BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

MAESTRÍA EN ESTOMATOLOGÍA CON TERMINAL EN PEDIATRÍA

Secretaria de Investigación y División de Posgrados

TESIS

"Efecto inhibitorio de distintas concentraciones de Fluoruro Diamino de plata. Estudio *in vitro*"

Que para obtener el Título de Maestría en Ciencias Estomatologicas Terminal Pediatría

PRESENTA

Lic. Estomatología: Brissia Karen Gutiérrez Estudillo

I.D 215450015

ASESOR DISCIPLINARIO

M.E.P. Alejandra Peral García

ID 100043911

ASESOR METODOLÓGICO

Dr. Christian Dionisio Román Méndez

ID 100392244

ASESOR

M.E. P. Jorge Soto Balderas

ID 100442633

Puebla. Pue Abril 2017

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es la culminación de una etapa inolvidable en mi vida que me brindó mucho aprendizaje, todo logrado gracias a que DIOS y a mi familia me han acompañado en el camino.

Quiero agradecer a mis papás, Rodolfo y Ma. Elena, por estar siempre conmigo, apoyándome en todos los sentidos, al igual que a mis hermanas Ixsel y Keila, por supuesto a mi novio incondicional José Manuel, a mis abuelitos en especial (Lolito) que desde el cielo has sido ese ángel que nunca me deja sola dándome siempre mucha fuerza, sabiduría para seguir con mis sueños y metas, a toda mi familia ustedes son mi mayor tesoro, los amo con toda el alma, sin ustedes nada de esto sería posible.

También quiero agradecer a la Dra. Ángeles por su apoyo absoluto y desinteresado al estar conmigo corrigiendo cada detalle de esta investigación, al Dr. Cristian por aceptar enseñarme todo lo necesario para poder llevar a cabo todo esto y un agradecimiento muy especial a la Dr. Rosendo Carrasco Gutiérrez porque gracias a su conocimiento y experiencia hoy logramos concluir esta tesis. No puedo dejar de mencionar a mis asesores, ya que ellos aceptaron emprender este maravilloso viaje conmigo. Y en general gracias a todos mis maestros por formarme como odontopediatra.

Gracias a mis amigas, porque juntas nos caímos y nos levantamos muchas veces durante nuestra estancia. Eli, gracias por tu ayuda incondicional. Y por supuesto muchas gracias a los pasantes y doctores del Laboratorio de Microbiología de la FEBUAP.

INDICE

INTRODUCCIÓN 4

MARCO TEORICO 6

ANTECEDENTES ESPECÍFICOS 11

JUSTIFICACIÓN 17

OBJETIVOS 19

HIPOTESIS 20

MATERIAL Y MÉTODOS 21

CRITERIOS DE SELECCIÓN. 21

VARIABLES 22

TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS 23

ANÁLISIS ESTADÍSTICO 28

RESULTADOS 29

DISCUSIÓN 37

CONCLUSIÓN 39

ALCANCES DEL ESTUDIO 40

ANEXO 41

BIBLIOGRAFÍA 43

INTRODUCCIÓN

De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-013-SSA2-2006 la caries se define como la enfermedad infecciosa, bacteriana, transmisible, multifactorial que provoca la destrucción irreversible de tejidos dentarios a cualquier edad. Es el problema más significativo de la salud pública bucal y la enfermedad de mayor prevalencia en el ser humano.

El fluoruro diamino de plata (FDP) se ha propuesto como alternativa de tratamiento en el arresto de caries por ser un agente cariostático, promueve la remineralización de los tejidos afectados así como la esclerosis de la dentina; es un tratamiento opcional, no invasivo y de menor costo.

La idea de proponer una solución de FDP que actúe sobre la caries de órganos dentarios temporales cavitados, es con la finalidad de mantenerlos sin requerir tratamientos invasivos como: la pulpotomía, resina, amalgama, ionómero de vidrio o, en su defecto, hasta la extracción del diente temporal, terapias que requieren la utilización de inyección anestésica e instrumentos rotarios, que muchas veces, son mal tolerados por niños de corta edad.

En Estomatología Pediátrica su utilización se ha visto limitada por principios estéticos principalmente por pigmentación de los órganos dentarios al aplicarlo, sin embargo, están comprobados sus beneficios, así como la capacidad de la remineralización del esmalte.

El FDP se utiliza para detener e inhibir la caries por la combinación de flúor y plata a una concentración del 38%, por lo que se pretende evidenciar si el efecto antimicrobiano del FDP se conserva igual a pesar de que éste pueda diluirse.

En México no se reportan estudios realizados con FDP *in vivo* en humanos, motivo por el cual el presente trabajo pretende sentar las bases o antecedente para futuros trabajos de investigación, se espera que ayude a investigadores para la adquisición de una nueva experiencia en el campo clínico.

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto inhibitorio a distintas concentraciones del Fluoruro Diamino de Plata. Estudio *in vitro*.

MARCO TEORICO

Antecedentes generales

Flúor

El flúor en Odontología tuvo su inicio en 1901, cuando un joven dentista recién graduado llamado Frederick McKay dejó la Costa Este de los Estados Unidos e inició su práctica profesional en el pueblo de Colorado Springs, en el Estado de Colorado. En la literatura científica odontológica de aquellos años no se encontraba ninguna referencia acerca de la naturaleza de las manchas pardas en los dientes. Los residentes atribuían el problema a una diversidad de factores extraños tales como: comer en exceso carne de puerco, consumir leche de mala calidad o tomar agua con exceso de calcio. Ante esto, McKay asumió el reto e inició por cuenta propia la investigación de esta afección. Sus primeras investigaciones epidemiológicas fueron ignoradas y rechazadas por los dentistas del pueblo y zonas circunvecinas, sin embargo, McKay perseveró y finalmente logró que sus colegas se interesaran en el problema, el cual llegó a conocerse como Mancha Café de Colorado[1]

El flúor es un elemento químico perteneciente al grupo de los halógenos de bajo peso atómico y electronegativo. Por su carga negativa se combina con cationes tales como el calcio o el sodio para formar compuestos estables (como el fluoruro de calcio y el fluoruro de sodio), que están en la naturaleza en el agua y los minerales. De forma natural se encuentra en diferentes concentraciones en el agua, dependiendo de las zonas geográficas. Generalmente las aguas superficiales contienen bajos porcentajes de fluoruros, mientras las aguas subterráneas, adquieren concentraciones más altas que varían de acuerdo a la época de lluvia o estiaje en las diferentes zonas del país. Para conocer la cantidad del ión flúor en una región determinada, se promedian las dos épocas.[2]

La principal vía de incorporación del flúor en el organismo humano es la digestiva. Es absorbido rápidamente en la mucosa del intestino delgado y del estómago, por un simple fenómeno de difusión. Una vez absorbido, el flúor pasa a la sangre y se distribuye en los tejidos, depositándose preferentemente en los tejidos duros; se

elimina por todas las vías de excreción, principalmente por orina. En el humano debido a su afinidad por el calcio, el fluoruro esta principalmente asociado a tejidos calcificados (huesos y dientes). Cuando se consume en cantidades óptimas aumenta la mineralización del esmalte y favorece la densidad ósea reduciendo el riesgo de caries dental. [3]

Los fluoruros actúan sobre la vía glucolítica e interfieren en la regulación enzimática del metabolismo de los carbohidratos de los microorganismos orales reduciendo la producción de ácidos y almacén de polímeros de azúcares.[4]

Mecanismo de acción del flúor en la prevención de caries

1.- Inhibición de la desmineralización y catálisis de la re mineralización del esmalte desmineralizado:

Las reacciones químicas son reversibles y se rigen por la ley de acción de masas, de modo que si aumenta la acidez (aumento hidrogeniones) se produce una descalcificación o desestructuración de las moléculas de hidroxiapatita (HAP) y de fluoropatita (FAP).

El esmalte desmineralizado tendría mayor capacidad para captar el flúor que el esmalte sano, en definitiva, el proceso de desmineralización y remineralización es un proceso dinámico que dura toda la vida del diente.

2.- Transformación de la HAP en FAP:

La FAP es más resistente a la desmineralización, esta reacción química entre la HAP y la FAP presenta una reversibilidad en función de la concentración de flúor en el entorno del esmalte dental, de modo que la FAP no sería una situación definitiva y estable.

3.- Inhibición de las reacciones de flucólisis:

De la placa dentobacteriana (sobretodo, *Streptococcus mutans*), con lo que disminuye la formación de ácidos (butírico y acético), mecanismo inicial indispensable para la descomposición de la HAP en iones calcio, fosfato y agua.

