

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

USO DE BARNICES FLUORADOS COMO MÉTODO DE PROTECCIÓN CONTRA LA DESMINERALIZACIÓN DENTAL E INHIBICIÓN DE LA FORMACIÓN DE EXOPOLISACÁRIDOS PRODUCIDOS POR Streptococcus mutans SOBRE SUPERFICIES DENTALES in vitro.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANA DENTISTA

PRESENTA:

DULCE ELENA HERNÁNDEZ DELGADO

TUTOR: Dr. MIKADO ALEJANDRO NIDOME CAMPOS

ASESOR: Dr. ENRIQUE ROMO ARÉVALO ASESOR: Dr. GONZALO MONTOYA AYALA

MÉXICO, Cd. Mx. 2023





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

LI	STA DE ABREVIATURAS	1
RF	ESUMEN	3
ΑĒ	SSTRACT	5
IN	TRODUCCIÓN	7
\mathbf{M}_{2}	ARCO TEÓRICO	9
Ca	vidad oral	9
Esi	malte dental	11
Pro	opiedades físicas del esmalte.	12
Pro	oceso de desmineralización del esmalte	12
		13
	<u> </u>	15
Pro	oceso de remineralización del esmalte	16
Μé	étodo de protección contra la desmineralización dental (Fluoruros dentales)	18
Ac	ción del Fluoruro sobre los microorganismos que componen a la biopelícula dental	19
Ad	ministración de Fluoruro en pacientes	20
Ba	rnices fluorados modificados	23
Ba	rnices con fosfato de calcio	23
Ba	rnices con silano	24
Ba	rnices con CPP-ACP Y CCP-ACFP	25
PL	ANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3 5 7 7 9 9 11 12 12 13 13 14 15 15 16 16 16 16 16 17 18 19 19 19 10 11 11 12 12 12 13 14 15 15 16 16 16 16 17 18 18 19 19 19 19 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10
JU	avidad oral	
HI	PÓTESIS	26
OF	3JETIVOS	27
Ge	neral:	27
Esj	pecíficos:	27
\mathbf{M}_{2}	ATERIALES	28
Ml	ETODOLOGÍA	29
1.	Elaboración de muestras de esmalte dental	29
2.	Acondicionamiento de las superficies de esmalte dental con barniz fluorado	29
3. en	±	

4. este	Análisis de muestras de esmalte incubadas en medio ácido mediante microscopía reoscópica)
5. elec	Análisis de muestras de esmalte incubadas en medio ácido mediante microscopía etrónica de barrido.)
6.	Pruebas de inhibición de la adhesión de exopolisacáridos producidos por S. mutans30)
7. mic	Análisis de inhibición de la adhesión de exopolisacáridos de <i>S. mutans</i> mediante roscopía estereoscópica.	1
RE	SULTADOS	2
1.	Elaboración de muestras de esmalte dental	2
2.	Acondicionamiento de las superficies de esmalte dental con barniz fluorado33	3
3. en r	Pruebas de protección contra la desmineralización e incubación de muestras de esmalte nedio ácido	
4. este	Análisis de muestras de esmalte incubadas en medio ácido mediante microscopía reoscópica	5
5. elec	Análisis de muestras de esmalte incubadas en medio ácido mediante microscopía etrónica de barrido	7
6.	Pruebas de inhibición de la adhesión de exopolisacáridos producidos por S. mutans 41	1
7. mic	Análisis de inhibición de la adhesión de exopolisacáridos de <i>S. mutans</i> mediante roscopía estereoscópica	1
DIS	SCUSIÓN48	3
CO	NCLUSIONES51	1
RE	FERENCIAS52	2

LISTA DE ABREVIATURAS

ACP	Fosfato de Calcio Amorfo (nanocomplejo amorfo)
AN	Anorexia Nerviosa
BN	Bulimia Nerviosa
CAD	Conexión Amelodentinaria
CaF ₂	Fluoruro de Calcio
(Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂)	Hidroxiapatita
CPP-ACP	Fosfato de Calcio Amorfo - Fosfopéptido De Caseína
CLSM	Microscopio de Láser Confocal
GPa	Giga-Pascal (Unidad de medida de dureza por nanoindentación)
HA / HAp	Hidroxiapatita
M	Molar
MEB	Microscopio Electrónico de Barrido
mg	Miligramo
μg	Microgramo
μm	Micrómetro
μΙ	Microlitro
OMS	Organización Mundial de la Salud
рН	Medida del grado de acidez o alcalinidad de una solución
ppm	Partes por Millón
TCA	Trastorno de Conducta Alimenticia
TCP	Fosfato Tricálcico

AGRADECIMIENTOS

Gracias, Dios, por permitir cumplir este sueño, el de ser cirujana dentista. Por estar conmigo a cada comento, por proveerme de los medios necesarios para culminar esta etapa de mi vida y así poder cumplir este sueño de ayudar a las personas con mi conocimiento.

A mis padres, mil gracias por apoyarme incondicionalmente en todos mis proyectos y logros de vida, principalmente a mi madre por creer siempre en mí, por sus concejos, así mismo darme siempre su cariño. ¡Gracias! porque gracias a ustedes, soy una mujer exitosa. A mi padre que con mucho amor estuvo conmigo al inicio de este proyecto apoyándome y no pudo verme realizada, pero hasta el último día de su vida estuvo al pendiente del proceso.

A mis hermanas, Alejandra y Argelia. Gracias por estar presentes y hacerme mis días soleados a pesar de mi forma de ser. Les dedico este trabajo para que me tomen de ejemplo y que sepan que ustedes también pueden, sin importar de dónde vengamos, no importa de qué lugar, simplemente se logra, el límite del éxito siempre lo pondrán ustedes, las amo y yo también las quiero verlas tituladas.

A ustedes (mi abuela Manuela y mi tío José Antonio) que no están conmigo en estos momentos, pero siempre fueron un ejemplo a seguir; por sus forma de ser, su cariño, los consejos tan sabios, su gran inteligencia sin tener una carrera universitaria.

A cada uno de los doctores que compartieron sus conocimientos, enseñanzas, así como experiencias y por supuesto gracias a la universidad nacional autónoma de México, Facultad de odontología por abrirme sus puertas y formar parte de ella.

RESUMEN

El biofilm se ha descrito como, un conjunto de comunidades microbianas que crecen embebidas en una matriz de exopolisacáridos y son adheridas a una superficie inerte o un tejido (esmalte dental). Cada día nos esforzamos por combatir la película de bacterias que recubre la superficie de los dientes con diferentes productos (dentífricos, colutorios, geles, barnices etc.), para evitar un desarrollo excesivo de microorganismos que puede provocar un deterioro del tejido dental, que a su vez da como resultado la caries dental.

En la actualidad se ha considerado a "la caries dental, como una de las enfermedades con mayor incidencia en los seres humanos y es considerada como un problema de salud público", ya que es transmisible y multifactorial; siendo el principal factor de esta los ácidos producidos por las bacterias en la biopelícula dental (microorganismos, principalmente *Streptococc*us *mutans*). La presencia constante de esta enfermedad nos lleva a la prevención primaria, que resulta en la intervención del crecimiento de microorganismos en la cavidad oral, controlando uno de los principales factores que provoca la caries dental.

En cavidad bucal, se lleva a cabo un proceso fisiológico de desmineralización y remineralización que mantiene la integridad del esmalte; sin embargo, el desbalance de dichos procesos puede causar la pérdida del tejido. De manera general, se postulan dos causas principales: desmineralización asociada a microorganismos (caries) y la no asociada a microorganismos (erosión endógena o exógena), por ejemplo, el consumo de alimentos y bebidas ácidas, los vómitos constantes y los cambios de pH en la cavidad oral.

La remineralización del esmalte dental es un proceso en el cual se deben incorporar iones de calcio, fosfato y/ o fluoruro en la superficie del diente. Las aplicaciones tópicas de fluoruro dental son una terapéutica ampliamente usada para prevenir la caries, ya que podría disminuir la desmineralización y promover la remineralización del esmalte; además de inhibir la producción de exopolisacáridos generados por el metabolismo bacteriano.

La finalidad de este trabajo es aportar conocimiento acerca de la posible protección que nos brindan los barnices fluorados que se comercializan para contrarrestar la desmineralización y la inhibición de formación de la biopelícula dental, para cumplir con los

objetivos planteados; se obtuvieron muestras de esmalte dental porcino y diferentes marcas de barnices dentales a base de fluoruro.

Las muestras se evaluaron para determinar su capacidad de prevenir la desmineralización del esmalte en condiciones acídicas y su capacidad de inhibir la adhesión de *S. mutans*. Como resultado de este trabajo, se concluyó que ciertos barnices no cumplen con la protección y los efectos que mencionan los fabricantes. Sin embargo, el barniz que mostró mejores resultados fue el **FluorProtector®** (**Vivadent**), en comparación con las otras marcas comerciales evaluadas.

ABSTRACT

Biofilm is described as communities of microorganisms that grow embedded in a matrix of exopolysaccharides and adhered to a surface or inert tissue (dental enamel). Every day we strive to combat the film of bacteria that covers the surface of the teeth with different products (toothpastes, mouthwashes, gels, varnishes, etc.), to avoid excessive development of microorganisms that can cause deterioration of the dental tissue, which in turn results in tooth decay.

Currently, dental caries has been considered one of the diseases with the highest incidence in humans and is considered a public health problem, since it is transmissible and multifactorial; The main factor being the acids produced by bacteria in the dental biofilm (microorganisms, mainly Streptococcus mutans). The constant presence of this disease leads us to primary prevention, which results in the intervention of the growth of microorganisms in the oral cavity, controlling one of the main factors that causes dental caries.

In the oral cavity, a physiological process of demineralization and remineralization takes place that maintains the integrity of the enamel; However, the imbalance of these processes can cause tissue loss. In general, two main causes are postulated: demineralization associated with microorganisms (caries) and that not associated with microorganisms (endogenous or exogenous erosion), for example the consumption of acidic foods and drinks, constant vomiting and changes in pH in the oral cavity.

Remineralization of tooth enamel is a process in which calcium, phosphate and/or fluoride ions must be incorporated into the tooth surface. Topical applications of dental fluoride are a widely used therapeutic to prevent cavities, since it could reduce demineralization and promote enamel remineralization; in addition to inhibiting the production of exopolysaccharides generated by bacterial metabolism.

The purpose of this work is to provide knowledge about the possible protection offered by fluorinated varnishes that are marketed to counteract demineralization and inhibition of dental biofilm formation, to meet the stated objectives; Samples of porcine tooth enamel and different brands of fluoride-based dental varnishes were obtained.

Samples were evaluated for their ability to prevent enamel demineralization under acidic conditions and their ability to inhibit adhesion of *S. mutans*. As a result of this work, it was concluded that certain varnishes do not meet the protection and effects mentioned by the manufacturers. However, the varnish that showed the best results was the **FluorProtector®** (**Vivadent**), compared to the other commercial brands evaluated.

INTRODUCCIÓN

La biopelícula dental, está compuesta por comunidades de microorganismos, aproximadamente 500 especies bacterianas diferentes (Moore, Holdeman et al. 1982; Moore, Holdeman et al. 1983; Paster, Boches et al. 2001). La biopelícula dental está formada por comunidades microbianas adheridas a la superficie dental, embebidas en una matriz de exopolisacáridos y organizadas en una estructura tridimensional, que protege a los microorganismos contra / ante el sistema inmune del hospedero y de agentes antimicrobianos, y en general provee un ambiente benéfico para los microorganismos (Marsh and Bradshaw 1995; Costerton, Cook et al. 1999; Molin 1999).

El acontecimiento para la formación de una biopelícula es la adhesión de los microorganismos, Jones e Isaacson 1983, menciona que "los microorganismos, poseen mecanismos específicos para adherirse a los tejidos o superficies. Muchas bacterias poseen componentes proteínicos en su superficie llamados: "adhesinas", los cuales se unen de manera específica a moléculas complementarias o "receptores" que se encuentran en la superficie de los tejidos" (Jones and Isaacson 1983; Gibbons 1984). En 1967, se descubre que las adhesinas están asociadas a las fimbrias o pilis de las bacterias. Muchas de estas adhesinas son lectinas, que se unen a receptores sacáridos. La superficie del esmalte está cubierta por una delgada capa llamada "película adquirida". Esta generalmente tiene menos de 1 micrómetro (µm) de espesor y se forma por la adsorción selectiva de los componentes de los fluidos orales (componentes de la saliva y fluido crevicular, así como productos bacterianos) a la superficie apatita mineral (HA) del esmalte (Ericson 1967; Hay 1967).

Los primeros colonizadores de la película adquirida son cocos y bacilos Gram-positivos, principalmente de los géneros *Streptococcus* sp. y *Actinomyces* sp. que se adhieren a la superficie dental mediante moléculas derivadas de componentes salivales y del fluido crevicular (Saxton 1973; Theilade, Theilade et al. 1982; Scannapieco 1994; Jenkinson and Lamont 1997), (Gibbons, Hay et al. 1988; Gibbons, Hay et al. 1991; Kolenbrander, Andersen et al. 1999). "Los primeros microorganismos para la formación de la biopelícula, son de gran importancia en la formación de esta, ya que poseen receptores que ayudan a la especificación de las diferentes especies bacterianas que se coagregarán a la estructura inicialmente formada" (Gibbons and Nygaard 1970; Cook, Costerton et al. 1998).

La presencia de patogenos es fundamental para el desarrollo y progreso de la caries dental, la bacteria más implicada en el proceso es el *Streptococcus*, posteriormente las especies; *mutans, sanguinis* y *salivarius*, y *sobrinus*. Este aspecto bacteriológico determina a la caries dental como una enfermedad transmisible en los seres humanos (N.L. Thenisch,2006). Al ser una de las enfermedades con mayor incidencia en los seres humanos, se considera un problema de salud pública. "La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a caries dental como, un proceso localizado de origen multifactorial que se inicia después de la erupción dentaria, esta provoca el reblandecimiento de tejido del diente debido a la acción de microorganismos sobre los carbohidratos fermentables provenientes de la dieta, que puede evolucionar hasta la formación de una cavidad, debido al efecto ácido que producen los microrganismos por medio de su metabolismo".

El conjunto de factores (hospedero, microbiota, carbohidratos y el tiempo) que condicionan la presencia y progresión de la caries dental constituyen un medio donde cada elemento puede ser un factor de riesgo para que se lleve a cabo la enfermedad y esta a su vez se convierta en un elemento para su prevención y control (Fejerskov et al, 1994).

