



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
PUEBLA**

**FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**MAESTRÍA EN ESTOMATOLOGÍA CON OPCIÓN
TERMINAL EN PEDIATRÍA**

“Influencia en el tiempo de fotopolimerización en dos ionómeros de vidrio modificados con resina en la colonización de *Streptococcus mutans*”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRÍA EN ESTOMATOLOGÍA CON OPCIÓN TERMINAL EN
PEDIATRÍA**

PRESENTA:

L.E. GABRIELA CONCEPCIÓN OLMOS OLMOS

MAT. 216450021

DIRECTORES

D. en C. S. MARÍA DE LOS ANGELES MOYAHU BERNAL

ID. 100289266

D.C. CRISTIAN DIONISIO ROMÁN MÉNDEZ

ID. 100392244

M.S.P. ROSENDO GERARDO CARRASCO GUTIÉRREZ

ID 100008655

Puebla, Pue. Mayo 2018

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primero a Dios, que me dio la fuerza para levantarme de momentos difíciles antes de emprender el viaje...

A mis padres, mis más grandes pilares, que siempre me han impulsado para cumplir mis metas.

Gracias a mis hermanos, mis guerreros, que me animan y comparten mis luchas.

A quien fue mi coordinador de la Maestría, Dr. Gabriel Muñoz, por creer en mí y brindarme su apoyo a cada paso de mi preparación profesional.

Un agradecimiento muy especial a mis directores de tesis, Dra. Ángeles Moyaho, Dr. Rosendo Carrasco, Dr. Dionisio Román, por ser grandes profesionistas y amigos que me guiaron y brindaron sus conocimientos en cada uno de los retos tomados hasta lograr este proyecto.

A mis docentes por compartir sus conocimientos y su tiempo aún fuera del aula.

Gracias a la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por el apoyo brindado para la realización del proyecto.

Al Laboratorio Central de Microscopía del Instituto de Física de la Universidad Nacional Autónoma de México y a todas las personas que contribuyeron en el desarrollo y elaboración de esta tesis.

“La peor lucha es la que no se hace”

Karl Marx



BUAP

**ASUNTO: Constancia de Registro
A QUIEN CORRESPONDA.
P R E S E N T E**

La Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado con base a lo estipulado por el Comité de Investigación de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, por este medio hace **CONSTAR** que:

El Proyecto de investigación (colectivo) titulado **"INFLUENCIA EN EL TIEMPO DE FOTOPOLIMERIZACIÓN EN DOS INÓMEROS DE VIDRIO MODIFICADOS CON RESINA EN LA COLONIZACIÓN DE *Streptococcus mutans*"** presentado por la M.E.P. María de los Ángeles Moyaho Bernal ID 100289266, participando la alumna: Gabriela Concepción Olmos Olmos mat. 216450021, siendo Director metodológico el Dr. Cristian Dionisio Román Méndez ID 100392244 y Director metodológico Mtro. Rosendo Gerardo Carrasco Gutiérrez ID 100008695 **ha sido registrado** en esta Secretaría en el libro de registros L-2 en la hoja 01 con No. de registro **2017029** de fecha 4-01-2017.

Se extiende la presente constancia, en la Heroica Puebla de Zaragoza a los cuatro días del mes de enero del año dos mil diecisiete.

**ATENTAMENTE
"PENSAR BIEN PARA VIVIR MEJOR"**

M.C. ALEJANDRO DIB KANAN
Secretario de Investigación y Estudios de Posgrado



c.c.p. archivo
c.c.p. minutarío



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA
SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESIS RECEPCIONAL

Para obtener el Grado de: Maestría en Estomatología con opción terminal en pediatría
Registro 2017029 Fecha: 4 Enero 2017

Título de la Tesis (anexarlo impreso y CD) Influencia en el tiempo de fotopolimerización en dos ionómeros de vidrio modificados con resina en la colonización de Streptococcus mutans.

Nombre del alumno: Gabriela Concepción Olmos Olmos Matricula 216450021

Domicilio: 18 Oriente 3016

Tel: 2223745409

Fecha de ingreso a la Facultad: Enero 2016 Firma: 

Firma: _____

Directora de tesis: María de los Angeles Moyahó Bernal

Grado académico: Doctorado Adscripción: Facultad de Estomatología

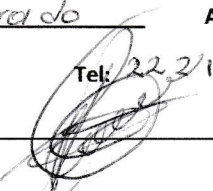
ID: 100289266 Tel: 2222788841

Firma: 

Director disciplinario: Cristian Dionisio Román Méndez

Grado académico: Doctorado Adscripción: Facultad de Estomatología

ID: 100392244 Tel: 2221838336

Firma: 

Director Metodológico: _____

Grado académico: Maestría Adscripción: Facultad de Estomatología

ID: 100008655 Tel: 2225053084

Lector: Irene Aurora Espinosa de Santillana

Firma: 

Grado académico: Doctorado Adscripción: Facultad de Estomatología

ID: 100238722 Tel: 2222050114

Fecha de Aceptación: 17 de Mayo 2018 Firma: 

Nombre y firma de aprobación del presidente de la academia/Coordinador de la Maestría en Estomatología Opción: _____

La Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado, autoriza la impresión de la Tesis.


M. en C. Gabriel Muñoz Quintana

Fecha: 18 Mayo 2018

Sello _____





BUAP

L.E. GABRIELA OLMOS OLMOS
MAT. 2016450021
ALUMNA DE LA MAESTRÍA EN ESTOMATOLOGÍA
CON OPCIÓN TERMINAL EN PEDIATRÍA
DE LA FE-B.U.A.P.
PRESENTE.

El que suscribe, MTRO. GABRIEL MUÑOZ QUINTANA, Secretario de Investigación y Estudios de Posgrado de la F.E.B.U.A.P., por este medio me permito informar que esta Secretaría aprueba la impresión de la Tesis titulada **"Influencia en el tiempo de fotopolimerización en dos ionómeros de vidrio modificados con resina en la colonización de *Streptococcus mutans*"** misma que presentará para realizar su examen profesional y obtener de grado de Maestra en Estomatología con opción terminal en Pediatría.

Sin más por el momento, deseándole lo mejor, le reitero mi distinguida consideración.

ATENTAMENTE.
"PENSAR BIEN PARA VIVIR MEJOR"
H. PUEBLA DE Z., A 18 DE mayo DE 2018.

M. en C. GABRIEL MUÑOZ QUINTANA



Nota: Este documento tiene validez de 90 días posteriores a la fecha.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
1. ANTECEDENTES GENERALES	3
1.1 IONÓMEROS DE VIDRIO	3
1.2 EVOLUCIÓN DE LOS IONÓMEROS DE VIDRIO	5
1.2.1 PRIMERA GENERACIÓN.....	5
1.2.2 CEMENTOS REFORZADOS.....	6
1.2.3 IONÓMEROS DE VIDRIO MODIFICADOS CON RESINA.....	6
1.3 ADHESIÓN DE LOS IONÓMEROS DE VIDRIO A LA ESTRUCTURA DENTARIA.....	11
1.4 TECNOLOGÍA DE LAS LÁMPARAS PARA FOTOPOLIMERIZACIÓN	15
1.4.1 LÁMPARAS HALÓGENAS DE TUNGSTENO DE CUARZO	15
1.4.2 LÁMPARAS DE ARCO DE PLASMA	15
1.4.3 LÁSER DE IONES DE ARGÓN.....	16
1.4.4 LÁMPARAS EMISORAS DE DIODOS (LED)	16
1.5 COLONIZACIÓN DEL <i>Streptococcus mutans</i>	18
2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	19
3. JUSTIFICACIÓN	26
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	27
5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	27
6. OBJETIVOS	28
6.1 GENERAL	28
6.2 ESPECÍFICOS	28
7. HIPÓTESIS	29
8. MATERIAL Y MÉTODOS	30
9. CRITERIOS DE SELECCIÓN	31
9.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	31
9.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	31
9.3 CRITERIOS DE ELIMINACIÓN.....	31
10. DIAGRAMA DE PROCEDIMIENTOS	32
11. PROCEDIMIENTOS	33
11.1 RECOLECCIÓN Y PROCESADO DE SALIVA	33
11.2 ELABORACIÓN DE DISCOS Y MEDICIÓN DE LA LIBERACIÓN DE FLÚOR.....	33
11.3 PREPARACIÓN DEL INÓCULO DE <i>Streptococcus mutans</i>	36
11.4 CURVA DE CALIBRACIÓN.....	37
11.4.1 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN BACTERIANA POR CONTEO EN PLACA Y MTT	37

11.5 ENSAYO DE ADHESIÓN	39
11.6 CARACTERIZACIÓN DE LOS MATERIALES DENTALES	40
11.6.1 Microscopio Electrónico de Barrido (MEB).....	41
11.6.2 Microscopía de Fuerza Atómica (MFA)	41
12. VARIABLES DEL ESTUDIO	42
13. IMPLICACIONES BIOÉTICAS	43
14. RESULTADOS	44
14.1 LIBERACIÓN DE FLÚOR.....	44
14.2 CURVA DE CALIBRACIÓN, DETERMINACIÓN DE DENSIDADES ÓPTICAS Y COLONIZACIÓN BACTERIANA	48
14.3 COLONIZACIÓN BACTERIANA	50
14.4 CARACTERIZACIÓN DE LOS IONÓMEROS DE VIDRIO MEDIANTE MEB Y MFA	52
DISCUSIÓN.....	59
CONCLUSIONES.....	64
ALCANCES DEL ESTUDIO	64
ANEXO 1	65
BIBLIOGRAFÍA.....	66

INTRODUCCIÓN

Actualmente existe un amplio uso de los ionómeros de vidrio reforzados con resina en el área de odontopediatría, principalmente por el desarrollo de los sistemas adhesivos. La manipulación fácil, la estética y la inclusión de partículas, los hacen más resistentes que los ionómeros de vidrio convencionales; además, la elección de estos materiales está muy promovida por la liberación de flúor y son los de elección para la restauración de caries proximales. Sin embargo, existe una limitada durabilidad clínica; lo que genera que muchos pacientes pediátricos entren a ciclos repetitivos de tratamientos restauradores y como consecuencia, se propicie una estructura dentaria debilitada.

Los ionómeros de vidrio son materiales que en su composición contienen monómeros que se activan con la luz visible y cambian su estructura a polímeros. Varios estudios han demostrado que la aparición de bacterias cariogénicas se encuentra influenciada por la fotopolimerización de los materiales, debido a la cantidad de luz recibida a un intervalo de tiempo, que parece no ser el adecuado para realizar la correcta conversión de los monómeros del material a polímeros. La liberación de monómeros sin reaccionar por los compuestos de resina, modifica sus propiedades finales y puede promover la colonización bacteriana en su superficie. Estos monómeros influyen potencialmente en la formación de biopelículas y la supervivencia microbiana en la superficie del material. Las partículas que no logran una adecuada polimerización, permanecen en forma de monómeros recluidos en la red polimérica y pueden filtrarse hasta los tejidos blandos que pueden ocasionar una severa irritación pulpar. Además, una elevada cantidad de estos monómeros podría ser un factor determinante en la colonización de bacterias cariogénicas, principalmente; *Streptococcus mutans*, a pesar de la liberación de flúor, parte de estos materiales, la cual

puede estar determinada por la estructura final del compuesto después de la fotopolimerización.

Por lo que el objetivo de este estudio fue relacionar la influencia en el tiempo de fotopolimerización en dos ionómeros de vidrio modificados con resina en la colonización de *Streptococcus mutans*, que permite establecer mejores parámetros para su manejo clínico.

Así como la determinación de la liberación de flúor de estos materiales, para especificar si existe su disminución a través del tiempo.

1. ANTECEDENTES GENERALES

1.1 IONÓMEROS DE VIDRIO

Los ionómeros de vidrio convencionales fueron inventados por Wilson y Kent en 1969 y reportados en 1971. Kent nombró ionómeros de vidrio a los cementos de polialquenoato hechos de una base, compuesta de polvo de vidrio de aluminosilicato, combinados con una solución acuosa de ácido poliacrílico.¹ Por lo tanto, se forman por una reacción ácido – base entre los vidrios de aluminosilicato y ácidos poliacrílicos acuosos.² La composición de los polvos consiste en SiO₂ (24.9%), Al₂O₃ (14.2%) y CaF₂ (12.8%). La solución ácida acuosa está compuesta por agua (45%), ácido poliacrílico (30%), ácido tartárico (10%) y ácido itacónico (15%).³ Los anteriores, tienen una superficie semipermeable que permite que los iones de calcio y fosfato que están presentes en la saliva pasen a través del material y se combinen con el flúor presente en ellos para producir la remineralización del esmalte como fluorapatita y prevenir la progresión de la lesión cariosa, que interfirieren con el crecimiento y metabolismo de las bacterias cariogénicas como *Streptococcus mutans*.^{4,5,6}

La liberación de flúor de los ionómeros de vidrio aumenta en condiciones ácidas, estos cementos son capaces de contrarrestar dicha acidez, lo cual aumenta el pH del medio externo. Se ha demostrado que la hidroxiapatita absorbe el flúor de los ionómeros de vidrio y puede ser beneficioso desde el punto de vista clínico, ya que puede proteger al diente de caries.⁷

Los ionómeros de vidrio poseen la capacidad de unirse químicamente al esmalte y a la dentina; pero su reacción de fraguado es lenta, lo que puede retrasar el desarrollo de su resistencia final. Presentan problemas de fractura y resistencia al desgaste deficiente, por esta razón se desarrollaron formulaciones reforzadas, como la adición de compuestos resinosos, para mejorar sus propiedades mecánicas; el conjunto inicial de estos cementos; se produce como resultado de la polimerización de HEMA (Hidroxietilmetacrilato), mientras

que la reacción ácido-base sirve para endurecer y fortalecer la matriz polimérica; sin embargo, la presencia de estos componentes puede interferir en la reacción ácido-base e impedir la habilidad del cemento de unirse químicamente a las estructuras dentarias y liberar flúor.^{8,9,4,10}

Actualmente, los cementos de ionómero de vidrio han demostrado un amplio uso clínico como recubrimientos en las cavidades, selladores de fisuras, agentes de cementación indirecta y materiales de restauración, especialmente en odontología pediátrica.¹¹

1.2 EVOLUCIÓN DE LOS IONÓMEROS DE VIDRIO

1.2.1 PRIMERA GENERACIÓN

Wilson y Kent, produjeron el primer vidrio que tuvo una alta cantidad de flúor. Este cemento fue llamado ASPA, como acrónimo de (Aluminio Silicato Poliacrílico Ácido). Sin embargo, el primer ionómero de vidrio, ASPA I fue susceptible a la humedad y de muy baja translucidez, que resultó en un uso limitado por el clínico. Posteriormente, se descubrió que el ácido tartárico modificaba la reacción de formación del cemento, lo que mejoró la manipulación, para extender el tiempo de trabajo. Este refinamiento del ASPA se denominó ASPA II y constituyó el primer ionómero de vidrio de uso práctico.^{12,13}

Sin embargo, las soluciones de ácido poliacrílico tienden a gelificar cuando su concentración de agua se aproxima al 50%, por lo que uno de los enfoques adoptados por Wilson fue añadir alcohol metílico a las soluciones de ácido poliacrílico, como un agente que inhibe el ordenamiento de las estructuras en la solución. Es así como surgió un nuevo cemento llamado ASPA III. Aunque se previno la gelificación del ácido poliacrílico, Mc Lean encontró que el cemento producía pigmentación.¹⁴

Crip y Wilson, observaron que los copolímeros de ácidos acrílicos serían menos estables que los ácidos poliacrílicos libres y menos propensos a formar puentes de hidrógenos intermoleculares. Por lo tanto, sintetizaron un copolímero de acrílico y ácido itacónico, el cual resultó ser estable en una solución acuosa al 50%. El anterior copolímero fue utilizado en el ASPA IV y fue el primer cemento que se comercializó, sin embargo, se hizo evidente que carecía de tenacidad a la fractura y no era adecuado para restaurar cavidades grandes o áreas de cúspides.^{15,16}

1.2.2 CEMENTOS REFORZADOS

Las formulaciones de los cementos anteriormente mencionados tenían valores de resistencia bajos al corte y no eran apropiados para ser colocados en áreas de alta tensión por lo que se usaron los siguientes métodos para reforzar el cemento:

1. Uso de fases dispersas como alúmina, óxido de titanio y óxido de zirconio.
2. Vidrios reforzados con fibras: Adición de fibras de alúmina o fibras de vidrio, sílice y carbón que incrementan la resistencia a la flexión.
3. Vidrios reforzados con metales: Mezcla con polvo de amalgama, llamado "miracle mix".¹⁷
4. Ionómero CERMET que fue introducido por Mclean y Gasser, fue el resultado de la sinterización de plata y polvo de vidrio.¹⁸
5. Ionómeros de vidrios convencionales con una alta viscosidad: Estos materiales se utilizan en la Técnica de Tratamiento Restaurativo Atraumático (TRA).
6. Ionómeros de vidrio modificados con resina.^{19,20,21}

1.2.3 IONÓMEROS DE VIDRIO MODIFICADOS CON RESINA

Su composición consta de los componentes de los ionómeros de vidrio convencionales (vidrio, ácido polialquenoico y agua) junto con un monómero fotopolimerizable 2-hidroxietil metacrilato (HEMA). Fragan en parte por una reacción ácido / base y por polimerización fotoquímica, debido a la incorporación de una canforquinona y una amina terciaria en la fórmula.³

La reacción de polimerización se inicia al mezclar el polvo y el líquido, con lo cual el ácido ataca el vidrio y da como resultado la degradación de su superficie y la liberación de iones metálicos (por ejemplo, estroncio, calcio, aluminio), iones flúor y ácido silícico. Los iones metálicos reaccionan con los grupos carboxilo (-COOH) para formar una sal de poliácido, que se convierte en la matriz del cemento y la superficie del vidrio se convierte en un hidrogel de sílice. Los núcleos sin reaccionar de las partículas de vidrio permanecen como un relleno.²² En este tipo de ionómeros de vidrio la reacción ácido / base inicialmente es un poco más lenta en comparación con el ionómero de vidrio convencional, porque el HEMA ha sustituido una parte del contenido normal del agua, la cual es un componente esencial.^{23,24}

Posterior a la mezcla de los componentes, el proceso de polimerización continúa con la irradiación de la capa superficial que inicia la polimerización del HEMA y ésta se completa en menos de 1 minuto.