4.- Reducción de la producción de polisacáridos extracelulares en la placa dental:

En todos los casos parece que el factor más importante en la prevención de caries es la exposición a baja dosis pero continúas de fluoruro en la cavidad bucal todo esto siempre de acuerdo al riesgo de caries.[5]

Fluoruro Diamino de Plata

Los compuestos de plata han sido utilizados en odontología desde 1840, entre ellos el fluoruro diamino de plata [Ag (NH_3) F_2] (FDP); es una solución que se ha utilizado para detener la caries dental desde 1970. Aunque su mecanismo de acción no está bien definido, se ha propuesto que FDP es uno de los componentes químicos que contribuyen a los siguiente beneficios: las sales de plata estimulan la esclerosis de la dentina, el nitrato de plata actúa eliminando bacterias y el fluoruro ayuda en la prevención y remineralización.[6]

El FDP es un producto de origen japonés que poco a poco se ha ido introduciendo en México en concentración de 380 mg/ml. El efecto cariostático, así como sus propiedades como desensibilizante y bactericida, lo han colocado como uno de los principales fluoruros preventivos. El FDP se menciona en la literatura odontológica desde hace 30 años, aunque su divulgación terapéutica es algo más reciente. Debido a sus cualidades bactericidas, la concentración del FDP a 38 mg/ml se redujo para emplearlo en la desinfección de los conductos radiculares, así como también para detener e inhibir la caries, mediante la combinación de flúor y plata a una concentración al 38%. Siendo su marca comercial (Saforide, J. Morita, Osaka, Japón).[7]

Entre las principales propiedades que se atribuyen al FDP están: aumentar la resistencia del esmalte dental, inhibir la formación de biopelícula dental, disminuir la producción ácida de los microorganismos en la dentina cariada; así como también reducir la proliferación de *Streptococcus mutans* y obliterar los túbulos dentinarios expuestos. Por tal motivo, se establece una acción cariostática al impedir el proceso de caries; aunado a esto reportó que la solución de FDP presenta un efecto

antimicrobiano, siendo empleado para la asepsia de conductos radiculares aunado al hecho que se demostró *in vitro* que impide la degradación de colágeno en la dentina desmineralizada. [8]

Debido a las propiedades que se le atribuyen y su relativo bajo costo, el FDP resulta ideal para la aplicación masiva, ya que permite el tratamiento no invasivo de la caries especialmente en poblaciones infantiles de zonas rurales o suburbanas. [9]

El FDP es una solución incolora que contiene iones de flúor y ha sido utilizado en odontología para detener o disminuir la velocidad de progresión de caries, manejo de caries en niños pequeños sin compromiso pulpar, detener caries radiculares, prevenir caries de fosas y fisuras, así como caries secundaria, desensibilizar piezas dentarias, tratamiento de conductos infectados y prevenir la fractura de dientes tratados endodóncicamente, está contraindica en lesiones muy cercanas a pulpa. [10]

Se le reconoce también la capacidad de detener el proceso de caries y a la vez de prevenir la formación de nuevas lesiones cariosas, por estimulación y formación de dentina reparativa por la sal de plata, del efecto germicida por el nitrato de plata y la habilidad del fluoruro de inhibir la desmineralización y favorecer la remineralización.[11]

El uso tópico del FDP produce:[12]

- Remineralización de la dentina desmineralizada.
- Remineralización de mancha blanca.
- Remineralización por debajo de las coronas con filtraciones, luego de remover amalgamas o composites en el sector posterior.
- Detención de caries en sector anterior o posterior de dientes temporales.
- Detención de caries rampante de órganos dentarios temporales con compromiso pulpar o no.
- Tratamiento de hiperestesia dentinaria.
- Remineralización en surcos profundos cariados de molares permanentes o temporales antes de colocar un sellador de fosas y fisuras.

- Remineralización en caries proximales de molares permanentes y temporales con difícil acceso.

Las desventajas mencionadas en la literatura en cuanto a su uso son:

- Tinción negra de las lesiones de caries tratadas, lo que afecta la estética, pudiendo no ser del agrado de los padres o del paciente o de ambos
- Presenta un sabor metálico poco agradable
- Puede ocurrir una irritación de la mucosa y encía adyacente al diente tratado; la zona afectada toma un color blanquecino, transitorio, que sana usualmente en uno o dos días.
- Se debe tener precaución en niños pequeños, por la alta concentración de fluoruro, lo que pudiese ser dañina si se ingiere en grandes dosis [13]

Indicaciones clínicas

- Arresto de caries incipientes, como agente cariostático, desensibilizante y remineralizante,
- Prevención de caries recurrentes en restauraciones
- Detención de caries rampante
- Desensibilización dentinaria
- Remineralización de esmalte hipocalcificado e interrupción de la progresión de caries ya instalada.

Precauciones y advertencias:

Se requiere aislamiento absoluto si la lesión cariosa se encuentra cerca de la encía. De no ser así, aplicar vaselina o manteca de cacao sobre la encía como aislamiento relativo para su posterior aplicación. [14]

ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

Streptococcus mutans

Los *Streptococcus mutans (S. mutans)* son bacterias esféricas (cocos) ordenados en cadenas o pares, positivos a la tinción de Gram, no forman esporas, no móviles, anaerobios facultativos, homofermentativos, forman ácido láctico como producto principal de la fermentación de la glucosa[15]

El *S. mutans* fue descrito por primera vez por Clarke en 1924 el cual lo aisló de muestras de dentina cariada[16]

Existen diversos grupos de estreptococos y clasificaciones de acuerdo con sus características y propiedades, el *S. mutans* pertenece al grupo de *streptococcus viridans*, se encuentra en boca formando el biofilm junto con otros microorganismos como *Fusobacterium sp*, espiroquetas, difteroides, *S. sanguis*, *S. sobrinus* y *S.mitis* entre otros.[17] Las características de la boca permiten la colonización debido a su temperatura, humedad, porque constituye una fuente permanente de nutrientes.

Dentro de la cavidad oral hay diferentes ecosistemas, cada uno con sus bacterias características, por ejemplo, el *S. salivarius* coloniza con preferencia la superficie dorsal de la lengua, el *S.mitis* es el microorganismo predominante en la mucosa bucal, mientras que el *S. sanguis* y el *S. mutans* colonizan los dientes.[18] En este sentido, existen estudios que muestran asociación entre la caries y la presencia de *S. mutans* en la placa y saliva. La presencia y el número de estos microorganismos en la saliva o placa dental, varían con la edad y también con las poblaciones estudiadas.[19]

El *S. mutans* es el microorganismo considerado como el principal cariogénico si los sujetos de estudio reciben una dieta rica en sacarosa o azúcares fermentables. Su capacidad para adherirse firmemente a las paredes de los dientes en presencia de sacarosa (formación de glucános y mutanos) es una de las características que se relaciona con su potencial para el desarrollo de la caries.[20] Éste se puede cuantificar en la saliva, por lo que ha sido utilizado en numerosos estudios para

relacionar la prevalencia y la incidencia de caries. La cantidad encontrada en saliva varía considerablemente desde cero hasta más de 10^6 Unidades Formadoras de Colonias/ml (UFC/ml), con una concentración promedio aproximada de 10^5 UFC/ml. El grado de colonización de la cavidad bucal se ha correlacionado por diversos investigadores con la prevalencia de caries. El recuento de *S. mutans*, por diversas técnicas de evaluación tanto comercial (CRT, Dentocult) como convencional de laboratorio (conteo en placa por dilución de saliva total), se interpreta de la siguiente manera: [21,22,23]

- Alto riesgo a caries mayor 100.000 UFC x ml. (10^5)
- Moderado riesgo a caries ≥110.000 UFC x ml
- Bajo riesgo a caries menor 100.000 x ml (10^5).

