



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Medicina
Especialidad en Odontopediatría

“Análisis comparativo de la capacidad antibacteriana de 3 barnices fluorados”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Diploma de la
Especialidad en Odontopediatría

Presenta:

L.O. Monserrat Serrano Bautista

Dirigido por:

Dr. en C. Claudia Verónica Cabeza Cabrera

Dr. en C. Claudia Verónica Cabeza Cabrera.
Presidente

Dr. Guillermo Ortiz Villagómez.
Secretario

Mtra. Mónica Larisa Ortiz Villagómez.
Vocal

Dr. Héctor Mancilla Herrera.
Suplente

Dr. Rubén Abraham Domínguez Pérez.
Suplente

Centro Universitario,
Querétaro, Qro. Febrero 2024
México.

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.

Resumen

Introducción: La caries dental es una enfermedad multifactorial y uno de los factores responsables de la caries es la microbiota bucal, se ha observado que los *Streptococcus mutans* están más estrechamente asociados con el desarrollo de la caries dental. La utilización de fluoruros ha sido considerada la principal razón para la reducción de caries durante los últimos 20 o 30 años. El efecto preventivo del flúor ocurre básicamente por su mantenimiento en niveles bajos y constantes del barniz de flúor en la cavidad bucal, interfiriendo con los eventos de desmineralización y remineralización a que están sujetos tanto el esmalte como la dentina. Teniendo conocimiento sobre la dinámica de la caries, la desmineralización y los ciclos de remineralización, conlleva a la introducción de nuevos materiales como el complejo ACP-CPP: Fosfato de calcio amorfo de fosfopéptido de caseína (RECALDENT) y el fosfato tricálcico.

Objetivo: Determinar que barniz de flúor Duraphat®, Clinpro™ o Mi varnish® produce un mayor halo de inhibición de *Streptococcus mutans*. **Material y métodos:** Estudio experimental *in vitro*, el universo conformado por 10 cajas Petri con agar infusión cerebro corazón inoculadas con *Streptococcus mutans* y discos impregnados con los diferentes barnices de flúor, 1 grupo control positivo (NaClO) y uno negativo (H₂O). El análisis estadístico utilizado fue la prueba Kruskal – Wallis con su respectiva prueba *Pos hoc* de Dunn. **Resultados:** No se encontró diferencia estadísticamente significativa en la inhibición bacteriana del barniz de flúor Mi varnish® en comparación al grupo control positivo hipoclorito de sodio (NaClO) y se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los barnices de flúor Mi varnish® y Duraphat®.

Conclusiones: El barniz de flúor Mi varnish® actúa de manera similar al hipoclorito de sodio (NaClO) en la inhibición de cepas bacterianas de *Streptococcus mutans*.

(Palabras clave: caries dental, *Sreptococcus mutans*, barniz de flúor)

Summary

Introduction: Dental caries is a multifactorial disease and one of the factors responsible for caries is the oral microbiota, it has been observed that *Streptococcus mutans* are more closely associated with the development of dental caries. The use of fluorides has been considered the main reason for the reduction of caries during the last 20 or 30 years. The preventive effect of fluoride occurs basically due to its maintenance at low and constant levels of fluoride varnish in the oral cavity, interfering with the demineralization and remineralization events to which both enamel and dentin are subject. Having knowledge about the dynamics of caries, demineralization and remineralization cycles, it leads to the introduction of new materials such as the ACP-CPP complex: Amorphous calcium phosphate of casein phosphopeptide (RECALDENT) and tricalcium phosphate. **Objective:** Determine which fluoride varnish Duraphat®, Clinpro™ or Mi varnish® produces a greater halo of inhibition of *Streptococcus mutans*. **Material and methods:** Experimental in vitro study, universe consisting of 10 Petri boxes with agar infusion brain heart inoculated with *Streptococcus mutans* and discs impregnated with the different fluoride varnishes, 1 positive control group (NaClO) and one negative (H₂O). The statistical analysis used was the Kruskal-Wallis test with its respective Dunn's Pos hoc test. **Results:** No statistically significant difference was found in the bacterial inhibition of Mi varnish® fluoride varnish compared to the positive control group sodium hypochlorite (NaClO) and a statistically significant difference was found between the Mi varnish® and Duraphat® fluoride varnishes. **Conclusions:** Mi varnish® fluoride varnish acts similarly to sodium hypochlorite (NaClO) in the inhibition of bacterial strains of *Streptococcus mutans*.