El proceso de fotopolimerización es una reacción desencadenada por radicales libres, que se generan por irradiación de un iniciador sensible a la luz y abren el doble enlace de los grupos metacrilato, generando una reacción en cadena que se describe clásicamente en tres pasos: iniciación, propagación y terminación^{24,25} (Fig. 1).

El grado de polimerización se cuantifica al comparar la cantidad de dobles enlaces en la estructura del polímero con la cantidad inicial. Esta relación presentada en porcentaje, se denomina grado de conversión y se ha determinado en un 33 a 75% para los ionómeros de vidrio modificados con resina después de 24 horas. En consecuencia, la lixiviación de monómeros sin reaccionar provoca el aumento de la solubilidad en el ambiente oral y microfiltración.²⁴

La biocompatibilidad de este tipo de ionómeros está notablemente comprometida por la liberación del monómero HEMA y la cantidad liberada depende del grado de fotopolimerización, además se ha demostrado que este monómero es capaz de difundirse a través de la dentina y es citotóxico para las células de la pulpa dental.²⁶

Dursun, *et al.*, demostraron que cuando se retrasó la fotopolimerización en ionómeros de vidrio modificados con resina, la liberación de HEMA aumentó de forma significativa. Antes del inicio de la polimerización, la reacción ácido-base podría ser el proceso predominante observado. Por consiguiente, la matriz de poliacrilato, formada gradualmente, impediría la movilidad de los monómeros HEMA, inhibiendo la reacción de polimerización en su inicio.²⁷

Un estudio realizado por Santic *et al.*, demostró que en los ionómeros de vidrio modificados con resina hay una rápida polimerización activada por la luz en la etapa inicial (menos de 1 minuto), seguido de un cambio lento en la cadena polimérica, esto resulta de la naturaleza competitiva de la reacción ácido-base y la polimerización activada por luz.²⁸

Los monómeros HEMA que quedan eludidos en la red polimérica están significativamente relacionados con las propiedades físicas finales de los compuestos a base de resina, una mayor rugosidad de los materiales dentales propicia la proliferación de microorganismos, la cual se ve favorecida por las irregularidades superficiales como surcos y fosas donde las bacterias están protegidas del flujo salival y la función masticadora.^{24,29,30}

Las variaciones en el tamaño, tipo y morfología de las partículas también influyen en la rugosidad superficial de los materiales y se ha encontrado mayor potencial de adherencia en los compuestos a base de metacrilato.³¹

Cuadro 1. Composición química de dos ionómeros de vidrio modificados con resina.

	VITREMER	KETAC N100 RESTAURADOR
Componente acuoso	Agua deionizada	Agua deionizada
Componente de metacrilato	HEMA	Mezcla que incluye HEMA
Componente del ácido polialquenoico	VBCP*	VBCP
Componentes de relleno	FAS**	FAS, nanómetro y nanoclusters***

Definiciones:

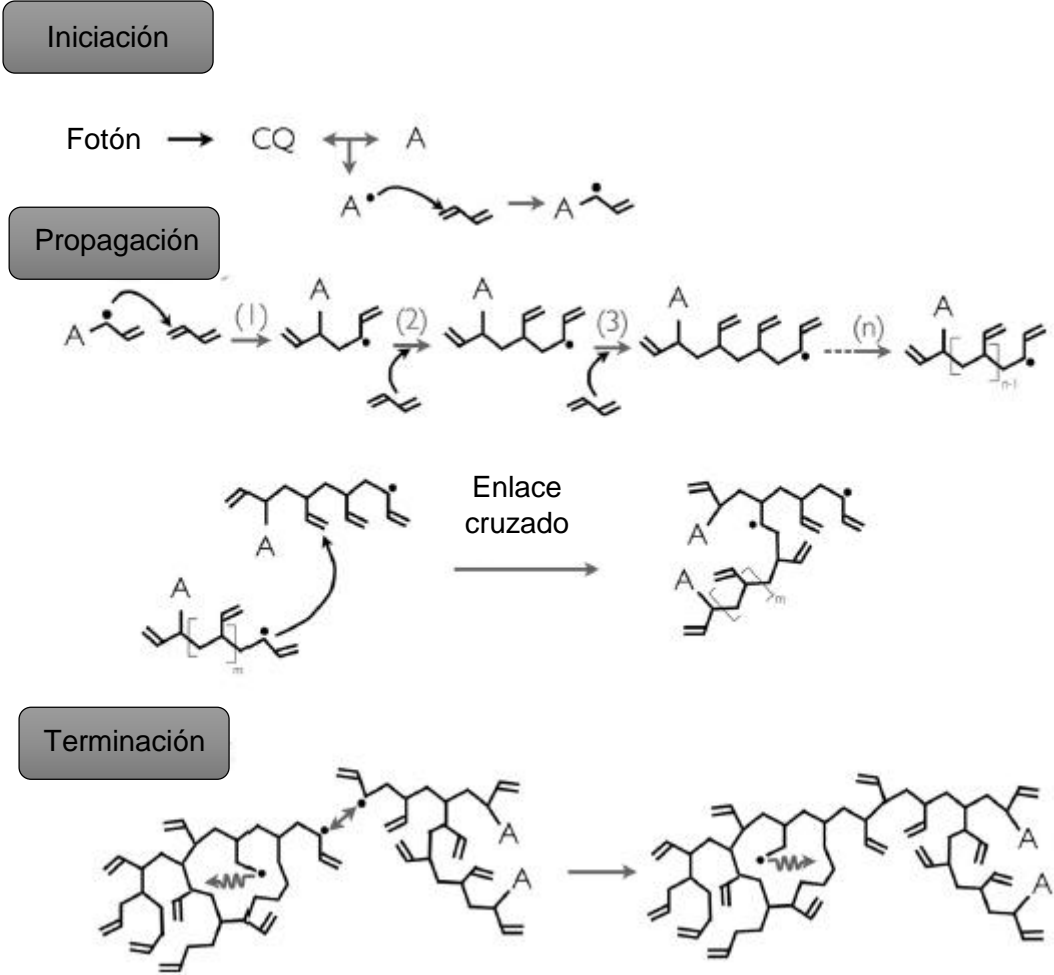
*Vitrebond Copolímero, un ácido polialquenoico modificado con metacrilato.

**Metacrilato funcional – Vidrio de fluoroaluminosilicato (FAS).

***Todos los FAS funcionales de Metacrilato, Nanómetros y Nanoclusters son modificados en la superficie.

3M ESPE productos dentales, Sharanbir *et al.*, Smith *et al.*, Shafiei *et al.*

Figura 1. Fases del proceso de fotopolimerización



Leprince *et al.*

1.3 ADHESIÓN DE LOS IONÓMEROS DE VIDRIO A LA ESTRUCTURA DENTARIA

Los cementos de ionómero de vidrio son los únicos materiales que se auto adhieren a los tejidos del diente. Para ello se necesita realizar un procedimiento de dos pasos: Acondicionamiento y limpieza de la superficie con ácido poliacrílico, para eliminar el lodillo dentinario y exponer las fibras de colágeno aproximadamente 0.5 a 1 mm de profundidad, a través de los cuales, los componentes del ionómero de vidrio se difundirán y establecerán una unión micromecánica, que siguen el principio de hibridación.³² En consecuencia, el enlace químico se obtiene por la interacción iónica de los grupos carboxilo del ácido poliacrílico, con el calcio de la hidroxiapatita, que permanece unido a las fibras de colágeno.

La capacidad de infiltración de los ionómeros de vidrio está limitada por el alto peso molecular del polímero carboxilo, por lo que solo se forman capas híbridas superficiales.^{33,34} Para los ionómeros de vidrio modificados con resina, también se necesita realizar un pretratamiento de la superficie.³⁵ La marca comercial Vitremer y Ketac N100 recomiendan usar un acondicionador (primer, en inglés), en lugar de ácido poliacrílico. Su función es modificar la capa de detritus dentinario y humedecer la superficie dental para facilitar la adhesión del material restaurador al tejido duro; éste tiene que ser polimerizado durante 10 segundos (3M). Dentro de su composición contiene el copolímero acrílico/ácido itacónico disuelto en HEMA y agua con un pH=3.³⁶

El acondicionamiento de la dentina elimina la capa de lodillo y realiza una desmineralización parcial para promover la reacción química entre el material y los cristales de hidroxiapatita del diente; por lo tanto, los adhesivos de los ionómeros de vidrio pueden unirse a través de dos mecanismos: químicamente a través de la unión iónica del grupo carboxilo a los iones de calcio del sustrato y el componente resinoso puede entrelazarse con la superficie del

diente acondicionada a través de un mecanismo de adhesión micromecánico.^{32,3} Esto quiere decir que además de la unión química por el intercambio iónico entre el ionómero de vidrio y la dentina, la luz fotopolimerizable dentro de los túbulos dentinarios provee una adhesión mecánica del polímero al tejido dentario; sin embargo, los componentes resinosos de los ionómeros de vidrio modificados acentúan la contracción del material durante la polimerización y forman espacios (gaps, en inglés) que pueden resultar en la aparición de microfracturas.³³

Cuadro 2. Clasificación de los ionómeros de vidrio

Ionómero de vidrio	Características	Nombres comerciales	Modo de preparación	Indicaciones de uso
Primera generación	De reacción ácido base dependiente de la relación de alúmina a sílice. Fraguado lento.	ASPA I y II (Detrey Denstplay)	ASPA I: Reacción ácido base, el polvo (silicato) se incorpora al líquido (ácido poliacrílico), no fraguaba muy rápido, era muy húmedo. ASPA II: Reacción ácido base, se le agregó ácido tartárico al polvo para mejorar sus propiedades.	Hipersensibilidad en cavidades cervicales, obturación de cavidades sin preparación mecánica previa, directamente en la dentina como forro cavitario.
Segunda generación	Endurecimiento con base en agua. Poliácido incorporado al polvo. Reacción mediante la mezcla del polvo con agua o una solución acuosa de ácido tartárico. Mayor fuerza.	Chemfil Ketac – Cem	Chemfil: El polvo se mezcla con agua destilada, en proporción 2:2. Se divide el polvo en dos mitades. La primera mitad se mezcla con el agua hasta por 5 segundos; se agrega la segunda mitad y se mezcla 10 segundos con un máximo de 20 segundos. Ketac Cem: Presionar la cuchara con el contenido sobre el segmento de plástico de la botella. No comprimir el polvo. La botella del líquido se mantiene vertical mientras se dispensa. En proporción de una cucharada y dos gotas de líquido, se agrega el polvo al líquido.	Chemfil: Cavidades clase V, III, cavidades I y II en dientes deciduos. Restauraciones temporales y obturaciones de fisuras. Ketac Cem: Cementación de metal cerámica, bandas ortodóncicas y revestimientos dentales.
Cementos reforzados	Mayor aumento a la flexión. Vidrios reforzados con fases dispersas como metales, con fibras de alúmina, sílice, carbono o resina. Ionómeros de vidrio de alta viscosidad para técnica TRA.	Fuji IX Ketac Molar	Fuji IX: Proporción polvo líquido 1:1. El frasco del líquido se mantiene vertical y se golpea ligeramente. Con espátula de plástico se divide el polvo en dos partes. La primera se mezcla con todo el líquido por 10 segundos; se coloca la restante y se mezcla todo 15 a 20 segundos. Ketac Molar: Con espátula metálica o de plástico el polvo debe transferirse hacia el líquido en no más de dos porciones.	Fuji IX: Restauraciones I y II en dientes temporales y en permanentes que no soporten cargas, material intermedio en restauraciones de muñones y clases V. KetacMolar: Tratamiento Restaurativo Atraumático (TRA).
Modificados con resina	Adición de metacrilato al ácido poliacrílico. Fraguado activado por luz.	Ketac N100 Fuji II LC Vitremar	Ketac N100: Colocar el primer (por sus siglas en inglés) a esmalte y dentina por 15 segundos y fotopolimerizar por 10 segundos. Mezclar la	Ketac N 100: Restauración de dientes primarios, clases I pequeñas; III y V,

pasta del dispensador durante 20 segundos. Colocar en incrementos de 2 mm o menos y fotocurar 20 segundos.

Fuji II LC: En proporción polvo líquido 1:2; mantener verticalmente el frasco del líquido y apretar suavemente. Dividir el polvo en dos mitades. Con espátula de plástico esparcir el líquido en una capa fina, introducir una mitad del polvo y mezclar con trazos frotantes durante 10 a 15 segundos. Agregar el polvo restante y mezclar hasta obtener una consistencia brillante. No exceder los 20-25 segundos de mezclado. Se debe fotopolimerizar durante 20 segundos.

Vitremer: Se mezcla un número igual de cucharaditas de polvo y gotas por 45 segundos y se rellena la punta dispensadora con el material. Se aplica previamente ácido fosfórico al 35% en esmalte y dentina para aplicar el adhesivo, se fotopolimeriza 10 segundos y posteriormente se coloca el Vitremer, realizando un fotopolimerizado final de 40 segundos.

restauraciones temporales, material intermedio, reconstrucción de muñones.

Fuji II LC: Clases III y V, restauración de dientes primarios, muñones, aplicaciones geriátricas y como base o recubrimiento.

Vitremer: Restauraciones clase III y V. Clase I y II en dientes temporales. Base / forro cavitario y reconstrucción de muñones.

Khoroushi *et al.*, Keshani *et al.*, Shafiei *et al.*, Singla *et al.*, Low *et al.*, Vitremer 3M

1.4 TECNOLOGÍA DE LAS LÁMPARAS PARA FOTOPOLIMERIZACIÓN

Se han desarrollado cuatro tipos de fuentes de polimerización:³⁷

1. Lámparas halógenas de tungsteno de cuarzo (QTH).
2. Lámparas emisoras de diodos (LED).
3. Lámparas de arco de plasma.
4. Láser de iones argón.

1.4.1 LÁMPARAS HALÓGENAS DE TUNGSTENO DE CUARZO

Han sido las unidades estándar por varios años; a pesar de tener una eficiencia muy baja en comparación con la generación de calor. Estas, emiten un amplio rango de longitudes de onda y requieren filtros para limitar su longitud entre 370 y 550 nm. y ajustarse a la absorción máxima de la canforquinona, tienen una densidad de potencia que oscila entre los 600 a los 800mW/cm².

En este tipo de lámparas el 5% de la energía total es luz visible, 12% calor y el 80% es luz emitida en espectro infrarrojo.^{38,39}

1.4.2 LÁMPARAS DE ARCO DE PLASMA

Emiten luz a partir de plasma brillante que se compone de una mezcla gaseosa de moléculas ionizadas de xenón y electrones. Se caracterizan por longitudes de onda de 470nm. Emiten luz con un poder de densidad de 1370mW/cm².^{39,40}

1.4.3 LÁSER DE IONES DE ARGÓN

Tiene un elevado costo y se necesita demasiado espacio para el equipo por lo que la hace menos popular. Emite densidades de potencia de 2000mW/cm² y una longitud de onda de 488 nm. El tiempo de exposición y la intensidad de la luz están directamente relacionados con la profundidad de la fotopolimerización.⁴¹

1.4.4 LÁMPARAS EMISORAS DE DIODOS (LED)

Su uso se sugirió para superar los problemas de las lámparas de tungsteno de cuarzo, como temperaturas altas de funcionamiento, reducción de la eficacia sobre el tiempo y las propiedades físicas insuficientes.⁴²

Algunas de las ventajas; es que requieren menor energía para su operación, no requieren sistemas de enfriamiento porque se les eliminó las longitudes de onda infrarrojas; funcionan con baterías recargables, lo cual les confiere portabilidad y bajo peso. La luz que producen es de intensidad constante, no se degrada con el tiempo, no requieren filtros y generan menos calor.⁴³

Cuadro 3. Evolución de las lámparas LED

GENERACIONES	DENSIDAD DE IRRADIACIÓN
Primera	150 mW/cm ²
Segunda	1,200 a 1,500 mW/cm ²
Tercera	Hasta 3,200 mW/cm ²

Camilotti, *et al.*, Flury *et al.*

La principal razón para la producción de esta nueva generación de lámparas emisoras de diodos, es la creencia que una mayor densidad de irradiación mejoraría la eficacia del fotopolimerizado⁴⁴ y clínicamente la estrategia más común para maximizar el porcentaje del grado de conversión, es proveer la suficiente energía en el sistema mediante el aumento en el tiempo de fotocurado. Gran cantidad de materiales disponibles comercialmente; han hecho hincapié en la necesidad de aplicar al menos 20 segundos, pero lo más probable es que una irradiación de 40 segundos minimice la cantidad de sustancias eludidas. Sin embargo, Polydorou *et al.*, demostraron que 40 segundos de irradiación parecen insuficientes para evitar una alta liberación de monómeros. En la actualidad, el fotopolimerizado en la práctica clínica, de una capa de 2 mm de los compuestos de resina con una base de canforquinona es de 20 segundos a una intensidad de 1000 mW/cm² con luz LED.³⁰

1.5 COLONIZACIÓN DEL *Streptococcus mutans*

Los *Streptococcus mutans* son considerados como los contribuyentes más importantes en el desarrollo de caries, al unirse a las superficies de los dientes y formar biopelículas. Pueden tolerar y adaptarse a los cambios fisiológicos de la cavidad bucal, son capaces de metabolizar la dieta exógena de hidratos de carbono para generar energía por sí mismos, a través de la fermentación y la liberación de ácidos como subproductos metabólicos.⁴⁵

La adhesión de los microorganismos a los cementos de ionómeros de vidrio puede ser promovida por los cambios en las características de éstos; como el aumento de la rugosidad y en ocasiones por disminución de la microdureza.⁴⁶

Fucio *et al.*, realizaron un estudio con exposición a biopelículas de *S. mutans*, y demostraron un incremento en la rugosidad de la superficie de 0.1 μm a más de 1 μm en cementos convencionales de ionómero de vidrio y modificados con resina.

Hansel *et al.*, sugirieron que la liberación de dimetacrilato de etilenglicol y trietilenglicol de los compuestos de resina pueden favorecer el crecimiento de *S. mutans*. Khalichi *et al.*, encontraron que el dimetacrilato de trietilenglicol modula la expresión de los niveles de glucosiltransferasa B y yfiV, un gen regulador de la transcripción de *S. mutans*.⁴⁷

La liberación de monómeros sin reaccionar por los compuestos de resina, también puede promover la colonización bacteriana en su superficie y estos monómeros influyen potencialmente en la formación de biopelículas y la supervivencia microbiana en la superficie del material.³⁰

2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

Friedl *et al.*⁴⁸ midieron la liberación de flúor de 1 cemento de ionómero de vidrio, 1 cemento cermet, 3 cementos de ionómero de vidrio modificados con resina y 1 compómero (Ketac-Fil, Ketac-Silver, Photac-Fil, Fuji II LC, Vitremer y Dyract), los autores, determinaron la influencia de cada material en el crecimiento bacteriano.