Se considera que la producción y secreción salival constituyen uno de los 8 factores más importantes que influyen en la homeostasis de la cavidad bucal, protegiendo a los dientes y mucosa contra la influencia de muchos factores perjudiciales. El papel que desempeña la saliva en relación con el desarrollo de la caries dental se debe, principalmente, a la velocidad y cantidad de flujo salival total que favorece la limpieza de sustratos bacterianos y protege las superficies bucales gracias a su capacidad amortiguadora (CA), las sustancias que incrementan el pH y los agentes antimicrobianos presentes en su composición.[24]

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), en México en el 2009, se determinó que el índice CPOD (dientes cariados, perdidos u obturados) fue de 2.5 a 5.1 para niños de 12 años lo cual está considerado como un grado de afección de moderado a alto.[25]

Lactobacillus sp

Son bacilos Gram-positivos, anaerobios facultativos, acidógenos y acidúricos, su crecimiento se favorece a un pH cercano a 5, así como el inicio de su actividad proteolítica. Algunas cepas sintetizan polisacáridos intra y extracelulares a partir de la sacarosa, pero se adhieren muy poco a superficies lisas, por lo que deben utilizar otros mecanismos para colonizar las superficies dentarias como es el introducirse a sitios retentivos como fosas y fisuras oclusales o por unión con otras especies bacterianas presentes en la biopelícula.[26]

Hasta mediados de 1940 se consideró al *Lactobacillus sp* como el principal agente microbiano causante de la caries, posteriormente el estudio de Hemmens y col. en 1946, demostró que *Lactobacillus sp* coloniza sobre las lesiones ya formadas, y no predominaba en la placa dental durante las primeras etapas de formación de la lesión, por lo que desde entonces se consideró a esta especie bacteriana como un oportunista secundario, que está implicado en la progresión de la lesión de caries y que prevalece en las etapas avanzadas de la misma.[27] *Lactobacillus sp* presenta adherencia a colágena tipo 1, lo cual explica su establecimiento posterior a la presencia de lesiones cariosas que exponen tejido dentinario.[28]

De acuerdo a la actividad metabólica sobre los hidratos de carbono, *Lactobacillus sp* se han clasificado en 3 Grupos: [29]

- Grupo I se encuentran *L.delbrueckii y L.salivarus* y son homofermentativos.
- Grupo II, que son heterofermentativos facultativos, se encuentran *L.casei*, y *L.plantarum.*
- Grupo III son heterofermentativos estrictos, donde se encuentra *L.fermentum* y *L. oris*.

En presencia de gluconato se comportan como heterofermentativos estrictos, produciendo acetato, etanol, formato, lactato y CO2. En presencia de glucosa, se comportan como homofermentativos por su producción de lactato sin CO2, pero como producen la enzima piruvato-formato liasa, pueden producir acetato, etanol y formato, pero sin CO2.[30]

Los *Lactobacillus sp* se relacionan con la progresión de la lesión cariosa en corona y/o raíz. El alto grado de infección por lactobacilos (>10^6 UFC lactobacilos/ml de saliva), se relaciona con elevada actividad de caries y con la elevada ingestión de carbohidratos fermentables.[31]

Fluoruro Diamino de Plata

Miller en (1905); manifestó la acción protectora del nitrato de plata debido a la coagulación del contenido de los túbulos; éste estimulaba las fibrillas dentinarias por estimulación de la pulpa y provocaba solidificación de la dentina, lo que trajo como consecuencia una barrera para la progresión de la caries.[32]

Yamaga y Yokomizo, (1969) reportaron en China que al aplicar FDP al 38% en dientes anteriores primarios de preescolares, se observó una disminución en los niveles de caries así como inhibición de la misma.[28]

Nishino y Yoshido (1969), realizaron aplicaciones anuales FDP del 38% (44.800 ppm F) para dientes anteriores cariados primarios de niños preescolares de China y demostró ser significativamente más eficaz en la detención de caries y la prevención de nuevas caries que las aplicaciones cada tres meses de flúor barniz de sodio (22.600 ppm F). Mostraron experimentos básicos y clínicos después del análisis por el método cristalográfico y demostraron que al tratar el esmalte por 30 minutos a 37°C había formación de fosfato de plata y fluoruro de calcio insoluble.[33]

Lo EC, Chu, y Lin HC (2001) realizaron una investigación sobre la efectividad de aplicaciones tópicas de FDP en solución, y de barniz de fluoruro de sodio en el detección de lesiones cariosas que afectaran dentina en dientes anteriores superiores. Se llevó a cabo en 375 niños de tres a cinco años de edad divididos en cinco grupos. El primero y segundo grupo recibió aplicaciones anuales de FDP en solución. El tercero y el cuarto grupo tuvieron aplicaciones cada tres meses de barniz de fluoruro de sodio. En el primero y el tercer grupo la lesión cariosa fue removida antes de la aplicación, el quinto grupo fue control. Los resultados en el arresto de lesiones cariosas en las superficies dentales respectivamente fueron: 2.8; 3.0: 1.7: 1.5, y 1.0 (p 0.001).[34]

Chu C et al (2002), Lo E. en una revisión sistemática del año 2008, obtuvieron una fracción preventiva para el FDP en dentición primaria mayor a un 96% para la detención de caries, y de más de un 70% para la prevención y control de caries. Para dentición permanente, los valores fueron de 100% y 64%.[35]

Llodra et al., (2005), demostraron la eficacia clínica en la detención y prevención de nuevas caries en la dentición de niños 6 a 15 años de edad en un período de tres años con el uso del FDP al 38% aplicándolo cada 6 meses.[36]

Knight et al, (2005), en un estudio in vitro encontraron que después del tratamiento con FDP, el número de microorganismos presentes en la superficie del diente era significativamente menor.[25]

Delbem ACB, et al (2006), en su estudio compararon el efecto del barniz fluorado y de la solución del FDP sobre esmalte desmineralizado utilizando el estudio del ciclo pH. Lo realizaron en dientes de bovino distribuidos aleatoriamente en tres grupos: control (C), barniz (V) y FDP (D); estos grupos fueron sometidos a cambios de pH a temperatura de 37°C, posteriormente realizaron pruebas de microdureza de superficies en una parte longitudinal del esmalte. El estudio demostró que el flúor liberado por el barniz tiene mejor interacción con el esmalte, promoviendo menor perdida de mineral comparado con la solución de FDP, por lo que concluyeron que el barniz fluorado fue más efectivo en la reducción de desmineralización de la superficie del esmalte y lesión carosa que la solución del FDP.[37]

Yee R et al; (2009), en un ensayo clínico aleatorio prospectivo investigaron la efectividad de la detención de caries en una sola aplicación de: (1) 38% de Fluoruro Diamino de Plata (FDP) con ácido tánico como agente reductor; (2) 38% de FDP solo; (3) FDP al 12% solo; y (4) ninguna aplicación de FDP en dientes temporales de 976 estudiantes nepaleses. Los resultados de este estudio a 24 meses en los dientes posteriores primarios muestran que: una sola aplicación del FDP al 38% es eficaz para detener las lesiones de caries, pero la eficacia disminuye con el tiempo; y el ácido tánico del té no confiere ningún beneficio adicional; el FDP 12% no es efectivo[38]

Alves TMS et al.,(2010) evaluaron la actividad antimicrobiana de productos fluorados en cepas de Streptococcus mutans, Streptococcus oralis y Lactobacillus casei, compararon los productos a base de Fluoruro Diamino de Plata (Cariestop® a 12%, 16% y 30%), gel acidulado (Flutop®) y la espuma acidificada (fluoruro Care®), en forma pura y en seis diluciones (1: 2 a 1:64). Como resultado obtuvieron Cariestop® al 16% demostró la inhibición de *S. oralis* en su forma pura. En cuanto al Cariestop 30%, se encontró que inhibía *S. mutans* y *S. oralis* en su forma pura y la dilución a 1: 2. La espuma de ácido no mostró actividad antimicrobiana contra las cepas ensayadas mientras que el gel APF inhibió el crecimiento de *S. mutans* y *S. oralis.* Y concluyen que la mayoría cariostático mostró actividad anti microbiana contra S. mutans y S. oralis.[39]

Fung M, Wong CM et al., (2013) refieren y discuten la razón de la detención de tratamiento de la caries, mediante el mecanismo de acción de FDP, y la seguridad y las complicaciones de tratamiento FDP. Una búsqueda en la literatura para revisar 6 ensayos clínicos utilizando FDP en casos de caries de la infancia temprana (CIT), dieron como resultado que la aplicación de una sola vez de 12% FDP no es eficaz en la detención de caries en los niños, pero si lo es al 38%.[40]

Mei ML, et al., (2013) En un estudio in vitro investigaron los efectos del Fluoruro de Diamino de Plata sobre la lesión cariada de la dentina con biopelicula cariogénica. Inocularon 30 bloques de dentina humana con una doble biopelicula de Streptococcus mutans y Lactobacillus acidophilus para crear una lesión cariosa. Se dividieron igualmente en un grupo de ensayo y de control para recibir la aplicación tópica de FDP y agua. Las biopelículas fueron evaluadas por cinética, morfología y viabilidad por unidades formadoras de colonias (UFC), microscopía electrónica de barrido y microscopía confocal. Como resultado encontraron que las UFC S. mutans y L. acidophilus en el grupo de ensayo fue significativamente menor que el grupo de control, concluyendo que el FDP tuvo actividad antimicrobiana contra la biopelicula cariogénica y redujo la desmineralización de la dentina.[23]

JUSTIFICACIÓN

Los reportes encontrados en la literatura sobre el Fluoruro Diamino de Plata al 38% se han utilizado como solución bactericida, bacteriostático, inhibidor, remineralizante de caries y desensibilizante en la dentina.