Al ser una enfermedad transmisible la caries, su prevención primaria se debe centrar en la intervención e inhibición sobre la colonización de la microbiota oral controlando así uno de los principales factores predisponentes a presentar la enfermedad, incluyendo aspectos como su origen, higiene oral, hábitos dietéticos y el uso racional del fluoruro (American Academy of Pediatrics, 2008). Según las recomendaciones de la Asociación Dental Americana, la aplicación de barnices del fluoruro es particularmente benéfica en sujetos con riesgo moderado o alto de caries; ya que intervine en la formación de la biopelícula por *Streptococcus mutans* evitando la desmineralización por efectos ácidos, para niños menores de 6 años, el barniz de fluoruro es el único producto de fluoración recomendado debido al bajo riesgo de ingestión y por lo tanto de intoxicación.

MARCO TEÓRICO

Cavidad oral

La cavidad oral es un conjunto de estructuras bien definidas, que pertenece al inicio del sistema digestivo; a través de ella se ingieren los alimentos y se emiten los sonidos. La cavidad se compone por tejidos blandos, como son; mucosas y lengua, los tejidos duros representados por los dientes y huesos maxilares. Esta se encuentra en lubricación constante por el flujo de saliva que es excretado por glándulas salivares mayores y menores (Basterra, 2005).

Moore ubica la cavidad oral en la porción inferior de la cara, describe que está conformada por la lengua, dientes, encías, paladar duro y blando, mucosa yugal (mejillas) y las glándulas salivales, que son responsables del primer paso de la digestión, ellos permiten la formación del bolo alimentario mediante la masticación y deglución de los mismos (Moore, et al.2014). Cobeta, menciona que la cavidad bucal está constituida por seis paredes de diferentes tejidos; labios (anterior), velo del paladar (posterior), bóveda palatina (superior), piso de la boca (inferior) y mejillas (laterales). La mucosa bucal está formado por un epitelio estratificado plano que se apoya sobre una lámina propia de tejido conectivo y en los labios encontramos una capa de submucosa laxa, como; vasos sanguíneos y glándulas salivales menores, así como la capa de tejido conectivo denso en la bóveda palatina la cual permite mayor firmeza de esta (Cobeta, et al, 2003).

Las mejillas forman las paredes laterales en la cavidad oral. Los labios son músculos que rodean la apertura bucal. Durante la masticación las mejillas y los labios mantienen los alimentos en la boca entre los dientes superiores e inferiores. Los labios también contribuyen al habla. El paladar forma el techo de la cavidad oral y la separa de la cavidad nasal. La mayor parte del techo de la boca es una estructura ósea denominada paladar duro; el resto está formado por el paladar blando qué es estructura muscular. Durante la deglución, la úvula y el paladar blando se elevan para ocluir la parte superior de la faringe (garganta). Esto evita que los alimentos y los líquidos deglutidos ingresen a la cavidad nasal (Derrickson, 2018).

La lengua forma el piso de la cavidad oral, es un órgano digestivo accesorio que está compuesto principalmente, por músculo esquelético. Costa de diecisiete músculos, que desplazan los alimentos para su masticación y digestión, en conjunto se encargan de darle la forma y el tamaño de la lengua, además de ayudar en la deglución y el habla. Además contiene glándulas linguales y papilas gustativas que nos dan el sentido del gusto,las primeras gandulas secretan moco y un líquido que contiene enzimas digestivas (lipasa) que actúa sobre los triglicéridos y las segundas poseen células receptoras que detectan sustancias químicas que están presentes en nuestros alimento, para el sentido del gusto (Derrickson, 2018).

"Los dientes forman parte de la región bucal, son órganos con múltiples funciones; contribuyen en la digestión mediante la masticación, la fonación y como parte de la anatomía facial dando soporte y anatomía a las estructuras faciales, están localizados en los alvéolos de los maxilares superiores e inferiores". Cada diente está formado por capas de esmalte, compuesto principalmente en un 94% de hidroxiapatita (Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂) y en un 4% de material orgánico y agua. El esmalte es el tejido más duro del cuerpo humano, debido a su mayor contenido de sales de calcio (alrededor de 95% del peso seco), al ser el tejido más duro del cuerpo sirve para proteger los dientes del desgaste y la acción de la masticación. Asimismo, sirve de protector contra ácidos que pueden disolver con facilidad las partes internas del diente (Hernández, et al, 2016).

Caro L. divide en dos espacios a la cavidad oral, considerando las arcadas dentales conformadas por los dientes y el hueso alveolar, estas tienen forma de herradura en una vista transversal y las recubren los labios y la superficie interna de los carrillos. La cavidad oral propiamente dicha, se comprende por las arcadas dentales y el istmo de las fauces, a su vez protege estructuras vitales para el proceso de digestión primaria de los alimentos (Caro, L. 2012).

Los tejidos mineralizados de los seres vivos (tejidos que componen a diente junto con los el hueso alveolar) se forman a través el proceso fisiológico de interacción de minerales y moléculas extracelulares llamada biomineralización. "El hueso de los seres humanos y los órganos dentarios son tejidos calcificados que estan compuestos principalmente de fosfato de calcio en forma de hidroxiapatita, este es depositado mediante la interacción con las células del ectomesénguima sobre las células epiteliales" (Kawasaki, et al. 2009).

Esmalte dental

El esmalte, también llamado tejido o sustancia adamantinos, es el tejido dentario que cubre a la dentina en su porción coronal del diente, dándole protección al complejo dentino pulpar. Este tejido está diseñado para resistir grandes fuerzas mecánicas (masticación) y ser sometido a cambios periódicos en temperatura, pH y el combate de agentes microbianos; pero no cuenta con la capacidad de regeneración (Thenisch, et a.2006). El esmalte dental, es considerado el tejido más duro del organismo, gracias a su estructura que está formada por miles de varillas o prismas mineralizadas que lo recorren en toda su estructura, desde la conexión amelodentinaria (CAD) hasta su superficie externa que se encuentra el medio bucal (Gómez de Ferraris, et al,2009).

"El esmalte, se encuentra expuesto en ralacion con el medio bucal, en su parte externa. Los dientes recién erupcionados están recubiertos por una película primaria, que es el producto final de la secreción ameloblástica, esta le permite una protección en los primeros añosque se encuentran expuestos en la cavidad oral, pero desaparece al entrar en oclusión con los demás dientes; en ocasiones persiste temporalmente en el tercio cervical. Una vez que los dientes tienen contacto con su antagonista, se cubren con una película secundaria exógena que es originada por la salival (película adquirida), en la cual, se desarrollan los microorganismos formando parte de ella" (N.L. Thenisch,2006).

El grosor del esmalte, no es constante y varía en los distintos órganos dentales. En general, el espesor disminuye desde el borde incisal o cuspídeo hacia la región cervical. Presenta mayor espesor a nivel mesial de la cara vestibular que por la cara lingual, su mínimo espesor se encuentra en la unión amelo cementaría (UAC), en particular es sumamente delgado en los surcos intercuspídeos y fosas de los órganos dentales. En las zonas o defectos anatómicos del esmalte, existe una gran posibilidad de formación de caries por la disminución del espesor de este tejido. El espesor máximo del esmalte va de 2 a 3 mm y se encuentra en las cúspides de los dientes posteriores y en el borde libre de los dientes anteriores, que son las zonas de mayor impacto masticatorio (Margolis, et al, 2014).

Propiedades físicas del esmalte.

La dureza del esmalte es gracias a la hidroxiapatita esta corresponde a 5 en la escala de Mohs, que es la escala que nos permite determina la dureza de ciertas sustancias en una numeración del 1 al 10. En diferentes estudios de resistencia se ha determinado que los valores promedios del esmalte permanentes son entre 2.5 y 6 GPa. La dureza del esmalte dental puede variar según la zona; en la periférica oclusal se puede llegar a 6 GPa, ya que es mineral de apatita es puro, libre de materia orgánica, en la zona próxima a UAD, los valores se encuentran entre los 2.5 y 3 GPa por su espesor (Marshall, et al, 2001).

La elasticidad del esmalte es muy escasa, debido a la mínima cantidad de agua y de sustancia orgánica que posee. La encargada de brindarle la elasticidad es el apoyo dentinario, esta evita las macro y microfracturas cuando tiene un grosor normal, al igual le permite al esmalte realizar pequeños micro movimientos sobre ella sin fracturarse. Esta propiedad es amentada en la zona del cuello así como en la periferia de la cabezda del prisma del esmalte por el mayor contenido de dentina que es la sustancia orgánica del diente" (Marshall, et al, 2001).

Marshall describe que la permeabilidad en el esmalte es escasa, pero mediante la tecnología radioactiva o radioisótopica se ha comprobado que el esmalte puede actuar como membrana semipermeable, permitiendo la propagación de moléculas de agua y de iones presentes en la cavidad oral. Este sistema submicroscópico de poros se utiliza para el primer grado de prevención dado por el aporte de fluoruros de aplicación tópica, como son; dentífricos, geles o colutorios. "Los iones flúor que se encuentran en los barnices odontológicos reemplazan los grupos de hidroxilos del cristal de apatita, dándole al diente una protección para evitar la solubilidad del esmalte por los ácidos lo que aumenta la resistencia a las caries" (Marshall, et al, 2001).

Proceso de desmineralización del esmalte.

El esmalte dental sufre un proceso de desmineralización fisiológica que normalmente va acompañado de la remineralización de su superficie, que depende de la supersaturación de iones, el pH y la temperatura idóneos para la formación del mineral, siendo la saliva un amortiguador natural para limitar el proceso de disolución por ser rica en iones de calcio y

fosfato (Abou, et al 2016, Loke et al 2016, Monterde et al 2002). El desbalance del proceso fisiológico de desmineralización-remineralización puede verse alterado por factores extrínsecos o intrínsecos que condicionan la integridad de los tejidos dentales, particularmente la del esmalte dental, que es el único tejido dental expuesto al medio bucal (Loke et al, 2016).

Proceso de desmineralización del esmalte asociado a la presencia de ácidos de origen bacteriano.

La biopelícula dental tiene un desarrollo ordenado de colonias, conocido como sucesión microbiana, para que los principales colonizadores pueden adherirse en la superficie del deinte, es necesario las interacciones fisicoquímicas no específicas con las moléculas cargadas provenientes de las bacterias y del hospedero (Busscher, et al.1997) "Simultáneamente las adhesinas bacterianas y los receptores complementarios de la película dental establecen una serie de conexiones intermoleculares específicas bastante fuertes, dando resultado una adherencia irreversible" (Whittaker, et al.1996, Jenkinson 1997).

Una vez adheridos a la superficie, estos colonizadores primarios crecen, modificando las condiciones medioambientales locales generando un ambiente favorable para los microorganismos anaerobios. Los últimos colonizadores se unen con diferentes especies bacterianas por medio de la cohesión (Busscher, et al.1997, Kolenbrander, et al. 1993). De esta manera se formarán biopelículas estructuralmente complejas compuestas por diversas especies de microorganismos.

La biopelícula se desarrolla naturalmente, pero también está ligada con las enfermedades bucales más prevalentes que son; la caries dental y la enfermedad periodontal. La microbiota de la biopelícula es derivada de diferentes zonas de la superficie dental y muestra una composición diferente. La disparidad proviene del suministro de nutrientes, el pH y el potencial redox de cada sitio. "El suministro de nutrientes para la microbiota, abarca dos categorías: 1) los endógenos, dado por las proteínas y glicoproteínas provenientes de

la saliva y del fluido crevicular y 2) los exógenos, dado por los carbohidratos provenientes de la dieta" (Marsh, et al.1999).

Marsh considera que los carbohidratos son los principales nutrientes que afectan la microbiota oral. Estos microorganismos (bacterias) metabolizan intracelularmente de los carbohidratos, causando la producción de ácidos que producen la biopelícula dental" (Marsh, et al.1999). Black creía que las bacterias dentro de la biopelícula dental generan ácidos que disuelven el tejido duro dental. El trabajo de Black, junto con la teoría quimioparásita de Miller, subrayó el importante papel de la biopelícula dental en la etiología de la caries dental (GV, Black 1898).

Los investigadores en este campo propusieron que la virulencia de *Streptococcus mutans* reside en tres atributos centrales, incluidas las capacidades para metabolizar la sacarosa de la dieta para formar polisacáridos insolubles que median la colonización persistente de las superficies dentales, capacidades para producir grandes cantidades de ácidos orgánicos (principalmente ácido láctico) a partir de una amplia variedad de carbohidratos (acidogenicidad), y capacidad para tolerar el estrés ambiental, particularmente pH bajo que son tóxicos para la mayoría de las otras especies bacterianas presentes en la boca (acidez). (Kleinberg, 2002).

La caries dental se manifiesta como un proceso de desmineralización dentro del medio bucal. La desmineralización es un desequilibrio continuo entre los factores patológicos y protectores que da como resultado la disolución de los cristales de apatita y la pérdida neta de calcio, fosfato y otros iones del diente, convirtiéndose en una enfermedad (Robinson, et al, 2000). La primera etapa de desmineralización está ocurriendo a nivel atómico mucho antes de que pueda identificarse visualmente como una desmineralización total. Durante este paso, las bacterias de la biopelícula dental metabolizan los carbohidratos fermentables para producir ácidos orgánicos. Los ácidos se difunden en el tejido dental duro a través del agua entre los cristales y podrían llegar a un sitio susceptible en la superficie de un cristal. El calcio y el fosfato se disuelven en la fase acuosa circundante entre los cristales (Featherstone 2008). Esto se considera como el primer paso en el proceso continuo de la caries dental que eventualmente puede conducir a la cavitación.

Sovik JB considera que el proceso de desmineralización y remineralización es un ciclo que puede cambiar con a la dieta. Los alimentos con aumento de carbohidratos son metabolizados por las bacterias que se encuentran presentes en la biopelícula dental, originando un cambio en el pH produciendo la disminución de iones en la estructura del tejido. "Si la producción de ácido es continua, romperá los cristales y ocasionará la degradación de la matriz de proteínas estructurales" (Sovik et al, 2015).

Proceso de desmineralización del esmalte asociado a ácidos de origen no bacteriano (Erosión)

La erosión dental es considerada por diferentes autores; "la degradación del tejido mineral del diente es provocado por un proceso químico, debido a la disminución del pH en la cavidad ora, sin la participación de bacterias" (Lussi, 2006), que puede ser provocado por la ingesta de alimentos y bebidas ácidas o por trastornos de la conducta alimentaria caracterizados por el vómito constante.

La parte externa del esmalte es afectada por el cambio de pH de los diferentes ácidos en la cavidad bucal, la hidroxiapatita (HA) es diluida por lo que se liberan iones de fosfato de calcio, dando como resultado el ablandamiento de la estructura cristalina. Cuando los ácidos son depositados directos en el esmalte, aumenta la pérdida de iones, provocando la pérdida de la superficie, advirtiendo la susceptibilidad de la abrasión, revelando la presencia de una cavitación en la superficie dental (Baumann et al, 2015, Chien et al, 2016).

