y se incubaron por 24 y 48 h a 37°C. Se determinaron las unidades formadoras de colonia en cada muestra.

#### **10.3.1.4. Remoción de caries:**

Para cada agente de remoción de caries a examinar utilizamos 5 dientes, se colocó durante 60 segundos cada muestra en cada cavidad, y posteriormente se retiró el tejido cariado con cucharillas de dentina estériles, se limpió la cavidad con una bolita de algodón húmeda para poder observar el tejido remanente y verificar las características de ésta. Para Carisolv®, Papacarie® y el grupo control se utilizó detector de caries sable™ seek® (Ultradent) para determinar si aún había caries, se repitió el proceso hasta obtener una dentina sin tejido blando. Para el grupo control se utilizó micromotor y una fresa de carburo 256.

#### **10.3.1.5. Prueba antimicrobiana:**

Después de retirar el tejido infectado se colocó caldo mueller Hinton en la cavidad y se raspó la superficie de la cavidad de cada diente tratado posteriormente se inoculó dicho caldo en una caja con agar mueller Hinton para obtener el resultado de carga bacteriana.

.



## 11. Resultados

### 11.1. Fase I

Componentes del agente experimental				
Hipoclorito de sodio	Lisina	Leucina	Ac. glutámico	Carboximetilcelulosa
0.95%	0.1 M	0.1 M	0.1 M	0.05 M
-	500 ppm	0.018 M	0.004 M	5.32 M
Agua bidestilada	Bisulfito de sodio	Fucsina ó	Ponceau S	Hidróxido de sodio

Tabla 4. Componentes del agente experimental

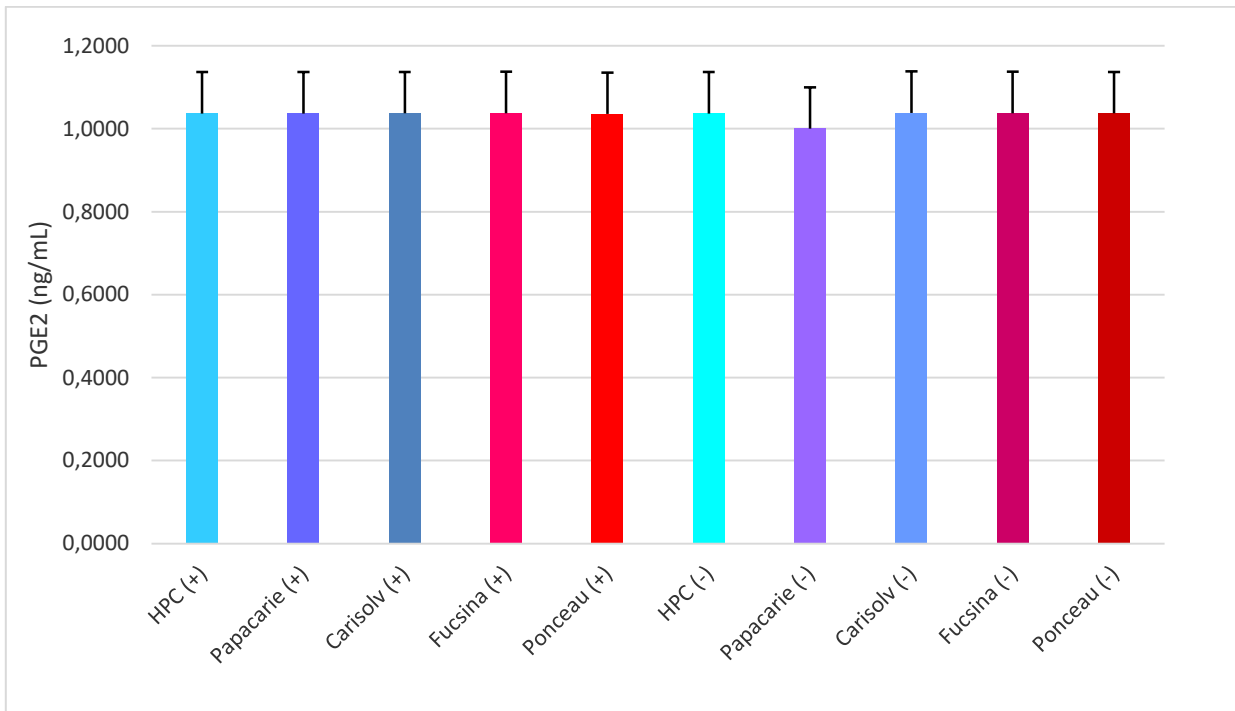
### 11.2. Fase II

#### 11.2.1. Citotoxicidad

Viabilidad celular (%) de los agentes experimentales y comerciales en cultivo con HPC					
AGENTE	Tiempo (en segundos)				
	15	30	60		
<b>Concentración de [5]</b>					
CARISOLV®	97.14 ± 2.38	99.37 ± 1.11	99.77 ± 5.67	Tabla 5. Viabilidad celular de los agentes experimentales y comerciales en cultivo con HPC. Bisulfito a 500ppm	
PAPACARIE®	102.95 ± 1.97	102.89 ± 3.72	101.22 ± 2.47		
FUCSINA	45.5 ± 8.72	42.45 ± 9.1	42.51 ± 6.17		
PONCEAU S	87.66 ± 2.42	67.91 ± 13.13	67.95 ± 1.19		
<b>Concentración de [10]</b>					
CARISOLV®	97.49 ± 3.23	97.85 ± 1.85	99.4 ± 5.43		
PAPACARIE®	96.65 ± 2.02	103.12 ± 0.84	105.23 ± 2.89		
FUCSINA	27.61 ± 1.13	26.01 ± 1.29	32.87 ± 3.33		
PONCEAU S	82.41 ± 2.41	58.96 ± 12.26	88.47 ± 6.99		
<b>Concentración de [20]</b>					
CARISOLV®	79.66 ± 17.11	99.08 ± 2.99	80.22 ± 16.26		
PAPACARIE®	98.5 ± 1.43	93.27 ± 2.69	103.06 ± 5		
FUCSINA	38.19 ± 12.76	44.6 ± 23.35	41.65 ± 3.67		
PONCEAU S	34.97 ± 5.67	37.75 ± 4.5	103.68 ± 0.38		

### 11.2.2. Inflamación

Los resultados arrojados por el espectrómetro fueron los siguientes. Ninguno de los agentes presentó aumento de la actividad proinflamatoria, inclusive en sinergia con IL-1 $\beta$ .



Grafica 1. Comparación de actividad proinflamatoria de los agentes: Carisolv, Papacarie, Agente con Ponceau S y Agente con Fucsina.