Los materiales se usaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante en condiciones estériles. Se hicieron muestras cilíndricas (3 mm de diámetro y 6 mm de altura) de cada material con el uso de moldes de politetrafluoroetileno. Se colocaron tiras de celuloide en ambos lados del molde y se procedió a la fotopolimerización durante 40 segundos; la luz de fotopolimerización se controló con un fotómetro (Dentsply, Milford, DE, EE. UU.). Los materiales autopolimerizables se dejaron fraguar durante 15 minutos. Posteriormente las muestras se almacenaron durante 24 horas a 37°C. La liberación de compuestos, se logró al sumergir las muestras por separado durante 180 días en solución salina (2 ml / espécimen) a 37°C. Las soluciones se cambiaron cada 48 horas.

La liberación de flúor se determinó cada 48 horas durante un período de 36 días y posteriormente cada 6 días durante un período de 180 días, con el uso de un electrodo selectivo para ion flúor (Orion Model 96-09, Orion Research, Boston, MA, EE. UU.), el cual fue conectado a un analizador de iones (Orion Modelo 901).

El crecimiento bacteriano de *Streptococcus mutans* (NCTC 10449) se determinó después de los diferentes tiempos de inmersión (48 horas, 14 días, 90 días y 180 días). La bacteria permaneció en contacto con los compuestos eludidos en las soluciones durante 24 horas, a 37 °C. Los controles negativos fueron 9 tubos de ensayo con solución salina y sin bacteria.

El análisis estadístico se realizó con la prueba U de Mann-Whitney y se demostró que la liberación de flúor disminuyó significativamente con el tiempo para cada material con valores entre 6.2 (Ketac-Silver) y 29.3 (Photac-Fil) ppm después de 48 horas, a valores entre 0.6

(Ketac-Silver) y 1.7 (Ketac-Fil, Vitremer) ppm después de 180 días. El material que liberó mayor cantidad de flúor fue Vitremer, sin embargo, se demostró que no tuvo casi ningún efecto inhibitor sobre el crecimiento bacteriano. Adicionalmente, en relación con esta variable; las diferencias no fueron estadísticamente significativas, el efecto disminuyó con el tiempo.

Montanaro *et al.*,⁴⁹ investigaron la adhesión de una cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) en la superficie de diferentes materiales de restauración, tres compuestos de resina fluidos (Filtek Flow, Tetric Flow y Arabesk Flow); tres compuestos microhíbridos (Clearfil APX, Solitaire 2 y Z250); dos ionómeros de vidrio (Fuji IX y Fuji IX rápido); un compómero (F2000), una resina compuesta (Admira) y un material que se tomó como control (poliestireno). Se prepararon muestras cilíndricas de 1 mm de espesor y se utilizaron tiras de celuloide para empacar los materiales en moldes prefabricados, se fotocuraron durante 40 segundos y las muestras se colocaron en placas de microtitulación. Se añadieron 2 ml de caldo de cultivo y 20 ml de suspensión bacteriana en cada pozo y se incubaron por 4 horas a 37 °C. Posteriormente, las muestras se lavaron 3 veces con 5 ml de una solución estéril de NaCl al 0.9%, para eliminar las células no adherentes.

Cada disco se colocó en un tubo de vidrio que contenía 1 ml de solución salina y se colocaron en un ultrasonido durante 6 minutos para separar las bacterias adheridas a las superficies de los biomateriales, poniéndolas en suspensión. Los discos se retiraron y se añadieron 10 ml de caldo fresco a cada tubo, se dejaron incubar durante 24 horas. Después de la incubación, la concentración de bacterias se midió con un turbidímetro. El experimento se repitió 11 veces en las cuales el valor turbidimétrico de cada muestra se comparó con el valor medio del control (poliestireno) que se equiparó a 100% de adhesión bacteriana.

También se midió el flúor liberado de las muestras a las 6 horas, 1 y 7 días. Se agregaron 5 ml de agua destilada a cada material y se cambió en cada uno de los tiempos mencionados. La concentración de flúor se midió con un electrodo selectivo para ion flúor.

Se utilizaron pruebas T de Student y ANOVA, se demostró que todos los materiales excepto Admira y Fuji IX rápido, exhibieron valores de adhesión bacteriana que no difirieron de forma significativa con respecto al control. Basados en la adhesión, las diferentes clases de materiales se pueden clasificar del menor al mayor adhesivo de la siguiente manera: compuestos de resina fluidos, compuestos microhíbridos, ionómeros de vidrio modificados con resina, compómero y Admira.

Los datos sobre la liberación de flúor mostraron que la gran mayoría de los materiales liberaron cantidades insignificantes, por debajo de 0.1 ppm durante todo el período monitoreado. Los ionómeros de vidrio mostraron una liberación mayor con respecto a los otros materiales; sin embargo, esta fue constante solo las primeras 6 horas.

Nalcaci *et al.*,⁵⁰ midieron monómeros eluidos de TEGDMA y BisGMA de compuestos de resina de microrelleno a diferentes intervalos de fotopolimerización e intensidades, con las siguientes lámparas: lámpara halógena de tungsteno de cuarzo (40 segundos a 600 mW/cm²), lámpara halógena de tungsteno de cuarzo de alta intensidad y rápido curado (10 segundos a 1400 mW/cm²) y lámpara LED (40 segundos a 400 mW/cm²).

Las muestras fueron fotopolimerizadas desde la superficie superior e inferior, posteriormente fueron sumergidas en metanol. Se utilizó cromatografía líquida de alta resolución para medir la cantidad de monómeros liberados de las muestras en varios intervalos de tiempo (0, 3, 6, 9, 12, 24, 48 y 72 horas). Los datos se analizaron usando ANOVA y pruebas de Duncan con un nivel de significancia de 0.05. No se observaron diferencias significativas en la elución de monómeros TEGDMA, entre los grupos de fotopolimerizado, a 0, 9, 12, 24, 48 y 72 horas.

Mientras que se observaron diferencias significativas entre los grupos de fotopolimerizado en 3 y 6 horas.

La elución de BisGMA en muestras sumergidas durante períodos más largos (9-72 horas), fue significativamente mayor que las muestras sumergidas durante periodos de tiempo más cortos (0-6 horas). Bajo las condiciones de este estudio, el fotopolimerizado estándar con lámpara de tungsteno de cuarzo pareció dar como resultado niveles más altos de elución de TEGDMA de los compuestos de resina. Con esto se demostró que existen monómeros de resina eluidos después del proceso de fotopolimerización.

Rosentritt *et al.*,²⁹ seleccionaron varios materiales dentales utilizados comúnmente, entre ellos varios tipos de resina, materiales cerámicos y aleaciones de cromo, titanio y cobalto. Los materiales fueron seleccionados con la intención de evaluar la adhesión de *Streptococcus mutans*. Para el experimento, se elaboraron 15 muestras de cada producto, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las resinas se colocaron en moldes de silicona, previamente elaborados y se cubrieron con una tira de plástico transparente; se pulieron las muestras y se les determinó la rugosidad, para mantener los valores por debajo de 0.2 μm , ya que se reportó que este rango no influye en la adhesión bacteriana.

Las muestras se almacenaron en agua destilada durante 6 días, para permitir la liberación de monómeros residuales.

Se utilizó la cepa de *Streptococcus mutans* NCTC 10449 y el inóculo se ajustó a una densidad óptica de 0.3 a 550 nm.

Se promovió la formación de una biopelícula con saliva artificial sobre las muestras y posteriormente se enjuagaron con PBS. Se les colocó la suspensión bacteriana a un flujo constante de 1.875 ml / min., durante 4 horas, ya que en estudios *in vivo* se encontró que la adhesión significativa de microorganismos ocurre dentro de las 4 horas después de exponer

las muestras al medio oral. Posteriormente se eliminó la suspensión de *S. mutans* y las muestras se enjuagaron con PBS para eliminar cualquier bacteria no adherida.

Para la cuantificación bacteriana se utilizó la reducción de resazurina que a menudo se denomina Ensayo Azul de Alamar, el cual es un método que se ha establecido para medir la proliferación celular y se encontró mayor adhesión en los compuestos de resina. Se utilizó la prueba estadística U de Mann – Whitney.

Brambilla *et al.*,⁵¹ sugirieron que la colonización de *Streptococcus mutans* en las superficies de las resinas compuestas está relacionada con el tiempo de fotopolimerizado. Para sustentar su hipótesis se realizó un estudio *in vitro* con muestras de resinas compuestas, se dividieron en 12 grupos y se fotopolimerizaron sobre la superficie, con la misma fuente de luz (lámpara halógena Spectrum 800 de Dentsply) por 10, 20, 30, 40, 60 y 80 segundos respectivamente, con dos niveles de curado distintos: 400 y 800 mW/cm².

Se aislaron cepas de *S. mutans* de un biofilm monoespecífico a las 24 horas adherido a las superficies. Una técnica de colorimetría basada en la reducción de una sal amarilla de tetrazolio a púrpura formazán (MTT), fue utilizada para evaluar las biomasas adheridas a las superficies de los especímenes.

Se utilizaron pruebas de ANOVA y de Scheffé para analizar estadísticamente los resultados, se demostró que un tiempo de fotopolimerizado reducido es el responsable del incremento de la colonización *in vitro* de *S. mutans*, sobre las superficies de las resinas; este fenómeno probablemente esté relacionado con la presencia de monómeros no polimerizados en la superficie del material.

Chul Lee *et al.*,⁵² investigaron la adhesión de *Streptococcus sanguis* sobre resina fotopolimerizada por 30 segundos, titanio y zirconia con las mismas condiciones de pulido. Las muestras de los materiales se cubrieron con saliva y se incubaron con *S. sanguis*. Se utilizó microscopio electrónico de barrido, tinción con violeta de cristal y se midió la intensidad de la fluorescencia, resultado de la reducción de resazurina para cuantificar la adhesión bacteriana.

La Microscopía Electrónica de Barrido mostró que las bacterias fueron más abundantes sobre la resina en comparación con los otros materiales. El resultado de las intensidades de fluorescencia también demostró que la mayor intensidad se encuentra en la superficie de resina. Concluyeron que estos especímenes tienen una susceptibilidad mayor para la adhesión de *S. sanguis*.

Hahnel *et al.*,⁵³ examinaron la correlación entre la formación de biopelícula de los *S. mutans* y la producción de lactato en la superficie de materiales dentales con diferentes características en relación a su rugosidad medida con perfilómetro.

Las muestras fueron elaboradas con cemento de ionómero de vidrio Ketac Molar y cerámica Empress 2, estandarizadas con un diámetro de 10 mm x 1.5 mm, que fueron incubadas con saliva y *Streptococcus mutans* ATCC 25175 o *Streptococcus sobrinus* ATCC 33478, la saliva se utilizó para iniciar la formación de una biopelícula. Se determinó la cantidad de células adherentes con las pruebas de resazurina y el ensayo de viabilidad celular de Bromuro de metiltiazol difenil-tetrazolio (MTT). La actividad metabólica se determinó mediante la cuantificación de la producción de lactato con Clinpro Cario L-Pop de la marca 3M. Ambas pruebas identificaron la formación de biopelículas de *S. sobrinus* y *S. mutans* en ambos sustratos.

La prueba de MTT mostró un número significativamente menor de *Streptococcus* en el cemento de ionómero de vidrio en comparación con la cerámica.

En cuanto a la actividad metabólica por *S. sobrinus*, se observó significativamente mayor producción de lactato en las biopelículas formadas en el ionómero de vidrio en comparación con los valores en la cerámica, mientras que para *S. mutans* se encontraron valores similares en ambos materiales. El experimento se repitió 3 veces para validar los resultados.

Jalalian *et al.*,⁴⁶ observaron la adhesión de algunos microorganismos, tales como *S. mutans* a los materiales de restauración y las consecuencias de este fenómeno; evaluaron el nivel de adhesión de *S. mutans* al ionómero de vidrio BisCem. Se llevó a cabo un estudio experimental *in vitro* con 12 muestras que incluyeron 5 bloques de ionómero de vidrio (GC America Inc., Alsip, IL, USA); 5 bloques de BisCem (Bisco Inc., Schaumburg, IL, USA) y dos bloques de esmalte que fueron expuestos en una suspensión de bacterias en una proporción de 1×10^6 mg/ml. Después de incubarlos durante 1 hora a 37°C, se tomaron muestras por frotis y se cultivaron en agar sangre. Después de 48 horas de incubación se contabilizaron las colonias de *S. mutans*. Los resultados se analizaron mediante ANOVA y posteriormente con la prueba de Turkey. El número de colonias atribuido a los bloques de esmalte, ionómero de vidrio y BisCem fue 24 ± 2 ; 24.2 ± 2.7 y 14.8 ± 1.7 colonias/mm² respectivamente. No hubo diferencias significativas entre el esmalte y el ionómero de vidrio en términos de adhesión de *S. mutans* (P=0.08); sin embargo, la diferencia entre éstos y BisCem fue estadísticamente significativa (P=0.000 y P<0.001, respectivamente). Por lo que se concluye que el esmalte y el ionómero de vidrio mostraron resultados similares en términos de adhesión.

3. JUSTIFICACIÓN

Actualmente existe un amplio uso de los ionómeros de vidrio reforzados con resina en el área de odontopediatría; principalmente por el desarrollo de los sistemas adhesivos, estética y la inclusión de partículas que los hacen más resistentes que los ionómeros de vidrio convencionales. Sin embargo, existe una limitada durabilidad clínica de estos materiales; esto genera que muchos pacientes entren a ciclos repetitivos de tratamientos restauradores y se genere una estructura dentaria debilitada. La longevidad del material está clínicamente limitada por la aparición de caries secundaria, mal sellado y fracturas.

Estudios anteriores demostraron que la aparición de bacterias cariogénicas se relaciona con la fotopolimerización de los materiales. Por lo que surge la necesidad de demostrar la relación existente entre el tiempo de fotopolimerización y la colonización bacteriana en dos ionómeros de vidrio modificados con resina, el impacto clínico permitirá establecer mejores parámetros para su manejo clínico y mejorar la calidad en los tratamientos.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existe una reincidencia de caries en órganos dentarios restaurados con ionómero de vidrio modificado con resina, que conlleva a un desbalance en relación al costo y beneficio debido a que los pacientes deben someterse a un tratamiento más radical, que involucra un mayor costo.

A pesar de seguir las instrucciones del manejo por el fabricante, no se garantiza que la polimerización de los materiales con compuestos de resina sea completa, por lo que da lugar a una superficie alterada y retentiva; así como, monómeros eludidos que pueden favorecer la adhesión del *Streptococcus mutans* y la colonización bacteriana. Por lo que surgió la siguiente pregunta de investigación:

5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe relación en el tiempo de fotopolimerización con la colonización de *Streptococcus mutans* en ionómeros de vidrio modificados con resina, Vitremer y Ketac N100?

6. OBJETIVOS

6.1 GENERAL

Relacionar el tiempo de fotopolimerización con la colonización de *Streptococcus mutans* en ionómeros de vidrio modificados con resina, Vitremer y Ketac N100.

6.2 ESPECÍFICOS

- Correlacionar, por tiempo de fotopolimerización la liberación de flúor de los ionómeros de vidrio modificados con resina, Vitremer y Ketac N100.
- Determinar la densidad bacteriana por tiempo de fotopolimerización de los ionómeros de vidrio modificados con resina Vitremer y Ketac N100 con el ensayo de viabilidad celular de Bromuro de metiltiazol difenil-tetrazolio (MTT).
- Determinar la rugosidad de los ionómeros de vidrio a los diferentes tiempos de fotopolimerización por Microscopia de Fuerza Atómica y Microscopia Electrónica de Barrido.
- Caracterizar la colonización bacteriana de *Streptococcus mutans* sobre los ionómeros de vidrio con el Microscopio Electrónico de Barrido.

7. HIPÓTESIS

H1: El tiempo de fotopolimerización, se relaciona con la colonización de *Streptococcus mutans* en ionómeros de vidrio modificados con resina, Vitremer y Ketac N100.

H0: El tiempo de fotopolimerización, no se relaciona con la colonización de *Streptococcus mutans* en ionómeros de vidrio modificados con resina, Vitremer y Ketac N100.

8. MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO: Estudio experimental, *in vitro*.

MUESTRA: Asignación aleatoria simple.

UNIVERSO: Ionómeros de vidrio modificados con resina.

UBICACIÓN ESPACIO-TEMPORAL: Unidad de Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Laboratorio Central de Microscopía del Instituto de Física de la Universidad Nacional Autónoma de México.

9. CRITERIOS DE SELECCIÓN

9.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Muestras de ionómeros de vidrio modificados con resina, marcas comerciales. Vitremer y Ketac N100.
- Discos de 4.5 mm de diámetro x 2 mm de grosor.
- No pulidos.
- Fotopolimerizables.