"La OMS define los trastornos de conducta alimentaria (TCA) como enfermedades mentales que se caracterizan por la excesiva pérdida de peso de manera deliberada por parte de una persona, arriesgando su propia salud por culpa de ayunos continuos y prolongados, aplicando técnicas poco saludables para lograr el objetivo principal el cual consiste en no aumentar de peso". En las últimas décadas se ha observado un aumento en los trastornos de la conducta alimentaria principalmente en los jóvenes ya que llevan el tema del autoestima a convertirse en un factor social determinante para ser aceptados dentro de un círculo social (Forney, K. J. et al, 2016).

Las conductas purgativas son asociadas principalmente a trastornos alimenticios. Dentro de estos tipos de trastornos se encuentra la Anorexia Nerviosa (AN) y la Bulimia Nerviosa (BN) (vómitos auto provocados, así como uso inapropiado de laxantes, diuréticos y edemas)

(American Psychiatric Publishing, USA, 2013). "La conducta purgativa más recurrida en los trastornos de la conducta alimentaria es el vómito autoprovocado, es utilizado para la compensación de atracones y pérdida de peso, en personas bulímicas es frecuente encontrar alteraciones dentales como la erosión causadas por el ácido gástrico que se presenta en la regurgitación" (Forney, K. J. et al, 2016).

"En el estudio de Conviser y colaboradores realizado en el año 2014, encuestaron a más de doscientas personas en tratamiento por TCA encontraron que un 63% de los participantes tenían erosión del esmalte y un 69% encías sensibles. Hasta un 42,9% hizo referencia a dolores dentales; un 37,1% presentaban caries y un 39,1% presentaba recesión gingival" (Conviser JH, et al, 2014). Según Forney la erosión dental puede aparecer a partir de los seis meses de vómitos autoprovocados por el TCA, al paso del tiempo la erosión puede llegar a dejar expuesta la dentina, manifestando hipersensibilidad dental. Esta altera principalmente las superficies palatinas de los dientes anteriores, así como las caras internas de posteriores (Forney, K. J. et al, 2016; Brown CA. et al, 2013).

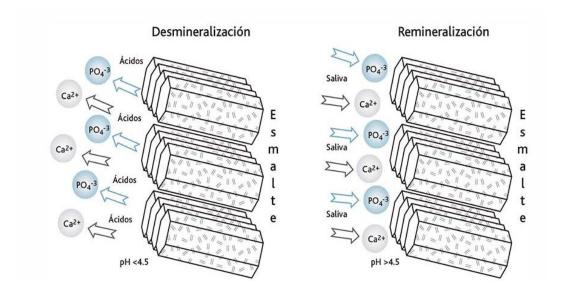
Proceso de remineralización del esmalte.

La remineralización del esmalte es un proceso por el cual se incorporan iones de diferentes elementos en la superficie del esmalte dañado (desmineralizado), estos pueden ser de fluoruro, fosfato o calcio (Morandian-Oldak,2012). Para que la remineralización se lleve a cabo es necesario un bajo un pH neutro dentro de la cavidad oral, así las concentraciones de iones se encuentren sobresaturadas para permitir la incorporación de estos en la superficie externa de la lesión (mancha blanca). Los minerales (fluoruro, fosfato, calcio) que se depositan inicialmente en la zona remineralizada son solubles facilitando este proceso (Amrollanhi, et al, 2016, Li X, et al, 2014)

El mineral más presente en los fluidos bucales es el fluoruro, este tiene una función importante en la morfología de los cristales de fosfato de calcio donde se lleva a cabo la remineralización del esmalte. Diferentes autores han realizado estudios donde han demostrado que las concentraciones de fluoruro y el grado de supersaturación son fundamentales para la incorporación en la estructura cristalina, así mismo ofrece una mayor resistencia a la solubilidad, además que poseer actividades antimicrobianas. La acción del fluoruro ha demostrado inducir la formación de fluorapatita por medio de una relación directa con la hidroxiapatita ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$), sustituyendo el grupo OH por ion F- o promoviendo

la transformación de otras fases de fosfato de calcio como fosfato octacálcico y fosfato dicálcico deshidratado (Kanduti, et al,2016).

En la odontología moderna se ha comprobado que "el calcio y el fosfato son componentes necesarios para el mantenimiento de la homeostasis del esmalte, las concentraciones de ambos iones tanto en la saliva como en las en la biopelícula dental tiene una función importante a los procesos de desmineralización y remineralización. Se ha demostrado que la concentración de supersaturación del calcio es mucho más importante que el fosfato para evitar la disolución del esmalte" (Li X, et al, 2014, Kanduti, et al,2016)



Proceso de desmineralización: pérdida de iones causado por la presencia de ácidos. La saliva determina el proceso de remineralización. Almaguer-Flores A, Villagómez-Olea JG, editores. Ecología Oral. Ciudad de México: El Manual Moderno; 2018.

Método de protección contra la desmineralización dental (Fluoruros dentales)

Las bajas concentraciones de fluoruro (F⁻) en la cavidad oral no permiten la remineralización del esmalte, por lo que, se les han agregan porciones de calcio a los productos fluorados para reforzar los efectos benéficos de los minerales en la cavidad oral, provocando su saturación y así llevar a cabo el proceso de remineralización (Kanduti, et al,2016, Amrollanhi, et al,2016).

El fluoruro se introdujo en la odontología hace más de 70 años y ahora se reconoce como un factor importante para la disminución de la prevalencia de caries en todo el mundo (Buzalaf, et al, 2011). El fluoruro se puede obtener en dos formas: sistémica y tópica. Los métodos sistémicos incluyen la fluoración del agua, la fluoración de la sal, la fluoración de la leche y los suplementos. Las aplicaciones tópicas de fluoruro (por ejemplo, pastas dentales, geles, barnices y enjuagues bucales con fluoruro) se consideran métodos más efectivos para la prevención de caries que el uso sistémico de fluoruros (Ripa, 1991).

En el manual para el uso de fluoruros dentales en la república mexicana; "El fluoruro tópico se describe como un preparado farmacéutico utilizado como medida protectora específica para prevenir la caries dental, ya que cuenta con la capacidad de disminuir la desmineralización del esmalte y promentar su remineralización". Su aplicación ejerce una actividad directa con la superficie dental, ya que aumenta el proceso natural de captación de iones (secretaria de salud, 2010).

Además de su capacidad de inhibir la desmineralización, se cree que el fluoruro es efectivo para promover la remineralización. Sin embargo, la capacidad del fluoruro para mejorar la remineralización neta está limitada por la disponibilidad de iones de calcio y fosfato (Reynolds, et al, 2008). Si hay suficientes iones de calcio y fosfato en la saliva o en la biopelícula, los iones de fluoruro pueden impulsar la remineralización de las lesiones de caries no cavitadas existentes. (Lei, et al. 2016).

Para que se lleve a cabo el proceso de remineralización del esmalte mediado por el fluoruro tópico, es necesario que se lleve a cabo el proceso del diadoquismo; este es el efecto mediante el cual la hidroxiapatita pierde su grupo hidroxilo, momento en el cual el flúor aprovecha para reemplazarlo, dando lugar a la formación de fluorapatita, el esmalte con

proporción alta de fluorapatita es menos soluble al ácido que cuando contiene solo hidroxiapatita (Gómez, et al.2010).

El fluoruro puede reemplazar isomórficamente al ion hidroxilo, pues cuenta con una similitud en estructura y tamaño. Este ion favorece la maduración pos-eruptiva del esmalte, el proceso de remineralización continúa formando cristales en los que abunda el ion carbono y el magnesio en menor cantidad que el fluoruro, cada uno de estos iones hacen a los cristales (esmalte) menos solubles a los ácidos provenientes del metabolismo de la biopelícula dental (Boj, et al.2011).

Las pequeñas cantidades de iones de fluoruro libres en solución alrededor del tejido dental duro juegan un papel mucho más importante en la inhibición de la desmineralización. Los iones de fluoruro libres se adsorben en parte sobre la superficie cristalina y están en equilibrio dinámico con los iones de fluoruro en solución alrededor del tejido dental duro. Por lo tanto, forma un equilibrio o sobresaturación en relación con la fluorapatita, y la adsorción de fluoruro en los cristales puede ofrecer una protección directa contra la desmineralización. Por lo tanto, de acuerdo con esta teoría, el fluoruro debe estar presente en el lugar correcto (líquido de la biopelícula o saliva) y en el momento correcto (cuando la biopelícula se expone a carbohidratos o justo después de la eliminación de la biopelícula), e incluso una pequeña cantidad de fluoruto (por debajo de los valores de ppm.) disponible es efectivo. (Diez, 1983;17, Takagi S, 2000. Lei, et al.2016).

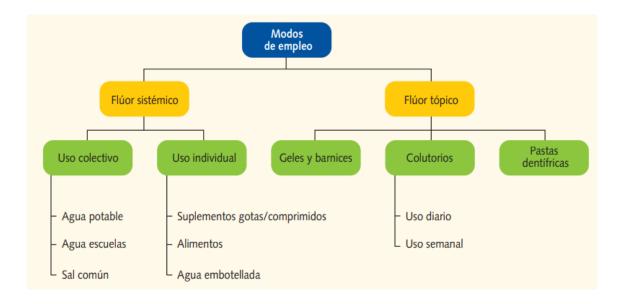
Acción del Fluoruro sobre los microorganismos que componen a la biopelícula dental

"En diferentes estudios *in vitro*, se realizaron cultivos bacterias salivales y se confirmó que el fluoruro inhibe la producción ácida de los microrganismos, al igual que la presencia de este ioen en la saliva y en la biopelícula o la superficie del esmalte, tiene la capacidad de alterar la colonización de estas bacterias, así como la fermentación, el crecimiento y la multiplicación (Hausen, 2004). Esto es gracias a la reducción de la glucólisis por inhibición de la enzima enolasa, y del sistema de transporte de la glucosa, por ende, de la síntesis de polisacáridos intracelulares, evitando la acidificación del interior de las células, lo que causa la inactivación de enzimas metabólicas y la alteración de la permeabilidad de la membrana bacteriana en el intercambio iónico. La acción antibacteriana se estratifica en tres niveles

definidos: alteración metabólica, alteración del crecimiento y reproducción, por último, muerte celular" (Dunipace, et al 1994, Hausen, 2004).

Administración de Fluoruro en pacientes

El principal transportador del fluoruro tópico es la saliva, el mineral es obtenido por el ducto salival tras la secreción de diferentes glándulas salivales, pero la concentración es baja, dependiendo la zona y su agua florada (0.016 ppm en zonas con agua floradas y 0.0006 ppm en áreas con agua no fluoradas), por lo que es necesario el uso de pastas dentífricas o de los geles para lograr una concentración en la boca de 100 a 1000 veces superior (Oliveby, et al 1990, Bronckers, et al 2009). Existen diferentes presentaciones de concentrado de fluoruro para la prevención de la caries dental y la erosión por otros factores; geles, barnices, colutorios o pastas dentífricas.



Modelos de administración de flúor. Rev. pediatr Aten primaria.2011;13:435-54

En cuanto a la prevención de la caries, los fluoruros son fundamentales por su acción relacionada con la capacidad de remineralización de tejido (Secretaría de Salud, 2001). "En varios países de América Latina, la medida de gran importancia para el control de la caries dental es la fluoración de la sal, ya que todos los humanos tienen acceso a ella" (Yeung,2011). "Según el artículo del 2003 de la secretaría de salud en México la fluoración

de la sal fue legislada a nivel nacional en 1995 y se ha documentado reducción en los índices de caries" (Secretaría de Salud, Velázquez, et al.2003); sin embargo, esta enfermedad sigue afectando a grandes grupos de la población, como se ha mencionado, los fluoruros dentales los encontramos en diferentes presentaciones:

El **dentífrico** se compone de un producto abrasivo suaves (pirofosfato de calcio, metafosfato insolubles de sodio, etc) y un agente cariostático (compuesto fluorados). Esta presentación se considera la manera más práctica y fácil para administrar fluoruro en el ser humano, así mismo controlar los niveles de flúor en dientes, esto lo convierte en la forma más utilizada para administrar fluoruro en el mundo. Su uso forma parte de los procedimientos normales de la higiene corporal, para que las pastas tengan un papel en la prevención de la caries dental deben de tener por arriba de 1000 ppm de fluoruro (Walsh, et al 2010).

En los **colutorios**, se emplean soluciones disueltas de sales de flúor con las que se realizan enjuagues bucales diarios o semanales. Es una solución al 0.02-0.05%, los fabricantes indican el uso aproximado de 10 ml de colutorio, el cual se debe permanecer durante un minuto con una cantidad oral, evitando su ingestión y se aconseja no ingerir nada mediante la siguiente media hora después del enjuague (Riordan,2002).

Los **geles**, son una presentación aromatizada que aplican los profesiones en el área, por medio de cubetas ajustables según el tamaño de las arcadas dentales, estos se encuentran al 2% con la concentración de 2425 a 12500 ppm de flúor. En su aplicación el paciente debe permanecer sentado con la cabeza inclinada hacia adelante, para evitar la ingesta, así mismo el odontólogo aspirara entre las dos cubetas durante todo el proceso, el tiempo de aplicación dependerá del fabricante (Marinho, et al, 2002). Su aplicación, en general, es de 2 a 4 veces al año en los pacientes con riesgo elevado de caries dental.

"Durante largo tiempo se ha demostrado la eficacia de los barnices fluorados en el mercado odontológico para prevención la de caries dental porque es un agente tópico el cual ha emostrado la reducción contra la desmineralización del esmalte dentario" (Alvarez, et a. 2015, De Cássia, et al.2016). "de igual forma el barniz es considerado un mejor protector que otras presentaciones por su técnica de aplicación. (Hernández, et al. 2005).

Los **barnices** de flúor tienen un contenido iónico que va de 0.1% (1 000 ppm) a 2.26% (22 600 ppm), presentan una consistencia viscosa y endurecen en presencia de la saliva. Se aplican sobre la superficie de los dientes con un pincel o una sonda curva. Estos proporcionan una concentración más elevada de flúor en la saliva a las 2 horas de su empleo que el resto de los tipos de fluoruro tópico (Poulsen, 2009). Se ha encontrado que, pese a que tienen un alto contenido de flúor, no inducen niveles altos en plasma. Esto es debido a que, si los barnices son aplicados de acuerdo con las instrucciones de los fabricantes, no ocurren efectos en la función renal porque los niveles de plasma están lejos del nivel considerado tóxico. La cantidad de barniz que se necesita para aplicar en ambas arcadas es poco (0.3 ml) (Clark, et al.1985).