### 11.2.3 Actividad antimicrobiana

#### 11.2.3.1 Difusión en agar

Se midieron las zonas de inhibición de cada agente con un Vernier digital, se realizaron cuatro mediciones por cada disco, al final se promediaron las medidas y se obtuvo el promedio de cada agente por cada una de las concentraciones.

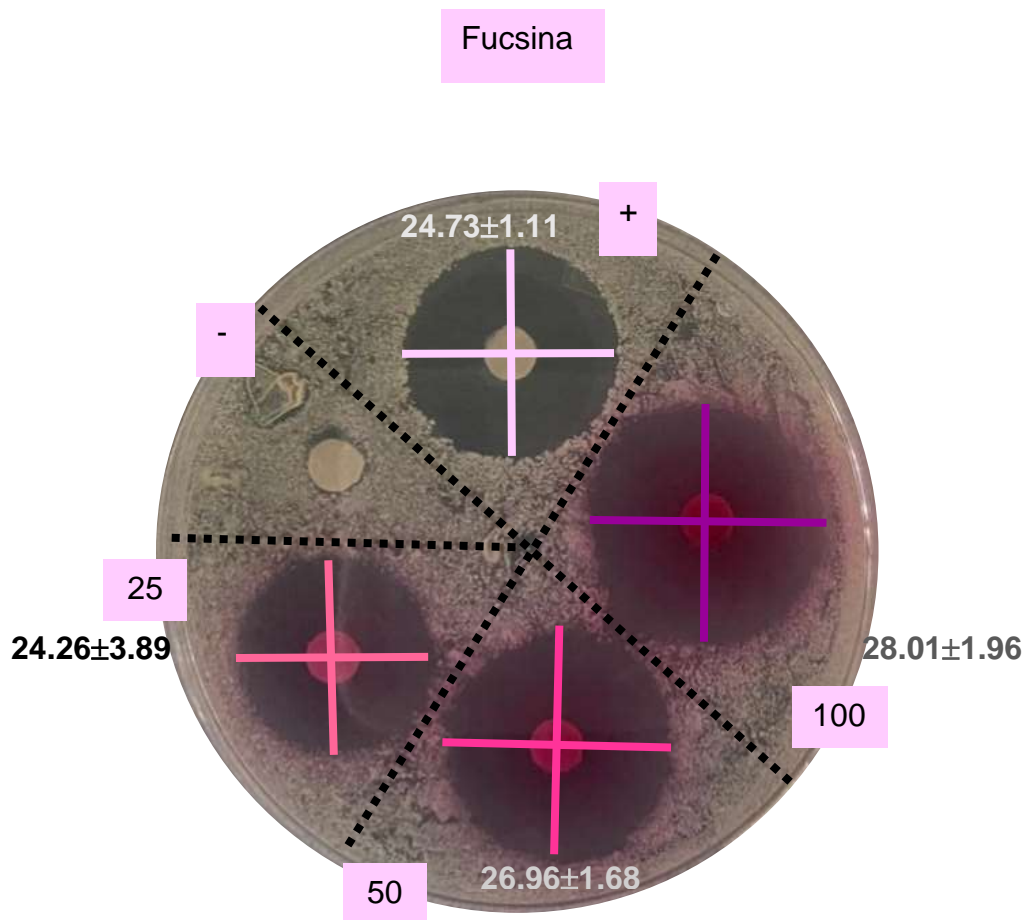
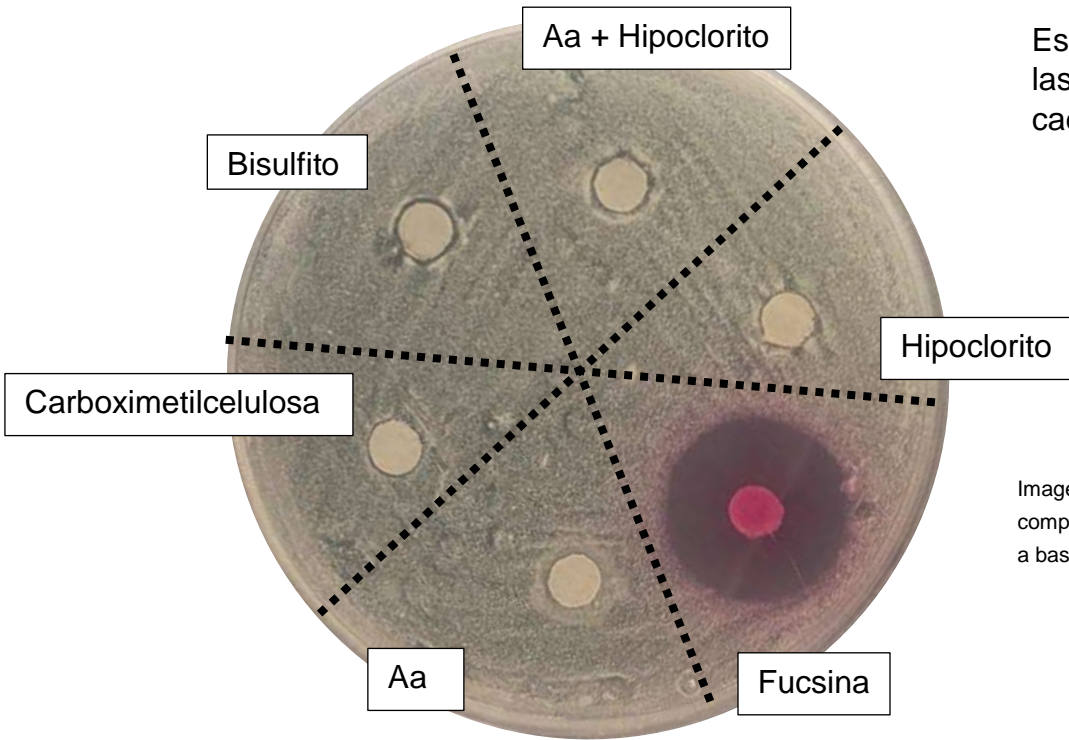


Imagen 18. Zonas de inhibición del agente experimental a base de fucsina a concentraciones de 100, 50 y 25. Fuente Propia

Grecia Rodríguez  
EFECTOS BIOLÓGICOS DE UN AGENTE DE RQMC



Estos fueron los promedios de las zonas de inhibición de cada componente examinado.