(Keywords: tooth decay, *Streptococcus mutans*, fluoride varnish)

Dedicatorias

Dedico este trabajo a mi familia, en especial a mi hermana Karen que siempre estuvo ahí para mi apoyándome en todo momento, a mi papá por ser un gran ejemplo de perseverancia y nunca renunciar a tus sueños, a mi hermano y mis sobrinos que cada día estresante lo hicieron más divertido con sus ocurrencias, a mis amigas de la especialidad, por apoyarnos entre todas y hacer de cada trabajo de tesis nuestro y estar al pendiente siempre, a mis 6 perritos, que son mi motivación para levantarme cada día y por último y más importante, a mi mamá porque este sueño era de las dos, sé que desde donde esté está festejando y orgullosa de cada paso que hemos dado juntas.

Agradecimientos

Agradezco infinitamente a cada uno de los docentes de la especialidad en Odontopediatría por estar siempre dispuestos a ayudar, a mis compañeras que se convirtieron en hermanas (Pau, Kris y Diana) por hacer cada día dedicado a este trabajo más divertido y llevadero, al Dr. Rubén Domínguez por guiarnos desde el día uno y siempre tener una forma especial de enseñarnos, a la Dra. Laura Herrera por ser un apoyo incondicional durante toda la especialidad y en especial a la Dra. Verónica Cabeza por siempre estar al pendiente y ayudando en todo momento en este trabajo, sin todos ustedes no hubiera sido posible.

Índice

Contenido	Página
Resumen	i
Summary	ii
Dedicatorias	iii
Agradecimientos	iv
Índice	v
Índice de cuadros	vi
Abreviaturas y siglas	vii
I. Introducción	1
II. Antecedentes	6
III. Hipótesis	8
IV. Objetivos	9
IV.1 Objetivo general	9
IV.2 Objetivos específicos	9
V. Material y métodos	10
V.1 Tipo de investigación	10
V.2 Unidad de análisis	10
V.3 Muestra	10
V.3.1 Criterios de selección	10
V.3.2 Variables estudiadas	11
V.4 Procedimientos	12
V.5. Análisis estadístico	16
VI. Resultados	17
VII. Discusión	18
VIII. Conclusiones	20
IX. Propuestas	21
X. Bibliografía	22
XI. Anexos	25

Índice de cuadros

Cuadro		Página
1	Comparación de los valores de la inhibición (cm) bacteriana (<i>Streptococcus mutans</i>) de tres barnices fluorados.	17
2	Comparación de halos de inhibición <i>Post hoc</i> entre grupos.	17

Abreviaturas y siglas

ACP-CPP: Fosfato de cálcio amorfo de fosfopéptido de caseína (RECALDENT).

NaClO: Hipoclorito de sódio.

H₂O: Água.

Ppm: Partes por millón.

I. Introducción

La caries dental es una enfermedad multifactorial y uno de los factores responsables de la caries es la microbiota bucal. Entre más de 600 especies bacterianas identificables en la cavidad bucal, se ha visto que los *Streptococcus mutans* están más estrechamente asociados con el desarrollo de la caries dental (Van Houte, 1994).

La caries dental se describe mejor como una enfermedad compleja mediada por la biopelícula, ingestión frecuente de alimentos fermentables y una higiene bucal deficiente en combinación con una exposición inadecuada al flúor (Pitts et al., 2017).

El grupo más común de microorganismos presentes en la caries dental es el de las bacterias. La microbiota oral tiene una relación simbiótica con el huésped. Los microorganismos orales residentes se benefician de un hábitat cálido y nutritivo proporcionado por el huésped y, a cambio actúan para rechazar a los microorganismos invasores (Devine et al., 2015).

Numerosos estudios epidemiológicos han informado de un cambio en el equilibrio de la microbiota en las superficies con caries en comparación con las superficies sanas. En los primeros estudios sobre las lesiones de caries se observó una mayor incidencia de *Streptococcus mutans* que en el esmalte sano (Loesche, 1986).

Como resultado de las diferencias en el contenido genético, las cepas de *Streptococcus mutans* también exhiben variabilidad fenotípica. Se ha sugerido que no todas las cepas tienen la misma capacidad de virulencia para promover la formación de caries dental (Nakano et al., 2004).

La acidogenicidad, la aciduricidad y la adhesión, son consideradas como los factores clave de virulencia de *Streptococcus mutans* (Banas, 2004).