Los barnices fluorados, permiten la protección de la estructura del esmalte ante los ácidos que acompañan la disminución del pH en la cavidad oral, además permiten la remineralización de mancha blanca, que son las lesiones de cariosas no cavitadas, la formación del fluoruro de calcio (CaF₂) será solubilizado por el esmalte, el cual se difundirá dentro del tejido permitiendo la remineralización en la lesión deteniendo, con el fin de la progresión de la misma (Weintraub, et al.2006).

"Los barnices han probado su eficacia en múltiples estudios tiempo atrás y en la actualidad, el resultado de ellos fue; que la prevención y su efectivos puede ser a cualquier edad, para tener mejor resultado se recomienda aumentar el tiempo de contacto entre el fluoruro y diente, por su aplicación se evita la ingestión residual de este, así mismo se puede seleccionar con mayor exactitud las zonas dañada del diente o con mayor riesgo a caries, dado que los barnices permiten una la liberación lenta y contante del fluoruro" (Almeida, et al, 2002).

Después de la aplicación de agentes tópicos, como los barnices florados, se ha observado un incremento en la presencia de sustancias relacionadas con el fluoruro de calcio (CaF2), las cuales suelen presentar una forma globular. Este aumento se registra tanto en la biopelícula dental como en la superficie de lesiones cariosas en sus fases iniciales. Este material tiene una baja solubilidad en la saliva, posiblemente debido a que está cubierto por fosfatos o material proteico; lo cual permite su presencia en contacto con las superficies del esmalte por periodos relativamente prolongados y contribuye así a la remineralización del tejido adamantino (Ogaard,1999).

Barnices fluorados modificados

Durante un largo periodo se han realizado pruebas en barnices fluorados odontológicos para demostrar la eficacia en la inhibición contra la desmineralización del esmalte y la protección contra la caries dental, así como la remineralización del mismo. Con ello se ha llegado a saber que se puede aumentar el tiempo de contacto de la sustancia fluorada con la superficie dentaria, agregando en la composición del barniz una resina viscosa que permite la adhesión del tejido dentario, aumentando así la captación del ión flúor por el esmalte o el cemento expuesto (Castillo, et al.2012).

En la actualidad se tienen en el mercado diversas presentaciones de barnices con flúor y componentes que ayudan a modificar su adhesión al esmalte y prolongar su vida útil en boca, como son:

Barnices con fosfato de calcio

Los iones de calcio y fosfato juegan un papel importante en la mejora de la remineralización de las lesiones del esmalte producidas por la caries dental. El fluoruro, el calcio y el fosfato son fundamentales para mejorar la estructura dental. Sin embargo, el calcio y el fluoruro se pueden combinar durante el almacenamiento, lo que reduce la efectividad al fluoruro. El fosfato tricálcico (TCP) de proteger al calcio con una barrera. Una vez que se aplica sobre la superficie dental, la saliva disuelve esa barrera y hace posible que el calcio, el fosfato y el fluoruro queden fácilmente disponibles para los dientes, con lo que se obtienen resultados óptimos (Lei,et al,2016).

Cuando el silicato tricálcico (TCS; Ca₃SiO₄) entra en contacto con la saliva, se disuelve y deposita el grupo silanol (Si-O-H) en la superficie del esmalte. Este grupo funcional puede unirse a los iones Ca + e inducir la precipitación de Hidroxiapatita. Además, el grupo fosfato salival (PO₄ ³⁻) puede atraer iones Ca²⁺ a través del grupo silanol, formando una capa rica en fosfato de calcio (Ca–P) que juega un papel importante en la remineralización del esmalte (Dong,et al, 2013).

Un ejemplo de este barniz modificado es el 3M™ Clinpro™ White Varnish con Fluoruro de Sodio al 5% y TCP, de acuerdo con la descripción del producto por medio del fabricante, el 3M™ Clinpro , "es una resina alcohólica que contiene 22600 ppm de flúor, fluoruro de sodio al 5% y tricalcio fosfato amorfo (fTCP) que es liberada al ambiente oral durante el tratamiento, con mejor fluidez". "El fTCP que se presenta en Clinpro™ White Varnish es protegido con ácido fumárico, que evita las interacciones indeseadas entre el calcio y el fosfato y entre el calcio y el flúor en periodo útil del barniz, la saliva disuelve lentamente el ácido fumárico brindado mayor protección al barniz, dejando que los componentes de calcio protegidos sean liberados de manera similar con los iones de flúor", tiene una liberación prolongada de flúor, calcio y fosfato: hasta 24 horas después de su aplicación (3M, ESPE, Clinpro,2015.).

"El Clinpro™ White Varnish Clinpro es tolerante a la humedad y saliva; la saliva activa el componente de TCP protegiendo a la estructura dental conjuntamente con el flúor liberado, es endulzado con xilitol que es considerado uno de los elementos preventivos más efectivos atribuyéndosele propiedades importantes en la disminución de la biopelícula, principalmente porque evita la acumulación de colonias de *S. mutans* y Lactobacilos acidófilos; es también un estimulante de la secreción salival, factor importante en el mantenimiento de la alcalinidad del pH, además de favorecer el barrido mecánico de las superficies de los dientes, entre otros beneficios" (Milgrom P, et al. 2006).

Barnices con silano

Fluor protector (vivadent, Schaan, Liechtenstein) fue introducido por Arends y Schutof en 1975. Es un barniz al 0.1% de ión flúor, en un vehículo de poliuretano que contiene difluorosilano al 0.9%, cuyo nombre comercial es **FluorProtector®** (Vivadent). En el mercado odontológico lo encontramos en ampollas con tapón de rosca en forma diluida para su mejor aplicación con el uso de un pincel o un brush dental. "El efecto de protección del barniz con flúor; permite que los factores como; la desmineralización, la incitación de remineralización incorporación del ion fluoruro a la capa del esmalte y la reparación de manchas blancas (caries incipientes)". El flúor protector tiene propiedades ácidas y toma un color transparente después del endurecimiento en contacto con el aire, contiene 0,9% de difluorsilano en una base de barniz de poliuretano con acetato de etilo y disolventes de propionato de isoamilo. El contenido de fluoruro es equivalente a 0,1%, o 1000 partes por

millones (ppm) en solución. A medida que los solventes se evaporan, la concentración de fluoruro en el diente superficie aumentará a valores mucho más altos (casi 10 veces más alto).

Barnices con CPP-ACP Y CCP-ACFP

Se ha demostrado que el fosfato de calcio amorfo de fosfopéptido de caseína (CPP-ACP) (Recaldent™) promueve la remineralización de las lesiones iniciales del esmalte y previene la desmineralización. La aplicación de CPP-ACP es una de las muchas técnicas que se han propuesto para mejorar simultáneamente la remineralización y reducir la aparición de lesiones de manchas blancas y caries dental (Lei,et al,2016), este tipo de barniz modificado se comercializa actualmente bajo el nombre de **MI Varnish™ GC**.

CPP-ACP es caseína fosforilada extraída de la leche. Su acción remineralizante se atribuye al efecto químico de la caseína fosforilada además de la presencia de iones calcio y fosfato (Thierens, LAM et al. 2019). A pH bajo, ACP se separa de CPP, lo que generalmente aumenta la saturación salival con iones Ca²⁺ y PO₄ ³⁻. Después de esta separación, el CPP puede estabilizar el ACP en la biopelícula oral, proporcionando un estado amorfo de sobresaturación para mantener el pH alcalino y mejorar el proceso de remineralización (Oliveira, et al, 2020; Cross, et al, 2016).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los efectos nocivos en el esmalte dental producidos por la desmineralización asociada a ácidos de origen bacteriano (caries dental) y no bacteriano (erosiones) continúan prevaleciendo en la población. Los factores preventivos dependen de un adecuado protocolo de protección del esmalte (aplicación de fluoruros) y de un agente específico que garantice la prevalencia de la terapéutica sobre este tejido mineral. Actualmente la forma más común de aplicación del fluoruro es mediante colutorios, geles y barnices, los cuales han demostrado tener un buen efecto en la prevención de la desmineralización y la formación de biopelículas dentales, pero con un tiempo activo en el esmalte muy inferior al que se ha demostrado con el uso de los barnices dentales fluorados.

JUSTIFICACIÓN

Los estudios recientes enfocados en el análisis del fluoruro de uso dental en forma de barnices demostraron que estos presentan una actividad efectiva contra la desmineralización por ácidos de origen bacteriano y no bacteriano, así como un papel fundamental en la inhibición de la adhesión de microorganismos a la superficie dental. Sin embargo, el uso de los barnices de fluoruro no es la primera opción preventiva en la práctica clínica en escuelas e instituciones de salud a nivel nacional, por lo cual, el demostrar su efecto como un agente capaz de prevenir lesiones por desmineralización e inhibidor de la adhesión bacteriana al esmalte resulta fundamental para que el uso del barniz fluorado sea cada vez más empleado como método de prevención.

HIPÓTESIS

El empleo de barnices fluorados dentales sobre superficies de esmalte dental genera un medio de recubrimiento protector contra la desmineralización dental, además, proporciona un medio capaz de inhibir la formación de exopolisacáridos producidos por *S. mutans* en pruebas *in vitro*.

OBJETIVOS

General:

 Comprobar el efecto protector de diversos barnices fluorados en el mercado de uso clínico contra la desmineralización y la inhibición de formación de exopolisacáridos secretados por S. mutans sobre superficies de esmalte dental in vitro.

Específicos:

- 1. Elaborar muestras homogéneas de 6 x 4 mm de esmalte dental porcino para pruebas a realizar.
- 2. Cubrir la mitad de las superficies de las muestras de esmalte con una capa de cada uno de los barnices fluorados y realizar las pruebas de desmineralización.
- Evaluar el efecto de un medio ácido sobre muestras de esmalte tratadas con barnices fluorados con ayuda de microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido.
- 4. Determinar el efecto de barnices fluorados en esmalte dental y la producción de exopolisacáridos de *S. mutans*
- 5. Determinar un análisis cualitativo de muestras sometidas a pruebas de inhibición de la formación de exopolisacáridos de *S. mutans*.

MATERIALES

Equipo

- Microscopio óptico estereoscópico (Rising Tech-Monozoomedf 2.0)
- Microscopio Electrónico de Barrido (JEOL JSM-6360LV)
- Incubadora (LabForce-Incu-22)
- Ultrasonido (VEVOR, DIGITALL PRO)

Material

- Muestras de esmalte dental de porcino a 6 x 4 mm
- Micropipetas (1000 y 200 μl)
- Puntas para micropipeta (1000 y 200 μl)
- Mechero y encendedor
- Portaobjetos
- Pinza de curación estéril
- Microbrush
- Barniz dental fluorado comercial (Fluor protector-Ivoclar, Clinpro-3M y MIVarnish-GC)
- Caja Petri de 3 divisiones
- Microplacas de 24 pocillos
- Bacteria: S. mutans
- Tiras reactivas de pH

Reactivos

- Solución fisiológica simulada desmineralizante: Ácido Clorhídrico al 0.06 Molar (HCI 0.06M)
- Tinción para exopolisacárido de S. mutans (Medio de cultivo Infusión Cerebro Corazón con sacarosa al 10% y Rojo Congo al 1%).
- Ampicilina. Concentración 20 gr/ml

METODOLOGÍA

1. Elaboración de muestras de esmalte dental.

Para las pruebas de desmineralización y de inhibición de producción de exopolisacáridos, se elaboraron 15 muestras de esmalte dental porcino de 6 mm de largo por 4 mm de ancho, tomadas de las caras vestibulares de molares porcinos, empleando un micromotor dental de la marca Strong y discos de dos luces de diamante con abundante irrigación. Las muestras obtenidas pasaron por un proceso de lavado con agua desionizada, secado y esterilización por luz UV durante 30 minutos.

2. Acondicionamiento de las superficies de esmalte dental con barniz fluorado.

Las muestras de esmalte fueron divididas en 3 grupos para su estudio. (Tabla 1), a cada muestra de cada grupo se dividió por la mitad; una mitad sin tratamiento (control) y la otra mitad tratada con una capa uniforme de barniz fluorado. Posteriormente se dejaron secar por 5 minutos y se tomaran imágenes por microscopía estereoscópica.

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Mitad de esmalte sin	Mitad de esmalte sin	Mitad de esmalte sin
barniz con mitad de	barniz con mitad de	barniz con mitad de
esmalte dental con	esmalte dental con	esmalte dental con
Fluor protector	ClinPro (3M)	MIVarnish (GC)
(Ivoclar)		

Tabla 1. Tipo de barniz empleado para cada grupo de estudio.

3. Pruebas de protección contra la desmineralización e Incubación de muestras de esmalte en medio ácido.

Las muestras de esmalte dental de cada uno de los grupos fueron colocadas, por separado, en una caja Petri de 3 divisiones. Posteriormente, a cada una de las divisiones se le agregaron 10 ml de solución desmineralizante (HCI 0.06M) durante 3 horas. Finalizado el periodo de incubación, las muestras se retiraron de la solución desmineralizante, y se secaron durante 2 minutos a temperatura ambiente.

4. Análisis de muestras de esmalte incubadas en medio ácido mediante microscopía estereoscópica.

Las muestras de esmalte tratadas en la solución desmineralizante fueron observadas mediante microscopía estereoscópica a diferentes aumentos (0.7x y 4.5x) con un microscopio (Rising Tech-Monozoomedf 2.0) para analizar la superficie y las diferencias estructurales entre los grupos (rugosidad, porosidad, cambios de coloración y etc.). Se llevo a cabo un análisis de tipo cualitativo de los resultados (No se emplearán pruebas estadísticas).

5. Análisis de muestras de esmalte incubadas en medio ácido mediante microscopía electrónica de barrido.

Otro grupo de muestras de esmalte tratadas en la solución desmineralizante fueron observadas mediante un microscopio electrónico de barrido (JEOL JSM-6360LV) con detectores de electrones secundarios y alto vacío para analizar la superficie y diferencias estructurales entre grupos a diferentes aumentos (300x y 1,500x). Se llevo a cabo un análisis de tipo cualitativo de los resultados (No se emplearán pruebas estadísticas).