Imagen 19. Zonas de inhibición de los componentes del agente experimental a base de fucsina. Fuente Propia

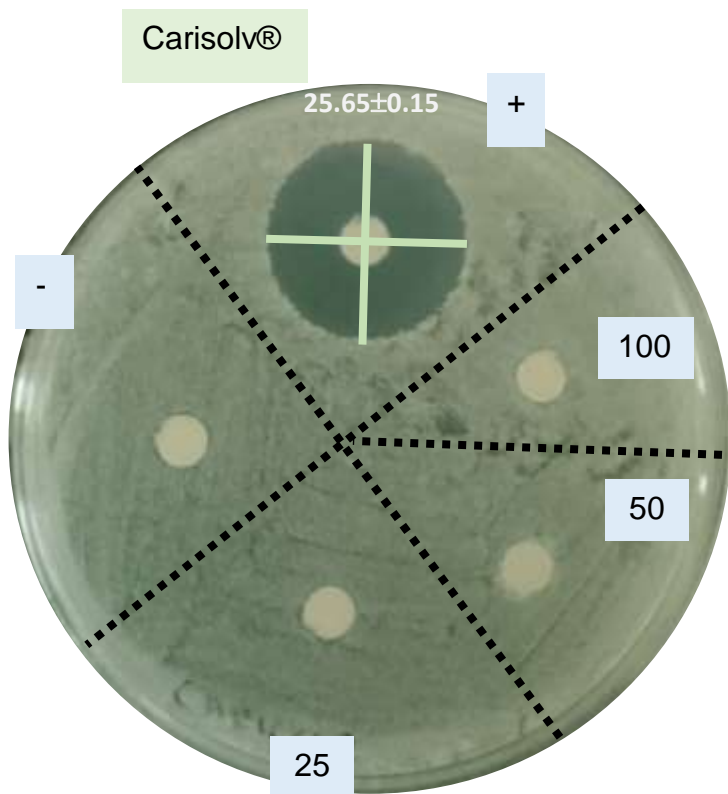


Imagen 20. Zonas de inhibición de Carisolv a concentraciones de 100, 50 y 25. Fuente Propia

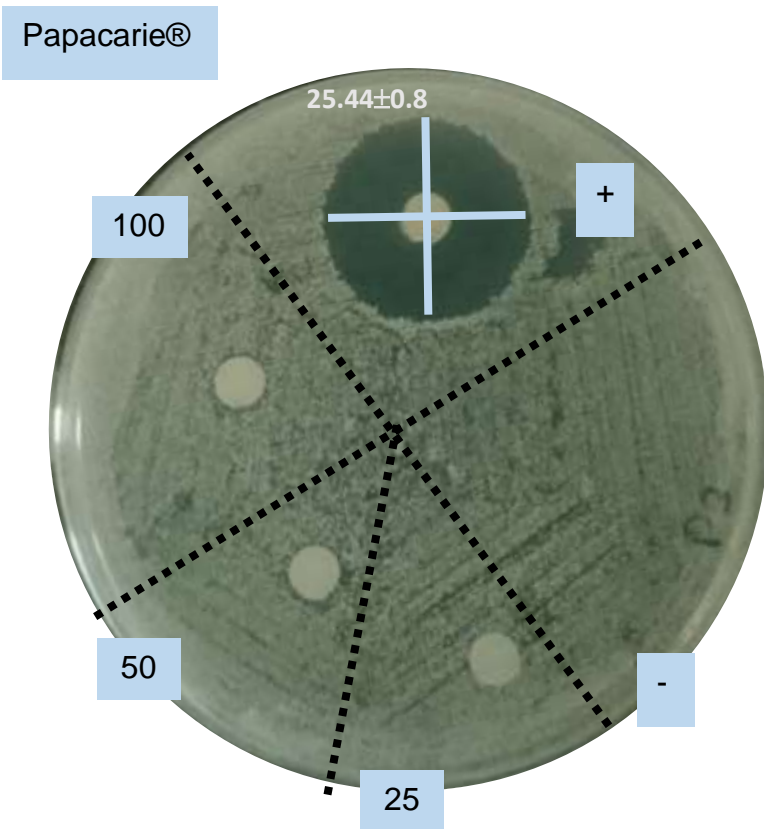


Imagen 21. Zonas de inhibición de Papacarie a concentraciones de 100, 50 y 25. Fuente Propia

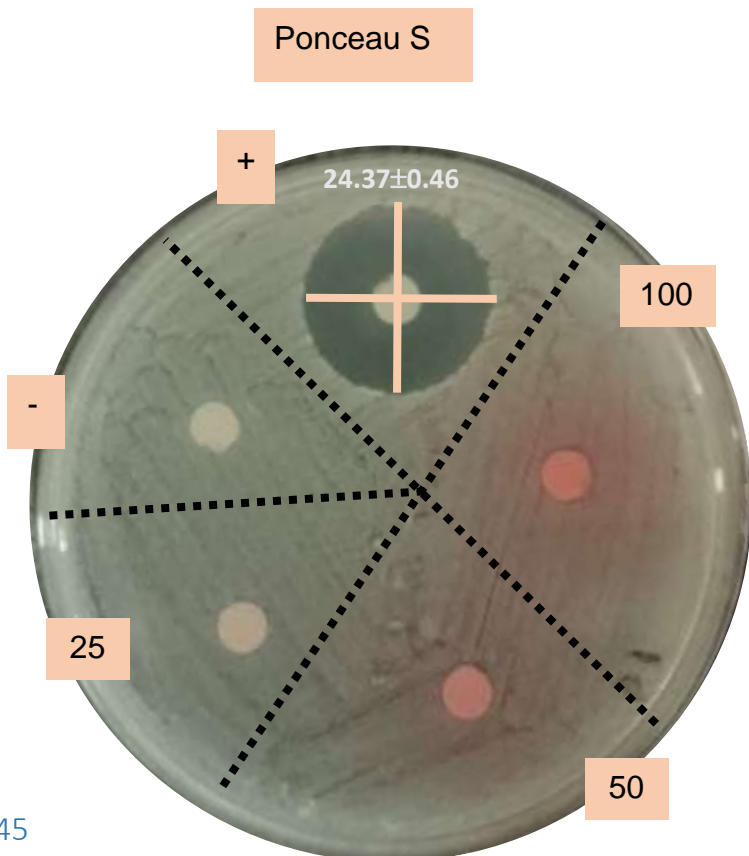
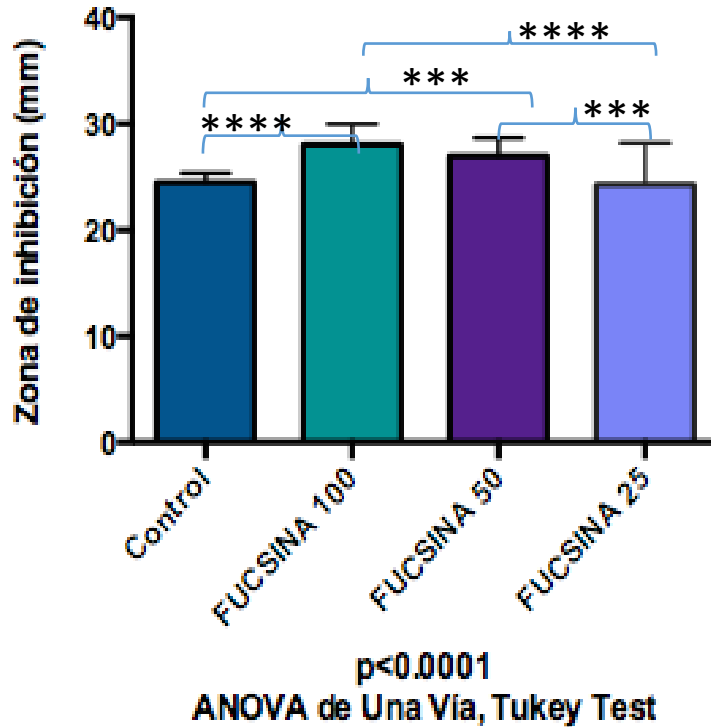