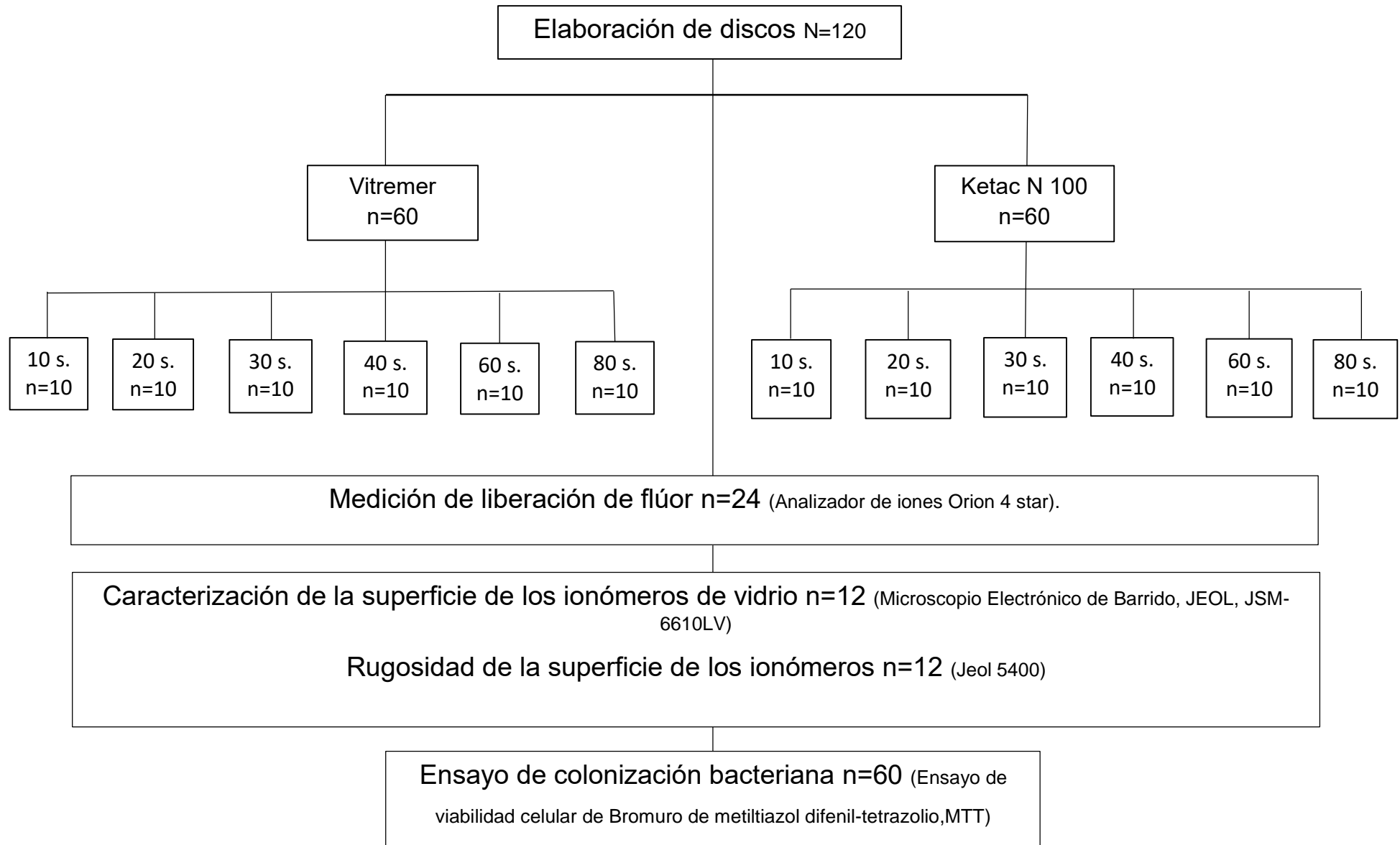
9.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Discos que presentaron fractura o pérdida de material.
- Discos contaminados durante la manipulación para el ensayo microbiológico.

9.3 CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

- Discos que se cayeron en el momento del experimento.
- Durante el experimento, previo al ensayo de adhesión, presentaron cambios de coloración.

10. DIAGRAMA DE PROCEDIMIENTOS



11. PROCEDIMIENTOS

11.1 RECOLECCIÓN Y PROCESADO DE SALIVA

Para el estudio; se recolectó saliva total estimulada con parafina, con el propósito de promover la formación de la película adquirida y crear las condiciones más cercanas de manera *in vitro* a lo que ocurre con los ionómeros en un ambiente bucal natural. La saliva fue donada por la tesista (Fig.1), las especificaciones para la toma de muestra de saliva fueron: ausencia de enfermedades congénitas, sin presencia de lesiones cariosas ni abscesos dentales, no recibir tratamiento dental el mismo día, no haber ingerido antibióticos por lo menos 15 días antes de la toma de muestra, cepillarse los dientes 2 horas antes y no consumir alimentos y bebidas antes de la recolección.

Una vez cumplido con estas especificaciones, se limpió la cavidad bucal con una gasa y se masticó chicle de parafina para recolectar la saliva en un tubo de ensayo estéril. Posteriormente se calentó a 60°C durante 30 minutos para inactivar enzimas endógenas, se centrifugó a 7,000 rpm (Fig. 2), durante 10 minutos para clarificarla (Fig. 3), se esterilizó con filtros de 0.22 μ , y se almacenó a -20°C hasta su uso.



Fig. 1 Saliva recolectada



Fig. 2 Centrifugación



Fig. 3 Saliva clarificada

11.2 ELABORACIÓN DE LOS DISCOS Y LA MEDICIÓN DE LA LIBERACIÓN DE FLÚOR

Previo a la elaboración de los discos, se colocó la lámpara inalámbrica de luz LED (Elipar 3M) en un radiómetro blue phase (ivoclar) para medir la potencia, antes de realizar las maniobras de fotopolimerización (Fig. 4), en el que se obtuvo un promedio de 1000 mW/cm².

Posteriormente se elaboraron 120 discos (Fig. 5), con una n=60 para las diferentes marcas comerciales, Vitremer y Ketac N100, los cuales se subdividieron por tiempo de fotopolimerizado, en grupos con una n=10. Cada uno de los materiales se preparó de acuerdo a las especificaciones del fabricante, sobre losetas de papel.

Después de la mezcla, el material se colocó en un molde previamente confeccionado de 4.5 mm de diámetro y 2 mm de profundidad, sobre el cual se colocó una tira de celuloide para estandarizar la distancia en la que se llevó a cabo el fotopolimerizado.

La punta de la lámpara fue colocada sobre la tira de celuloide y se procedió a la fotopolimerización de cada una de las muestras a 10, 20, 30, 40, 60 y 80 segundos.

Una vez elaborados los discos se colocaron en una placa de microtitulación y se almacenaron en un lugar oscuro durante 24 horas para permitir la completa polimerización de los materiales.

Se tomaron 2 discos por cada grupo de fotopolimerización al azar y se almacenaron en contenedores con 10 ml de PBS (Fig. 6), el cual se cambió cada 24 horas durante 7 días y fue almacenado para medir la concentración de flúor con el electrodo selectivo para ion flúor conectado al analizador de iones orion 4 star (Fig. 7).

El resto de los discos fueron sometidos al mismo procedimiento con el propósito de liberar la mayor cantidad de monómeros sin reaccionar durante el proceso y se almacenaron para su uso posterior.



Fig. 4 Radiómetro (Blue phase)



Fig. 5 Discos de ambas marcas comerciales



Fig. 6 PBS almacenado



Fig. 7 Analizador de iones (Orion 4 star)

11.3 PREPARACIÓN DEL INÓCULO DE *Streptococcus mutans*

Se utilizó *Streptococcus mutans* GS5 (Fig. 8), la bacteria se descongeló y se sembró en Agar Infusión Cerebro Corazón (BHI) y se incubó a 37°C por 48 horas a 5% de CO₂. Pasado este tiempo se tomaron varias colonias bacterianas y se resuspendieron en medio BHI (Fig. 9), la suspensión se ajustó a 0.3, a una densidad óptica de 550 nm en el espectrofotómetro Ultrospec 1000 (Pharmacia Biotech), que corresponde aproximadamente a 5×10^6 UFC/ml de *S. mutans* GS5. Esta solución bacteriana fue utilizada para realizar las pruebas de adherencia.



Fig. 8 Siembra de bacterias

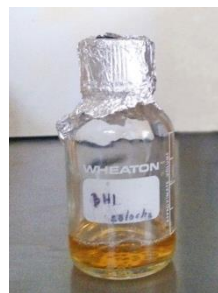


Fig. 9 Medio de cultivo BHI

11.4 CURVA DE CALIBRACIÓN

11.4.1 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN BACTERIANA POR CONTEO EN PLACA Y MTT

Para ello se realizó un cultivo de *S. mutans* GS5 en medio BHI y se dejó por 18 a 20 horas para alcanzar su fase logarítmica, posteriormente se ajustó a una densidad óptica de 0.3 a 550 nm en medio BHI, que corresponde aproximadamente a 5×10^6 UFC/ml, de este inóculo se realizaron diluciones con medio BHI de 1:2, 1:4, 1:6, 1:8, 1:10; 1:100, 1:1000 y 1:10,000 (Fig.10), para cada dilución se realizó la cuantificación de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC), mediante el cultivo de cada dilución en placas de BHI (Fig. 11), se colocaron 10 μ m de la dilución sobre el agar, se dejaron secar y se incubaron a 37°C a 5% CO₂ por 18 horas, posteriormente con ayuda de un microscopio estereoscópico (Nikon SMZ800), se realizó la cuantificación de las UFC formadas (Fig. 12) y se realizaron los cálculos correspondientes para expresarlos en UFC/ml.

Por otro lado, de cada dilución se colocaron 200 μ l, más 20 μ l del Ensayo de viabilidad celular, MTT (Fig. 13) en tubos de 0.5 ml y se incubaron a 37°C por 3 horas, posteriormente las células fueron separadas por centrifugación (6,000 rpm por 5 minutos) y se lavaron 3 veces con PBS estéril.

Al paquete celular se le agregó 200 μ l de Dimetil Sulfóxido al 10% (SDS, por sus siglas en inglés), se resuspendió por agitación y se incubó a 37°C durante toda la noche. Al siguiente día se mezcló con ayuda de una micropipeta y se leyó el producto liberado por la reducción del MTT, púrpura de formazán, a 570 nm y se anotaron los resultados.

Se tomó como blanco de la lectura en espectrofotómetro una solución de SDS al 10%. Para cada dilución, las determinaciones de UFC/ml y de espectrofotometría por transformación del MTT se realizaron por triplicado, lo cual representa los promedios de tres lecturas a partir de 3 pruebas independientes.

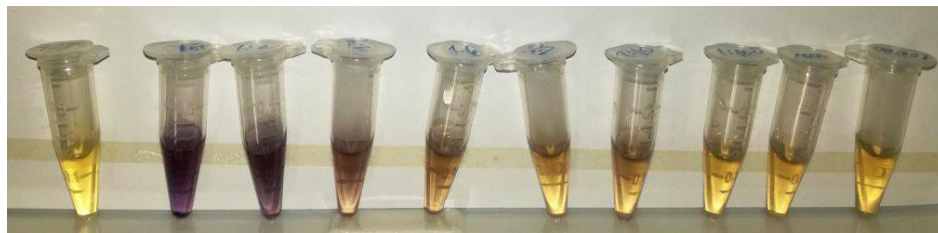


Fig. 10 Diluciones elaboradas en medio BHI con MTT

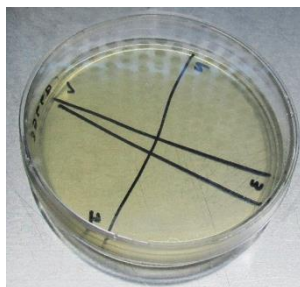


Fig. 11 Placas de BHI

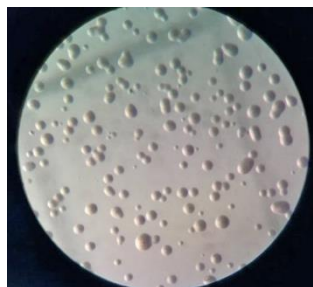


Fig.12 Cuantificación de UFC



Fig.13 Ensayo MTT

11.5 ENSAYO DE ADHESIÓN

Para la realización de esta fase del experimento, se tomaron 5 discos por cada grupo, fotopolimerizados a los diferentes tiempos y de cada uno de los ionómeros de vidrio, Vitremer y Ketac N100; de los cuales 1 disco de cada grupo se tomó como control. Antes de comenzar los ensayos de adhesión, la saliva se descongeló lentamente a temperatura ambiente.

En las placas estériles de 12 pozos se colocaron los discos de ionómero de vidrio sometidos a los distintos tiempos de fotopolimerizado, se les agregó 500 µl de saliva inactivada en cada pozo (Fig.14) para promover la formación de biopelícula y se incubaron durante 1 hora a 37°C. Posteriormente se retiró la saliva de cada pozo y cada uno de éstos se enjuagó tres veces con 1 ml de PBS estéril.

Se colocó 1 ml del inóculo de *S. mutans* GS5, previamente ajustado a la concentración determinada y se incubó a 37°C por 24 horas en 5% de CO₂. (Fig.15). Con ayuda de una pipeta, se eliminó cuidadosamente el sobrenadante y las bacterias no adheridas al biomaterial, los discos se enjuagaron con 2 ml de PBS estéril, los lavados se realizaron por triplicado. Para la determinación de las bacterias adheridas se colocó 1 ml de medio BHI fresco más 50 µl de solución MTT en cada pozo con los discos y se incubaron por 3 horas en un lugar oscuro a 37°C.

Durante la incubación los sistemas redox microbianos convirtieron la sal amarilla tetrazolio en púrpura formazán (Fig. 16); posteriormente el sobrenadante se eliminó, se lavaron con PBS estéril y los discos se colocaron de forma individual dentro de un pozo en placas estériles de 96 y se les agregó 250 µl de Dimetil Sulfóxido al 10%, para disolver los cristales de formazán (Fig.17) y se incubaron a 37°C en 5% de CO₂ toda la noche. Los controles

negativos de la lectura fueron discos tratados bajo las mismas condiciones sin la adición de inóculo bacteriano (Fig.18). Los sobrenadantes finales de SDS al 10% de los discos controles se tomaron como la solución blanco para hacer las lecturas de los discos experimentales. Para hacer la valoración se tomaron los sobrenadantes de cada disco y se midió la densidad óptica con un espectrofotómetro a una longitud de onda de 570 nm (Fig.19).

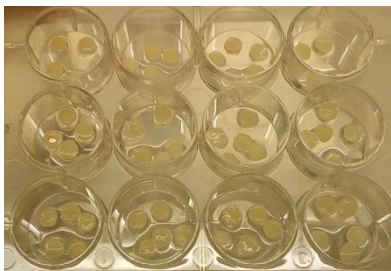


Fig.14 Discos con saliva

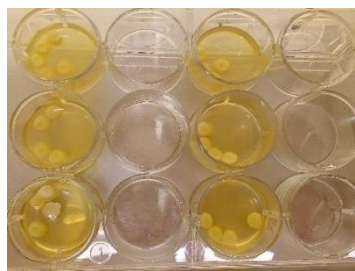


Fig.15 Colocación del inóculo en medio BHI

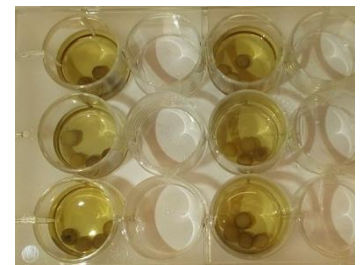


Fig.16 Reducción de la sal amarilla a púrpura formazán

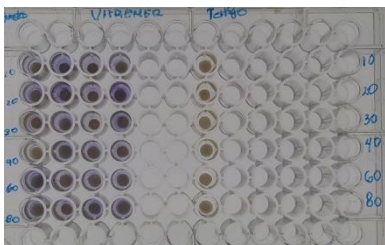


Fig. 17 Cristales de formazán disueltos de cada uno de los discos

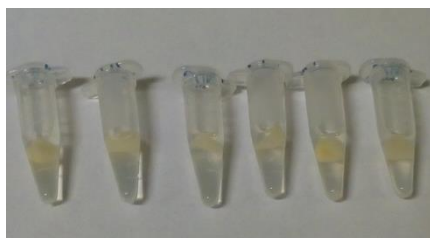


Fig. 18 Controles negativos



Fig. 19 Espectrofotómetro

11.6 CARACTERIZACIÓN DE LOS MATERIALES DENTALES

11.6.1 Microscopio Electrónico de Barrido (MEB)

Seis discos de cada uno de los ionómeros de vidrio (Vitremmer y Ketac N100) fueron fijados en un porta muestras de aluminio con cinta doble cara adhesiva de carbón (SPI Supplies, EUA) y fueron observadas en el Microscopio Electrónico de Barrido (JEOL, JSM-6610 LV) para la caracterización y demostración de la colonización bacteriana de *S. mutans* sobre su superficie. Bajo las siguientes características: al modo de bajo vacío a 10 Pa de presión, voltaje de aceleración a 20 kV a una magnificación de 1000X. Este procedimiento fue realizado por uno de los investigadores participantes en el proyecto.

11.6.2 Microscopía de Fuerza Atómica (MFA)

Se realizó la caracterización de la rugosidad con el Microscopio de Fuerza Atómica (Jeol 5400). Basado en la interacción local entre la punta y la superficie de la muestra, la cual proporcionó imágenes tridimensionales de las superficies de los materiales con alta resolución espacial en tiempo real. Este procedimiento fue realizado por uno de los investigadores participantes en el proyecto.

12. VARIABLES DEL ESTUDIO

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala y categorías
Tiempo de fotopolimerización	Proceso químico por el que los reactivos, monómeros (compuestos de bajo peso molecular) se agrupan químicamente entre sí, dando lugar a una molécula de gran peso, llamada polímero.	Se aplicó a una intensidad promedio de 1,000 Mw/cm ² durante 10, 20, 30, 40, 60 y 80 segundos.	Cuantitativa, por razón, discreta. (10, 20, 30, 40, 60 y 80 segundos).
Colonización de <i>Streptococcus mutans</i>	Se cuantifica por las Unidades Formadoras de Colonias, definido como el número mínimo de células viables en un medio.	Se determinaron las UFC en los discos de Vitremer y Ketac N100 por mm ² , a diferentes tiempos de fotopolimerización.	Cuantitativa por razón discreta (UFC).
Ionómeros de vidrio modificados con resina	Son ionómeros de vidrio que han sido modificados por la inclusión de monómeros de resina y fraguan en parte por una reacción ácido / base y por polimerización fotoquímica.	Se utilizaron los ionómeros de vidrio Vitremer y Ketac N 100.	Nominal, dicotómica, Vitremer y Ketac N100
Flúor	Primer elemento de la familia de los halógenos, es el más reactivo y forma parte de los compuestos denominados fluoruros. Facilita la formación de fluorapatita.	La cantidad de flúor se determinó en partes por millón.	Cuantitativa por razón, continua (ppm).
Rugosidad	Conjunto de irregularidades en una superficie.	Se determinó con el Microscopio Electrónico de Barrido y Microscopio de Fuerza Atómica.	Cualitativa

13. IMPLICACIONES BIOÉTICAS

Esta investigación se realizó conforme a las normas 10650-1 (ISO 2004) y 10650-2 (ISO 2007) que especifican los requisitos y métodos para los activadores de polimerización para uso en clínica en la fotopolimerización de materiales dentales. Esta norma se aplica a las lámparas halógenas de tungsteno de cuarzo y las lámparas emisoras de diodos.