Se sabe que el uso de los antisépticos cuando se diluyen, reducen su actividad antimicrobiana y debe aumentarse el tiempo de exposición para asegurar su efecto antimicrobiano.

Dado que no existe evidencia acerca de la disminución de la actividad antimicrobiana del FDP al diluirse en boca, surge la necesidad de encontrar evidencia bibliográfica que demuestre la capacidad de inhibición bacteriana a una dilución diferente al 38%, por lo que el impacto de la presente investigación, fue determinar la actividad del efecto inhibitorio del FDP al ser diluida a diferentes concentraciones. Razón por la cual, de ser eficaz sería una gran alternativa para el arresto de caries en pacientes pediátricos, menores de 3 años de edad.

Planteamiento Del Problema

El FDP es una sustancia utilizada para detener e inhibir los procesos de caries, debido a la combinación de flúor y plata a una concentración del 38%. Entre las propiedades más importantes que se le atribuyen es el aumentar la resistencia del esmalte, inhibir la formación de biopelícula dental, disminuir la producción ácida de los microorganismos en la dentina cariada así como reducir la proliferación de *Streptococcus mutans* y obliterar los túbulos dentinarios expuestos.

Dentro de la Estomatología Pediátrica el principal objetivo es detener y evitar la progresión del proceso carioso; sin embargo al momento de su aplicación la concentración puede verse alterada al tener contacto con la saliva inmediatamente después de ser aplicado.

Por lo tanto surge la siguiente pregunta de investigación:

¿Disminuye el efecto inhibitorio del Fluoruro Diamino de Plata a distintas concentraciones?

OBJETIVOS

General

Determinar el efecto inhibitorio del Fluoruro Diamino de Plata a distintas concentraciones.

Específicos

- Determinar el efecto inhibitorio del Fluoruro Diamino de Plata a distintas concentraciones contra *Streptococcus mutans.*
- Determinar el efecto el efecto inhibitorio del Fluoruro Diamino de Plata a distintas concentraciones contra *Lactobacillus acidophilus*.

HIPOTESIS

H_1

El efecto inhibitorio del Fluoruro Diamino de Plata es diferente a distintas concentraciones.

H_0

El efecto inhibitorio del Fluoruro Diamino de Plata es igual a distintas concentraciones.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Prospectivo, Analítico, *In vitro*.

Unidad de medida: Discos de papel Whatman

Muestra**:** No probabilística

CRITERIOS DE SELECCIÓN.

Criterios de inclusión.

Discos de medida de 6 mm

Discos con bordes completos

Discos estériles

Discos secos

Criterios de exclusión.

Discos que al momento del procedimiento pierdan la esterilidad.

Discos húmedos

Discos incompletos.

VARIABLES

Variable dependiente: Halos de inhibición.

Variable independiente: Fluoruro Diamino de Plata.

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala	Categoría
Halos de inhibición	Zona alrededor de un disco de papel filtro que contiene una concentración determinada de antibiótico en un antibiograma en el que no se produce crecimiento bacteriano en una placa de agar inoculada con el germen. Es una medida de la potencia del antibiótico frente al gérmen.	Se utilizaron discos de papel filtro tipo Whatman No.1 de 6 mm de diámetro. Embebidos con diferentes diluciones de fluoruro diamino de plata. Como testigo positivo de la inhibición se utilizarán discos de clorhexidina al 2%. Se mediron con vernier digital.	Cuantitativa, Numérica, Continua	mm
Fluoruro diamino de plata	Es una solución que ayuda en la eliminación de caries además de estimular la esclerosis de la dentina/calcificación, el nitrato de plata actúa eliminando bacterias y el fluoruro ayuda en la prevención de caries y remineralización.	Se realizaron diluciones del 38%,19%,9.5%, 4.25%, 2.37% y 1.18%.	Cuantitativa, Numérica, continua.	Concentración en porcentaje

TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS

Medio de cultivo

Se utilizó el medio de Muller-Hinton el cual se acondicionó de la siguiente manera:

1.- Preparación: De acuerdo con las instrucciones de la casa comercial.

2.- Ajuste: Se ajustó el pH a 7.2-7.4 con solución NaOH 0.1N.

3.- Esterilización: Se esterilizó en autoclave a una temperatura de 121°C por 15 min.

4.- Distribución. Se distribuyó el medio en cantidad aproximada de 25 ml en cajas de Petri de 15x 100 ml estériles.

Fundamento

En el método de Kirby Bauer, el microorganismo fue inoculado en la superficie de una placa de agar, sobre el cual se colocaron discos impregnados con una concentración conocida del Fluoruro Diamino de Plata. Las placas se incubaron por 16-18 horas a 37°C. Durante la incubación, el FDP se difundió radialmente desde el disco a través del agar, por lo que su concentración fue disminuyendo a medida que se alejó del disco.

En un punto determinado, la concentración del FDP en el medio fue incapaz de inhibir la bacteria estudiada.

El diámetro del área de inhibición alrededor del disco puede ser convertido a las categorías de sensible, intermedio o resistente.[41]

Concordancia y factibilidad

Para esta fase, se llevó acabo la estandarización intra e inter investigador para la preparación de cultivos de cepas de *S. mutans* y *Lactobacillus acidophilus* así como para las diluciones del Fluoruro Diamino de Plata a diferentes concentraciones.

Se desarrolló del método Kirby-Bauer como instrumento de medición para los halos de inhibición utilizando un vernier digital.

Procedimiento de laboratorio con método Kirby-Bauer

Los microorganismos utilizados fueron *S. mutans* y *Lactobacillus acidophilus* donados por el laboratorio de Microbiología oral de la Facultad de Estomatología de la BUAP.

1.- Preparación de cultivo. Se siguieron las instrucciones del fabricante para obtener la cantidad de gramos a utilizar del agar Müeller Hinton en este caso se procedió a pesar 13.3 grs del cultivo en polvo mezclado en 400 ml de agua. Una vez obtenida una mezcla homogénea se llevó a esterilizar el cultivo para después ser vertido en las placas a utilizar.

2.- Diluciones. Se realizaron las diferentes diluciones de FDP con agua destilada de 1:2 iniciando con 1ml de FDP y 1 ml de agua destilada. Una vez obtenida la primer dilución se tomó con ayuda de la micropipeta 1ml y se agregó a 1 ml de agua destilada y así se repitió 5 veces más para obtener las siguientes diluciones 38%,19%,9.5%, 4.25%, 2.37% y 1.18% (Fig.4)

Fig.4

3.-Preparación de las placas. Con el medio de cultivo se vertieron 25 a 30 ml de agar Müeller Hinton fundido en placas estériles de 100 mm de diámetro, para obtener una altura de 4 mm (Fig. 5). Para eliminar la humedad se colocaron las placas en estufa de cultivo a 37ºC por (Fig.6).

Fig.5

Fig.6

4.- Preparación del inóculo. Se tomaron 4 o 5 colonias aisladas, de igual morfología de la placa de cultivo de 18 a 24 horas de incubación; con una asa se introdujeron en 5 ml de caldo de Infusión Cerebro Corazón (BHI) y MRS (Fig.7). Si la turbidez obtenida fue la adecuada, no fue necesario una incubación posterior, en caso contrario, se incubó a 37ºC hasta lograr la turbidez del testigo, la que terminó de ajustarse agregando solución fisiológica si fuese necesario. El testigo utilizado corresponde al 1 de la escala de Mc Farland (Fig.8).

Fig.7

Fig.8

5.- Siembra de las placas. Se colocó 10 µl del inóculo y con ayuda de una varrilla de vidrio de forma triangular se realizó siembra masiva en placa con medio de cultivo MRS para *Lactobacillus* y agar Müeller Hinton para *Streptococcus mutans*. (Fig. 9)

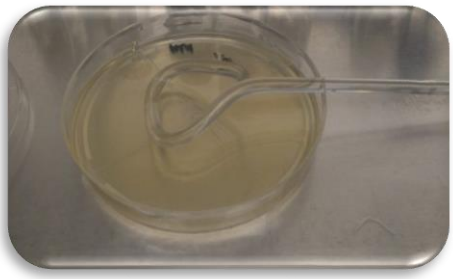

Fig.9

6.- Colocación de los discos. Se utilizaron discos de papel filtro tipo Whatman de 6 mm de diámetro previamente elaborados y esterilizados (Fig.10), colocándose 6 discos en la periferia y 1 en el centro dejando entre disco y disco un espacio uniforme (aprox. 2 cm) repitiendo el procedimiento 6 veces para cada medio de cultivo MH para cepas de *S. mutans y* MRS para cepas de *Lactobacillus*.