La capacidad de *Streptococcus mutans* responde al estrés ambiental, es decir, el flujo salival, pH ácido, estrés oxidativo, cambios en la fuente y disponibilidad de carbohidratos, es esencial para la supervivencia y predominio de *Streptococcus mutans* en las lesiones de caries (Marsh, 2003).

Teniendo conocimiento sobre la dinámica de la caries, la desmineralización y los

ciclos de remineralización, la búsqueda de materiales más nuevos para superar el desafío de la caries ha llevado a la introducción del fosfato de calcio amorfo de fosfopéptido de caseína (CPP-ACP) (Kalra et al., 2014).

Una forma amorfa de fosfato de calcio (ACP) estabilizado por un fosfopéptido de la proteína caseína de la leche (CPP) puede utilizarse para localizar ACP en la placa dental, manteniendo un estado de sobresaturación con respecto al esmalte dental, reduciendo así la desmineralización (Reynolds, 1997).

La incorporación del CPP en la película salival reduce eficazmente la adhesión de *Streptococcus mutans*, y esta inhibición produciría una placa no cariogénica (Schüpbach et al., 1996).

Los caseinofosfopéptidos inhiben las lesiones de caries dental al influir en el proceso de desmineralización / remineralización del esmalte dental. En la cavidad oral, los iones de calcio y fosfato se liberan del CPP a medida que el pH de la placa disminuye, lo que da como resultado una sobresaturación que reduce la desmineralización y promueve la remineralización (Bansal et al., 2015).

Barnices de flúor.

La terapia con flúor ha sido la opción principal de los tratamientos no invasivos para las lesiones en caries de la infancia temprana (Fejerskov, 2004).

Los barnices de flúor se desarrollaron a fines de la década de 1960 en un esfuerzo por mejorar los efectos de los agentes de fluoruro tópicos al aumentar el tiempo de contacto entre el esmalte y el fluoruro. Los barnices de flúor se han descrito como el medio más conveniente para que los niños en edad preescolar usen fluoruro tópico aplicado por un profesional, debido a que son fáciles de aplicar y bien tolerados (Carvalho et al., 2010).

En las últimas décadas, el uso de barniz de flúor es mucho más concentrado que cualquier otra fuente de flúor; esto se debe al espesor y endurecimiento rápido del barniz de flúor, lo que reduce la cantidad de flúor ingerido, su fácil aplicación, mayor concentración de flúor y la adherencia a las estructuras dentales (Mishra et al., 2017).

El barniz de fluoruro se aplica a los dientes y forma una película delgada que

permanece en los dientes durante un largo periodo de tiempo y proporciona una liberación sostenida de fluoruro (Autio-Gold & Courts, 2001).

La utilización de fluoruros ha sido considerada la principal razón para la reducción de caries observada en todo el mundo durante los últimos 20 o 30 años. El efecto preventivo ocurre básicamente por su mantenimiento en niveles bajos y constantes de flúor en la cavidad bucal, logrando interferir con los eventos diarios de desmineralización y remineralización a los que están sujetos tanto el esmalte como la dentina (Bordoni et al., 2010).

El objetivo de los barnices es evitar la acción de arrastre de la saliva luego de la aplicación tópica. El primer agente utilizado fue una laca resinosa natural que contenía 5% de fluoruro de sodio 22,600 partes por millón (ppm) de flúor. Esta laca se endurece sobre el diente aún en presencia de humedad, formando una película de color marrón-amarillento, que dura aproximadamente 12 horas, durante las cuales el fluoruro es liberado de forma continua (Bordoni et al., 2010).

El fluoruro puede facilitar la difusión de calcio y fosfato en las lesiones desmineralizadas para remineralizar las estructuras cristalinas. Las estructuras cristalinas reconstruidas, compuestas por hidroxiapatita fluorada y fluorapatita, son mucho más resistentes al ataque ácido que las originales. Además, el fluoruro también puede afectar el metabolismo bacteriano cariogénico a través de varios mecanismos complejos (Koo, 2008).

Marcas comerciales.

Barniz de flúor 3M™ Clinpro™ White Varnish con fluoruro sódico al 5 %

Descripción: Barniz blanco que contiene 22,600 ppm de fluoruro, fórmula única para la liberación de flúor, calcio y fosfato, contiene la innovadora tecnología de fosfato de calcio exclusivo de 3M ESPE.

Composición: Clinpro™ White Varnish contiene fluoruro de sodio al 5% y un innovador ingrediente de fosfato tricálcico (TCP). El barniz es una solución de colofonia modificada a base de alcohol, endulzado con xilitol y está disponible en sabor menta.