Norma Europea ISO 4049:1988 que establece los requisitos para los materiales restauradores a base de resina que se suministran de una forma adecuada para la mezcla mecánica o manual o para la activación por energía externa, previstas para usarse principalmente en las restauraciones directas de las cavidades dentales. (ANEXO 1)

Conforme a los principios éticos del Consejo de Organizaciones Internacionales de Ciencias Médicas en colaboración con la Organización Mundial de la Salud: CIOMS/OMS (2016); y a parámetros de investigación médica manifestados por la Asociación Médica Mundial (World Medical Association: WMA por sus siglas en inglés), WMA (2017), así como también se apega a la Ley General de Salud en Materia de Investigación. De acuerdo al artículo 13, en el cual prevalecerá el criterio de respeto a la dignidad y protección de los derechos, así como el bienestar del sujeto que aceptó donar su muestra de saliva.

Norma oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002: Las muestras de cultivos en estado líquido fueron desechadas en contenedores amarillos y los sólidos en bolsas de polietileno rojas (residuos biológicos).

14. RESULTADOS

14.1 LIBERACIÓN DE FLÚOR

Se realizó la medición de la liberación de flúor en ambos ionómeros. En las tablas 1 y 2, se muestran los valores que representan las partes por millón (ppm) de flúor liberado por día y correspondientes a cada uno de los tiempos de fotopolimerización. Para ambos ionómeros, se observó mayor liberación el primer día y a un tiempo de fotopolimerización de 10 segundos.

Tabla 1. Liberación de flúor del ionómero de vidrio Vitremer.

LIBERACIÓN DE FLÚOR POR DÍA (Mg/L - ppm)								
TIEMPO (Segundos)	DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4	DÍA 5	DÍA 6	DÍA 7	MEDIA
10	5.74	3.64	2.66	2.33	1.81	1.44	1.29	2.70±1.56
20	4.11	2.32	1.74	1.44	1.15	0.90	0.93	1.80 ±1.13
30	3.56	2.06	1.69	1.34	1.00	0.83	0.76	1.61±0.98
40	3.37	2.04	1.53	1.25	0.97	0.83	0.76	1.54±0.92
60	3.22	2.01	1.49	1.23	0.97	0.79	0.73	1.49±0.88
80	3.06	1.88	1.46	1.16	0.86	0.73	0.69	1.41±0.84
MEDIA	3.84± 0.99	2.32±0.65	1.76±0.45	1.45±0.43	1.12± 0.34	0.92±0.25	0.86±0.22	

Fuente propia

Tabla 2. Liberación de flúor del ionómero de vidrio Ketac N100.

LIBERACIÓN DE FLUORURO POR DÍA (Mg/L - ppm)								
TIEMPO (Segundos)	DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4	DÍA 5	DÍA 6	DÍA 7	MEDIA
10	3.81	2.64	2.21	1.97	1.74	1.39	1.33	2.16±0.86
20	2.75	1.70	1.48	1.27	1.07	0.87	0.89	1.43±0.65
30	2.67	1.73	1.41	1.24	1.07	0.84	0.84	1.40±0.64
40	2.74	2.00	1.51	1.25	0.99	0.83	0.79	1.45±0.71
60	2.56	1.65	1.37	1.15	0.94	0.66	0.70	1.29±0.66
80	2.49	1.74	1.22	1.01	0.81	0.62	0.63	1.22±0.68
MEDIA	2.83± 0.48	1.91± 0.37	1.53±0.34	1.31±0.33	1.10±0.32	0.87±0.27	0.86±0.24	

Fuente propia

Se obtuvo un promedio mayor de partes por millón (ppm) de flúor liberado en Vitremer, se demostró que la liberación de flúor entre los diferentes tiempos de fotopolimerización, fue estadísticamente significativo, con un valor de $p= 0.001$. Asimismo, existe una correlación negativa muy fuerte entre el tiempo de fotopolimerización y la liberación de flúor, a menor tiempo mayor liberación (Tabla 3).

Tabla 3. Estadística descriptiva, asociación y correlación de la liberación de flúor de ambos ionómeros.

MATERIAL	\bar{X} *	$p \leq 0.05$ **	"r" ***
VITREMER	1.75±0.97	0.001	0.99
KETAC N100	1.49±0.64	0.001	0.97

Fuente propia

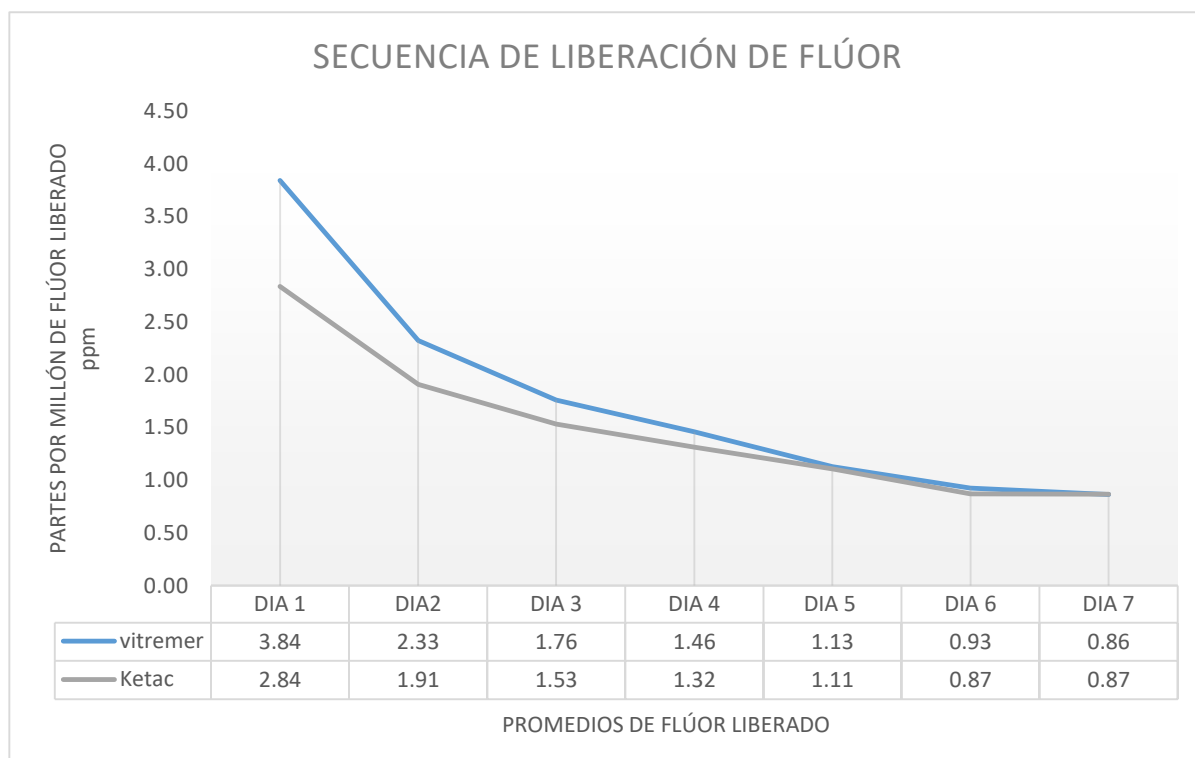
* Estadística descriptiva

** Kruskal Wallis

***Correlación Pearson

Se observó que la liberación de flúor en ambos materiales se comportó de manera descendente continua durante los 7 días.

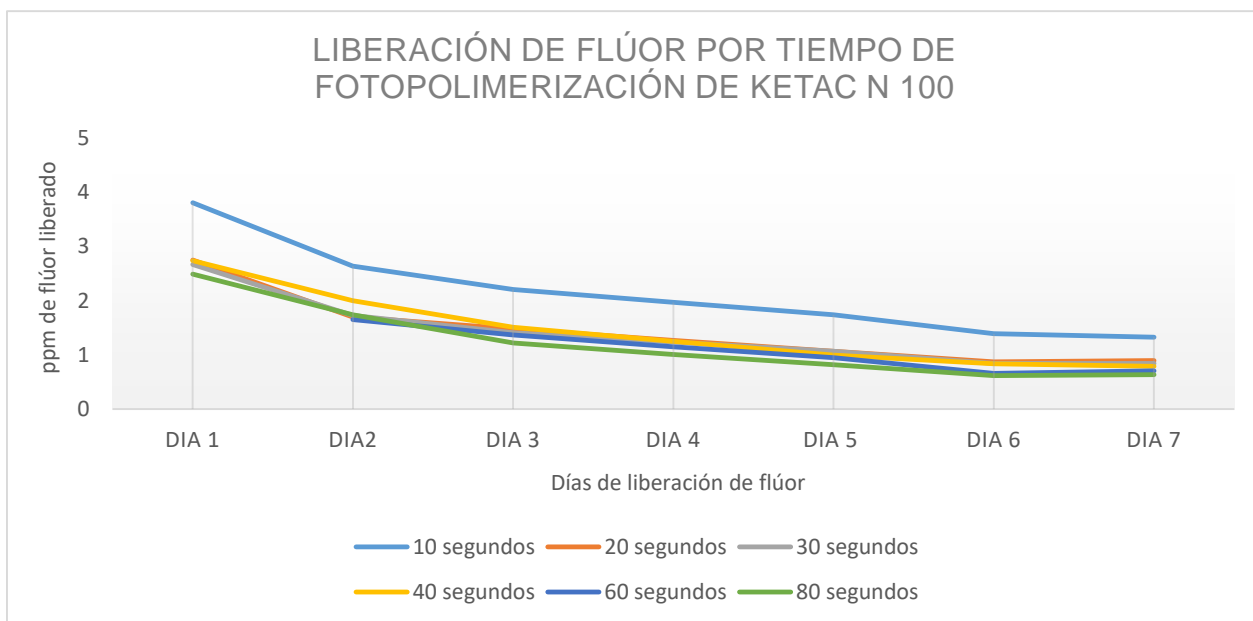
Gráfico 1. Liberación de flúor durante los 7 días en ambos materiales (Vitremmer y Ketac N100).



Fuente propia

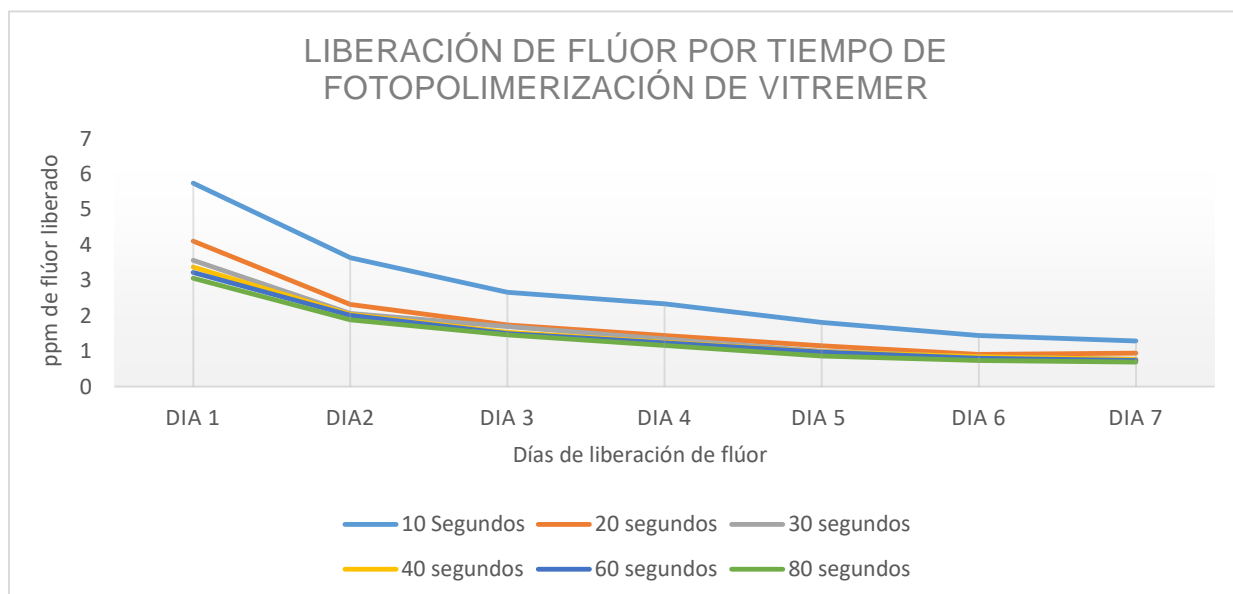
Los gráficos (2 y 3), muestran la liberación de flúor en los diferentes tiempos de fotopolimerización de los ionómeros. Se observó que la mayor liberación sucedió a los 10 segundos y la menor, a los 80 segundos.

Gráfico 2. Comportamiento de la liberación de flúor en los diferentes tiempos de fotopolimerización en el grupo de Ketac N100.



Fuente propia

Gráfico 3. Liberación de flúor por tiempo de fotopolimerización del ionómero de vidrio Vitremer.



Fuente propia

14.2 CURVA DE CALIBRACIÓN, DETERMINACIÓN DE DENSIDADES ÓPTICAS Y COLONIZACIÓN BACTERIANA

En esta etapa del experimento se inició con la realización de una curva de calibración, para lo cual, se elaboró un cultivo bacteriano de *S. mutans* GS5, equivalente a 5×10^6 UFC/ml. A partir de este inóculo se realizaron diluciones, se tomó una muestra de cada dilución, se cultivaron y se contaron las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) con un microscopio estereoscópico (Nikon SMZ800); posteriormente, se tomaron 200 μ l de cada dilución, se les agregó MTT y se incubaron para finalmente leer las densidades ópticas.

De esta manera se obtuvo el parámetro de la cantidad de bacterias a una densidad óptica (Tabla 4). Lo que permitió transpolar las densidades obtenidas de las muestras de ionómeros en los diferentes tiempos de fotopolimerización y la cantidad de bacterias, que son representativas para el clínico. Se observó que, a mayor densidad óptica, mayor cantidad de bacterias.

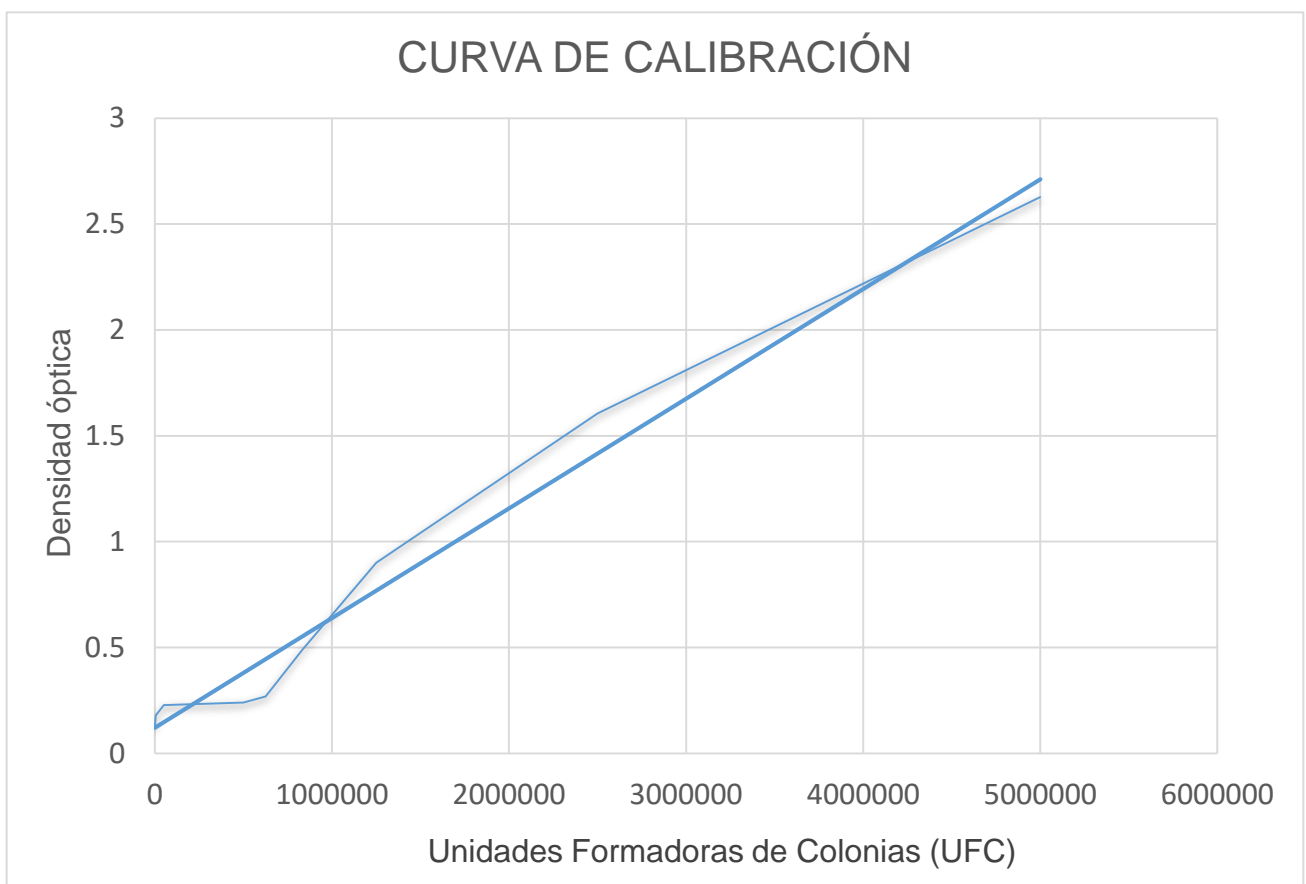
Tabla 4. Se muestran las diluciones, cantidad de bacterias observadas y densidad óptica.

Dilución	Cantidad de bacterias	$\lambda 570$ nm
1	5000000	2.62
1:2	2500000	1.60
1:4	1250000	0.90
1:6	833333	0.49
1:8	625000	0.26
1:10	500000	0.24
1:100	50000	0.22
1:1000	5000	0.17
1:10000	500	0.12

Fuente propia

Se graficaron los datos de la tabla 4 y se obtuvo la curva de calibración que se utilizó para el procedimiento de colonización bacteriana en los discos de ionómero de vidrio (Vitremmer y Ketac N100).

Gráfico 4. Se observa la curva obtenida en relación a las densidades ópticas y la cantidad de bacterias observadas.