Imagen 22. Zonas de inhibición del agente experimental a base de Ponceau S a concentraciones de 100, 50 y 25. Fuente Propia

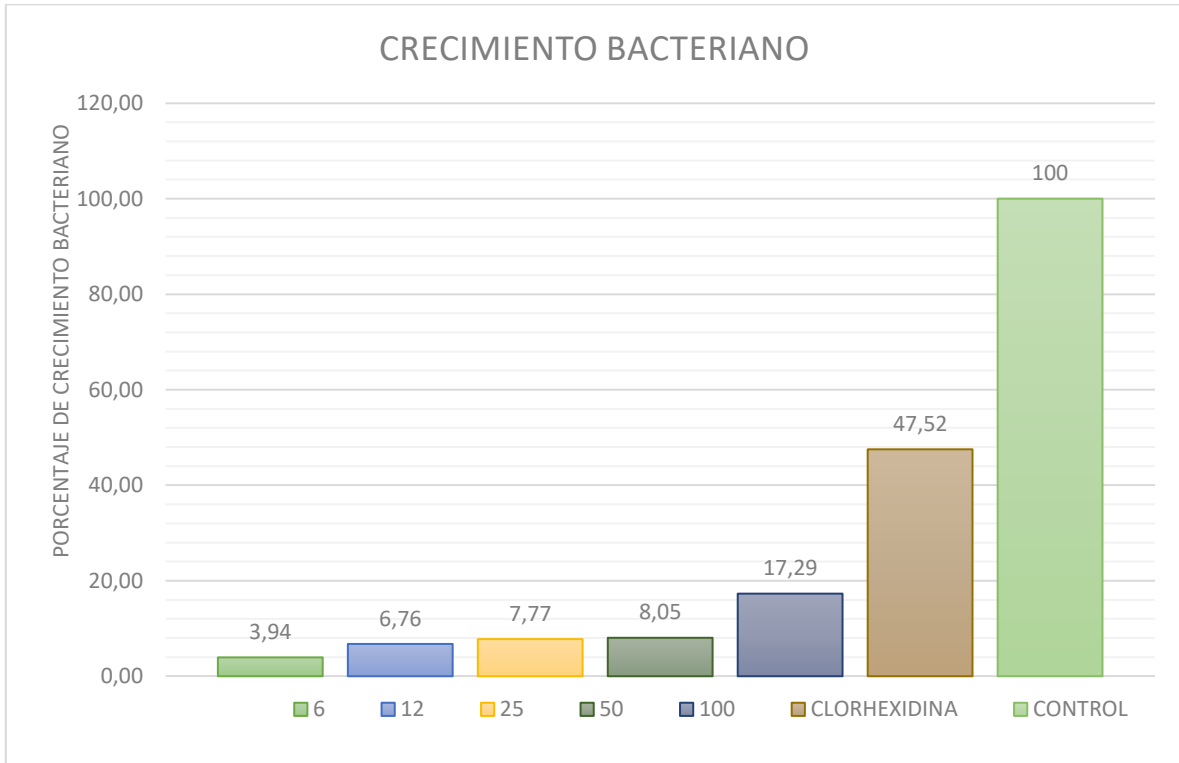
### Efecto antimicrobiano de Fucsina en *S. mutans*



Grafica 2. Comparación del efecto antimicrobiano del Agente con Fucsina a concentraciones de [100], [50], [25], [12] [6].

#### 11.2.3.2. Microdilución

Para este estudio solo se analizó el agente experimental a base de Fucsina, ya que fue el único que presentó inhibición en cultivo con *Streptococcus mutans*. Los resultados de absorbancia obtenidos en el espectrofotómetro fueron los siguientes. De cada concentración y grupo control se eligieron tres pocillos para tomar una gota de solución y se colocaron en una caja con agar Mueller Hinton.



Grafica 3. Crecimiento bacteriano de *S. mutans* a concentraciones de 6, 12, 25, 50 y 100 del agente experimental a base de fucsina.

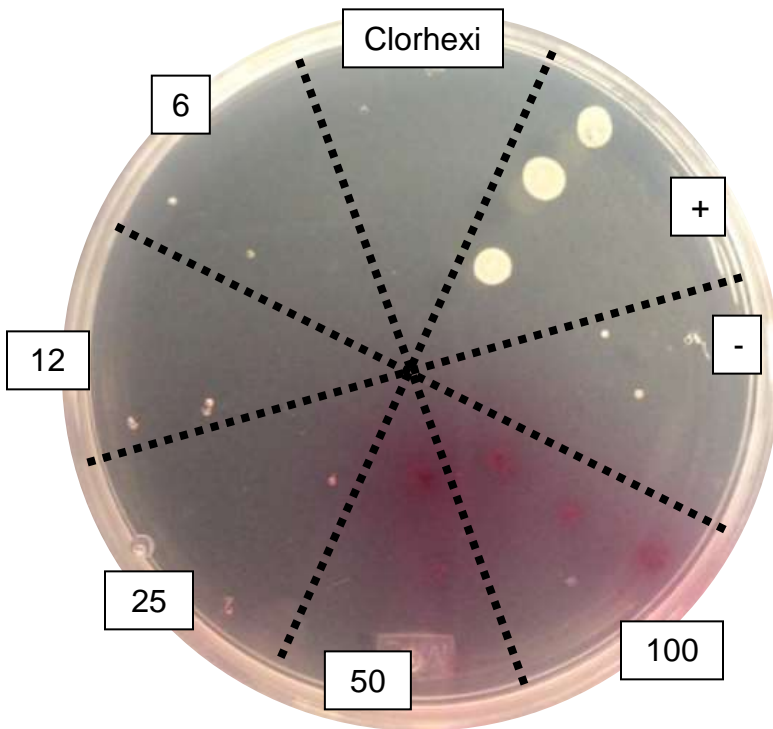


Imagen 23. Caja con agar Mueller Hinton con gotas del agente experimental a base de Fucsina con *Streptococcus mutans*, clorhexidina, control positivo y negativo obtenidas de la caja de 96 pocillos. Fuente Propia.