Indicaciones: Dientes hipersensibles, dentina expuesta, sensibilidad de la superficie de la raíz y prevención de caries

Beneficios: Crea una barrera física cubriendo y ocluyendo túbulos dentinarios, contiene xilitol, apariencia, sabor y textura aceptables, es tolerante a la humedad, se activa con saliva, contiene ingrediente de fosfato tri-calcio, libera flúor, calcio y fósforo, se adhiere a los dientes a los cuales se ha aplicado además de migrar a otras superficies dentales por al menos cuatro horas (3M, 2008).

Barniz Colgate® Duraphat® con 22,600 ppm de flúor (NaF).

Beneficios: El barniz Duraphat® proporciona una protección anticaries segura, duradera, y respaldada por la evidencia científica. Es una solución para la consulta que previene las caries independientemente del cumplimiento del paciente. Cubre los dientes con una película que se endurece con la saliva, siendo una fuente de flúor para las horas siguientes. Acumula fluoruro de calcio en la superficie dental, crea un depósito de flúor que protege contra los ataques de los ácidos cariogénicos. Desensibilización de los dientes hipersensibles. Forma glóbulos de fluoruro de calcio que ocluyen los túbulos dentinarios.

Principios activos: Contiene 22,600 ppm de fluoruro sódico,

Propiedades: Duraphat® presenta un fuerte efecto desensibilizante cuando es aplicado en superficies dentinarias afectadas. Es altamente tolerante al agua y cubre superficies húmedas con una película de barniz de buena adherencia, endureciendo con la saliva y obturando la abertura de los túbulos dentinarios, reduciendo el acceso a la pulpa dental (Colgate, 2019).

MI Varnish® de GC™.

Descripción: MI Varnish® es un barniz de fluoruro de sodio al 5% que contine CPP-ACP: fosfopéptido de caseína-fosfato de calcio amorfo (RECALDENT).

Gracias a la tecnología patentada RECALDENT™, MI Varnish® proporciona una ventana a la protección contra la caries al combinar el flúor, calcio y fosfato, formando un resistente barniz protector. El pH neutro de 6.6 aumenta la resistencia ácida del esmalte e inhibe la desmineralización.

Indicaciones: Hipersensibilidad en diferentes situaciones clínicas: zona cervical, hipomineralización incisivo-molar (MIH), tras una limpieza dental profesional, desgaste oclusal.

Elevada liberación de flúor inicial reduce la sensibilidad dental y fortalece el esmalte, penetra en los túbulos dentinarios de forma eficaz para sellarlos, se adhiere a los pinceles de aplicación y fluye fácilmente hacia las zonas de difícil acceso, no se aglutina ni coagula cuando se expone a la saliva, olor neutro con translucidez natural (GC Latinoamérica, 2017).

Pruebas de inhibición en agar.

Las pruebas de inhibición en agar o el método de difusión en disco determinan la sensibilidad a los antibióticos de los aislados bacterianos. El resultado es la identificación de agentes terapéuticos potencialmente efectivos y el tamaño de las zonas inhibitorias obtenidas revela la sensibilidad microbiana (Vermeersch et al., 2005).

II. Antecedentes

Se ha demostrado que el barniz de fluoruro sódico afecta la fisiología del *Streptococcus mutans*, produciendo inhibición significativa en la formación de ácido láctico (Ekenbäck et al., 2001).

El efecto inhibitor del fluoruro sobre el metabolismo intracelular depende de la entrada de fluoruro de hidrógeno (HF), que se difunde en las células bacterianas y se disocia en el protón (H⁺) y el ion fluoruro (F⁻) en el citoplasma (Hamilton, 1990).

En diversos estudios se demuestra que la aplicación de BFS reduce cuantitativamente las colonias de *Streptococcus mutans*, y que su efecto mayor se logra después de tres aplicaciones (Urzua et al., 2006).

El fluoruro es una de las numerosas presiones ambientales que afectan a las comunidades bacterianas orales, pero su efecto beneficioso sobre la caries es tal que podría proponerse que además de sus efectos sobre el esmalte y la remineralización, el fluoruro afecta a las bacterias. Se ha demostrado en muchas ocasiones que el flúor puede afectar la fermentación bacteriana de carbohidratos. Aunque los niveles muy altos de fluoruro matarán a las bacterias, hay poca evidencia de que el fluoruro provoque cambios drásticos en la cantidad de especies que se encuentran en la placa o en sus concentraciones (Bowden, 1990).