A cada disco se le colocaron 10 µl de las diferentes diluciones de FDP (Fig.11) y con ayuda de una pinza estéril se sostuvo el disco procurando hacer un contacto uniforme en la superficie del agar imprimiéndole una ligera presión (Fig.12). Como testigo positivo de la inhibición se utilizaron discos de clorhexidina al 2% y como testigo negativo un disco de papel filtro estéril.

Fig. 10

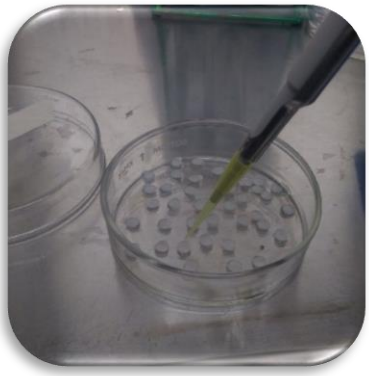

Fig. 11

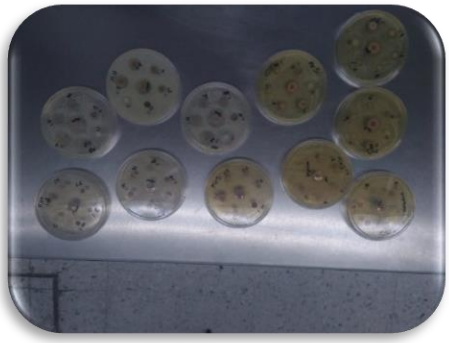

Fig.12

7.- Incubación de las placas. Se incubaron las placas invertidas, en grupos no superiores a 5 placas, a 37ºC en atmósfera del 5%CO_2 durante 18 a 24 horas (Fig. 13).

Fig.13

8.- Medición de las zonas de inhibición. Pasada las 24 horas y con ayuda de un vernier digital, se midió el halo de inhibición, registrándose en una tabla con las diferentes diluciones (Fig.14 y 15).

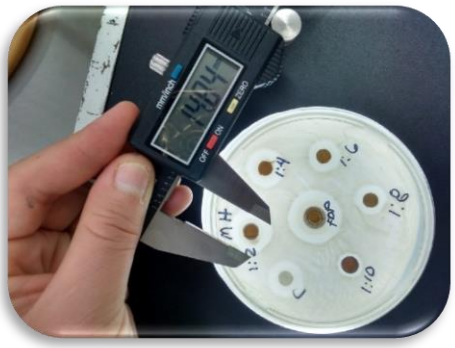

Fig. 14

Fig. 15

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se vaciaron en el programa Excel 2010, posteriormente fueron analizados en el paquete estadístico SPSS versión 22.

Se utilizó estadística descriptiva (medidas de tendencia central y dispersión) y para la estadística inferencial, inicialmente se efectuó la prueba de Smirnov-Kolmogorov para estimar la distribución de los datos. Posteriormente se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) de una vía para la comparación entre grupos; cuando se encontraron diferencias significativas, se aplicó el test post hoc de Tukey, además de la prueba de Rangos múltiples y la Prueba de Kruskal-Wallis. El nivel de significancia se fijó en $p \leq 0.05$ para todos los análisis estadísticos.

RESULTADOS

Se analizaron 5 discos a diferentes concentraciones de Fluoruro Diamino de Plata (FDP) y como testigo positivo se utilizó clorhexidina al 2% para cepas de *Streptococcus mutans y Lactobacillus acidophilus*.

El Fluoruro Diamino de Plata al 38% así como la clorhexidina al 2% obtuvieron los mayores promedios en los halos de inhibición, a diferencia de la dilución 10^{-3} que presento el promedio más bajo, sin embargo demuestra actividad inhibitoria para *Streptococcus mutans y Lactobacillus acidophilus* (Tabla 1 y 2).

Tabla 1. Promedios de halos de inhibición de *S. mutans.*

Diluciones	%	Promedio (mm)	Desviación estándar	Rango	Valor mínimo	Valor máximo
Clorhexidina	2	**19.7129**	1.85166	5.32	18.06	23.38
FDP 38%	38	**20.9171**	0.565382	1.88	20.13	22.01
FDP 1:2	19	**17.9414**	2.09868	6.1	16.36	22.46
FDP 1:4	9.5	15.4686	1.22501	3.83	13.91	17.74
FDP 1:6	4.25	13.7343	1.52362	3.67	11.59	15.26
FDP 1:8	2.37	13.0729	1.55177	3.68	11.4	15.08
FDP 1:10	1.18	12.1443	2.12904	5.87	9.08	14.95
FDP 10^{-1}	1:100	15.7729	0.571452	1.5	15.07	16.57
FDP 10^{-2}	1:1000	10.6157	0.281357	0.79	10.3	11.09
FDP 10^{-3}	1:10000	8.85429	0.505136	1.54	8.13	9.67

Fuente propia

Tabla 2. Promedios de halos de inhibición de *Lactobacillus acidophilus.*

Diluciones	%	Promedio (mm)	Desviación estándar	Rango	Valor mínimo	Valor máximo
Clorhexidina	2	**18.0786**	0.770831	1.94	16.92	18.86
FDP 38%	38	**20.7386**	1.62814	4.29	18.47	22.76
FDP 1:2	19	**17.3229**	0.868307	2.45	15.88	18.33
FDP 1:4	9.5	12.3086	0.65672	1.97	11.58	13.55
FDP 1:6	4.25	10.64	0.368058	1.05	10.2	11.25
FDP 1:8	2.37	9.80857	0.27613	0.75	9.47	10.22
FDP 1:10	1.18	9.29	0.250666	0.72	8.9	9.62
FDP 10^{-1}	1:100	12.6543	0.698376	1.83	12.12	13.95
FDP 10^{-2}	1:1000	9.35143	0.63816	1.75	8.38	10.13
FDP 10^{-3}	1:10000	6.67571	0.453647	1.34	6.16	7.5

Fuente propia

Se realizó el análisis de la varianza (ANOVA) para evaluar las diferentes concentraciones de FDP en cada grupo de los halos de inhibición de las cepas *S.mutans y Lactobacillus acidophilus*. En las tablas 3 y 4 se observaron diferencias estadísticamente significativas entre grupos.

Tabla 3. Diferencias en los grupos de *S. mutans.*

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
Entre grupos	1142.19	11	103.835	61.97	**0.0000**
Intra grupos	120.635	72	1.67549		
Total (Corr.)	1262.83	83			

Fuente propia

Tabla 4. Diferencias en los grupos de *Lactobacillus acidophilus.*

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
Entre grupos	1432.97	10	143.297	246.77	**0.0000**
Intra grupos	38.3255	66	0.580689		
Total (Corr.)	1471.29	76			

Fuente propia

Tabla 5. Rangos múltiples de *S. mutans*

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
FDP 38%-Clorhexidina	*	1.53857	1.37926
FDP 38%-Clorhexidina Dos	*	-1.59571	1.37926
FDP 38%-Dilución 1:2	*	-2.97571	1.37926
FDP 38%-Dilución 1:4	*	-2.70571	1.37926
FDP 38%-Dilución 1:6	*	-4.4	1.37926
FDP 38%-Dilución 1:8	*	-5.10143	1.37926
FDP 38%-Dilución 1:10	*	-6.03	1.37926
FDP 38%-Dilución 10^{-1}	*	-2.40143	1.37926
FDP 38%-Dilución 10^{-2}	*	-7.55857	1.37926
FDP 38%-Dilución 10^{-3}	*	-9.32	1.37926
Clorhexidina - Clorhexidina Dos	**NS**	0.391429	1.37926
Clorhexidina - Dilución FDP 38%	**NS**	-1.20429	1.37926
Clorhexidina - Dilución FDP 1:2	*	1.77143	1.37926
Clorhexidina - Dilución FDP 1:4	*	4.24429	1.37926
Clorhexidina - Dilución FDP 1:6	*	5.97857	1.37926
Clorhexidina - Dilución FDP 1:8	*	6.64	1.37926
Clorhexidina - Dilución FDP 1:10	*	7.56857	1.37926
Clorhexidina - Dilución 10^{-1}	*	3.94	1.37926
Clorhexidina - Dilución 10^{-2}	*	9.09714	1.37926
Clorhexidina - Dilución 10^{-3}	*	10.8586	1.37926
Clorhexidina Dos - FDP 38	**NS**	1.14714	1.37926
Clorhexidina Dos - Dilución FDP 1:2	*	1.38	1.37926
Clorhexidina Dos - Dilución FDP 1:4	*	3.85286	1.37926
Clorhexidina Dos - Dilución FDP 1:6	*	5.58714	1.37926
Clorhexidina Dos - Dilución FDP 1:8	*	6.24857	1.37926
Clorhexidina Dos - Dilución FDP 1:10	*	7.17714	1.37926
Clorhexidina Dos - Dilución 10^{-1}	*	3.54857	1.37926
Clorhexidina Dos - Dilución 10^{-2}	*	8.70571	1.37926
Clorhexidina Dos - Dilución 10^{-3}	*	10.4671	1.37926
DILUSION FDP 1:2 - FDP 38	**NS**	-0.232857	1.37926
Dilución FDP 1:2 - Dilución FDP 1:4	*	2.47286	1.37926
Dilución FDP 1:2 - Dilución FDP 1:6	*	4.20714	1.37926
Dilución FDP 1:2 - Dilución FDP 1:8	*	4.86857	1.37926