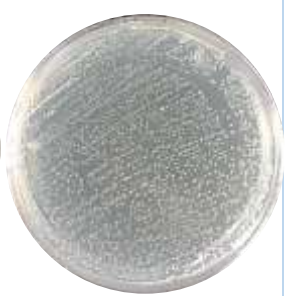
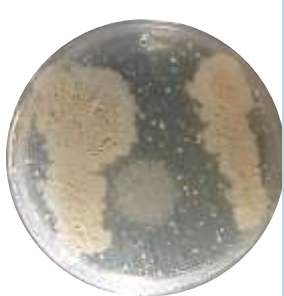
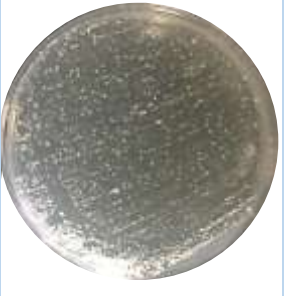
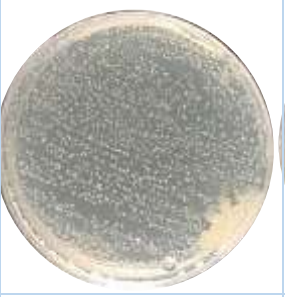
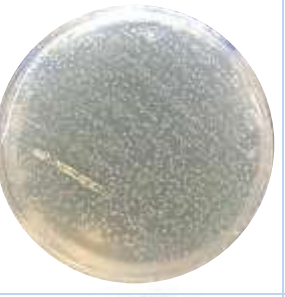


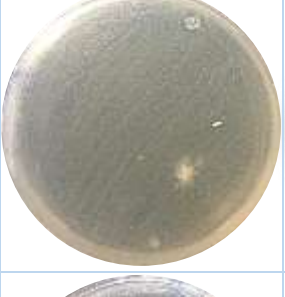


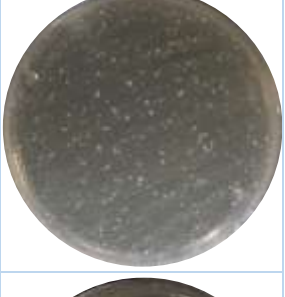






### 11.3. Fase III

#### 11.3.1. Remoción de caries

##### 11.3.1.1 Prueba antimicrobiana

Antes de la remoción de caries se agregó caldo Mueller Hinton, se raspó la cavidad y se inoculó esta solución en una caja con agar Mueller Hinton. Después de la remoción se repitió el mismo procedimiento, los resultados a las 24 y 48 h, antes y después de la remoción de caries fueron los siguientes.

AGENTE	ANTES	DESPUÉS	ANTES	DESPUÉS
	24 HORAS		48 HORAS	
CONTROL				
CARISOLV				
PAPACARIE				
PONCEAU				



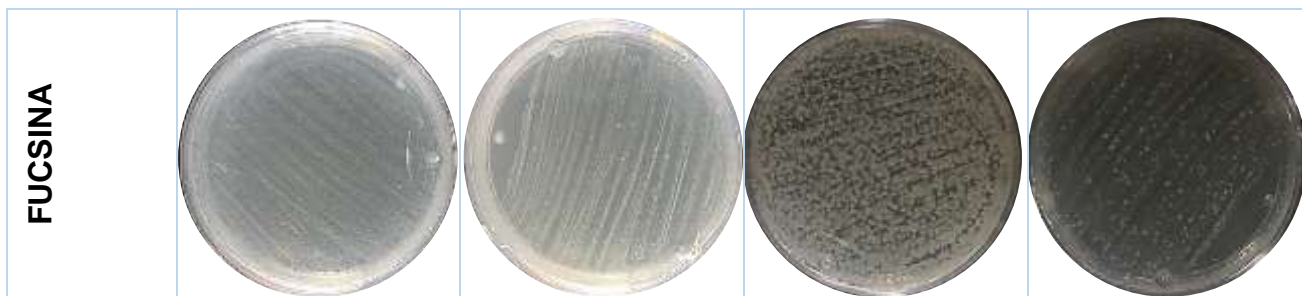


Tabla 6. Inoculación de caldo mueller Hinton después de raspar la cavidad, antes y después de utilizar el agente experimental con Fucsina para la eliminación de caries. Con un tiempo de incubación de 24 h y 48 h. Fuente Propia.

### 11.3.1.2 Tiempo de remoción de caries.

Se tomó el tiempo invertido para remover el tejido con caries de cada diente con cada uno de los grupos.

Agente	CONTROL	CARISOLV	PAPACARIE	FUCSINA	PONCEAU
Tiempo (minutos)	1.8±0.31	5.4±1.1	3.6±0.37	2.4±0.34	2.3±0.38
Repeticiones	1	3	2	1	1
Detector de caries (Seek)	√	√	√	×	×

Tabla 7. Comparación del tiempo promedio utilizado para la remoción de caries con cada uno de los agentes químico-mecánicos.

La tinción del colorante fue una limitante para poder obtener analizar los resultados de microdilución de manera visual, ya que normalmente en este estudio se pueden observar bacterias en el fondo del pocillo, esto cuando las hay.

Otra limitante fue la viscosidad de los agentes experimentales, se dificultaba tomar las medidas exactas, y era más tardado colocarlos en los pocillos de estudio ya que se quedaba pegado en la punta de la micropipeta.