6. Pruebas de inhibición de la adhesión de exopolisacáridos producidos por *S. mutans*.

Para las pruebas de inhibición de la adhesión de exopolisacáridos producidos por *S. mutans* se emplearon muestras de esmalte dental, las cuales fueron tratadas con diversas presentaciones de barnices fluorados comerciales (Tabla 2)

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Mitad de esmalte sin	Mitad de esmalte sin	Mitad de esmalte sin
barniz con mitad de	barniz con mitad de	barniz con mitad de
esmalte dental con	esmalte dental con	esmalte dental con
Fluor protector	ClinPro (3M)	MIVarnish (GC)
(Ivoclar)		

Tabla 2. Tipo de barniz empleado para cada grupo de estudio en las pruebas de inhibición de la producción de exopolisacáridos de *S. mutans*.

Cada muestra de esmalte fue dividida por la mitad y en una de estas mitades se colocó una capa homogénea del barniz de acuerdo con cada grupo de estudio. Las superficies se dejaron secar por 5 minutos y fueron colocadas por separado en un pocillo de una microplaca de 24 pocillos. En cada uno de los pocillos se le agregaron 2 ml de medio de cultivo para tinción de exopolisacárido producido por *S. mutans* (Medio de cultivo Infusión Cerebro Corazón con sacarosa al 10% y Rojo Congo al 1%).

La solución cubrió en su totalidad la muestra de esmalte, una vez colocado el medio de cultivo se agregarán 20 µl de *S. mutans* en cada pocillo, se dejará incubar la muestra de esmalte dental durante 24 horas a 37 °C. en la Incubadora (LabForce-Incu-22). Transcurridas las 24 horas, se descartó la tinción para exopolisacárido de *S. mutans* (Medio de cultivo Infusión Cerebro Corazón con sacarosa al 10% y Rojo Congo al 1%), para que fueran observar al microscopio la muestra de esmalte.

7. Análisis de inhibición de la adhesión de exopolisacáridos de *S. mutans* mediante microscopía estereoscópica.

Las muestras de esmalte tratadas e incubadas en el medio para tinción de exopolisacárido de *S. mutans* fueron observadas con el microscopio estereoscópico Rising Tech-Monozoomedf 2.0 para analizar la adhesión de exopolisacáridos de los microorganismos. Se llevo a cabo un análisis de tipo cualitativo de los resultados (No se emplearon pruebas estadísticas).

RESULTADOS

1. Elaboración de muestras de esmalte dental.

Se obtuvieron 10 muestras de esmalte dental porcino de 6 mm de largo por 4 mm de ancho con el micromotor (Imagen 1A), estas fueron tomadas de las caras vestibulares de molares que no estuvieran cariados, para evitar que el esmalte se encontrara desmineralizado por el proceso. Las muestras obtenidas fueron lavadas con agua desionizada, secadas y esterilizadas, para ser utilizadas en el experimento como se muestra en la Figura 1.

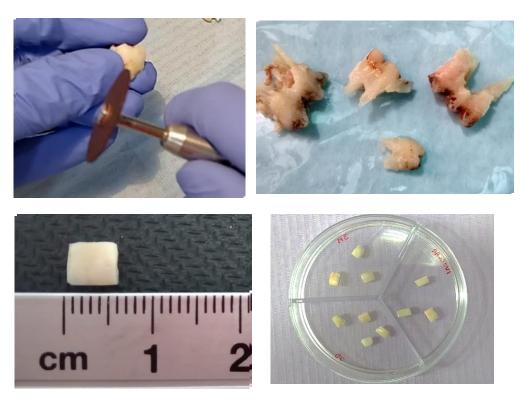


Figura 1. Preparación de las muestras de esmalte de dientes porcinos

2. Acondicionamiento de las superficies de esmalte dental con barniz fluorado.

Una vez obtenidas las muestras de esmalte se dividieron en grupos de estudio (Tabla 1), cada muestra se identificó y se dividió por la mitad para colocar una capa de barniz fluorado de cada grupo experimental (Figura 2), dejando una mitad de esmalte expuesta sin ninguna sustancia para ser empleada como control.

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	
Mitad de esmalte sin	Mitad de esmalte sin	Mitad de esmalte sin	
barniz con mitad de	barniz con mitad de	barniz con mitad de	
esmalte dental con	esmalte dental con	esmalte dental con	
Fluor protector	ClinPro (3M)	MIVarnish (GC)	
(Ivoclar)			

Tabla 1. Tipo de barniz empleado para cada grupo de estudio.



Figura 2. Imagen representativa de los barnices empleados y colocación sobre la mitad de las superficies de esmalte dental.

Las imágenes de las muestras obtenidas con microscopia estereoscópica (Rising Tech-Monozoomedf 2.0) muestran claras diferencias en las superficies de cada grupo. Las superficies del grupo 1 (Ivoclar) se observan superficies lisas y homogéneas, mientras que en el grupo 2 (3M) presenta mayor irregularidad y porosidad en la superficie del esmalte. En el grupo 3 (GC) podemos observar la presencia de burbujas de aire que dan como resultado superficies irregulares (Figura 3).

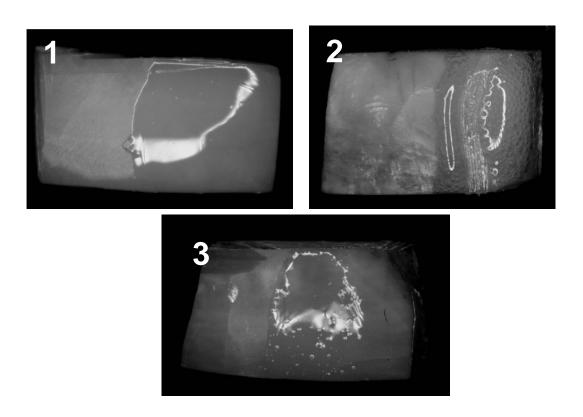


Figura 3. Imágenes representativas de los grupos experimentales obtenidas con microscopía estereoscópica. Grupo 1 Ivoclar), grupo 2 (3M) y grupo 3 (GC).

3. Pruebas de protección contra la desmineralización e incubación de muestras de esmalte en medio ácido.

Cada una de las muestras de esmalte dental fueron colocados dentro de una caja Petri de tres divisiones, separadas e identificadas por grupo, posteriormente a cada una de las divisiones se les coloco a solución desmineralizante (10 ml); incubándolas durante 3 horas. Finalizada la desmineralización de las muestras de esmalte, se retiraron de la solución y se secaron para poder ser observadas mediante microscopía y analizar las características de la superficie tratadas en cada grupo de estudio (Figura 4).







Figura 4. Incubación de las muestras de cada uno de los grupos en HCl 0.06M.

4. Análisis de muestras de esmalte incubadas en medio ácido mediante microscopía estereoscópica.

Las imágenes obtenidas de las superficies sin tratamiento permiten observar pequeñas manchas blancas que representan la desmineralización causada por el HCl en el esmalte sin ninguna protección (Figuras A, B, C). Las imágenes de las muestras del grupo 1 (Ivoclar) mantuvieron la integridad del barniz después del proceso de desmineralización. Las muestras del grupo 2 (3M) mostraron superficies rugosas e irregulares con pérdida del material (barniz) en la mayoría del esmalte, dejando sin protección al esmalte. Por otro lado, en el último grupo (GC) se observa contracción del material, aumento de rugosidad y pérdida de la adhesión en su periferia. Con el análisis de microfotografías de las pruebas podemos concluir que el grupo 2 (3M) no tiene una defensa o protección contra la desmineralización.

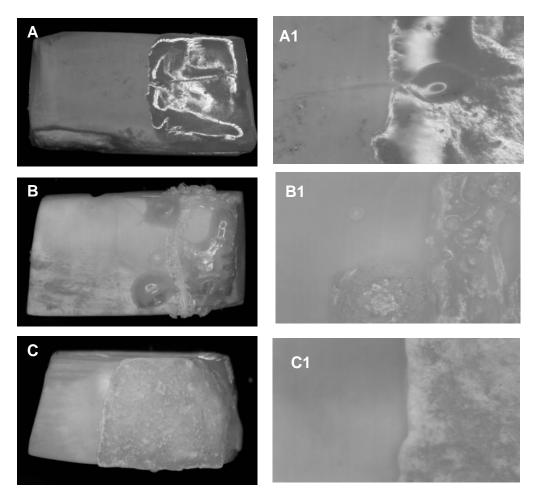
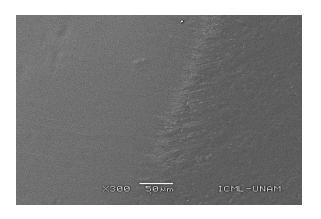


Figura 5. Microfotografía de las muestra de los grupos experimentales A Fluor protector (Ivoclar), B ClinPro (3M) y C MIVarnish (GC) tratadas con HCl 0.06M a diferentes aumentos; X con 0.7x y X1 con 4.5x de graduación.

5. Análisis de muestras de esmalte incubadas en medio ácido mediante microscopía electrónica de barrido.

Una vez observadas en microscopía estereoscópica, fueron deshidratadas y recubierta con una capa delgada de oro (spputtering) para darle propiedades conductoras a la muestra, estas fueron observadas mediante la técnica de electrones secundarios con aumentos de 300x y 1,500x. En las primeras microfotografía (Figuras 6,7 y 8) se observaron las muestras que solo presentaban los barnices experimentales sin someterlos al HCl, en estas examinaron la superficie del esmalte y la estructura de la capa de barnices fluorados.

En el grupo 1 Fluor protector (Ivoclar), del lado derecho donde se encuentra el esmalte sin ninguna protección, se detectan las irregularidades de los prismas de hidroxiapatita, así como partículas adheridas mientras que en el lado izquierdo la capa constante y sin ninguna irregularidad cubre cada uno de los desórdenes del esmalte dental, dándole una protección en la porosidad la superficie de esmalte descubierto (Figura 6).



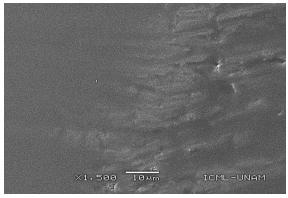
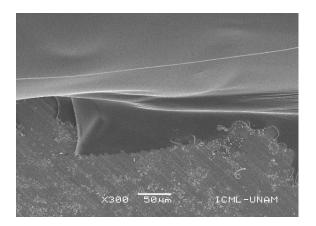


Figura 6. Micrografía del grupo 1 del grupo experimental sin ser sometido al HCL.

Con el segundo grupo ClinPro (3M), se percibió mejor la interfaz ya que este barniz tiene una consistencia viscosas que permite que la capa de fluoruro sea de mayor espesor, en algunas porciones de la muestra se observó la irregularidad que este presenta al ser colocados en el esmalte, como se había observado en la microscopia estereoscópica. En la parte inferior de la fotografía se encuentra el esmalte sin tratar, en el existen partículas adheridas que se observan claramente y la estructura del limado que se llevó acabó en la

preparación de las muestras para hacerlas lo más homogéneas posibles, esto mismo se pudo observar en nuestro último grupo MIVarnish (GC).



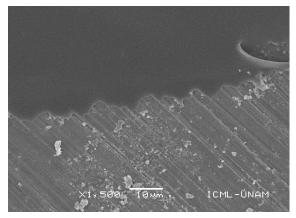
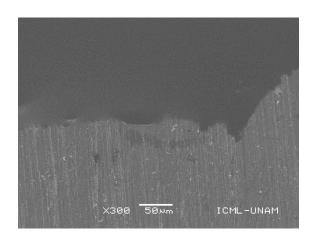


Figura 7. Micrografía del grupo 2 del grupo experimental sin ser incubado con HCL.



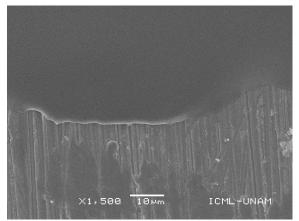
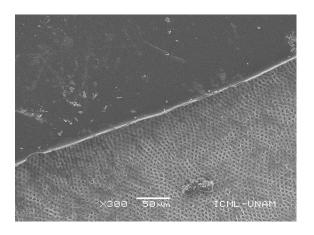


Figura 8. Micrografía del grupo MIVarnish (GC) del grupo experimental sin ser incubado con HCl para desmineralizarlo.

Para nuestra segunda observación en microscopia electrónica de barrido (MEB) nuestras muestras fueron incubadas en con HCl al 0.06 molar, para poder comprobar la protección que brindan cada uno de los barnices fluorados utilizados en el experimento. En el grupo Fluor protector (Ivoclar) se logra apreciar en la parte inferior (Figura 9) la perdida de volumen que presento el esmalte sin protección después de someterlo a la solución desmineralizante, al igual que la presencia de prismas del esmalte y la profundidad de esmalte dañado por el HCl, en donde se nota microporosidades, en la parte superior tenemos la capa de barniz homogénea sin afectación, dándole una protección al esmalte

cuando este se encuentra expuesto a sustancias que provocan la desmineralización, en la capas de fluoruro podemos mirar cristales de esmáltate que fueron desprendidos de la mitad sin protección.



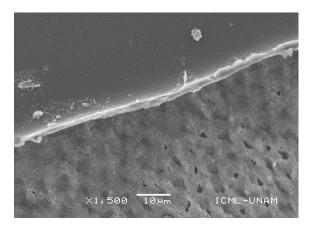
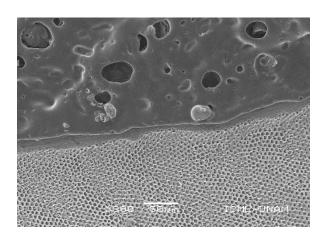


Figura 9. Micrografía de microscopía electrónica de barrido, correspondientes al esmalte desmineralizado con HCl al 0.06 molar.

En el grupo experimental ClinPro (3M), Confirmando lo observado en la microscopia estereoscópica, la capa colocada de barniz se mostró rugosa e irregularidad después de incubar la muestra en HCl dejando porosidad en el fluoruro, esto provoco la eliminación del barniz en la mayoría de la mitad esmalte, dejando sin protección, en la parte inferior de la (Figura 10) donde se encurta el esmalte sin protección, manifiesto la pérdida del esmalte, exponiendo los prismas y aglomeraciones de cristales de hidroxiapatita, pudiendo observar un patrón conocido como espina de pescado, caudado por la desmineralización.



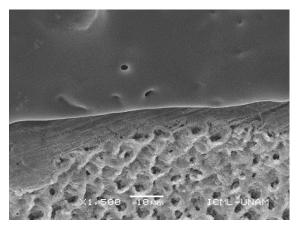
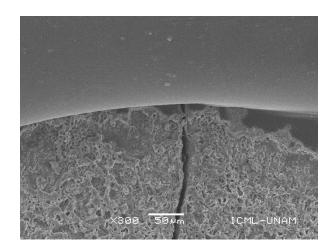


Figura 10. Micrografía de microscopía electrónica de barrido del grupo ClinPro (3M), correspondientes al esmalte desmineralizado con HCl al 0.06 molar.