Fuente propia

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Dilución FDP 1:2 - Dilución Fdp 1:10	*	5.79714	1.37926
Dilución FDP 1:4 - Dilución FDP 38%	*	-5.44857	1.37926
Dilución FDP 1:4 - Dilución FDP 1:6	*	1.73429	1.37926
Dilución FDP 1:4 - Dilución FDP 1:8	*	2.39571	1.37926
Dilución FDP 1:6 - Dilución FDP 38%	*	-7.18286	1.37926
Dilución FDP 1:6 - Dilución FDP 1:8	**NS**	0.661429	1.37926
Dilución FDP 1:8 - Dilución FDP 38%	*	-7.84429	1.37926
Dilución FDP 1:10 - Dilución FDP 38%	*	-8.77286	1.37926
Dilución FDP 1:10 - Dilución FDP 1:4	**NS**	0.304286	1.37926
Dilución FDP 1:10 - Dilución FDP 1:6	*	2.03857	1.37926
Dilución FDP 1:10 - Dilución FDP 1:8	*	2.7	1.37926
Dilución 10^{-1} - Dilución FDP 38%	*	-5.14429	1.37926
Dilución 10^{-1} - Dilución FDP 1:2	*	-2.16857	1.37926
Dilución 10^{-1} - Dilución FDP 1:4	**NS**	0.304286	1.37926
Dilución 10^{-1} - Dilución FDP 1:6	*	2.03857	1.37926
Dilución 10^{-1} - Dilución FDP 1:8	*	2.7	1.37926
Dilución 10^{-1} - Dilución FDP 1:10	*	3.62857	
Dilución 10^{-2} - Dilución FDP 38%	*	-10.3014	1.37926
Dilución 10^{-2} - Dilución FDP 1:2	*	-7.32571	1.37926
Dilución 10^{-2} - Dilución FDP 1:4	*	-4.85286	1.37926
Dilución 10^{-2} - Dilución FDP 1:6	*	-3.11857	1.37926
Dilución 10^{-2} - Dilución FDP 1:8	*	-2.45714	1.37926
Dilución 10^{-2} - Dilución FDP 1:10	*	-1.52857	1.37926
Dilución 10^{-3} - Dilución FDP 38%	*	-12.0629	1.37926
Dilución 10^{-3} - Dilución FDP 1:2	*	-9.08714	1.37926
Dilución 10^{-3} - Dilución FDP 1:4	*	-6.61429	1.37926
Dilución 10^{-3} - Dilución FDP 1:6	*	-4.88	1.37926
Dilución 10^{-3} - Dilución FDP 1:8	*	-4.21857	1.37926
Dilución 10^{-3} - Dilución FDP 1:10	*	-3.29	1.37926

* indica una diferencia significativa (P=≤0.05)

Tabla 6. Rangos múltiples de *Lactobacillus acidophilus*

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Dilución FDP 38% - Clorhexidina	*	3.61429	0.813246
Dilución FDP 38% - Clorhexidina Dos	*	2.66	0.813246
Dilución FDP 38% - Dilución FDP 1:2	*	3.41571	0.813246
Dilución FDP 38% - Dilución FDP 1:4	*	8.43	0.813246
Dilución FDP 38% - Dilución FDP 1:6	*	10.0986	0.813246
Dilución FDP 38% - Dilución FDP 1:8	*	10.93	0.813246
Dilución FDP 38% - Dilución FDP 1:10	*	11.4486	0.813246
Dilución FDP 38% - Dilución 10^{-1}	*	8.08429	0.813246
Dilución FDP 38% - Dilución 10^{-2}	*	11.3871	0.813246
Dilución FDP 38% - Dilución 10^{-3}	*	14.0629	0.813246
Clorhexidina - Clorhexidina Dos	*	-0.954286	0.813246
Clorhexidina - Dilución FDP 1:2	NS	-0.198571	0.813246
Clorhexidina - Dilución FDP 1:4	*	4.81571	0.813246
Clorhexidina - Dilución FDP 1:6	*	6.48429	0.813246
Clorhexidina - Dilución FDP 1:8	*	7.31571	0.813246
Clorhexidina - Dilución FDP 1:10	*	7.83429	0.813246
Clorhexidina - Dilución 10^{-1}	*	4.47	0.813246
Clorhexidina - Dilución 10^{-2}	*	7.77286	0.813246
Clorhexidina - Dilución 10^{-3}	*	10.4486	0.813246
Clorhexidina Dos - Dilución FDP 1:2	NS	0.755714	0.813246
Clorhexidina Dos - Dilución FDP 1:4	*	5.77	0.813246
Clorhexidina Dos - Dilución FDP 1:6	*	7.43857	0.813246
Clorhexidina Dos - Dilución FDP 1:8	*	8.27	0.813246
Clorhexidina Dos - Dilución FDP 1:10	*	8.78857	0.813246
Clorhexidina Dos - Dilución 10^{-1}	*	5.42429	0.813246
Clorhexidina Dos - Dilución 10^{-2}	*	8.72714	0.813246

Fuente propia

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Clorhexidina Dos - Dilución 10^{-3}	*	11.4029	0.813246
Dilución FDP 1:2 - Dilución FDP 1:4	*	5.01429	0.813246
Dilución FDP 1:2 - Dilución FDP 1:6	*	6.68286	0.813246
Dilución FDP 1:2 - Dilución FDP 1:8	*	7.51429	0.813246
Dilución FDP 1:2 - Dilución FDP 1:10	*	8.03286	0.813246
Dilución FDP 1:4 - Dilución FDP 1:6	*	1.66857	0.813246
Dilución FDP 1:4 - Dilución FDP 1:8	*	2.5	0.813246
Dilución FDP 1:6 - Dilución FDP 1:8	*	0.831429	0.813246
Dilución FDP 1:10 - Dilución FDP 1:4	*	-3.01857	0.813246
Dilución FDP 1:10 - Dilución FDP 1:6	*	-1.35	0.813246
Dilución FDP 1:10 - Dilución FDP1:8	**NS**	-0.518571	0.813246
Dilución 10^{-1} - Dilución FDP 1:2	*	-4.66857	0.813246
Dilución 10^{-1} - Dilución FDP 1:4	**NS**	0.345714	0.813246
Dilución 10^{-1} - Dilución FDP 1:6	*	2.01429	0.813246
Dilución 10^{-1} - Dilución FDP 1:8	*	2.84571	0.813246
Dilución 10^{-1} - Dilución FDP 1:10	*	3.36429	0.813246
Dilución 10^{-2} - Dilución FDP 1:2	*	-7.97143	0.813246
Dilución 10^{-2} - Dilución FDP 1:4	*	-2.95714	0.813246
Dilución 10^{-2} - Dilución FDP 1:6	*	-1.28857	0.813246
Dilución 10^{-2} - Dilución FDP 1:8	**NS**	-0.457143	0.813246
Dilución 10^{-2} - Dilución FDP 1:10	**NS**	0.0614286	0.813246
Dilución 10^{-3} - Dilución FDP 1:2	*	-10.6471	0.813246
Dilución 10^{-3} - Dilución FDP 1:4	*	-5.63286	0.813246
Dilución 10^{-3} - Dilución FDP 1:6	*	-3.96429	0.813246
Dilución 10^{-3} - Dilución FDP 1:8	*	-3.13286	0.813246
Dilución 10^{-3} - Dilución FDP 1:10	*	-2.61429	0.813246

* indica una diferencia significativa (P=≤0.05)

Prueba de Kruskal-Wallis	Valor-p
S. mutans	**6.03573E-12**
Lactobacillus acidophilus	**2.65277E-12**

Fuente propia

Se aplicó la prueba de Rangos múltiples para determinar las diferencias entre las diluciones, en la que se observó que la clorhexidina-dilución al 38%, dilución 10^{-1}-dilución 1:4, dilución 1:2- dilución al 38%, dilución 1:10-dilución 1:8 y dilución 1:6-dilución 1:8 no son estadísticamente significativas para el grupo de *S. mutans.* Así como Clorhexidina y la dilución 1:2 no son estadísticamente significativas para el grupo de los *Lactobacillus acidophilus,* posteriormente se realizó la Prueba de Kruskal-Wallis con un nivel de significancia de $p \leq 0.05$ en ambos análisis estadísticos.