## 12. Discusión

- Nuestro estudio arrojó resultados similares a los encontrados en el estudio realizado en el 2014 donde Carisolv® no mostró citotoxicidad. Papacarie® Duo redujo significativamente el número de células viables, a excepción de esta parte, ya que en nuestro estudio Papacarie® no mostro reducción significativa de las células viables, esto probablemente a la dilución que utilizamos para poderlo colocar en los pocillos; por otro lado la interleucina-1 $\beta$  (3 ng / mL) se comportó de manera similar en ambos estudios, ya que no estimuló a las células HPC, para producir PGE2 en el medio de cultivo ni afectó al número de células viables de HPC.
- En ambos estudios buscamos conocer la citotoxicidad de los removedores de caries, con la diferencia que en este estudio se incorporaron los agentes experimentales realizados en el mismo estudio.<sup>16</sup>
- Realizamos un ensayo de Elisa para poder analizar la inflamación que se obtenía al contacto de los agentes con células pulpaes humanas, algo similar se llevó a cabo en el año 2001 y posteriormente en el año 2006 donde se demostró que después de un período de contacto de 10 y 20 min en el grupo experimental, se observó destrucción pulpar de sustancia intercelular y células incluyendo odontoblastos hasta una profundidad de 150  $\mu$ m. Las fibrillas pulpaes y predentina, así como las fibrillas dentinarias, parecían estar intactas y no difieren de los controles. Después de un tiempo de contacto de 1 min, se pudo observar un daño más débil de las células pulpaes y los odontoblastos, así como fibrillas intactas en la pulpa, predentina y dentina. Si bien estos estudios no se manejan de la misma manera, el fin de ambos es analizar la respuesta de las células pulpaes al contacto con agentes de la remoción química-mecánica de caries en su caso Carisolv® y en nuestro caso añadiendo Papacarie® y los agentes experimentales.<sup>33</sup>
- Un estudio dio como resultados que los métodos de eliminación de caries tanto con broca como con agente removedor de caries son similares en las lecturas de DIAGOdent® (9.9 y 7.9 para excavación químio-mecánica y de broca, respectivamente) este estudio podría ser un complemento para nuestra investigación para poder tener más pruebas que nos ayuden a comprobar el uso de manera segura en boca; en este mismo estudio realizaron una prueba microbial donde obtuvieron un crecimiento bacteriano cariogénico de 2.8 y 2.9% para excavación químico-mecánica y de broca, respectivamente), nuestro análisis nos demuestra como el crecimiento bacteriano disminuyó en un periodo de 48 horas en contacto con los agentes,

se utilizaron métodos distintos, sin embargo, el fin fue conocer el crecimiento bacteriano después de la eliminación de caries utilizando como grupo control fresas de carburo.

- Esto sugiere que la excavación químico-mecánica para la eliminación de lesiones cariosas y la reducción de bacterias cariogénicas, es tan eficaz como la excavación convencional con broca. <sup>14</sup>
- En un estudio realizado para conocer el tiempo que se lleva en la eliminación de caries con dos agentes comerciales se encontró que el tiempo medio necesario para la eliminación de la caries fue significativamente mayor para Carie-Care <sup>™</sup> (427,13 s) en comparación con Papacarie (®) (385,8 s), nuestro estudio demuestra que con nuestros agentes experimentales se emplea menor tiempo que Carisolv® y Papacarie®. Además en este estudio se encontró que Papacarie (®) es significativamente más eficiente que Carie-Care <sup>™</sup> en la eliminación de caries con una marcada reducción de los restos bacterianos después de la excavación, al compararlos con nuestro estudio demostramos que Papacarie® si reduce los restos bacterianos después de la excavación al igual que el resto de los agentes removedores que empleamos para este estudio. <sup>35</sup>

## 13. Conclusión

Los agentes experimentales que se desarrollaron mostraron una citotoxicidad moderada sin incremento en su efecto pro-inflamatorio en cultivo con HPC, el agente con fucsina mostró una actividad antimicrobiana (bactericida) en cultivo con *S. mutans*. El tiempo de remoción de caries resultó ser corto en comparación con los tiempos invertidos con los agentes comerciales. Además se observa disminución de las colonias bacterianas después de la remoción de caries a las 48h. En la actualidad el uso de detector de caries es un tema con ciertas controversias en si debe o no usarse, ya que los detectores de caries tiñen zonas de desmineralización, por lo tanto el uso de este solamente es un partícipe para que el clínico se guíe en la eliminación de tejido infectado. Los agentes experimentales para la remoción químico-mecánica de caries tienen un alto potencial para su probable aplicación clínica, sin embargo más estudios son necesarios para su uso seguro.

La hipótesis fue parcialmente aceptable, ya que se comprobó que el agente a base de fucsina tiene una amplia actividad antimicrobiana frente a *S. mutans*, sin embargo nos dimos cuenta que las dosis utilizadas en ambos agentes experimentales siguen siendo moderadamente citotóxicas para las células pulpares.

Se espera realizar más estudios con distintas dosis de los elementos de los agentes experimentales, esto tratando de disminuir la citotoxicidad de estos, además se pretende realizar estudios donde se valore visualmente el piso de la dentina después de la eliminación de caries con cada uno de los agentes, y compararlos a su vez con el piso de la dentina sana, al mismo tiempo valorar la microdureza de estos.

### 13.1. Relevancia Clínica

Estos agentes serán de gran ayuda tanto para el clínico como para el paciente, ya que nos ayudan a reducir el tiempo operatorio en el tratamiento de eliminación de caries, porque al no escuchar el sonido de la turbina de los rotatorios la ansiedad de los niños disminuye de manera muy significativa. Además de ser una herramienta para la eliminación de caries, este agente incluye un instrumento visual para tener mayor fiabilidad de que se ha eliminado totalmente el tejido infectado.

Y por otro lado, se pretende comercializar a bajo costo, para que pueda ser utilizado en zonas marginales y en brigadas comunitarias.