Se considera que su acción anticaries está relacionada principalmente con efectos sobre las fases minerales de los dientes y sobre el proceso de remineralización, el flúor también tiene efectos importantes sobre las bacterias de la placa dental, que son responsables de la acidificación de la placa que resulta en la desmineralización. Los resultados de estudios recientes han demostrado que el fluoruro puede afectar el metabolismo bacteriano a través de un conjunto de acciones con mecanismos fundamentalmente diferentes. Puede actuar directamente como inhibidor enzimático (Marquis, 1995).

La acción antibacteriana de los fluoruros se aprecia intrínsecamente compleja, sin embargo, pareciera que su acción dominante es sobre la fase mineral de la superficie de los dientes, lo que se relaciona con los resultados en los cuales observaron que su efecto es de corto plazo (Urzua et al., 2006).

Vashisht et al. (2013) concluyó en su estudio que el CPP-ACP: fosfopéptido de caseína-fosfato de calcio amorfo también tiene impactos antibacterianos y amortiguadores en la placa e interfiere con el crecimiento y la adhesión de especies de *Streptococcus*, pero destacaron que una disminución en *Streptococcus mutans* no podría atribuirse al efecto inhibidor de CPP-ACP por sí solo.

III. Hipótesis

Hipótesis de trabajo

El barniz de flúor Clinpro™ produce un mayor halo de inhibición de *Streptococcus mutans* que los barnices Duraphat® y Mi varnish®.

Hipótesis nula

El barniz de flúor Clinpro™ reduce un menor halo de inhibición de *Streptococcus mutans* que los barnices Duraphat® y Mi varnish®.

IV. Objetivos

IV.1 Objetivo general

Determinar que barniz de flúor Duraphat®, Clinpro™ o Mi varnish® produce un mayor halo de inhibición de *Streptococcus mutans*.

IV.2 Objetivos específicos

- Medir el halo de inhibición de *Streptococcus mutans* que produce el barniz de flúor Duraphat®.
- Medir el halo de inhibición de *Streptococcus mutans* que produce el barniz de flúor Clinpro™.
- Medir el halo de inhibición de *Streptococcus mutans* que produce el barniz de flúor Mi varnish®.
- Comparar los resultados obtenidos de los halos de inhibición de *Streptococcus mutans* producen los barnices de flúor Duraphat®, Clinpro™ y Mi varnish®.

V. Material y métodos

V.1 Tipo de investigación

Experimental *in vitro*.

V.2 Unidad de análisis

El universo estuvo formado por cajas Petri con agar infusión cerebro corazón inoculadas con *Streptococcus mutans* y discos impregnados con los diferentes barnices de flúor.

V.3 Muestra

30 discos de papel impregnados de barniz de flúor, basado en un promedio del tamaño de muestra en un estudio realizado por Brown (1980).

Los cuales se dividió en tres grupos:

- Grupo 1: 10 Discos de papel impregnados de barniz de flúor Duraphat®.
- Grupo 2: 10 Discos de papel impregnados de barniz de flúor Clinpro™.
- Grupo 3: 10 Discos de papel impregnados de barniz de flúor MI varnish™.

V.3.1 Criterios de selección

Criterios de inclusión

- Cajas Petri sembradas en monocapa con *Streptococcus mutans*.
- Discos de papel impregnados en su totalidad con barniz de flúor Duraphat®.
- Discos de papel impregnados en su totalidad con barniz de flúor Clinpro™. Discos de papel impregnados en su totalidad con barniz de flúor MI varnish®.

Criterios de exclusión

- Cajas Petri que se encuentren contaminadas. Cajas Petri que se encuentren dañadas.
- Discos de papel que se encuentren contaminados. Discos de papel que se encuentren dañados.
- Discos de papel que no se encuentren impregnados en su totalidad con el barniz de

flúor correspondiente.

Criterios de eliminación

- Cajas Petri que sufran algún daño durante el periodo de experimentación y/o contaminación de otro microorganismo.
- Discos de papel que sufran algún daño durante el periodo de experimentación.

V.3.2 Variables estudiadas

Dependiente

- Halo de inhibición: Zona formada alrededor de un disco impregnado de alguna sustancia que inhibe el crecimiento bacteriano medido en milímetros.