Fuente propia

14.3 COLONIZACIÓN BACTERIANA

Los resultados de las tablas 5 y 6, corresponden al promedio de 4 muestras independientes, a las cuales se les leyó la densidad óptica y se transpoló a la curva de calibración para determinar la cantidad bacteriana. La menor cantidad de Unidades Formadoras de Colonias (UFC), se encontró a los 40 segundos para Vitremer y a los 30 segundos para Ketac N100.

Tabla 5. Promedios de las densidades ópticas del grupo de Vitremer.

TIEMPO DE FOTOPOLIMERIZACIÓN (SEGUNDOS)	PROMEDIOS DE LA DENSIDAD ÓPTICA	BACTERIAS ADHERIDAS (60 mm ²)
10	0.506	1.18X10 ⁶
20	0.670	1.56X10 ⁶
30	0.408	9.5X10 ⁵
40	0.355	8.2X10⁵
60	0.480	1.19X10 ⁶
80	0.511	1.2X10 ⁶

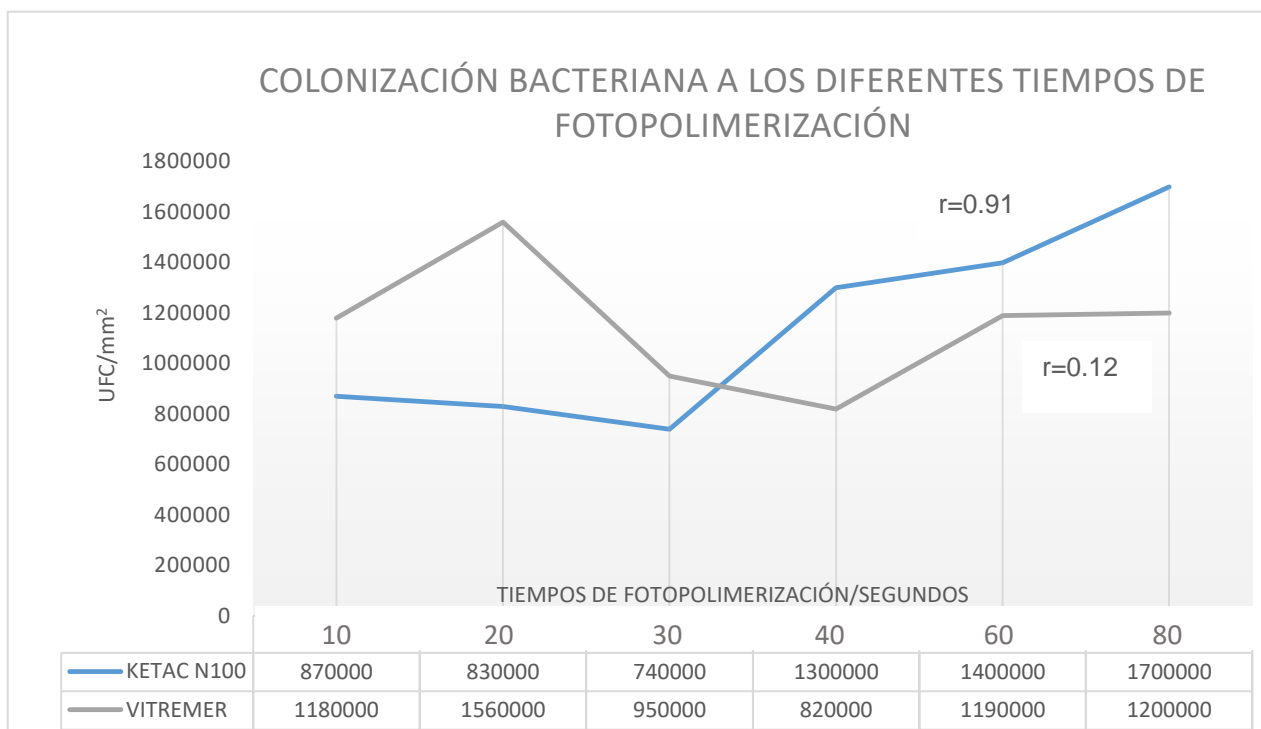
Fuente propia

TIEMPO DE FOTOPOLIMERIZACIÓN (SEGUNDOS)	PROMEDIOS DE LA DENSIDAD ÓPTICA	BACTERIAS ADHERIDAS (60 mm ²)
10	0.374	8.7X10
20	0.360	8.3X10
30	0.321	7.4X10 ⁵
40	0.600	1.3X10 ⁶
60	0.635	1.4X10 ⁶
80	0.754	1.7X10 ⁶

Fuente propia

En el siguiente gráfico, se muestra el comportamiento de la colonización bacteriana en los dos ionómeros de vidrio, en el grupo Vitremer, se observó mayor colonización a los 20 segundos y una menor colonización a los 40 segundos; para el grupo Ketac N100, a mayor tiempo de fotopolimerización, se observó una mayor cantidad de bacterias.

Gráfico 5. Comportamiento de la colonización bacteriana en los ionómeros de vidrio.



Fuente propia

Vitremer presentó la mayor colonización bacteriana, en comparación con Ketac N100, las diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p=0.95$). Se observó una fuerte correlación entre el tiempo de fotopolimerización y la colonización bacteriana para Ketac N100; pero no para Vitremer (tabla 7).

Tabla 7. Estadística descriptiva, asociación y correlación de la colonización bacteriana entre ambos materiales.

MATERIAL	\bar{X} *	$p \leq 0.05$ **	***r*** **
VITREMER	1150000	0.95	0.12
KETAC N100	1140000	0.95	0.91

Fuente propia

*Estadística descriptiva

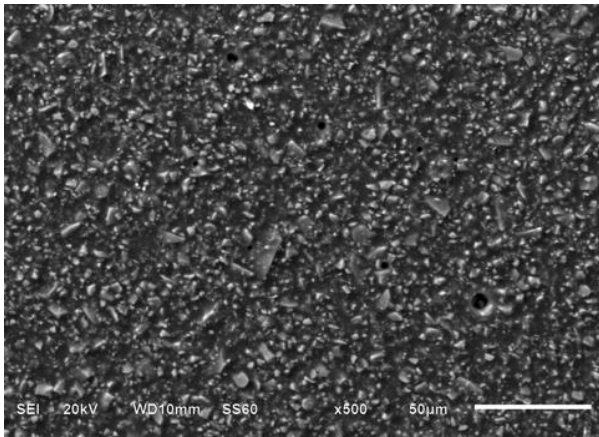
**T de Student para grupos independientes

*** Correlación de Pearson

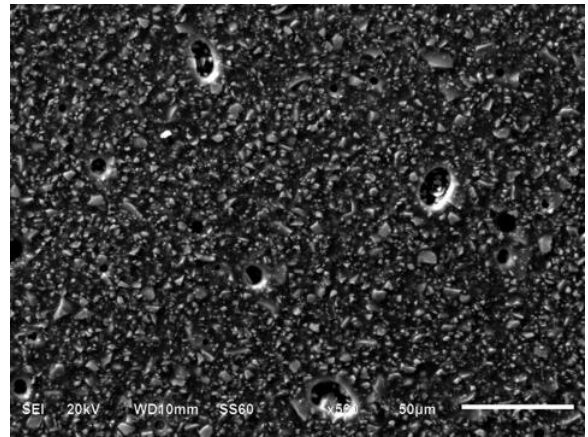
14.4 CARACTERIZACIÓN DE LOS IONÓMEROS DE VIDRIO MEDIANTE MEB Y MFA

Finalmente, se determinó la rugosidad y se realizó la caracterización de los materiales dentales, con el uso del Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) y el Microscopio de Fuerza Atómica (MFA).

Fig. 1 En las micrografías del cemento de ionómero de vidrio (Vitremmer), se observaron partículas de diferentes tamaños, se observó una superficie más rugosa con presencia de poros a los 10 y 20 segundos de fotopolimerización, a partir de los 30 segundos aparecieron microfrazas sobre la superficie del material.



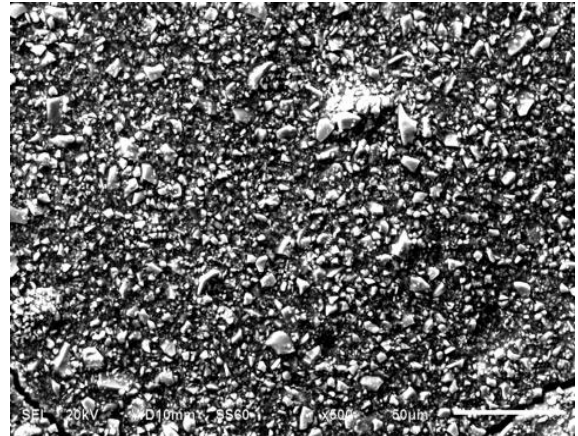
10 s.



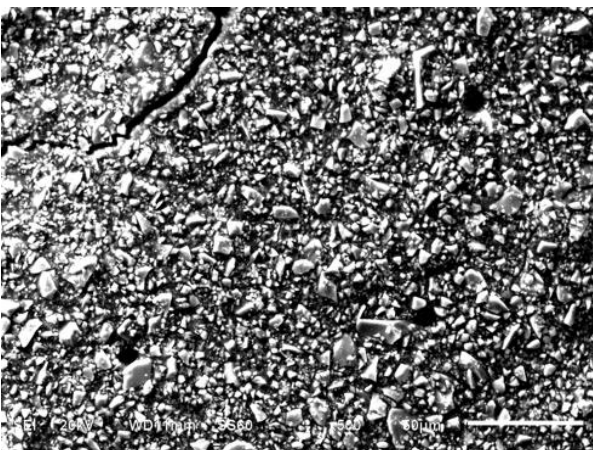
20 s.



30 s.



40 s.

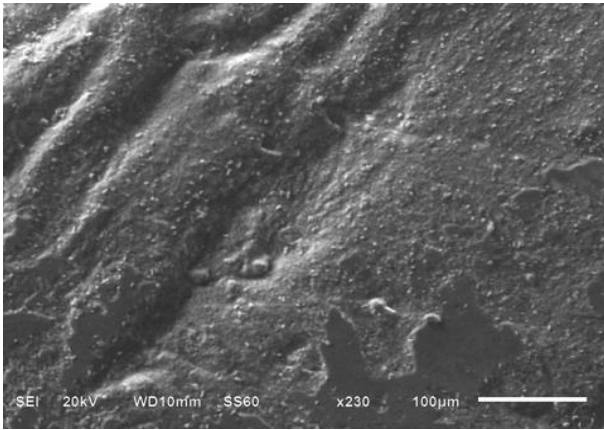


60 s.

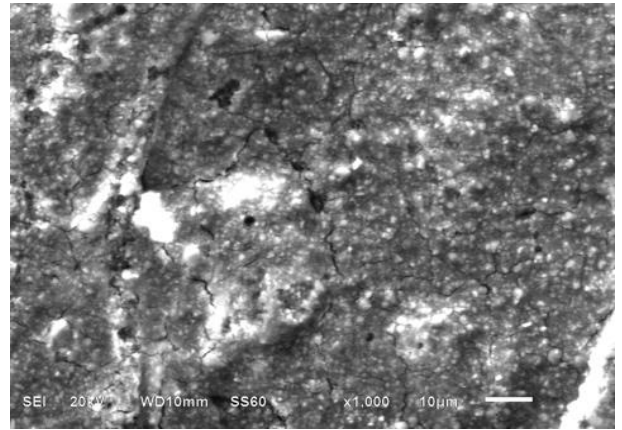


80 s.

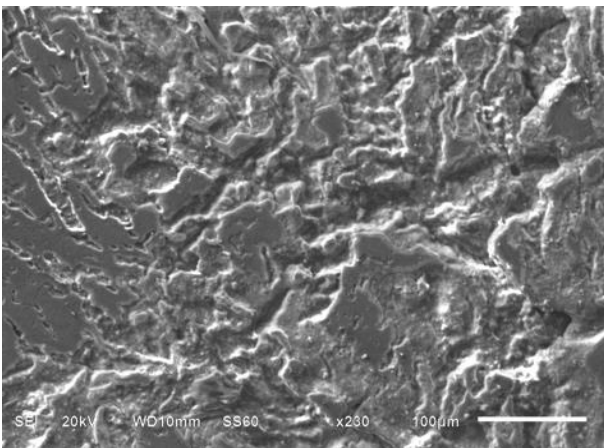
Fig. 2 En las micrografías del cemento de ionómero de vidrio (Ketac N100), se observó una mayor rugosidad y porosidad, así como espacios vacíos a los 20 y 30 segundos, una superficie más compacta con algunas zonas retentivas cuando se aumentó el tiempo de fotopolimerización.



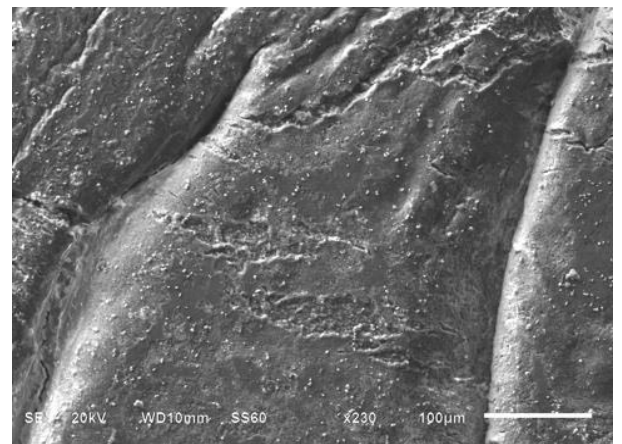
10 s.



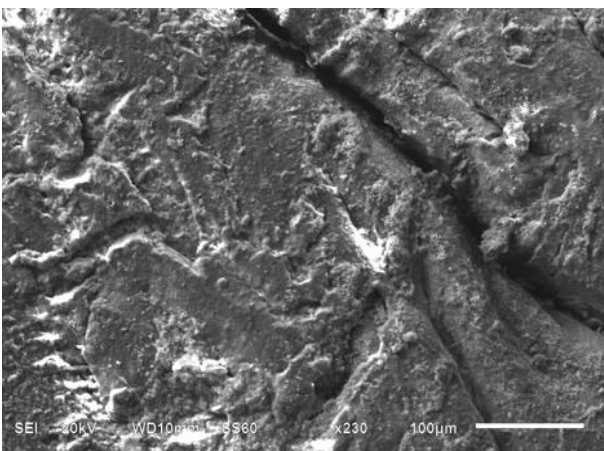
20 s.



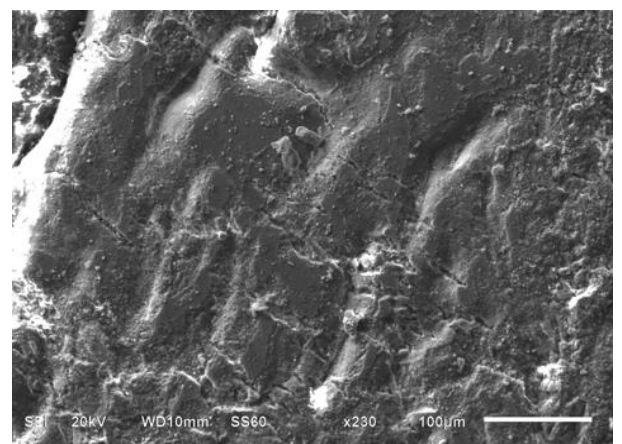
30 s.



40 s.



60 s.



80 s.

Las imágenes en el Microscopio de Fuerza Atómica de los cementos de ionómero de vidrio (Vitremmer y Ketac N100), muestran la topografía atómica de los materiales, la presencia de picos y ondas en las muestras pueden ser zonas de alojamiento para las bacterias.