DISCUSIÓN

En la presente investigación se determinó el efecto inhibitorio del Fluoruro Diamino de Plata (FDP) a distintas concentraciones contra cepas de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*.

La plata ha sido empleada desde tiempo remoto en Estomatología, principalmente en su forma metálica, como el nitrato de plata para el tratamiento de quemaduras, heridas e infecciones bacterianas. El Flúor Diamino de Plata se ha utilizado como solución bactericida, bacteriostática, inhibidora y remineralizante de caries.

Hasta el momento existen pocos reportes en la literatura actual que demuestren que a diferentes concentraciones se conserve el efecto inhibitorio del Fluoruro Diamino de Plata (FDP) contra las principales cepas causantes de caries.[9]

Yee R., en el 2009 realizó un ensayo clínico a dos concentraciones diferentes de FDP (38 y 12%) para determinar su actividad en la detención de caries. Determinó que el FDP a una concentración al 12% no era eficaz en la detección de caries[28], resultados que son similares a lo reportado por Fung M y Wong CM., en el 2013, quienes realizaron una revisión de 6 ensayos clínicos con el uso de FDP en casos de caries de la infancia temprana, como resultado obtuvieron que la aplicación al 12% de FDP una sola vez, no era eficaz en la detención de caries en los niños, pero si lo es al 38% [29]

De acuerdo con Almeida en el 2011 evaluaron concentraciones al 12% y 30% de FDP y clorhexidina, todas las concentraciones así como también la clorhexidina expresaron actividad antibacteriana en todas las cepas que se analizaron, con diferentes halos de inhibición, sé logro demostrar que la concentración al 30% fue superior a la concentración al 12%, resultados que también se observaron en esta investigación.[42]

Según Montadon y Sperança, indicaron en un estudio *in vitro* que tres concentraciones de FDP (10%, 12% y 30%), cuanto mayor sea la concentración de la solución, mayor será la eficacia antimicrobiana, lo cual coincide con este estudio.[43]

En el presente estudio se observó que concentraciones hasta del 1.18% de FDP mantiene una buena actividad de inhibición en las cepas de *S. mutans* y *Lactobacillus acidophilus*, lo cual indica que al diluirse mantiene su capacidad inhibitoria. Sin embargo, este estudio no tuvo como finalidad evaluar la efectividad in vivo sobre la actividad en la detención del avance en lesiones cariogénicas.

El uso del FDP, fundamentalmente en la dentición temporal, ha sido motivo de controversia entre los autores. Hay quienes sustentan y fomentan su uso mientras que otros lo desestiman por sus principales desventajas como lo son la pigmentación e irritación de tejidos blandos, entre otros factores adversos.

Es importante determinar el riesgo-beneficio que este sistema remineralizante de lesiones cariosas confiere, principalmente en la dentición temporal y tener precaución en su manipulación clínica debido a la concentración empleada. Basados en los resultados encontrados, se sugiere que la dilución al 19% podría ser igual de eficaz al concentración reportada en la mayoría de los estudios.

Esta investigación confirma la actividad inhibitoria del FDP, sin embargo, se sugiere que aún se deben realizar más investigaciones en las que se utilicen más especímenes de microorganismos, así como productos de otras marcas y concentraciones comerciales, además de ensayos clínicos en los que se combinen con pruebas de laboratorio para verificar si el comportamiento del Fluoruro Diamino de Plata en condiciones de laboratorio es similar a los reportes en condiciones clínicas.

CONCLUSIÓN

El presente estudio concluyó que la concentración de 1.18% no pierde sus propiedades de inhibición. Demuestra además que aunque se diluya con la saliva el FDP es resistente ante las principales cepas de *S. mutans y Lactobacillus*.

La concentración al 19% presentó una actividad inhibitoria similar a la concentración al 38% que resulta igual de eficaz como coadyuvante en la inhibición de crecimiento bacteriano.

El riesgo-beneficio debe ser considerado como un factor importante durante la aplicación clínica del FDP.

ALCANCES DEL ESTUDIO

Se sugieren realizar estudios clínicos que evalúen la citotoxicidad del Fluoruro Diamino de Plata para determinar la biocompatibilidad biológica.

Así como también realizar un estudio bajo las mismas condiciones in vivo para determinar y confirmar las propiedades bactericidas, bacteriostáticas, inhibidoras y remineralizantes a diferentes concentraciones.

ANEXO

Bioética

No existe riesgo en la investigación de acuerdo al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación. Los procedimientos se apegan a las normas éticas, al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación y a la Declaración de Helsinki vigente.

Bioseguridad

Los investigadores, así como el personal de apoyo, conocen y cumplirán:

a) **El reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación en Salud, en especial los artículos 78 y 83.**

   El **artículo 78** que dice que el investigador principal deberá seleccionar el tipo de laboratorio en el que se debe realizar la investigación propuesta, así como los procedimientos respectivos, tomando en cuenta el grado de infectividad de los microorganismos a estudiar.

   El **artículo 83** menciona que el investigador principal tendrá a su cargo determinar el riesgo potencial y real de los microorganismos con los que trabajará, seleccionar la mejor técnica para realizar el cultivo en laboratorio y dar a conocer esto a los investigadores asociados y personal de apoyo; además de vigilar que se cumplan estas normas y dar atención necesaria en caso de algún accidente. Reportar a la Comisión de Bioseguridad sobre la presencia de enfermedad por inoculación transcutánea del microorganismo al personal participante.

b) **El Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la Organización Mundial de la Salud, Tercera Edición, 2005**. Que indica las normas con que deben cumplir las instalaciones de un laboratorio de investigación en salud, el adecuado manejo de los microorganismos de acuerdo al grado de riesgo que representan, las normas de protección que debe utilizar el personal, las técnicas para el procesamiento de los microorganismos, las técnicas de desinfección y esterilización y planes de contingencia en caso de que ocurriera algún accidente.

c) **El Manual de Procedimientos para el Manejo y Control de Residuos Biológico Infecciosos y Tóxico peligrosos en Unidades de Atención Médica.** Que tiene como objetivo proporcionar una guía para el personal que labora con RPBI de acuerdo a las disposiciones reglamentarias vigentes en material de salud, seguridad y protección al ambiente, estableciendo las actividades que deberán desarrollarse para la identificación, clasificación, envasado, recolección, tratamiento en sitio y transporte interno hasta el área de almacenamiento de RPBI.

d) **Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección Ambiental - Salud Ambiental - Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos - Clasificación y Especificaciones de Manejo.** Establece las características de los residuos peligrosos, el listado de los mismos y los límites que hacen a un residuo peligroso por su toxicidad al ambiente.
e) **Norma Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005. Características, procedimiento de identificación, clasificación y listados de los residuos peligrosos.** Establece el procedimiento para identificar si un residuo es peligroso, el cual incluye los listados de los residuos peligrosos y las características que hacen que se consideren como tales.
f) **Transporte de las muestras biológicas de acuerdo a las normas nacionales e internacionales.** De acuerdo a la Guía sobre la Reglamentación relativa al Transporte de Sustancias Infecciosas 2009–2010 de la Organización Mundial de la Salud. La reglamentación internacional relativa al transporte de sustancias infecciosas por cualquier medio de transporte se basa en las recomendaciones del Comité de Expertos en Transporte de Mercancías Peligrosas de las Naciones Unidas (UNCETDG), un comité del Consejo Económico y Social de las Naciones Unidas. Las recomendaciones de dicho comité se presentan en forma de «reglamentación modelo», en el cual se basa la reglamentación nacional.

Existe evidencia auditable de las instalaciones del laboratorio en el cual se realizó el cultivo de las cepas de *Streptococcus mutans y lactobacillus* las cuales son adecuadas y en estado satisfactorio de operación.

Existen dispositivos personales de protección, los involucrados en el presente proyecto de investigación fueron capacitados para trabajar microorganismos patógenos.

Se mantuvieron las condiciones adecuadas de instalaciones, equipo y personal durante el tiempo que se desarrolló dicho proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

[1] Briseño JM cols. Historia de la fluoruración. Revista ADM 2000; LVII (5):192-194.