Independientes

- Discos de papel con barniz de flúor Duraphat® marca Colgate®: Muestra circular de 6 mm embebido en barniz de fluoruro de sodio al 5% que contiene 22,600 ppm de flúor en una base de resina, medido en microlitros.
- Discos de papel con barniz de flúor Clinpro™ marca 3M™: Muestra circular de 6 mm embebido en barniz blanco de fluoruro de sodio al 5% y fosfato tricálcico, medido en microlitros.
- Discos de papel con barniz de flúor Mi varnish® marca GC™: Muestra circular de 6 mm embebido en barniz de fluoruro de sodio al 5%, recaldent, fosfopéptido de caseína y fosfato de calcio amorfo, medido en microlitros.

V.4 Procedimientos

Se dividió en 8 fases

Fase 1: Material

1. Se obtuvieron del depósito dental los diferentes barnices de flúor a evaluar (Clinpro™ de 3M™, Durapaht® de Colgate® y Mi varnish® de GC™), cajas Petri, agar infusión cerebro corazón, alcohol, discos de papel, pinzas y loseta (Figura 1).

Fase 2: Agar infusión cerebro corazón.

1. Se disolvieron 52 g del polvo en 1 litro de agua purificada.
2. Se calentó con agitación constante y se llevó a ebullición hasta su disolución completa.
3. La muestra disuelta se esterilizó en autoclave durante 15 minutos a 121°C.
4. Al salir se dejaron enfriar hasta 50°C.
5. Se sirvieron 20 ml del medio en las 10 cajas Petri estériles (Figura 2).
6. Se dejaron solidificar y se invirtieron para ser guardadas en refrigeración hasta su uso.
7. Antes de comenzar a sembrar las placas se dejaron reposar a temperatura ambiente.
8. Su pH medio quedó en 7.4 ± 2

Fase 3: Inoculación de sepas de *Streptococcus mutans*.

1. Todo el material que se empleó tuvo una previa esterilización en autoclave.
2. La manipulación de los materiales se realizó en un radio de 10 – 15 cm (conocida como zona aséptica), alrededor de la llama del mechero (Figura 3).
3. Después de 15 minutos de haber ajustado el inóculo se sembraron las placas con un hisopo estéril.
4. Se presionó el hisopo contra las paredes del tubo por encima del nivel del líquido para retirar el exceso.
5. Se inoculó la superficie en tres direcciones rotando la caja Petri 60° cada vez para asegurar una distribución homogénea.
6. Se dejaron las tapas de las placas abiertas de 3 a 5 minutos antes de aplicar los discos para que el exceso de humedad fuera absorbido.

Fase 4: Marcaje de cajas Petri.

1. Se rotularon, enumeraron y membretaron por la parte trasera con sus respectivos grupos

las 10 cajas Petri (Figura 4).

Fase 5: Barnices de flúor en agar infusión cerebro corazón.

1. Se mezclaron los barnices de flúor Clinpro®, Duraphat® y MI varnish® de acuerdo con las instrucciones de cada fabricante (Figura 5).
2. Los discos de papel se impregnaron con los barnices de flúor y los grupos control (hipoclorito de sodio y solución salina) (Figura 6).
3. Se colocaron los discos impregnados sobre la superficie del agar inoculada con pinzas estériles aplicando una ligera presión (Figura 8).
4. No se reubico ningún disco una vez que tomo contacto con la superficie del agar (Figura 9).

Fase 6: Incubación de cajas Petri.

1. Cuando se finalizó la colocación de las muestras en las cajas Petri, estas se colocaron de manera invertida con el agar en la parte posterior en una bolsa, se sellaron y membretaron con fecha y hora. Posteriormente se llevaron a la incubadora a una temperatura de 36°C, durante 48 horas, para favorecer la adecuada incubación del microorganismo (Figura 10).

Fase 7: Evaluación de halos de inhibición.

1. Después de 48 horas de incubación se examinó cada placa y se midieron los diámetros de la zona de inhibición con el programa ImageJ, posterior a ello se realizó la recolección de datos en una tabla de Excel (Figura 12).

Fase 8: Eliminación y manejo de desechos.

1. Los materiales y desechos del proceso experimental se eliminaron siguiendo el protocolo de la NOM-087-ECOL-SSA1-2002 para el manejo de Residuos peligrosos biológicos infecciosos.



Fig. 1 Barnices de flúor y material estéril.



Fig. 2 Cajas Petri con Agar infusión cerebro corazón.



Fig. 3 Inoculación de cajas Petri con *Streptococcus mutans*.