## 14. Referencias bibliográficas

- 1) Guillén C & Chein S. Tratamiento de última generación químico-mecánico de la caries dental. Odontología Sanmarquina [Internet]. 2003 [Consultado 18 Sep 2020]; 6(11): 57-59. Disponible en: [https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/odontologia/2003\\_n11/tratamiento.htm](https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/odontologia/2003_n11/tratamiento.htm)
- 2) De Estrada J. D, Pérez J & Hidalgo-Gato I. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar [Internet]. Facultad de Ciencias Médicas de Matanzas; [Consultado 22 de Nov 2020] Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/est/v43n1/est07106.pdf>
- 3) Flores-Camacho A & Rosas-Ortiz G. Remoción químico-mecánica de caries: reporte de un caso. Tamé [Internet] 2013 [Consultado 22 Nov 2020]; 2(5): 148-153. Disponible en: [http://www.uan.edu.mx/d/a/publicaciones/revista\\_tame/numero\\_5/Tam135-05.pdf](http://www.uan.edu.mx/d/a/publicaciones/revista_tame/numero_5/Tam135-05.pdf)
- 4) Fronza L, Schmitz M, Porn J, García E, Kalil S, & Hilgenberg S. Remoción química-mecánica del tejido cariado en dientes permanentes: reporte de caso clínico. Estomatológica Herediana [Internet] 2017 [Consultado 22 Nov 2020]; 27(2): 111-115. Disponible en: <https://doi.org/10.20453/reh.v27i2.3141>
- 5) Cao O. Remoción Química-mecánica de caries. Salud Militar [Internet] 2015 [Consultado 5 Dic 2020]; 34(1). Disponible en: <https://www.dnsffaa.gub.uy/media/images/pag-58-a-71-remocion.pdf?timestamp=20180425162514>
- 6) González M. Evaluación de la eficacia de la remoción de caries en dientes temporales utilizando dos métodos químicos mecánicos [Internet] 2015 [Consultado 5 Dic 2020]. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/11308/1/1080215452.pdf>
- 7) López M, Amaral R & Kalil S. Proteólisis enzimática del colágeno dentinario. Odontoestomatología [Internet] 2010 [Consultado 6 Dic 2020]; XII (14): 35-44. Disponible en: <http://www.scielo.edu.uy/pdf/ode/v12n14/v12n14a04.pdf>
- 8) Bioquímica de los alimentos [Internet] [Consultado 29 Nov 2020] Disponible en: <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/proteins/colageno.html>
- 9) Navas J. Estructura secundaria, terciaria y cuaternaria de las proteínas [Internet] TEMA 5 08-09.ppt. [Consultado 29 Nov 2020] Disponible en: [https://ocw.unican.es/pluginfile.php/1327/course/section/1638/Tema5\\_estructuras\\_proteinas.pdf](https://ocw.unican.es/pluginfile.php/1327/course/section/1638/Tema5_estructuras_proteinas.pdf)
- 10) de Paz P. Estimulación de la síntesis de colágeno en cultivos celulares. Posible tratamiento de enfermedades degenerativas mediante la dieta [Internet] Granada: Universidad de Granada. 2006 [Consultado 6 Dic 2020]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=47720>

- 11) Núñez D & García L. Bioquímica de la caries dental. *Revista Habanera de Ciencias Médicas* [Internet] 2010 [Consultado 8 Dic 2020]; 9(2): 156-166. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rhcm/v9n2/rhcm04210.pdf>
- 12) Rojas A, Rivera J & Zamarripa J. Odontología mínimamente invasiva: Una alternativa para el tratamiento de la caries dental [Internet] *Educación y Salud Boletín Científico Instituto de Ciencias de la Salud Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*. Educación y Salud Boletín Científico Instituto de Ciencias de la Salud Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 2017 [Consultado 8 Dic 2020]. Disponible en: <https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/ICSA/article/view/2533/2544>
- 13) Quiñones J. Efecto citotóxico de hipoclorito de sodio y EDTA sobre células madre de pulpa dental [Internet] *Repositorio Institucional UANL*. UANL. Universidad Autónoma de Nuevo León: Repositorio académico digital. 2015 [Consultado 8 Dic 2020]. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/9625/>
- 14) Sterer N, Shavit L & Lipovetsky M. Efecto de excavación quimio-mecánica (Carisolv™) sobre las bacterias residuales cariogénicas. *Revista De Mínima Intervención En Odontología*. 2008 [Consultado 8 Dic 2020]; 1(1): 64-72. Disponible en: <http://www.miseeq.com/s-1-1-7.pdf>
- 15) Beeley J, Yip H & Stevenson A. Chemochemical caries removal: a review of the techniques and latest developments. *British dental journal* [Internet] 2000 [Consultado: 8 Dic 2020]; 188(8): 427-430. Disponible en: <http://eprints.gla.ac.uk/189/1/Beeley%5B1%5D.pdf>
- 16) García-Contreras R, Scougall-Vilchis R, Contreras-Bulnes R, Kanda Y, Nakajima H & Sakagami H. Cytotoxicity and Pro-Inflammatory Action of ChemoMechanical Caries-removal Agents Against Oral Cells. *in vivo*. 2014; 28: 549-556.
- 17) Hamama H, Yiu C & Burrow M. Current update of chemomechanical caries removal methods. *ADA* [Internet] 2014 [Consultado 18 Sep 2020]; 59(4): 446-456. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/adj.12214>
- 18) Abhishek M. Chemomechanical Caries Removal: A Conservative and Pain-Free Approach. *Advanced Research in Gastroenterology & Hepatology* [Internet] 2017 [Consultado 9 Dic 2020]; 5(4): 0069-0071. Disponible en: <https://doi.org/10.19080/argh.2017.05.555666>
- 19) Meza M & Moreira C. Evaluación in vitro de un material experimental a base de papaya 2r2m1 a diferentes concentraciones para remoción químico-mecánica de dentina infectada [Internet] *Universidad De El Salvador Facultad De Odontología Coordinación General De Procesos De Graduación*. 2011 [Consultado 9 Dic 2020]. Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/7745/1/17100359.pdf>