[2] Aruquipa RM. Fluor y cobre. Rev. Act. Clin. Med 2014; 41:2164-2167. Disponible en: http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2304-37682014000200009&lng=es.

[3] Miñana V. Flúor y prevención de la caries en la infancia. Rev. Pediátrica de atención primaria, 2002; 4(5):95-126.

[4] Ripa LW.Fluoride. JADA. 1981; 102:477-481.

[5] Merlo O. Flúor: actualización para el pediatra. Pediatr Py, 31(2); 2004:125-131

[6] Navarrete J. Efecto bactericida del fluoruro diamino de plata sobre microorganismos anaerobios facultativos y estrictos, aislados de conductos radiculares necróticos de dientes deciduos (in-vitro). Rev Sanid Milit Mex 2008; 62(5): 229-234.

[7] Uzel I. et al. The effect of silver diamine fluoride on microleakage of resin composite. J Int Dent Med Res 2013; 6 (3):105-108.

[8] Mei ML, Ito L, Cao Y, Li QL, Lo EC, Chu CH. Inhibitory effect of silver diamine fluoride on dentine demineralisation and collagen degradation. J Dent 2013; 41(9): 809-817.

[9] Gomes R, Vasconcellos M, Rastelli M, Cziusniak G, Wambier D. Diaminofluoreto de prata: umarevisão de literatura. Ci Biol Saúde 2006; 12(2): 45-52.

[10] Llondra JC. Efficacy of Silver Diamine Fluoride for Caries Reduction in Primary Teeth and First Permanent Molars of Schoolchildren: 36-month Clinical Trial. J Dent Res, 2005; 84(8):721-724.

[11] García R. Cols. Impacto citotóxico de la plata y fluor diamino de plata en un cultivo de seis células orales. Revista ADM 2013;70(3):134-139.

[12] Delbem ACB, Bergamaschi M, Sassaki KT, Cunha RF. Effect of fl uoridated varnish and silver diamine fl uoride soluti on on enamel demineralizati on: pH-cycling study. J Appl Oral Sci 2006; 14(2):88-92.

[13] Kameta JL, Fernández. Efecto cariostático del fluoruro diamino de plata en dientes temporales. En: Revista de la Facultad de Odontología, 2004; 12; (25): 19

[14] Suzuki T, Nishida M, Sobue S, Moriwaki Y. Clinical and field observation on the topical application of diamine silver fluoride for prevention and arrestment of dental caries in human molars. Jap J Pedod 1973;11:165-173.

[15] Meneses HP, Sanchez FAS, Zaragoza MMTJ, Galaviz EE, Flores CY, Flores PM, Martinez RFC, Marroquin SR índice CPOD, capacidad amortiguadora salival, niveles salivales de Streptococcus mutans y anticuerpos IgA, en escolares de la ciudad de Mexico Rev ADM. 2006; 63(6).

[16] Clarke JK, One the bacterial factor in the a etoiology of dental caries. J Exp Pathol 1924; 5:141.

[17] Pérez JA, Duque J, Hidalgo I. Asociación del Estreptococos mutans y lactobacilos con la caries dental en niños. Rev Cubana Estomatol. 2007;44(4): 1-13

[18] Molina N, Enrique Castañeda Reyes R. Streptococcus Mutans en escolares de 6 y 11 años de edad. Revista de enfermedades infecciosas en pediatría 2007, 20 (79); 54-58.

[19] Linossier C., Vargas A, Zillmann G, Arriagada M, Rojas R, Villegas R. Streptococci mutans: Método semi- cuantitativo para establecer el rango de riesgo de infección bucal en niños preescolares chilenos. Rev. méd. Chile. 2003; 131(4): 412-418.

[20] Alonso M, Karakowsky L. Caries de la infancia temprana. Perinatol Reprod Hum 2009; 23 (2): 90-97.

[21] Negroni. Microbiología Estomatológica Fundamentos y Guías Practica 2da. Edición. Edit. Panamericana, 2009.

[22] Asokan S et al. Effect of oil pulling on *Streptococcus mutans* count in plaque and saliva using Dentocult SM Strip mutans test: A randomized, controlled, triple-blind study. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*,*26:*(1),12-17.

[23] Simoes R. cols. The effect of 1% chlorhexidine varnish and 40% Xilitol solution on streptococcus mutans and plaque accumulation in children. Pediatric dentistry. 2011;33(7):484-90.

[24] Cornejo L.S, Brunotto M., Hilas E. Factores salivales asociados a prevalencia e incremento de caries dental en escolares rurales. Rev. Saúde. 2008; 42(1): 19-25.

[25] Aguilera L; Padilla P; Aguilar R; Frausto S; Aceves Medina, Enriquez M. Niveles de Streptococcus mutans y prevalencia de caries dental en una población de escolares de la zona urbana de la ciudad de Zacatecas/Streptoccus mutans levels and caries prevalence in schoolchildren population from the urban zone of Zacatecas. Rev.ADM.2004, 61(3):85-91.

[26] Hahn CL, Falkler WA, Minah GE. Microbiological studies of carious dentine from human teeth with irreversible pulpitis. Arch Oral Biol. 1991; 36:147-53.

[27] Chu CH. Treatment of early childhood caries: a review and case report. Gen Dent. 2000; 48:142-8.

[28] Kleinberg I. A mixed-bacteria ecological approach to understanding the role of the oral bacteria in dental caries causation: an alternative to Streptococcus mutans and the specific-plaque hypothesis. Crit Rev Oral Biol Med. 2002; 13:108-25.

[29] Byun R., Nadkarni, MA, Chhour, KL, Martin FE., Jacques NA and Hunter N. Quantitative analysis of diverse Lactobacillus species present in advanced dental caries. *Journal of clinical microbiology*, 2004; *42*(7), 3128-3136.

[30] Figueroa M. cols. Microorganismos presentes en las diferentes etapas de la progresión de la lesión de caries dental. Acta Odontológica Venezolana, 2009; 47 (1):1-13.

[31] Pérez J. A., y cols. Asociación del Estreptococos mutans y lactobacilos con la caries dental en niños. Rev Cubana Estomatol, 2007; 44(4).

[32] Nishino M. Et al. Efectos clínicos del fluoruro diamino plata en caries y en pulpas de dientes deciduos. Japan journal Pedod. 1969; 7:55-59.

[33] Mei ML, Chu CH, Low KH, Che CM, Lo EC. Caries arresting effect of silver diamine fluoride on dentine carious lesión with S. Mutans and L. acidophilus dual- species cariogenic biofilm. Med oral patol oral cir bucal 2013; 18:e824-831.

[34] LO EC, CHU and LIN H.C. community-based caries control program for pre-school children usingtopical fluorides: 18-month results. J Dent Res 2001:80: 2071-2074.

[35] Chu C. et al. Promoting Caries Arrest in Children With Silver Diamine Fluoride: A Review. Oral Health Prev Dent 2008; 6: 315–321.

[36] Llodra JC, Rodriguez A, Ferrer B, Menardia V, Ramos T, et al. (2005) Efficacy of silver diamine fluoride for caries reduction in primary teeth and first permanent molars of schoolchildren: 36-month clinical trial. J Dent Res 84: 721-724.

[37] Delbem ACB, Bergamschi M.,Sassaki KT., Cunha RF. Efeito do verniz fluoretado e da solucao de diamino fluoreto de prata na desmineralizacao do esmalte: utilizando modelo de ciclagem de pH. J Appl Oral Sci; 2006; 14:88-92.

[38] Yee R et al. Efficacy of Silver Diamine Fluoride for Arresting Caries Treatment. *J Dent Res, 2009;* 88(7):644-647.

[39] Alves TMS, Silva CA, Silva NB, Medeiros EB, Valença AMG. Atividade antimicrobiana de produtos fluoretados sobre bactérias formadoras do biofilme dent.rio: Estudo *in vitro.* Pesq Bras Odontoped Clin Integr 2010; 10:209-216.

[40] Fung MHT, Wong MCM, Lo ECM, Chu CH (2013) Arresting Early Childhood Caries with Silver Diamine Fluoride-A Literature Review. Oral Hyg Health 1: 117.

[41] Bernal M, Guzman M. El antibiograma de discos. Normalizacion de la técnica de Kirby-Bauer. Biomedica, 1984; 4 (3y4):112-121.

[42] De Almeida cols, *In Vitro* Antibacterial Activity of Silver Diamine Fluoride in Different Concentrations**.** Acta Odontol. Latinoam. 2011;24(2): 127-131.

[43] Montandon EM, Sperança PA. Estudo comparativo *in vitro* da atividade antimicrobiana de agentes cariost.ticos à base de Diamino Fluoreto de Prata. J Bras Odontopediatr Odontol Bebê 2000; 16:465-474.