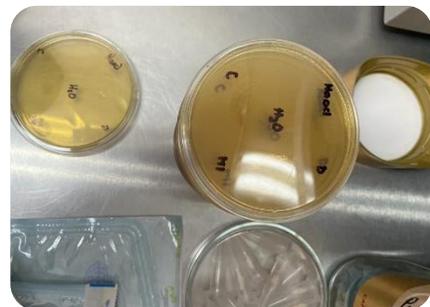


Fig. 4 Cajas Petri membretadas con los 5 grupos a evaluar.



Fig. 5 Formación de discos de papel para impregnar con barniz de flúor Durapaht®.



Fig. 6 Discos de papel impregnados con barniz de flúor Clinpro™.



Fig. 7 Discos de papel impregnados con barniz de flúor Durapaht ®.



Fig. 8 Colocación de discos de papel en caja Petri.



Fig. 9 Caja Petri con los 5 discos de papel impregnados.



Fig. 10 Cajas Petri selladas para entrar a la incubadora.

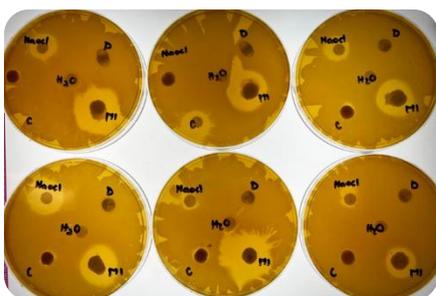


Fig. 11 Cajas Petri posterior a las 48 hrs de incubación.

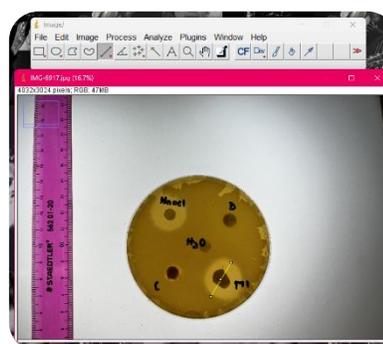


Fig. 12 Análisis de las imágenes con ImageJ.

V.5. Análisis estadístico

Tras obtener los resultados de las muestras, la información se recolecto en una base de datos de Excel, donde se obtuvo el promedio, desviación estandar y rango de cada barniz de flúor. Posteriormente se realizó en análisis estadísticoKruskal – Wallis con la prueba Post hoc de Dunn mediante el Software Graph Pad Prism 9.

VI. Resultados

En el cuadro 1 se presentan los valores de la inhibición bacteriana de tres barnices fluorados (MI Varnish®, Clinpro™ y Durapaht®). Se puede observar un cambio estadísticamente significativo en el grupo de MI Varnish® vs. Durapaht®, el cual presenta un halo de inhibición mayor.

Cuadro 1. Comparación de los valores de la inhibición (cm) bacteriana (*Streptococcus mutans*) de tres barnices fluorados.

Grupo	MI varnish® (n=10)	Clinpro™ (n=10)	Durapaht® (n=10)	H2O (n=10)	NaClO (n=10)	Valor de p
	X ± DE (Rango)					
Halo de inhibición (cm)	1.78 ± 0.36 (1.12 – 2.45)	1.20 ± 0.23 (0.21 – 1.01)	0.20 ± 0.04 (0.11 – 0.25)	0	0.98 ± 0.55 (0.21 – 2.1.66)	<0.0001*

H2O: Agua, NaCl: Hipoclorito de sodio, X: Promedio; DE: Desviación estándar, cm: Centímetros.

*: Prueba de Kruskal-Wallis.

En el cuadro 2 se muestra el análisis estadístico realizado *post hoc* en donde se confirma que el grupo MI varnish® Vs Duraphat® obtuvo un mayor halo de inhibición que Clinpro™ y Duraphat®.

Cuadro 2. Comparación de halos de inhibición *Post hoc* entre grupos.

Grupo 1	Grupo 2	Valor de p
H2O	NaClO	0.0001
MI varnish®	NaClO	1.000
Clinpro™	NaClO	1.000
Durapaht®	H2O	1.000
MI varnish®	Clinpro™	0.0678
MI varnish®	Durapaht®	>0.0001
Clinpro™	Durapaht®	0.8719
Durapaht®	NaClO	0.0383
MI varnish®	H2O	>0.0001
Clinpro™	H2O	0.0131

Prueba de Dunn.