- 20) Velazco M. Tratamiento quimio-mecánico de la caries dental. Investigación. 2019 [Consultado 9 Dic 2020]; 13(1): 31-37. Disponible en: [https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos\\_digitales/13625/velazcorfo-1312019.pdf](https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/13625/velazcorfo-1312019.pdf)
- 21) Barrancos P J & Barrancos P. Operatoria Dental/ Dental Operation: Integracion Clinica/ Clinical Integration [Internet] Argentina: panamericana, 2008 [4.a Consultado 9 Dic 2020] Disponible en: <https://books.google.com.mx/books?id=zDFxeYR8QWwC&pg=PA644&lpg=PA644&dq=concentraciones+de+carisolv&source=bl&ots=Bl0suMh4SU&sig=ACfU3U2E0upWuffULWqqHlnWCNQkwpu64g&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwIj5Yat1aHmAhXtHDQIHc1xDDk4ChDoATACegQIChAC#v=onepage&q&f=false>
- 22) Raulino L, Hartley J & Marcílio E. Utilización del gel de la papaya para la remoción de la caries. Reporte de un caso con seguimiento clínico de un año. Acta Odontológica Venezolana [Internet]. 2005 [Consultado 10 Dic 2020]; 43(2): 7. Disponible en: [https://www.actaodontologica.com/ediciones/2005/2/utilizacion\\_gel\\_papaya\\_remocion\\_caries.asp](https://www.actaodontologica.com/ediciones/2005/2/utilizacion_gel_papaya_remocion_caries.asp)
- 23) [Consultado 9 Dic 2020] No disponible: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/2779/fournier\\_aa.pdf?sequence=1](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/2779/fournier_aa.pdf?sequence=1)
- 24) Brown T, Lemay H, Murphy C & Bursten B. La Química de la vida: Química orgánica y biológica. En: Philip De la Vega. Química La Ciencia Central. 12.a. México: Pearson; 2014. 1005-1042.
- 25) Acofarma [Internet]. Carboximetilcelulosa sódica. [Consultado 2 Dic 2020] Disponible en: <https://www.cofgranada.com/formacion/documentos/modulos/CARBOXIMETILCELULOSA.pdf>
- 26) Cell Signaling Technology [Internet]. Ponceau S Staining Solution. [Consultado 6 Dic 2020] Disponible en: <https://www.cellsignal.com/products/buffers-dyes/ponceau-s-staining-solution/59803>
- 27) EcuRed [Internet]. Anexo: Colorantes artificiales básicos. [Consultado 9 Sep 2021] Disponible en: [https://www.ecured.cu/Anexo:Colorantes\\_artificiales\\_basicos#Fucsina\\_b.C3.A1sica\\_o\\_anilina\\_roja](https://www.ecured.cu/Anexo:Colorantes_artificiales_basicos#Fucsina_b.C3.A1sica_o_anilina_roja)
- 28) Feria Virtual interempresas Química [Internet]. Fucsina básica Basic fuchsin - Química - Fucsina básica. [Consultado 14 Dic 2020] Disponible en: <https://www.interempresas.net/Quimica/FeriaVirtual/Producto-Fucsina-basica-Basic-fuchsin-88092.html>



- 29) PanReac AppliChem [Internet]. Fucsina Básica (C.I. 42510) para diagnóstico clínico - ITW Reagents. [Consultado 14 Dic 2020] Disponible en: <https://www.itwreagents.com/italy/es/product/fucsina-basica-ci-42510-para-diagnostico-clinico/251332>
- 30) Giannuzzi L. Efecto del SO<sub>2</sub> residual y de la permeabilidad gaseosa de la película de envase sobre el desarrollo microbiano en papas pre-peladas [Internet]. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales UBA Universidad de Buenos Aires. 1989 [Consultado 14 Dic 2020] Disponible en: [https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis\\_n2277\\_Giannuzzi.pdf](https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n2277_Giannuzzi.pdf)
- 31) Arauco [Internet]. Hoja de datos de seguridad Productos químicos Bisulfito de sodio; 2005 marzo 17 [Consultado 14 Dic 2020] Disponible en: <http://iio.ens.uabc.mx/hojas-seguridad/bisulfito%20de%20sodio.pdf>
- 32) Valderrama J. Información Tecnológica [Internet]. Centro de información tecnológica CiT: 8.a, 1. 1997 [Consultado 14 Dic 2020]. Disponible en: [https://books.google.com.mx/books?id=vnODS0oPKcAC&pg=PA58&lpg=PA58&dq=bisulfito+de+sodio+citotoxico&source=bl&ots=JGWQRjO5\\_n&sig=ACfU3U3U4idPI2QGIOpboxLrbJO2oWxEyHg&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwih99Xpxq\\_qAhXGB80KHRg-AWQQ6AEwAnoECAkQAQ#v=onepage&q=bisulfito%20de%20sodio%20citotoxico&f=false](https://books.google.com.mx/books?id=vnODS0oPKcAC&pg=PA58&lpg=PA58&dq=bisulfito+de+sodio+citotoxico&source=bl&ots=JGWQRjO5_n&sig=ACfU3U3U4idPI2QGIOpboxLrbJO2oWxEyHg&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwih99Xpxq_qAhXGB80KHRg-AWQQ6AEwAnoECAkQAQ#v=onepage&q=bisulfito%20de%20sodio%20citotoxico&f=false)
- 33) Dammaschke T, Stratmann U, Mokrys K, Kaup M, Ott K. Histocytological evaluation of the reaction of rat pulp tissue to Carisolv. Elsevier [Internet]. 2001 [Consultado 16 Dic 2020]; 29(4): 283–290. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030057120100015X>
- 34) Dammaschke T, Stratmann U, Danesh G, Schäfer E & Ott K. Reaction of rat pulp tissue to Carisolv 'new gel'—A histocytological evaluation. ADA [Internet]. 2006 [Consultado 16 Dic 2020]; 51(1): 57-63. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2006.tb00402.x>
- 35) Sahana S, Vasa A, Geddam D, Reddy V, Nalluri S & Velagapudi N. Effectiveness of chemomechanical caries removal agents Papacarie® and Carie-Care™ in primary molars: An in vitro study. Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry [Internet]. 2016 [Consultado 14 Dic 2020]; 6(4): 17-22. Disponible en: <https://doi.org/10.4103/2231-0762.181162>
- 36) Ortega M, Mota V & López J. Estado de Salud Bucal en Adolescentes de la Ciudad de México. Revista de Salud Pública [Internet]. 2007 [Consultado 14 Dic 2020]; 9(3): 380-387. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/s0124-00642007000300006>
- 37) De La A Martillo DJ Tesis [Internet]. 2013-06-21 [Consultado 9 de Marzo de 2021]. Recuperado a partir de: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/3416>



- 38) Fundación Argentina del Tórax [Internet] Citotoxicidad; [Consultado 12 Sep 2021] Disponible en: <https://www.fundaciontorax.org.ar/page/index.php/pacientes/diccionario/1022-citotoxicidad>
- 39) Arthritis Foundation [Internet] La artritis; [Consultado 12 Sep 2021] Disponible en: <http://espanol.arthritis.org/espanol/la-artritis/preguntas-frecuentes/pf-inflamacion/>
- 40) Fica A. Aspectos básicos sobre antimicrobianos I Basics about antimicrobial agents I. Biomédica [Internet] 2005 [Consultado 12 Sep 2021]; 5(2) Disponible en: <https://www.medwave.cl/link.cgi/Medwave/Reuniones/medicina/2005/2/2522>
- 41) Power by Oxford, Lexico [Internet] Tiempo; [Consultado 12 Sep 2021] Disponible en: <https://www.lexico.com/es/definicion/tiempo>
- 42) Dicciomed [Internet] Agente; [Consultado 12 Sep 2021] Disponible en: <https://dicciomed.usal.es/palabra/agente>
- 43) OxfordLanguages [Internet] [Consultado 12 Sep 2021]