En la (Figura 11) se puede observar que en el grupo MIVarnish (GC) la superficie donde se localiza el barniz es regular y de una gran densidad comparándola con los demás grupos, esta es dada por la viscosidad que tiene el barniz fluorado, pero después de someter la prueba en HCl, podemos apreciar una pequeña contracción en la interface, en la zona donde el esmalte no tenía protección se muestra un diferente grado de porosidad, en el cual se nota mayor cantidad de irregularidades en el tejido dentario.



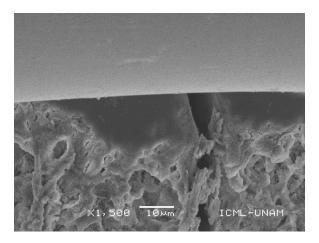


Figura 11. Micrografía de microscopía electrónica de barrido del tercer grupo MIVarnish (GC), correspondientes al esmalte desmineralizado con HCl al 0.06 molar.

Pruebas de inhibición de la adhesión de exopolisacáridos producidos por S. mutans.

En nuestro trabajo para ver el efecto que producen las diversas presentaciones de barnices fluorados comerciales (Tabla 1) en la inhibición de la adhesión de exopolisacáridos producidos por *S. mutans*, cada una de las muestras se sometieron a medio de cultivo (Infusión Cerebro Corazón) para teñir los exopolisacárido producido por *S. mutans* (Figura 12).





Figura 12. Muestras de esmalte dental de porcino en medio de cultivo Infusión Cerebro Corazón con sacarosa al 10% y Rojo Congo al 1% para cultivo de *S. mutans*.

Para determinar el comportamiento de la adhesión de los barnices fluorados, una vez cubiertas en su totalidad las muestras de esmalte en el medio de cultivo, se agregaron los microorganismos (*S. mutans*), para llevar acabado la observación de formación de colonias de bacterias después de la incubación de un día (Figura 13).

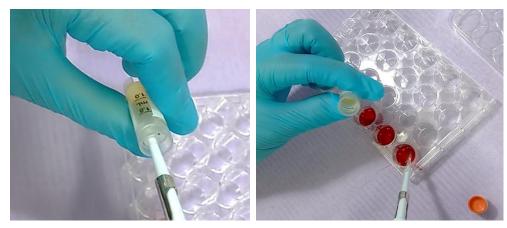




Figura 13. Incubación de Muestras de esmalte dental durante 24 horas a 37 °C. en la Infusión Cerebro Corazón, para observar la efectividad de inhibición de la adhesión de exopolisacárido.

Al termino de las 24 hrs de incubación, se pudo observar que la formación y desarrollo de microrganismos fue diferente en cada grupo experimental de acuerdo a las diversas presentaciones de barnices fluorados utilizados, se manifestaron diferentes colores en el medio de cultivo por al cambio del pH, debido a la concentración de patógenos en cada grupo experimenta y los ingredientes de cada barniz, por lo que el color más oscuro (Negro-Azulado) presenta un pH ácido permitiendo un ambiente agradable para la producción de los microorganismos, esto fue observado el grupo 2 ClinPro (3M), demostrando que el barniz no inhibe el crecimiento de *S. mutans* ni evita la adhesión de los expolisacáridos en el esmalte como lo expresa el fabricante, el grupo 3 MIVarnish (GC) tuvo mayor inhibir la producción de exopolisacáridos de *S. mutans*, este medio de cultivo permaneció con un pH neutro por lo que no tuvo cambio de coloración y se mantuvo en el color rojo congo del medio de cultivo original, por último el grupo 1 Fluor protector (Ivoclar) se observó con una

pigmentación pajiza, lo que representa un pH alcalino y poco crecimiento de microrganismos (Figura 14 y Tabla 2).

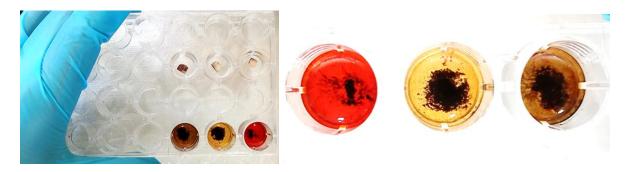
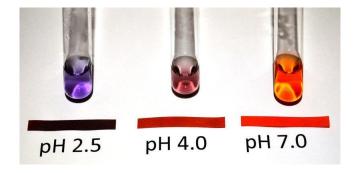


Figura 14. Resultado de los diferentes grupos experimentales. A (GC), B (Ivoclar) y C (3M) para designar la producción de exopolisacáridos de *S. mutans*. en medio de cultivo.

Para un mejor resultado se llevó acabo dos grupos de controles un negativo representado por el mismo medio de cultivo, así como los microlitros de microorganismos y el positivo por el medio de cultivo, los microorganismos y el antibiótico ampicilina, cada uno de ellos junto con los grupos experimentales se medió el pH con tiras reactivas antes de la incubación y después para observar las variantes de pH que nos da como resultado el cambio de coloración.

рН	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Control +	Control -
Inicial	8	9	7	6	7
Final	9	5	7	7	5

Tabla 2. Comparación de los diferentes pH al inicio de la incubación y después de as 24 hrs de incubación.



Figura; Rojo Congo en tres valores de pH diferentes. Fuente: 000BKi, CC BY-SA 4.0, Wikimedia Commons.

7. Análisis de inhibición de la adhesión de exopolisacáridos de *S. mutans* mediante microscopía estereoscópica.

Se descartó la tinción para exopolisacárido de *S. mutans* de las muestras, las dejamos secar durante 1 minuto y se observaron mediante microscopía estereoscópica, con ella se observó que, el tercer grupo MIVarnish (GC), fue el grupo que presento menor crecimiento de microrganismos en el medio, y evito a adhesión de los exopolisacaridos en la muestra de esmalte dental, al igual conservo un pH neutro según su indicado ya que no cambio de color, dando como resultado experimental, que este barniz pude controlar mejor la adhesión de exopolisacáridos de microorganismos bucalles como se muestra en la Figura 17.

En el grupo Fluor protector (Ivoclar) Se observó un cambio de pigmentación en el medio de cultivo a un color pajizo y un pH de 9, en la muestra permaneció la adherencia de barniz fluorado ya antes explicado y poco crecimiento de microrganismos en el medio de cultivo (*S. mutans*) del lado derecho de la muestra donde el esmalte está cubierto por el barniz no presento mucha adhesión de exopolisacáridos (Figura 15).

En la muestra del grupo ClinPro (3M), Se percibió una pigmentación marrón oscuroazulado por su disminución del pH y un crecimiento excesivo de patógenos en el cultivo, comparándolo con los demás posillos, en toda la muestra de esmalte se puede notar la adhesión de exopolisacáridos producidos por los microorganismos (Figura 16). Tomando de referencia los datos anteriores, llegamos a la conclusión que el grupo 2 no inhibe la adhesión de exopolisacáridos producidos por *S. mutans*, contradiciendo los efectos que nos menciona el fabricante contra la protección.

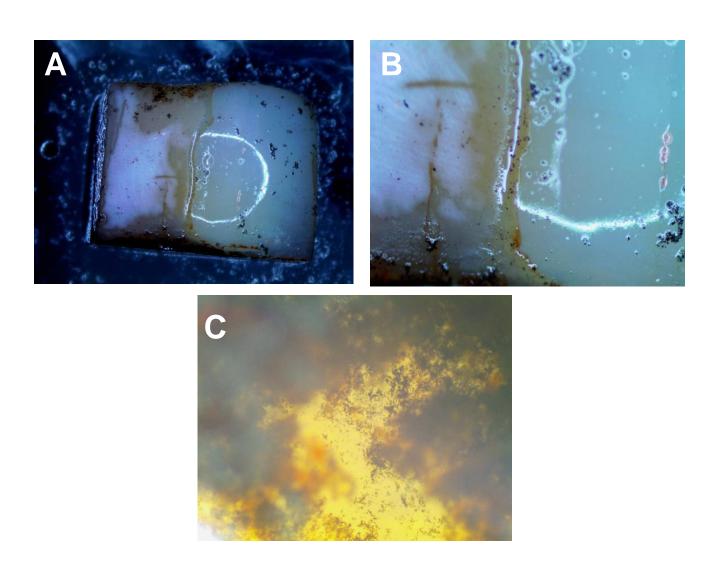


Figura 15 . Microfotografía del Grupo1 (Ivoclar), A) y B) esmalte dental resultado de la incubación de S. mutans, C) Pigmentación del medio de tinción para exopolisacáridos.

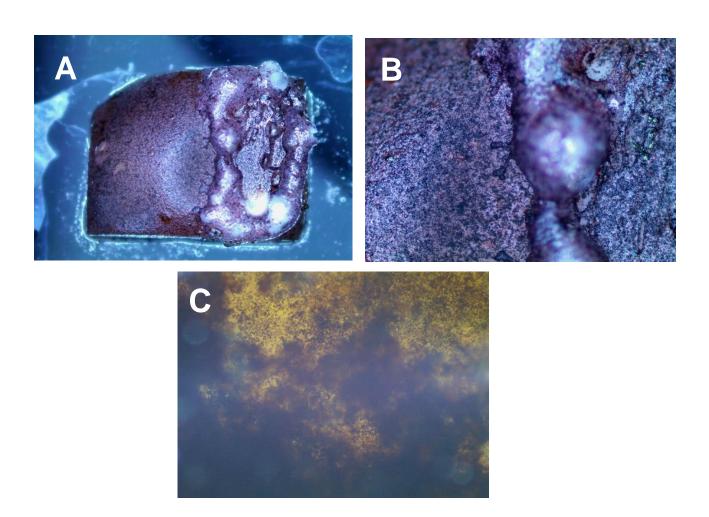


Figura 16. Microfotografía del Grupo2 (3M), A) y B) formación de patógenos en esmalte dental resultado de la incubación de S. mutans, C) Cambio de Pigmentación del medio de tinción para exopolisacáridos.

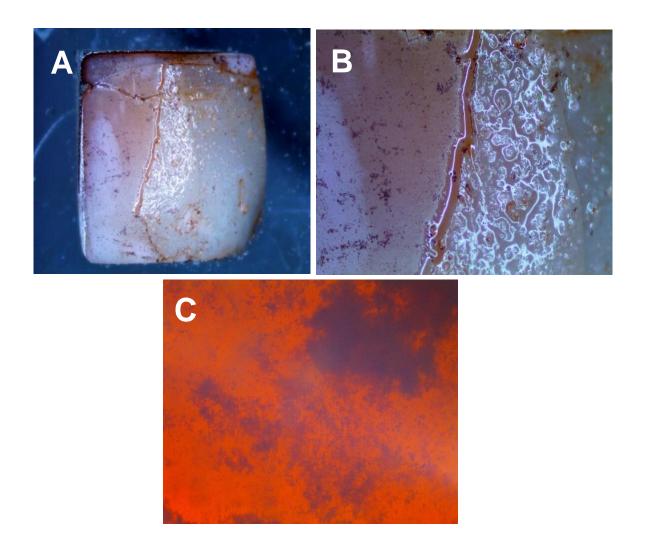


Figura 17. Microfotografía del Grupo 3 (GC) A) y B) inhibición de exopolisacáridos producidos por S. mutan en el esmalte dental cubierto por barniz, C) medio de tinción para exopolisacárido.

En el presente estudio se realizó para verificar la protección que brindan los barnices fluorados contra la desmineralización y la capacidad que tienen estos para inhibir la adhesión de expolisacáridos por *S. mutans*, por lo tanto resulta altamente efectivo para poder encontrar cuál es el barniz que nos brinda mejor estos objetivos y como resultado del presente estudio, se observaron diferencias entre cada grupo experimentan de barnices fluorados que fueron acondicionados en las superficies de los diente porcinos, llegando a la conclusión que el mejor barniz en este estudio fue el Fluor protector (Ivoclar), representando el grupo1 de este trabajo.

DISCUSIÓN

La caries dental es una patología dispersa en el mundo que afecta a los individuos sin importada la edad ni clase social. Las superficies dentarias que presentan defectos estructurales son las más vulnerables, un ejemplo de estos es el desequilibrio en los procesos de desmineralización y remineralización del ambiente bucal por el crecimiento de biopelícula dental. La disponibilidad de fluoruros en la cavidad bucal puede detener o revertir el proceso de caries promoviendo la remineralización del esmalte dentario.

El propósito de esta investigación fue valorar la eficacia de protección de los barnices fluorados en muestras de esmalte, contra la desmineralización y prevenir la colonización de microorganismos fundamentales para la formación de biopelícula, precursora de caries dental, observando el comportamiento con y sin el aporte de iones fluoruros de cada grupo de estudio.

Los biofilms bacterianos o biopelícula dental son un requisito previo para el desarrollo de caries y enfermedad periodontal. Además de su efecto sobre la resistencia del esmalte, los fluoruros pueden ayudar reduciendo el crecimiento y la actividad de la placa. Se ha sugerido que la formación de la capa de fluoruro de calcio (CaF₂) perjudicar el desarrollo de la biopelícula (Dijkmann, et al.1985). En este trabajo podemos comprobar que existen en el mercado, barnices fluorados que no cumplen con este efecto de inhibición, ya que no reducen el ácido cariogénico (láctico) formado por la biopelícula bacteriana, como *Streptococcus mutans*, al alterar la glucosa bacteriana captación y glucólisis (Balzar, et al.2001, Loveren, 1990).

Uno de nuestros objetivos era determinar el análisis de inhibición en la formación de exopolisacáridos de *S. mutans*, para comprobar el efecto preventivo contra la caries dental dentro de la humanidad, puesto que el fluoruro puede inhibir la biopelícula y mejorar la precipitación de iones de calcio y fosfato dentro de ella (Rošin-Grget, et al,2013). Varios estudios de laboratorio han asumido que los iones de fluoruro pueden reemplazar el grupo –OH en la fluorapatita que forma hidroxiapatita (HAp), que tiene una resistencia superior a los ataques ácidos (Tulumbacı,et al,2019.) Considerando al fluoruro el agente remineralizante más popular en las últimas décadas.

Hoy en día, los agentes remineralizantes sin flúor (fosfato de calcio biodisponible) se consideran el tratamiento médico estándar de oro para las lesiones cariosas tempranas del esmalte. Esta categoría de agentes remineralizantes bioactivos incluye fosfato de calcio amorfo (ACP), fosfopéptido de caseína (CPP-ACP) y fosfato tricálcico (Jefferies, 2014).