Fig. 3 Imágenes representativas en Microscopia de Fuerza Atómica de Vitremmer

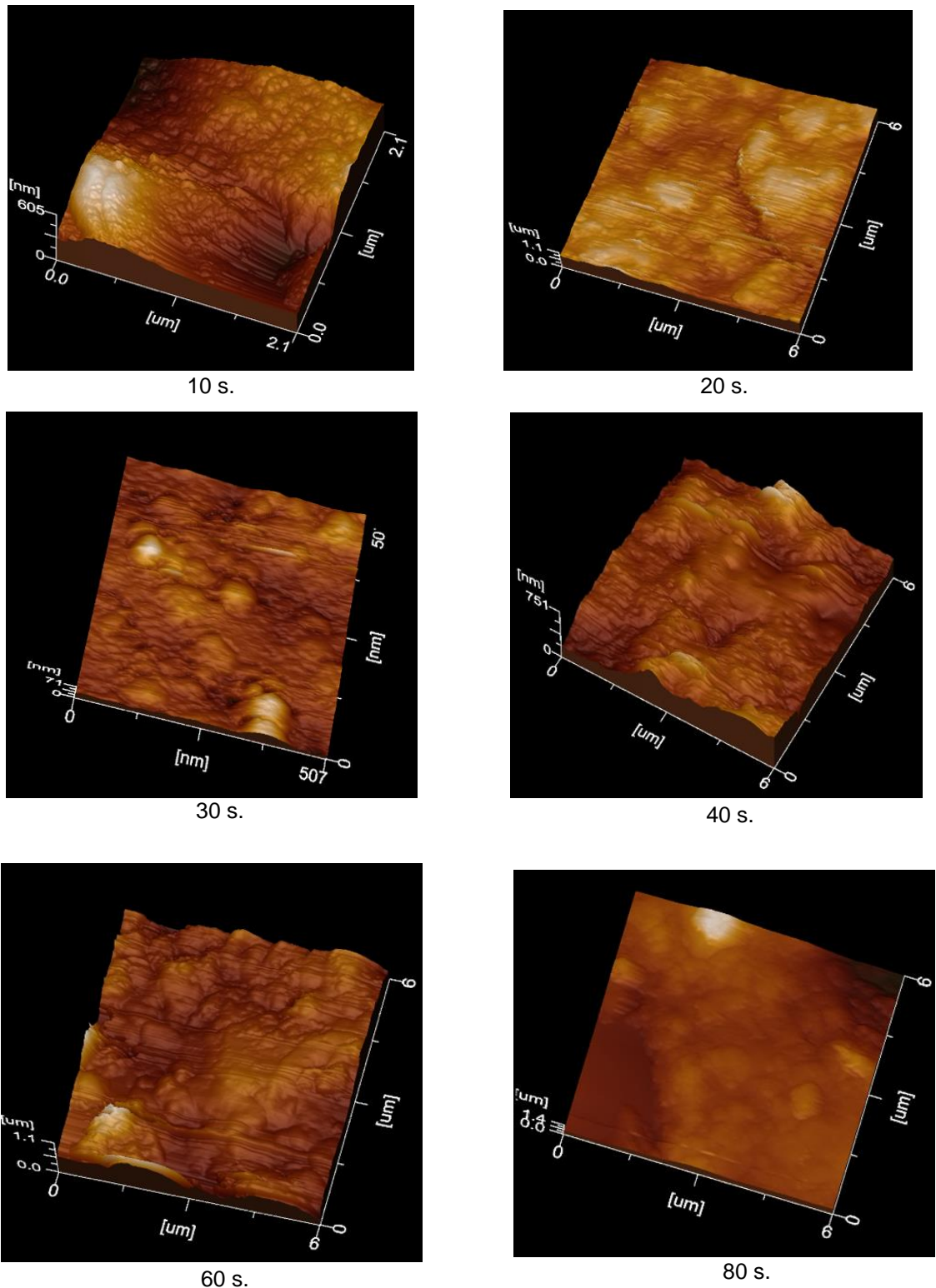
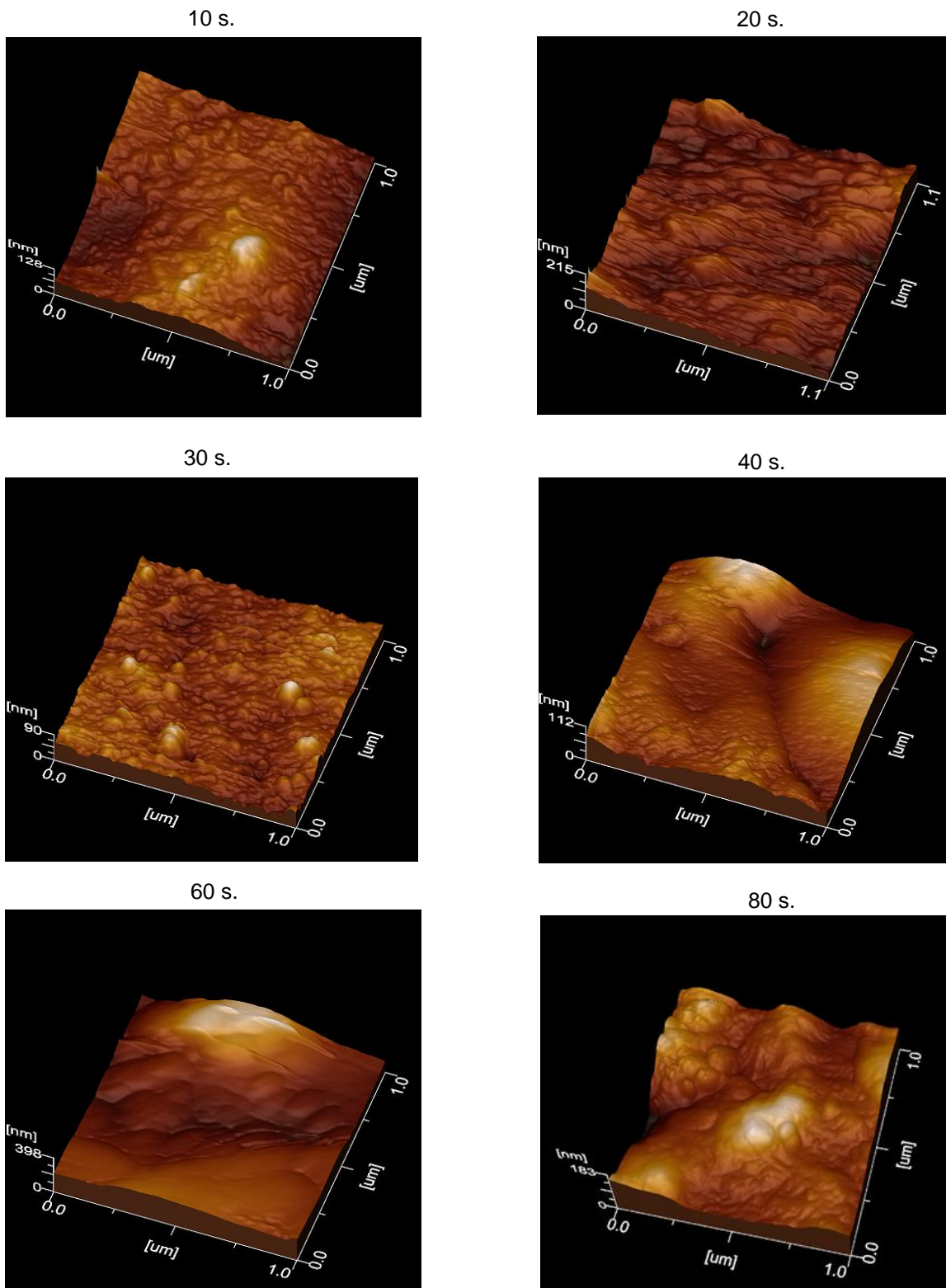


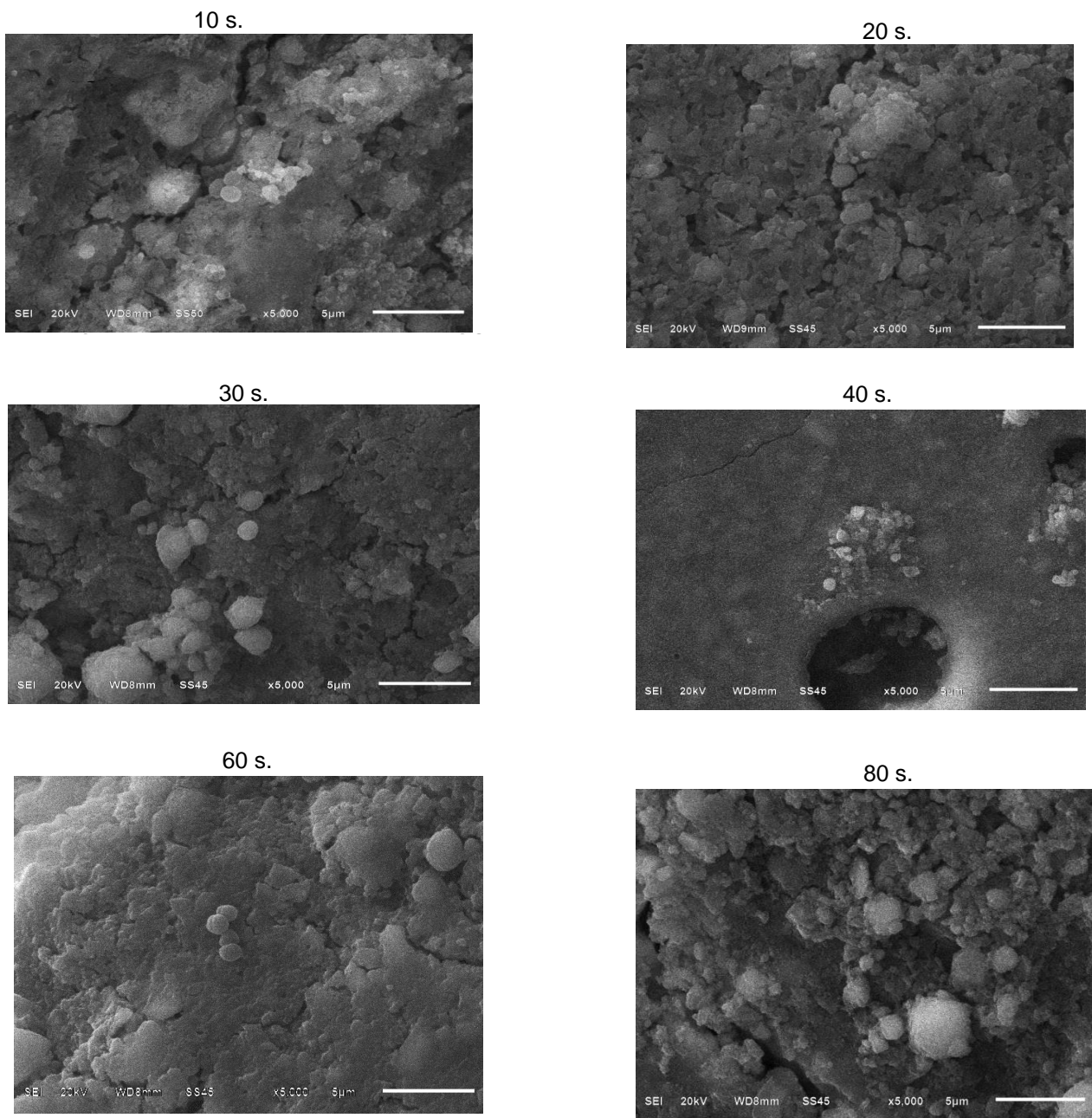
Fig. 4 Imágenes representativas en Microscopia de Fuerza Atómica de Ketac N100



Fuente propia

Se caracterizó la colonización bacteriana de *S. mutans* sobre los ionómeros de vidrio con el MEB (5000X) a los diferentes tiempos de fotopolimerización; se observan las colonias bacterianas de *S. mutans* esparcidas sobre su superficie a los 20 segundos, así como en las zonas vacías a los 40 segundos.

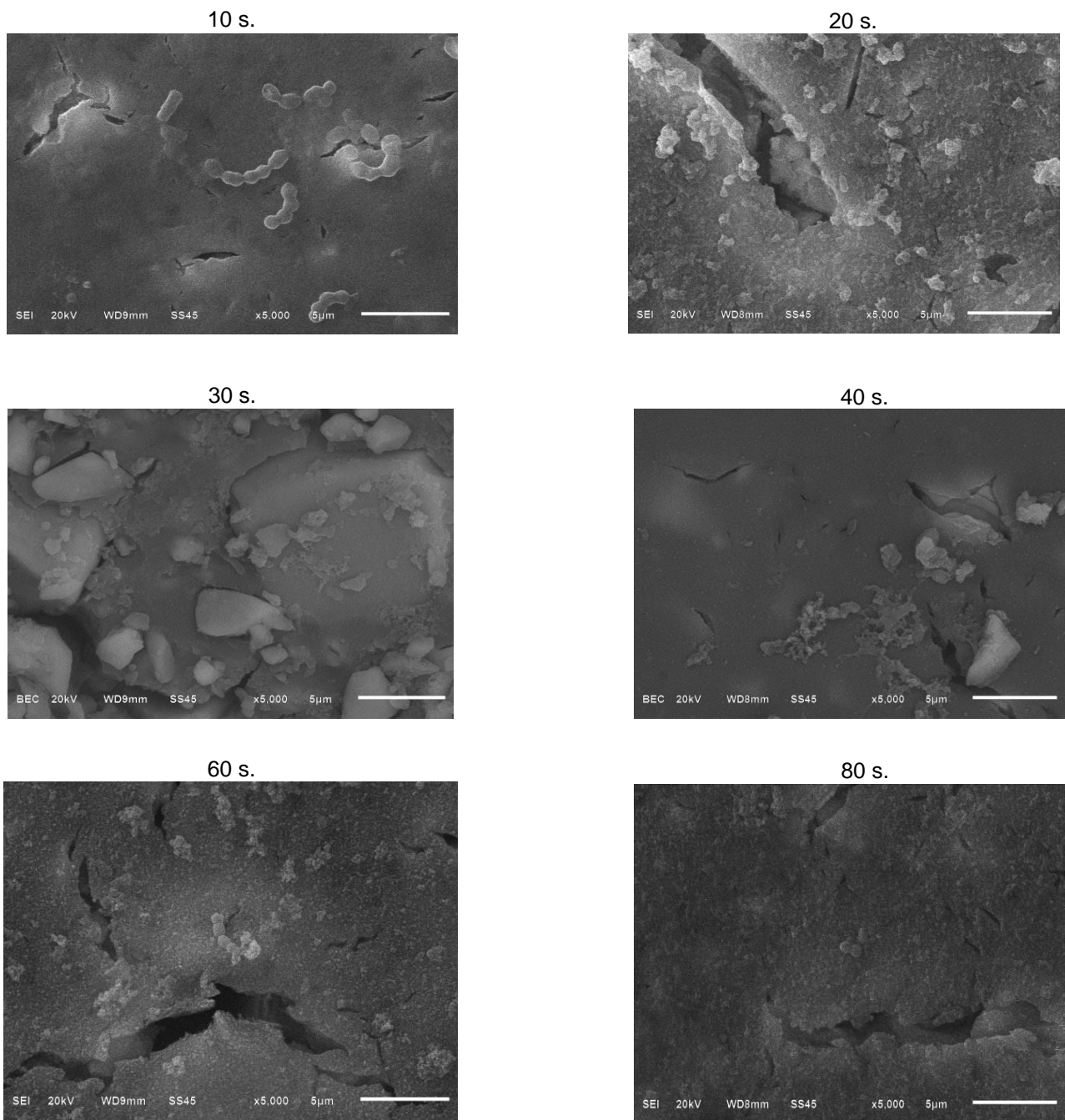
Fig. 5 Micrografías representativas de Microscopia Electrónica de Barrido de Vitremer



Fuente propia

Con respecto a Ketac N100, la mayor colonización bacteriana de *S. mutans* sobre los ionómeros de vidrio con el Microscopio Electrónico de Barrido (5000X) a los diferentes tiempos de fotopolimerización, se observó a los 80 segundos y la menor a los 30 segundos.

Fig. 6 Micrografías representativas de Microscopia Electrónica de Barrido de Ketac N100



Fuente propia

DISCUSIÓN

En esta investigación, el objetivo fue relacionar la influencia en el tiempo de fotopolimerización en dos ionómeros de vidrio modificados con resina en la colonización de *Streptococcus mutans*. La bibliografía reporta diversos estudios realizados en materiales compuestos a base de resina, como los ionómeros de vidrio, que corroboran que existe colonización bacteriana sobre la superficie, Rosentritt *et al.*,²⁹ Chul Lee *et al.*⁵³ y Jalalian *et al.*,⁴⁷ demostraron que las bacterias como *S. mutans* tienen mayor adhesión a los ionómeros de vidrio y materiales resinosos en comparación con materiales como zirconia y cerámica.

En el ionómero de vidrio (Vitremar), existió mayor colonización a un menor tiempo de fotopolimerización, a 20 segundos, esto puede estar relacionado con la presencia de monómeros no polimerizados en la superficie del material. Nalcaci *et al.*,⁵¹ demostraron que existen monómeros eludidos de TEGMA Y Bis GMA después del proceso de fotopolimerización, Khalichi *et al.*,⁴⁸ encontraron que el Dimetacrilato de Trietilenglicol (TEGMA), que es un monómero de resina, modula la expresión de genes reguladores de la transcripción de *S. mutans* y esto a su vez pudo originar la aparición de irregularidades en la superficie como la presencia de poros, zonas vacías y microfracturas que permiten que las bacterias se alojen y estén protegidas del flujo salival y la función masticatoria.^{24,29,30} Esto se contrasta con el estudio realizado por Brambilla *et al.*,⁵¹ quienes estudiaron la colonización de *S. mutans* y encontraron que, a menor tiempo de fotopolimerización, existió mayor colonización; sin embargo, el estudio fue realizado en resinas y no tienen la ventaja de liberar fluoruro como los ionómeros de vidrio.

Por esta razón, factores como el tiempo de fotopolimerizado, intensidad de la fuente de luz; así como, la manipulación del material de acuerdo a las instrucciones dadas por los

fabricantes, son factores determinantes para obtener una buena restauración.⁵⁴ Por lo que se recomienda seguir las instrucciones de fotopolimerización de los fabricantes, que debe ser a 40 segundos en el caso de Vitremer, en el que se observó una superficie más homogénea sin presencia de poros y menor cantidad de bacterias.

Por otro lado, en el grupo de Ketac N100 se observó que, a mayor tiempo de fotopolimerización, mayor colonización de *S. mutans*, esto pudo deberse a las características propias del material: nanoestructuras, partículas de relleno, así como a la disminución en la liberación de flúor conforme aumentó el tiempo de fotopolimerización.⁵⁵

La presencia de los iones de flúor en ambos materiales es muy importante, ya que interfiere en el crecimiento y metabolismo de las bacterias cariogénicas como *Streptococcus mutans*.^{4,5,6} Sin embargo, se encontró que la liberación de flúor disminuyó gradualmente en relación al tiempo para Ketac N 100 y Vitremer, lo cual concuerda con numerosos estudios reportados por Klan *et al.*,⁵⁶ Prabakar *et al.*,⁶ Dionysopoulos *et al.*,¹⁹ que estudiaron la liberación de flúor de manera *in vitro*, medida con un electrodo selectivo para ion flúor como se realizó en la presente investigación.

Klan, sostuvo que la alta concentración observada en el primer día se conoce como “el efecto de estallido del flúor”. En este caso se observó para ambos ionómeros de vidrio utilizados; Vitremer tuvo un mayor “efecto de estallido” a diferencia del ionómero de vidrio Ketac N100. De acuerdo a lo reportado por ambos productos, la liberación de flúor mejora conforme pasan los días, siempre y cuando éstos sean recargados, sin embargo, en el presente trabajo se observó que la liberación de flúor para ambos se comportó de manera descendente continua.

Por lo tanto, es importante recomendar a los pacientes con restauraciones de ionómero de vidrio, el uso de pastas y enjuagues fluorados ya que estos materiales tienen la propiedad de recargarse y de esta manera se puede lograr la saturación del medio bucal con flúor y prevenir la aparición de lesiones cariosas.^{4,5}

En esta investigación se decidió usar materiales como los ionómeros de vidrio (Vitremer y Ketac N100), debido a que son muy utilizados en odontopediatría, tienen la ventaja de ser importantes materiales de restauración para uso en preescolares, niños y adolescentes.⁵⁷ Por sus propiedades de biocompatibilidad, adherencia a la estructura dental, liberación de iones de flúor para su absorción en el esmalte y la dentina y sus propiedades estéticas, son considerados como buenas alternativas a la amalgama y otro tipo de restauraciones antiguamente utilizadas en la odontología infantil.^{57,58}

Con respecto al experimento, para evitar una disminución de la intensidad de la luz desde la superficie hacia la profundidad del ionómero de vidrio,³⁹ se realizó de acuerdo a la norma ISO 4049 (Materiales restaurativos a base de polímeros)⁵⁹. En la que especifica que los incrementos del material no deben ser menores a 2mm, por lo que las muestras empleadas se conformaron de 2 mm de profundidad para la polimerización efectiva de los compuestos de resina.