CPP-ACP ha mostrado un efecto de remineralización satisfactorio en diferentes estudios, y dicho efecto ha sido discutido previamente en varios estudios de cariología (De Oliveira, et al. 2021, Walker, GD et al. 2009). El CPP contiene la secuencia Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu que puede estabilizar los iones de calcio, fosfato e hidróxido como un nanocomplejo amorfo (ACP), evitando la rápida transformación de fase. Asimismo, el CPP-ACP puede localizarse en la superficie dental amortiguando los iones de calcio y fosfato libres, manteniendo un estado de sobresaturación (Walker, GD et al.2009). Este estudio evaluó el potencial de remineralización de CPP-ACP en lesiones del subsuelo del esmalte. Este estudio concuerda con estudios similares previos (Oliveira, et al. 2020, Cochrane, et al.2008). Nosotros en este trabajo argumentamos que MI Varnish (GC) a base de CPP-ACP no previene la desmineralización ya que en la incubación de HCL mostro irregularidad y desprendimiento del barniz fluorado que afecto su protección en el esmalte, pero en la formación de microorganismos pudo inhibir mejor el crecimiento de S. mutans comparándolos con los FluorProtector y Clinpro, siendo un adecuado barniz de fluoruro para controlar el crecimiento de microorganismos en boca y tener una protección contra la caries dental, sin embargo este no nos protegerá contra la desmineralización que esta pueda causar.

Un estudio *in vitro* demostró que cuando el silicato tricálcico TCS (Ca₃Sio₄) entra en contacto con la saliva, se disuelve formando un grupo silanol (si–o) que induce la precipitación de HAp. Dicho grupo silanol se caracteriza por obtener uniones triples por unidad de área, lo que puede proporcionar una coincidencia estereoquímica para los átomos de oxígeno que se unirán al Ca₂₊iones (Dong,et al, 2013) Los iones PO₄₃₋ cargados negativamente en la saliva humana pueden ser atraídos electrostáticamente por iones Ca₂₊ cargados positivamente, formando una densa capa mineralizada de Ca-P. Un estudio in vitro también demostró el poder de remineralización de TCS en una fórmula de suspensión sobre el esmalte desmineralizado (Wang, et al.2012). En este trabajo se demostró lo contrario, ya que Clinpro (3M), después de colocarlo en HCl no obtuvo una defensa el esmalte dental, permitiendo la desmineralización del esmalte.

Una investigación *in vitro* de Arends et al. (Arends, et al.1997) utilizó un microscopio de barrido láser confocal (CLSM) para estudiar la permeabilidad de la dentina de los barnices de flúor. Demostraron que la penetración es influenciada por la dirección del túbulo dentinario. Además, Fluor Protector pudo penetrar el túbulos de dentina más eficientemente que el barniz resinoso Duraphat. Confirmando así su alta afinidad en el esmalte dental y su protección contra la desmineralización como se demostró en este trabajo.

El estudio de Liu X y colaboradores en el 2002, Observaron que la desmineralización de esmalte bovino después de la exposición a algunas bebidas. Veinticuatro dientes bovinos fueron divididos en grupos experimentales y de control. Las muestras de esmalte del grupo experimental fueron pretratadas con Fluor Protector y luego expuesto a bebidas; los especímenes del control grupo estuvo expuesto directamente a las bebidas. Todos los especímenes fueron expuestos 10 veces al día durante 5 minutos cada vez. Después de 7 días de exposición, todos los especímenes fueron observados escaneando microscopio electrónico (MEB). Se observaron diversos grados de solubilización del prisma del esmalte en el grupo de control. Sin embargo, la solubilización/desmineralización se redujo mucho en el Grupo de Fluor protector (Liu X, et al.2002). Coincidiendo con este estudio teóricamente podemos concluir que Fluor Protector es capaz de inhibir la desmineralización del esmalte provocada por diferentes procesos ya sea de origen bacteriano o por medio de la erosión dental.

Mediante el estudio del Balzar Ekenbäck S, se evaluó el efecto del fluoruro en la formación de ácido láctico in vitro, se utilizaron discos de hidroxiapatita se dejaron sin tratar o se trataron previamente con un barniz de placebo, Fluor Protector.Luego se permitió que creciera una biopelícula de Streptococcus mutans en los discos. Los discos se incubaron con glucosa al 1% durante 3 horas. El fluoruro (tanto NaF como Fluor Protector) redujo significativamente la producción de lactato en comparación con controles no tratados o discos de placebo (Balzar, et al.2001). En el caso de nuestro experimento, obtuvimos un equilibrio en la formación de *S. mutans*, tomando en cuenta el cultivo de los demás barnices experimentales, encontraos una defensa contra el biofilm dental.

CONCLUSIONES

- Con nuestros resultados hemos logrado demostrar que no todos los barnices fluorados que se encuentran en el mercado odontológico generan un recubrimiento protector contra la desmineralización y la inhibición de exopolisacaridos.
- El presente trabajo de investigación valoró la reducción de microorganismos cariogénicos sobre la superficie dental mediante el empleo de barnices fluorados comerciales, demostrando así que estos barnices tienen un efecto positivo en la no formación de biopelículas dentales y no solamente un efecto protector del esmalte o remineralizante de este.
- La aplicación de barnices fluorados inhibe la adhesión de exopolisacaridos producidos por S. mutans, elemento fundamental para la formación de la biopelícula, precursora de la caries dental.
- El barniz Flúor protector de la marca comercial Ivoclar (Laboratorio Vivadent), comprobó una mejor efectividad al evitar la desmineralizacion, generando protección e inhibir la formación de exopolisacaridos.
- El usos de barnices fluorados brindan protección contra el pH ácido sobre una superficie de esmalte dental.

REFERENCIAS

- Abou Neel EA, Aljabo A, Strangre A. Ibrahim S et al.: Dinámica de desmineralización- remineralización en dientes y huesos. Int J Nanomedicina 2016; 11:4743-4763.
- Almeida MBH de A. Neves A de A. Fluorterapia na prevencao da carie dental. Rev Fac Odontol Passo Fundo 2002.
- Alvarez BA, Yahne CE, Nosas M, Boj JR, Espasa E. "Efectos de la entrevista motivacional en la salud oral de pacientes pediátricos". Odontología pediátrica. 2015;23(3):187-203.
- American Academy of Pediatrics. Section on Pediatric Dentistry and Oral Health. Preventive oral health intervention for pediatricians. Pediatrics, 122 (2008), pp. 1387-1393 http://dx.doi.org/10.1542/peds.2008-2577 | Medline.
- American Psychiatric Association. DSM-5-diagnostical and statistical manual of mental disorders, 5th edn. American Psychiatric Publishing, USA, 2013.
- Amrollahi P, Shah B, Seifi A, Tayebi L: Avances recientes en odontología regenerativa: una revisión. Máster Sci Eng C Mater Biol Apple. 2016;69:1383-1390.
- Arends J, Duschner H, Ruben JL. Penetration of varnishes into demineralised root dentine in vitro. Caries Res. 1997; 31: 201-205
- Balzar Ekenbäck S, Lars Linder E, Sund EM, Lönnies H. Effect of fluoride on glucose incorporation and metabolism in biofilm cells of *Streptococcus mutans*. Eur J Oral Sci. 2001; 109: 182-186.
- Basterra, J. < Cavidad oral y faringe: bases embriológicas, anatomía clínica y fisiología aplicada.> en Otorrinolaringología y patología cervicofacial. Texto y atlas en color, edición 1ª, Masson (Ed.), 2005.
- Baumann T, Carvalho TS, Lussi A: El efecto delas proteínas del esmalte sobre la erosión. Representante Científico 2015;5:15194.
- Binus E, Grube M, Stiefel A. Remineralisation of initial caries lesions by fluor silane. J Dent Res. 1982; 61 (4): 569.
- Boj R.J., et al. Editores. Odontopediatria, la evolución del niño al adulto joven. Madrid: Ripono;2011.Pp. 227-231.

- Bronckers AL, Lyaruu DM, DenBesten PK. The impact of fluoride on ameloblasts and the mechanisms of enamel fluorosis. J Dent Res. 2009;88:877-93.
- Brown CA, Mehler PS. Medical complications of self-induced vomiting. Eat Disord.2013; 21 (4): 287-94.
- Busscher HJ, van der Mei HC. Physico-chemical interactions in inicial microbial adhesión and relevante for biofilm formation. Adv Dent Res 1997;11:24-32.
- Buzalaf, MAR, Pessan, JP, Honório, HM, & ten Cate, JM (2011). Mecanismos de Acción del flúor para el Control de Caries. Monografías en ciencia oral, 97– 114. doi:10.1159/000325151
- Caro, L. "Cuello y Cara". En: Guías de Biología III. Unidad de Anatomía y Embriología. Departamento de Morfología. Universidad Nacional de Colombia 2012, pp. 34-51
- Castillo R. Perona G. Castillo JL Efecto preventivo de los barnices de flúor en la atención primaria de la salud fdima- gazine pag 4-5 México 2012.
- Centro de Información de Cuidado Oral y Dental Colgate. Un equipo de bacterias y hongos puede causar caries en la primera infancia (Internet). Ecuador: Colgate-Palmolive Company; 2000 (citado 18 Dic 2021). Disponible en: https://www.colgate.com.ec/app/CP/EC/OC/Information/Articles/ADA/2014/article/E C-ADA-03-Bacterium-and-fungus-team-may-cause-early-childhood-caries.cvsp
- Chien YC, Burwell AK, Saeki K, Fernandez-Martinez A, et al: Distinto proceso de descalificación dela dentina por diferentes ácidos orgánicos cariogénicos: cinética, ultraestructura y propiedades mecánicas. Arch oral Biol 2016;63:93-106.
- Clark Christopher, Stamm W Jonh, Robert Guy, Tessier Charles. Results of a 32-month fluoride varnish study in sherbrooke and Lac-Magantic, Canada. JADA 1985:949-953.
- Clinpro™ White Varnish Desensibilizante Dental 3M ESPE Fabricantes Dentales

 3M ESPE España (Internet). Solutions. productos3m.es. 2016 (cited 1 May 2016).
 Available from: http://solutions.productos3m.es/wps/portal/3M/es_ES/3M_ESPE/Dental-Manufacturers/Products/Preventive-Dentistry/Dental-Prevention/Tooth-Desensitiser/#tab4
- Cobeta Marco, I., Gamboa Mutuberría, J. :< Anatomía y fisiología de la cavidad oral, las glándulas salivales y la faringe>, en Otorrinolaringología y patología cervicofacial, Ars Medica (Ed.), Barcelona, 2003.

- Cochrane, NJ, Saranathan, S., Cai, F., Cross, KJ & Reynolds, EC Remineralización de lesiones subsuperficiales del esmalte con soluciones estabilizadas de calcio, fosfato y fluoruro con fosfopéptido de caseína. *Caries Res.* 42, 88–97. https://doiorg.pbidi.unam.mx:2443/10.1159/000113161 (2008).
- Conviser JH, Fisher SD, Mitchell KB. Oral care behavior after purging in a sample of women with bulimia nervosa. J Am Dent Assoc. 2014; 145(4): 352-354.
- Cook, G. S., J. W. Costerton, et al. (1998). "Biofilm formation by *Porphyromonas gingivalis and Streptococcus gordonii.*" J Periodontal Res 33(6): 323-7.
- Costerton, J., G. Cook, et al. (1999). "The community architecture of biofilms: dynamic structures and mechanisms." In: Newman HN & Wilson M, ed. Dental Plaque Revisited: Oral Biofilms in Health and Disease. Eastman Dental Institute, University College London: 5-14.
- Cross, KJ, Huq, NL & Reynolds, EC Nanocomplejos de fosfato de calcio amorfofosfopéptido de caseína: un modelo estructural. *Bioquímica* 55, 4316–4325. https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1021/acs.biochem.6b00522 (2016).
- De Cássia OA, Andaló TL, Machado TC, Cury JA. Anticaries potential of low fuoride dentifrices Found in the Brazilian Market. Brazilian Dental Journal. 2016; 27(3):1-5.
- De Oliveira, PRA, Barreto, L. & Tostes, MA Eficacia de los productos CPP-ACP y fluorados en la remineralización dental. En t. J. Higiene Dental https://doiorg.pbidi.unam.mx:2443/10.1111/idh.12542 (2021).
- Derrickson, Bryan. Fisiología humana; traducción por Diana Klajin, Adriana Morando y Virginia Altomonte. Ciudad de México: Editorial Médica Panamericana, 2018; Pp 721 -732.
- Diez Cate JM, Duijsters PP. Influencia del flúor en solución sobre la desmineralización dental. I. Datos químicos. Caries Res. 1983;17(3):193–9.
- Dijkmann AG, Nelson DGA, Jongebloed WL, Weerkamp AH, Arends J. In vivo plaque formation on enamel surfaces treated with topical fluoride agents. Caries Res. 1985; 19: 547- 557.
- Dong, Z., Chang, J., Joiner, A. & Sun, YJJDS El silicato tricálcico induce la remineralización del esmalte en la saliva humana. *J. ciencia dental.* 8, 440–443 (2013).

- Dunipace AJ. Zhang W, Beiswanger AJ, Stookey GK. An in vitro model for studing the efficacy of fluoride dentifrices in preventing root caries. Caries Res. 1994;28:315-21.
- Enciclopedia Médica A.D.A.M. (Internet). Johns Creek (GA): Ebix, Inc., A.D.A.M.;
 ©1997-2020.Bulimia.(Última revisión 4/30/2022, Versión en inglés revisada por: Fred K.).Disponoble en ; https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000341.htm
- Ericson, T."Adsorption to hydroxyapatite of proteins and conjugated proteins from human saliva." (1967). Caries Res 1(1): 52-8.
- Featherstone JD. Caries dental: un proceso de enfermedad dinámico. Aust Dent J. 2008;53(3):286–91.
- Fejerskov O, Baelum V, Manji F, Moller IJ. Fluorose dentária: um manual para profissionais de saúde. São Paulo: Editora Santos; 1994.
- Flores AA. Ecología oral. Editorial el manual moderno, capitulo 2, 2022. Disponible en: https://aprendeenlinea-manualmoderno-com.pbidi.unam.mx:2443/reader/275496/&returnUrl%3DaHR0cHM6Ly9hcHJlbmRIZW5saW5IYS1tYW51YWxtb2Rlcm5vLWNvbS5wYmlkaS51bmFtLm14Ojl0NDMvaG9tZS9wcm9kdWN0LWRldGFpbHMvMjc1NDk2?epub=https%3A%2F%2Freader-apsouth.ipublishcentral.net%2Fd02e391d66cf08e8810703c566b318ea%2Fe369853df766fa44e1ed0ff613f563bd%2F2a469ac77d14b93775ffa5ffbf1eb9e8%2F7f46165474d11ee5836777d85df2cdab%2F&goto=epubcfi(/6/18!/4%5Bx02_Almaguer_Villagomez_epub%5D/2/2/2)&productType=ebook
- Forney, K. J., Buchman-Schmitt, J. M., Keel, P. K., & Frank, G. K. (2016). The medical complications associated with purging. The International journal of eating disorders, 49(3), 249–259. Recuperado de: ncbi.nlm.nih.gov
- Gibbons, R. and M. Nygaard (1970). "Interbacterial aggregation of plaque bacteria." Arch Oral Biol 15(12): 1397-400.
- Gibbons, R. J. (1984). "Adherent interactions which may affect microbial ecology in the mouth." J Dent Res 63(3): 378-85.
- Gibbons, R. J., D. I. Hay, et al. (1988). "Adsorbed salivary proline-rich protein 1 and statherin: receptors for type 1 fimbriae of Actinomyces viscosus T14V-J1 on apatitic surfaces." Infect Immun 56(11): 2990-3.