En la actualidad en la práctica clínica, la mayoría de los materiales disponibles en el mercado, han hecho hincapié en la necesidad de aplicar al menos 20 segundos de fotopolimerización; pero lo más probable es que una fotopolimerización de 40 segundos minimice la cantidad de monómeros no fotopolimerizados.⁶⁰ Sin embargo Polidorou *et al.*,⁶¹ demostraron que 40 segundos de fotopolimerización parecen insuficientes para evitar una

alta liberación de monómeros, por lo que en esta investigación se decidió agregar hasta 80 segundos para evaluar las características de los ionómeros de vidrio.

Se recolectó saliva total estimulada con parafina, con el propósito de promover la formación de película adquirida y crear las condiciones más cercanas de manera *in vitro* a lo que ocurre con los ionómeros de vidrio en un ambiente bucal natural.^{51,46,62}

Para evaluar el metabolismo bacteriano, se han utilizado en otros estudios, cristal violeta, Ensayo Azul de Alamar, Ensayo XTT, el ensayo de MTT, que son indicadores colorimétricos de la colonización bacteriana; en este estudio se utilizó MTT que demostró que existe actividad metabólica de las bacterias sobre la superficie de los ionómeros de vidrio.^{29,51,62} Sin embargo, estudios que han realizado la comparación de estos ensayos colorimétricos, mediante la determinación de colonización bacteriana, han demostrado una significativa diferencia en el resultado de fluorescencia; además, únicamente muestran el metabolismo mediante la reducción de una sal amarilla a púrpura formazán, pero no emiten un parámetro de cuántas bacterias se encuentran adheridas⁶³; por lo que se optó por realizar la curva de calibración, que estableció las UFC de *S. mutans* para ambos materiales.

La rugosidad varió de acuerdo al tiempo de fotopolimerización, esto pudo deberse al tamaño de la partícula que presentan ambos materiales; así como, a una inadecuada polimerización de las partículas de los materiales, que pudo dar como resultado una superficie alterada y retentiva que promovió la colonización bacteriana³¹, como se muestra en la caracterización con el uso del Microscopio Electrónico de Barrido y el Microscopio de Fuerza Atómica. Se observó mayor rugosidad cuando el tiempo de fotopolimerización fue menor, para ambos materiales; además se comprobó la presencia de colonias de *S. mutans*, las cuales fueron

más evidentes en el grupo de Ketac N100 que es un material que mostró mayores irregularidades en su superficie.

Autores han reportado que la rugosidad superficial de los materiales es el resultado de las interacciones de muchos factores asociados con tipo, tamaño y distribución de partículas, grado de polimerización, así como el eficiente contacto entre las partículas y la matriz.⁶⁴

Estudios *in vivo* sugieren que un aumento de la rugosidad por arriba de 0.2 μm da como resultado un incremento en la acumulación de placa dentobacteriana y por consiguiente mayor cantidad de bacterias.⁶⁵ Se comprobó en el presente estudio con Microscopia de Fuerza Atómica, zonas irregulares como picos y ondas, que son áreas en escala atómica, que podrían ser medidas para contrastarlas con la cantidad de bacterias adheridas.

Por lo que dicha información podría ser extrapolada al área clínica para dar la recomendación de realizar un pulido para lograr una superficie más homogénea y evitar de esta manera la retención de bacterias.

CONCLUSIONES

- Existe colonización bacteriana de *S. mutans* en los ionómeros de vidrio Vitremer y Ketac N100.
- La liberación de flúor en ambos materiales de ionómero de vidrio disminuyó con el tiempo, la mayor liberación fue a los 10 segundos de fotopolimerización.
- Vitremer presentó una superficie más rugosa a los 10 y 20 segundos y Ketac N100 a los 20 y 30 segundos.

ALCANCES DEL ESTUDIO

- Evaluar la recarga de flúor en los diferentes ionómeros de vidrio con el uso de diferentes pastas dentales y enjuagues bucales.
- Evaluar la adhesión de *S. mutans* con diferentes sistemas de pulido a los 40 segundos para Vitremer y a los 30 segundos para Ketac N100.
- Modificar el ionómero de vidrio con nanoestructuras para mejorar las propiedades bactericidas, físicas y mecánicas.

ANEXO 1

Para los efectos de esta norma internacional, los materiales restauradores dentales a base de resina se clasifican como se establece a continuación:

Clase A: Materiales que son recomendados por el fabricante como apropiados para la restauración de cavidades que afectan las superficies oclusales.

Clase B: Todos los demás materiales.

Tipo 1: Materiales polimerizados químicamente, en los que el fraguado se efectúa a través de la mezcla de un iniciador y un activador.

Tipo 2: Materiales activados por energía externa, aquéllos materiales en los que el fraguado se efectúa a través de la aplicación de una energía, tal como la luz azul.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Wilson D, Kent B. The Glass-Ionomer Cement, a New Translucent Dental Filling Material. *J. Appl. Chem. Biotechnol.*1971;21(11):313.
- ² Freire W, Fook M, Barbosa E, Araùjo C, Barbosa R, Sousa W. Glass ionomer cement- development and characterization microstructural. *2015;805(7):12-18.*
- ³ Nicholson J. Adhesion of glass ionomer-cements to teeth: A review. *Int. J. Adhes. Adhes.*2016;69(1):33-38.
- ⁴ Brandao C, Mohana A, Hesse D, Lenzi T, Bonini G, Raggio D. Influence of ultrasound or halogen light on microleakage and hardness of enamel adjacent to glass ionomer cement. *Int J Paediatr Dent.*2012;22(2):110-115.
- ⁵ Mickenautsch S, Mount G, Yengopal V. Therapeutic effect of glass-ionomers: an overview of evidence. *Aust Dent J.*2011;56(1):10-15.
- ⁶ Prabhakar A, Prahlad D, Kumar S. Antibacterial Activity, fluoride release and Physical Properties of an Antibiotic-modified Glass ionomer Cement. *Pediatr Dent.*2013;35(5):411-415.
- ⁷ Sharanbir S, Nicholson J. A Review of Glass-Ionomer Cements for Clinical Dentistry. *J. Funct. Biomater.*2016;7(3):1-15.
- ⁸ Kupietzky A, Van Duinen R. Report on the clinical technique of thermo-curing glass ionomer sealant. *Quintessence Int.*2015;46(8):699-705.
- ⁹ Gao W, Smales R, Yip H. Demineralisation and remineralisation of dentine caries, and the role of glass ionomer cement. *Int. Dent J.*2000;50(1):51-56.
- ¹⁰ Sharanbir S, Sherriff M, Watson T. In vivo changes in roughness of resin-modified glass ionomer materials. *Dent Mater.*1997;13(3):208-213.
- ¹¹ Sidhu S. Glass-ionomer cement restorative materials: a sticky subject? *Aust Dent J.*2011;56(1):23-30.
- ¹² Mc Lean J. Evolution of Glass-Ionomer Cements: A personal View. *J Esthet Restor Dent.*1994;6(5):195-206.
- ¹³ Low T. The treatment of hypersensitive cervical abrasion cavities using ASPA cement. *J Oral Rehabil.*1981;8(1):81-89.

-
- ¹⁴ Nagaraja U, Kishore G. Glass Ionomer Cement – The Different Generations. Trends Biomater. Artif. Organs.2005;18(2):158-165.
- ¹⁵ Wilson A, Mc Lean J. The clinical development of the glass-ionomer cements. 1. Formulations and properties. Aust Dent J.1977;22(1):31-36.
- ¹⁶ Smales R, Joyce K. Finished surface texture, abrasion resistance, and porosity of Aspa glass-ionomer cement. J Prosthet Dent.1987;40(5):549-553.
- ¹⁷ Murthy S, Murthy G. Comparative Evaluation of Shear Bond Strength of Three Commercially Available Glass Ionomer Cements in Primary Teeth. J Int Oral Health.2015;7(8):103-107.
- ¹⁸ Berg J, Farrell, Brown. Class II glass ionomer/silver cermet restorations and their effect on interproximal growth of mutans streptococci. Pediatr Dent.1990;12(1):20-23.
- ¹⁹ Dionysopoulos P, Kotsanos N, Papadogiannis Y, Konstantinidis A. Artificial caries formation around fluoride-releasing restorations in roots. J Oral Rehabil.1998;25(11):814-820.
- ²⁰ Ngo H, Mount G, Intyre J, Tuisuva J, Doussa R. Chemical exchange between glass ionomer- restorations and residual carious dentine in permanent molars: An *in vivo* study. J Dent.2006;34(8):608-613.
- ²¹ Nagaraja P, Kishore G. Glass Ionomer Cement–The Different Generations. Trends Biomater Artif Organs.2005;18(2):158-165.
- ²² Burrow M, Tyas M. Adhesive restorative materials: A review. Aust Dent J.2004;49(3):112-121.
- ²³ Mount G, Makinson O. Resin modified glass-ionomers: Strength, cure depth and translucency. Aust Dent J.2002;47(4):339-343.
- ²⁴ Leprince J, Palin W, Hadis M, Devaux J, Leloup G. Progress in dimethacrylate-based dental composite technology and curing efficiency. Dent Mater.2013;29(2):139-156.
- ²⁵ Daronch M, Rueggeberg F, De Goes M. Monomer conversion of pre-heated composite. J Dent Res. 2005;84(7):663-667.
- ²⁶ Sharanbir S, Nicholson J. A Review of Glass-Ionomer Cements for Clinical Dentistry. J. Funct. Biomater.2016;7(3):1-15.

-
- ²⁷ Dursun E, Nguyen J, Tang M, Attal J, Sadoun M. HEMA release and degree of conversion from a resin-modified glass ionomer cement after various delays of light activation. *Dent Mater.*2016;32(5):640-645.
- ²⁸ Santic A, Calogovic M, Pavic L, Gladic J, Vucic Z, Lovric D, et al. New Insights into the Setting Processes of Glass Ionomer Cements from Analysis of Dielectric Properties. *J. Am. Ceram. Soc.* 2015;98(12).
- ²⁹ Rosentritt M, Hahnel S, Gröger G, Mühlfriedel B, Bürgers R, Handel G. Adhesion of *Streptococcus mutans* to Various Dental Materials in a Laminar Flow Chamber System. *J Biomed Mater Res.*2008;86(1):36-44.
- ³⁰ Randolph L, Palin W, Bebelman S, Devaux J, Gallez B, Leloup G, et al. Ultra fast light curing resin composite with increased conversion and reduced monomer elution. *Dent Mater.*2014;30(5):594-604.
- ³¹ Carvalho F, Ferreira R, Silveira R, Barros C, Moreira A, Magalhaes C. Surface Roughness, Microhardness, and Microleakage of a Silorane-Based Composite Resin after Immediate or Delayed Finishing/Polishing. *Int J Dent.*2016(1):1-8.
- ³² Hamama H, Burow M, Yiu C. Effect of dentine conditioning on adhesion of resin-modified glass ionomer adhesives. *Aust Dent J.*2014;59(2):193-200.
- ³³ De Moor R, Delmè K. Laser-assisted Cavity Preparation and Adhesion to Erbium-lased Tooth Structure: Part 2. Present-day Adhesion to Erbium-lased Tooth Structure in Permanent Teeth. *J Adhes Dent.* 2010;12(2):91-102.
- ³⁴ Sezinando A, Serrano M, Morales V, García R, Ceballos L, Perdigo J. Chemical Adhesion of Polyalkenoate-based Adhesives to Hydroxyapatite. *J Adhes Dent.*2016;18(3):257-265.
- ³⁵ Wang L, Sakai V, Kawai E, Buzalaf M, Atta M. Effect of adhesive systems associated with resin-modified glass ionomer cements. *J Oral Rehabil.* 2006;33(2):110-116.
- ³⁶ Shafiei F, Akbarian S, Etminan M. Effect of Adhesive Pretreatments on Marginal Sealing of Aged Nano-ionomer Restorations. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospect.* 2015; 9(3):144-150.
- ³⁷ Matošević D, Pandurić V, Janković B, Knežević A, Klarić E, Tarle Z. Light Intensity of Curing Units in Dental Offices in Zagreb, Croatia. *Acta Stomatol Croat.* 2011;45(1):31-40.
- ³⁸ Burcak S, Gulsahi K, Arman A, Arikan S, Arhun N, Sargon M. Effect of LED Curing on Marginal Integrity of an Ormocer-based Sealant. *J Dent Child.*2009;76(1):53-57.

-
- ³⁹ Krämer N, Lohbauer U, García F, Frankenberger R. Light curing of resin-based composites in the LED era. *Am J Dent.*2008;21(3):135-142.
- ⁴⁰ Park SH, Krejci I, Lutz F. Microhardness of Resin Composites Polymerized by Plasma Arc or Conventional Visible Light Curing. *Oper Dent.* 2002;27(1):30-37.
- ⁴¹ Lacalle M, Belan L, Belan S, Martis K, Ramos P, Youssef M. Argon ion laser curing depth effect on a composite resin. *Lasers Med Sci.*2011;26(4):421-425.
- ⁴² Armellin E, Bovesecchi G, P. Coppa, G. Pasquantonio, L. Cerroni. LED Curing Lights and Temperature Changes in Different Tooth Sites.2016;6(1):1-10.
- ⁴³ Leonard D, Charlton D, Roberts H, Cohen M. Polymerization efficiency of LED curing lights. *J Esthet Restor Dent.*2002;4(5):286-295.
- ⁴⁴ Rahiotis C, Patsouri K, Silikas N, Kakaboura A. Curing efficiency of high intensity light emitting diode (LED) devices. *J Oral Sci.*2010;52(2):187-195.
- ⁴⁵ Spatafora G, Corbett J, Cornacchione L, Daly W, Galan D, Wysota M, et al. Interactions of the Metalloregulatory Protein SloR from *Streptococcus mutans* with Its Metal Ion Effectors and DNA Binding Site. *J Bacteriol.*2015;197(22):3601-3615.
- ⁴⁶ Jalalian E, Mofrad G, Ahmadpour S. Adhesion of *Streptococcus Mutans* to Glass Ionomer, BisCem Cement and Enamel: An in Vitro Study. *J Dent Tehran.*2015;12(9):678-685.
- ⁴⁷ Busscher H, Rinastiti M, Siswomihardjo W, van der Mei H. Biofilm Formation on Dental Restorative and Implant Materials. *J Dent Res.*2010;89(7):657-665. 2010.
- ⁴⁸ Friedl K, Schmalz G, Hiller K, Shams M. Resin modified glass ionomer cements: fluoride release and influence on *Streptococcus mutans* growth. *Eur J Oral Sci.*1997;105(1):81-85.
- ⁴⁹ Montanaro L, Campoccia D, Rizzi S, Donati M, Breschi L, Prati C, et al. Evaluation of bacterial adhesion of *Streptococcus mutans* on dental restorative materials. *Biomaterial.*2004;25(8):4457-4463.
- ⁵⁰ Nalcaci A, Ulosoy N, Atakol O. Time based elution of TEGDMA and BisGMA from resin composite cured with LED, QTH and high intensity QTH lights. *Oper Dent.*2006;31(2):197-203.
- ⁵¹ Brambilla E, Gagliani M, Ionescu A, Fadini L, García G. The influence of light-curing time on the bacterial colonization of resin composite surfaces. *Dent Mat.*2009;25(9):1067-1072.
- ⁵² Chul Lee B, Yong Jung J, Kim D, Suk Han. Initial bacterial adhesion on resin, titanium and zirconia *in vitro*. *J Adv Prosthodont.*2011;3(2):81-84.

-
- ⁵³ Hahnel S, Mühlbauer G, Hoffmann J, Ionescu A, Bürgers R, Rosentritt M, Handel G, Häberlein I. Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus biofilm formation and metabolic activity on dental materials. Acta Odontol Scand. 2012;70(2):114-121.
- ⁵⁴ Sideridou I, Achilias D. Elution study of unreacted Bis-GMA, TEGDMA, UDMA, and Bis-EMA from light-cured dental resins and resin composites using HPLC. J Biomed Mater Res Part B, Appl Biomater. 2005;74(1):617-626.
- ⁵⁵ Nandana K, Sankar J, Manoj M, Naveen K, Pranitha K, Manjula B. Comparative evaluation of microleakage using three variables of glass-ionomer cement in primary and permanent teeth: An *in vitro* study. J Interdiscip Dentistry.2017;6(3):110-115.
- ⁵⁶ Klan M, Sinclér C, Fernandes J, Petromilli P, Guenka R. Influence of 0.05% sodium fluoride solutions on microhardness of resin-modified glass ionomer cements. J Mater Sci: Mater Med.2006;17(9):869-873.
- ⁵⁷ Croll T, Nicholson. Glass ionomer cements in pediatric dentistry: review of the literature.Pediatr Dent.2002;24(5):423-429.
- ⁵⁸ Da silva R, Cilense A, Palomari D, Alvares J. Antibacterial activity of four glass ionomer cements used in atraumatic restorative treatment. J Mater Sci: Mater Med.2007;18(9):1859-1862.
- ⁵⁹ ISO 4049:2000. Dentistry -- Polymer-based filling, restorative and luting materials. Third edition. 2000.
- ⁶⁰ Randolph L, Palin W, Bebelman S, Devaux J, Gallez B, Leloup G, et al. Ultra-fast light curing resin composite with increased conversion and reduced monomer elution.Dent Mater.2014;30(5):594-604.
- ⁶¹ Polydorou O, Trittler R, Hellwig E, Kümmerer K, Elution of monomers from two conventional dental composite materials.Dent Mater.2007;23(12):1535-1541.
- ⁶² Kim H, Yeo I, Lee J, Kim S, Kim D, Han J. Initial *in vitro* bacterial adhesion on dental restorative materials. Int J Artif Organs.2012;35(10):773-779.
- ⁶³ Hanning C, Follo M, Hellwig, Al-Ahmad A. Visualization of adherent micro-organisms using different techniques. J Med Microbiol.2010;59(1):1-7.
- ⁶⁴ Tabakman M, Nuñez D, Benitez A, Filho P. Evaluación *in vitro* de la rugosidad superficial y la alteración de color de dos tipos de ionómero de vidrio, luego de ser sometidos a diferentes bebidas.Rev. odontopediatr. latinoam.2017;7(2):1-5.

⁶⁵ Bollen C, Lambrechts, Quyrinen M. Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: A review of the literatura. *Dent Mater.* 1997;13(4):258-269.