- Gibbons, R. J., D. I. Hay, et al. (1991). "Delineation of a segment of adsorbed salivary acidic proline-rich proteins which promotes adhesion of *Streptococcus gordonii* to apatitic surfaces." Infect Immun 59(9): 2948-54.
- Gómez de Ferraris ME, Campos MA. Histología, embriología e ingeniería tisular bucodental. 3ª ed. México, D.F.: Médica Panamericana; 2009. Cap. 12 Esmalte. p 292-332.
- Gómez S.S, et al., editores. Fluoruroterapia en Odontología, Fundamentales y Aplicaciones clínicas. 4ª edición, editado Santiago Gómez Soler, 2010.
- GV, Black. Conclusiones del Dr. Black revisadas nuevamente. Dent Cosmos. 1898;40:440.
- Hausen H. How to improve the effectiveness of caries—preventive programs based on fluoride. Caries Res 2004;38:263-67.
- Hay, D. I. (1967). "The adsorption of salivary proteins by hydroxyapatite and enamel." Arch Oral Biol 12(8): 937-46.
- Hernández-Gil, Isabel Fernández-Tresguerres. "Introducción al aparato digestivo. Cavidad bucal." Fisiología humana, 4e Eds. Jesús A. Fernández-Tresguerres, et al.McGrawHill,2016,https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid= 1858§ionid=134367955.
- Hernández-Guerrero JC, Ledesma-Montes C, Cardiel-Nieves M, De la Fuente-Hernández J, JímenezFarfán D. Fluoride levels in México City's water supplies. Rev Int Contam Ambient. 2005;21(1):17-22.
- Jefferies, SR Avances en la remineralización de lesiones cariosas tempranas: una revisión exhaustiva. Compendio de educación continua en odontología (Jamesburg, NJ: 1995) 35, 237–243 (2014).
- Jaeggi T, Lussi A. Prevalence, incidence and distribution of erosion. Ch. 5 In Lussi A (ed) Dental Erosion. Monogr Oral Sci. Basel Karger 2006, 20: 44-65.
- Jarvinen VK, Rytomaa IJ, Heinonen OP. Risk factors in dental erosion. J Dent Res. 1991; 70 (6): 942-947.
- Jenkinson HF, Lamont RJ. Streptococcal adhesion and colonization. Crit Rev Oral Biol Med 1997;8:175-200

- Jones GW, Isaacson RE. Proteinaceous bacterial adhesins and their receptors. Crit Rev Microbiol. 1983;10(3):229-60. doi: 10.3109/10408418209113564. PMID: 6138214
- Kanduti D, Sterbenk P, Artnik B: Fluoruro: una revisión del uso y los efectos en la salud. Mater Sociomed 2016; 28:133-137.
- Kawasaki K, Buchanan AV. Weiss KM: Biomineralización en humanos: tomando las declaraciones difíciles en la vida. Annu Rev Genet 2009; 43:119 142.
- KLEINBERG I. UN ENFOQUE ECOLÓGICO DE BACTERIAS MIXTAS PARA COMPRENDER EL PAPEL DE LAS BACTERIAS ORALES EN LA CAUSA DE LA CARIES DENTAL: UNA ALTERNATIVA A STREPTOCOCCUS MUTANS Y LA HIPÓTESIS DE LA PLACA ESPECÍFICA. CRIT REV ORAL BIOL MED. 2002;13(2):108–25.
- Kolenbrander PE, London J. Adhere today, here tomorrow:oral bacteria adherente. J Bacteriol 1993:175:3247- 52.
- Kolenbrander, P., R. Andersen, et al. (1999). "Potential role of functionally similar coagregation mediators in bacterial succession." In: Newman HN & Wilson M, ed. Dental Plaque Revisited: Oral Biofilms in Health and Disease. Eastman Dental Institute, University College London: 171-186.
- Lei, C., Jiyao, L., Hockin HK, X., Xuedong, Z. (2016). Desmineralización y Remineralización. En: Xuedong, Z. (eds) Caries dental. Springer, Berlín, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-47450-1
- Li X, Wang J, Joiner A, Chang J: La remineralización del esmalte: una revisión de la literatura. J Dent 2014;42(1):S12-20.
- Liu X, Zhou X, Guo B, Jin S, Zhang P. Observation on the inhibiting effect of Fluor Protector on the demineralization of bovine enamel after exposure to some beverages. Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao. 2002; 33 (2): 250-252
- Loke C, Lee J, Sander S, Mei L, Ferella M: Factores que afectan el pH intraoral: revisión. J Oral Rehabil 2016; 43: 778-786.
- Loveren C van. The antimicrobial action of fluoride and its role in caries inhibition. J. Dent Res. 1990; 69: 676-681.
- Luoma H. Chlorhexidine solutions, gels and varnishes in caries prevention. Proc Finn Dent Soc. 1992; 88: 147-153

- Lussi Adrian FJ: Erosión dental: del diagnóstico a la terapia en: monografías de ciencia oral. Suiza:GM 2006.
- Margolis HC, Kwak SY, Yamazaki H. Role of mineralization inhibitors un the regulation of hard tissue biomineralization: relevance yo initial enamel formation and maturation. Front Physiol. 2014; 5:339.
- Marinho VC, Higgins JP, Logan S, Sheiham A. Fluoride gels for preventing dental caries in children and adolescents (Review). Cochrane Database of Systematic Reviews 2002;2:CD002280.
- Marinho VCC, Higgins JPT, Logan S, Sheiham A. Fluoride varnishes for preventing dental caries in children and adolescents (Cochrane Review). In: The Cochrane Library, Issue 2, 2004. Chichester, UK: John Wiley and Sons, Itd.
- Marsh, P. D. and D. J. Bradshaw (1995). "Dental plaque as a biofilm." J Ind Microbiol 15(3): 169-75.
- Marsh PD, Bradshaw DJ. Microbial community aspects of dental plaque. En: Newman HN, Wilson M, eds. Dental plaque revisited. Oral biofilms in health and desease. UK: BioLine;1999:237-53.
- Marshall GW, Balooch M, Gallagher RR, Gansky SA. Marshall SJ. Mechanical Propersties of the dentinoenamel junctions: AFM studies of nanohardness, elestic modulus, and fracture. J Biomed Mater Res. 2001; 54 (1): 87-95.
- Milgrom P, Ly KA, Roberts MC, Rothen M, Muller H, Yamaguchi DK. Mutans streptococci dose response to Xylitol chewing gum. J Dent Res 2006;137(2):190-6.
- Molin, S. (1999). "Microbial activity in biofilm communities." In: Newman HN & Wilson M, ed. Dental Plaque Revisited: Oral Biofilms in Health and Disease. Eastman Dental Institute, University College London: 73-78.
- Monterde CME, Martínez RIM, Guzmán FCE, Espejel MM: Desmineralizaciónremineralización del esmalte dental. Revista de la Asociación dental mexicana 2002; 59:220-222.
- Moore, K. L., Dalley, A. F., & Agur, A. M. R. (2014). Clinically Oriented Anatomy (7th ed.). Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins.
- Moore, W. E., L. V. Holdeman, et al. (1983). "Bacteriology of moderate (chronic) periodontitis in mature adult humans." Infect Immun 42(2): 510-5.

- Moore, W. E., L. V. Holdeman, et al. (1982). "Bacteriology of severe periodontitis in young adult humans." Infect Immun 38(3): 1137-48.
- Morandian-Oldak J: Mineralización del esmalte mediada por proteínas. Fornt Biosci (edición historica) 2012,17:1996-2023.
- N.L. Thenisch, L.M. Bachmann, T. Imfeld, T. Leisebach, J. Steurer. Are mutans streptococci detected in preschool children a reliable predictive factor for dental caries risk?. A systematic review. Caries Res, 40 (2006), pp. 366-374 ://dx.doi.org/10.1159/000094280 | Medline.
- O. Fejerskov, A. Thylstrup. Different concepts of dental caries and their implications. Textbook of clinical cariology, 2nd, pp. 209-217.
- Ogaard B.The cariostatic mechanism of fluoride. Compend Coontin Educ Dent 1999;20:10-7.
- Oliveby A, Twetman S, Ekstrand J. Diurnal fluoride concentration in whole saliva in children living in a high-and a low-fluoride area. Caries Res. 1990;24:44-7.
- Oliveira, PRA, Barboza, CM, Barreto, L. & Tostes, MA Efecto de CPP-ACP en la remineralización de lesiones artificiales similares a caries: un estudio in situ. *Brasil. Res. oral* 34, e061. https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1590/1807-3107bor-2020.vol34.0061 (2020).
- Paster, B. J., S. K. Boches, et al. (2001). "Bacterial diversity in human subgingival plaque." J Bacteriol 183(12): 3770-83.
- Poulsen S. Fluoride-containing gels, mouth rinses and varnishes: an update of evidence of efficacy. Eur Arch Paediatr y Dent.2009;10:157-61.
- Reynolds Ec, Cai F, Cochrane N, Shen P, Walker Gd. Fluoride and Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate. Journal of Dental Research, 87(4):344-348, 2008.
- Riordan PJ. Dental fluorosis decline alter changes to supplement and toothpaste regimens.Community Dent Oral Epidemiol.2002;30:233-40.
- Ripa LW. Una crítica de los métodos tópicos de fluoruro (dentífricos, enjuagues bucales, geles autoaplicados y aplicados por el operador) en una era de disminución de la caries y aumento de la prevalencia de la fluorosis. J Salud Pública Dent. 1991;51(1):23–41.

- Robinson C, Shore RC, Brookes SJ, Strafford S, Wood SR, Kirkham J. La química de la caries del esmalte. Crit Rev Oral Biol Med. 2000;11(4):481–95.
- Rošin-Grget, K., Peroš, K., Sutej, I. & Bašić, K. Los mecanismos cariostáticos del fluoruro. Acta Med. Academia 42 , 179–188. https://doiorg.pbidi.unam.mx:2443/10.5644/ama2006-124.85 (2013).
- Saxton, C. (1973). "Scanning electron microscope study of the formation of dental plaque." Caries Res 7(2): 102-19.
- Scannapieco, F. A. (1994). "Saliva-bacterium interactions in oral microbial ecology."
 Crit Rev Oral Biol Med 5(3-4): 203-48.
- Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana. NOM-040-SSA1-1993 Productos y servicios. Sal yodada y sal yodada fluorurada. Especificaciones sanitarias. Diario Oficial de la Federación 2010.
- Secretaría de Salud. Programa de Salud Bucal. Encuesta Nacional de Caries 2001, disponible
 http://www.cenavece.salud.gob.mx/programas/descargas/pdf/encd2001.
 pdf Consultado octubre 2013.
- Sovik JB, Vieira AR, Tveit AB, Mulic A: genes de formación de esmalte asociados con el desgaste erosivo dental. Caries Res 2015; 49: 236-242.
- Takagi S, Liao H, Chow LC. Efecto del fluoruro adherido al diente sobre la desmineralización/remineralización del esmalte in vitro. Caries Res. 2000;34(4):281–8.
- Takahashi N, Nyvad B: Hipótesis ecología de la dentina y la caries radicular. Caries Res 2016; 50:422-431.
- Theilade, E., J. Theilade, et al. (1982). "Microbiological studies on early dentogingival plaque on teeth and Mylar strips in humans." J Periodontal Res 17(1): 12-25.
- Thierens, LAM et al. El efecto remineralizante in vitro de CPP-ACP y CPP-ACPF después de 6 y 12 semanas sobre la lesión de caries inicial. Aplicación J. Ciencia oral. Rev. FOB 27, e20180589. https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1590/1678-7757-2018-0589 (2019).
- Tulumbacı, F. & Oba, AA Eficacia de diferentes agentes de remineralización en el tratamiento de lesiones incipientes del esmalte de dientes primarios y permanentes.

- *JCD* 22 , 281–286. https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.4103/jcd.Jcd_509_18 (2019).
- Velázquez MO, Vera HH, Irigoyen CME, Mejía GA, Sánchez PTL. Changes in the prevalence of dental caries in schoolchildren in three regions of Mexico: surveys from 1987-1988 and 1997-1998. Rev Panam Salud Publica. 2003;13(5):320-6.
- Yeung CA. Efficacy of salt fluoridation. Evid Based Dent. 2011;12(1):17-8.
- Walker, GD et al. El consumo de leche con fosfato de calcio amorfo de fosfopéptido de caseína añadido remineraliza las lesiones de la subsuperficie del esmalte in situ. agosto Mella. J. 54, 245–249. https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1111/j.1834-7819.2009.01127.x (2009).
- Walsh T, Worthington HV. Glenny AM, Appelbe P, Marinho VC, Shi X. Fluoride toothpaste of different concentrations for preventing dental caries in children and adolescents. Cochrane Detabase Syst Rev. 2010;20: CD007868.
- Wang, Y., Li, X., Chang, J., Wu, C. & Deng, Y. Efecto del material bioactivo de silicato tricálcico (Ca(3)SiO(5)) sobre la reducción de la desmineralización del esmalte: un análisis de pH *in vitro* estudio de ciclismo. *J. Dent.* 40, 1119–1126. https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/j.jdent.2012.09.006 (2012).
- Weintraub JA, Ramos-Gómez F, Jue B, et al. Fluoride varnish efficacy in preventing early childhood caries. J Dent Res 2006; 85: 172–176.
- Whittaker CJ, Klier CM, Kolenbrabder PE. Mechanisms of adhesión by oral bacteria. Annu Rev Microbiol 1996;50:513-52.
- M, ESPE, Clinpro. Clinpro™ White Varnish Barniz Desensibilizante con Fosfato Tricálcico, Recicle. Impreso en (país). © 3M 2015. Todos los derechos reservados.