VII. Discusión

El presente estudio comparó el efecto antibacteriano de tres barnices fluorados con agentes agregados como la caseína, el fosfato de calcio amorfo (CPP-ACP) y el fosfato tricálcico en una cepa de *Streptococcus mutans*.

En este estudio de tipo *In vitro* se utilizaron 30 discos impregnados de los diferentes barnices de flúor con sus respectivos controles y se obtuvieron 10 cajas para su evaluación.

En el estudio, cuando se llevó a cabo la medición de los halos de inhibición se encontró que, en los tres grupos evaluados, hubo diferencias significativas.

Los barnices de flúor Mi varnish® y Clinpro™ demostraron una inhibición bacteriana contra el *Streptococcus mutans*, los resultados coincidieron con el estudio de Patel (2017) en el que se observó que el barniz de fluor Mi varnish® tenía una respuesta de inhibición contra las cepas de *Streptococcus mutans*.

Vashisht (2013) investigó el efecto de CPP-ACP sobre la remineralización de las lesiones y la inhibición del crecimiento de *Streptococcus mutans* y concluyó que el *Streptococcus mutans* disminuyó en el grupo de intervención tres meses después de la evaluación. CPP-ACP también tiene impactos antibacterianos y amortiguadores en la placa e interfiere con el crecimiento y la adhesión de especies de *Streptococcus*.

Por lo contrario, en un estudio realizado por Hajiahmadi (2021) demostró que el CPP-ACP presente en los barnices de fluor no presenta efecto antibacteriano en ninguna concentración.

En un estudio *in vitro* de Erdem (2011), informó que después de usar CPP-ACP, el *Streptococcus mutans* en el biofilm disminuyó, pero esta disminución no fue estadísticamente significativa.

De acuerdo con los resultados del presente estudio, los barnices de fluor adicionados con el complejo CPP - ACP y fosfato tricálcico presentan propiedades antibacterianas contra el *Streptococcus mutans* que el barniz de flúor por sí solo no posee y aparentemente estos

barnices adicionados funcionan de manera similar al NaClO, por lo cual podemos hacer uso de estos barnices en la prevención de caries dental.

Los barnices de fluor de las marcas utilizadas en este estudio no funcionarían de la misma manera en la prevención de lesiones de caries causadas por *Streptococcus mutans* debido a los demás factores que están presentes en el proceso de formación de esta como lo son el consumo de azúcares fermentables, la higiene dental, el tiempo, el flujo salival, entre otros.

VIII. Conclusiones

La inhibición bacteriana del barniz de flúor adicionado con CPP – ACP contra el *Streptococcus mutans* ha demostrado ser una opción durante el proceso de desarrollo de la caries dental.

El barniz de flúor, que contiene una alta concentración de fluoruro de sodio y en varias marcas comerciales se le agregan componentes como el CPP – ACP y el fosfato tricálcico proporciona propiedades antimicrobianas que actúan inhibiendo el crecimiento y la actividad de las bacterias, incluidas las del *Streptococcus mutans*.

Del presente estudio podemos destacar que el barniz de flúor por sí solo no posee efectividad antibacteriana contra el *Streptococcus mutans*.

El barniz de flúor adicionado con agentes como el complejo CPP – ACP y el fosfato tricálcico ayudan a tener una inhibición bacteriana contra el *Streptococcus mutans*.

El barniz de flúor Clinpro™ y Mi varnish® tienen acción antibacteriana contra esta cepa de *Streptococcus mutans* similar al hipoclorito de sodio.

IX. Propuestas

Sería interesante realizar un estudio más amplio abarcando más cepas bacterianas que participan en el proceso de desarrollo de una lesión de caries para poder así evaluar de forma completa a cada uno de los barnices presentes en este estudio, en especial al barniz de flúor MI varnish® y Clinpro™.

Esto se traduciría en que el profesional pueda indicar un mejor producto a los pacientes para la prevención y tratamiento de lesiones iniciales de caries.

X. Bibliografía

- 3M. (2008, March 1). *3M™ Clinpro™ white varnish con fluoruro de sodio al 5% y TCP*. https://www.3m.com.mx/3M/es_MX/p/d/v101110023/
- Autio-Gold, J., & Courts, F. (2001). Assessing the effect of fluoride varnish on early enamel carious lesions in the primary dentition. *The Journal of the American Dental Association*, 132(9), 1247–1253. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2001.0367>
- Balzar Ekenbäck, S., Linder, L. E., Sund, M.-L., & Lönnies, H. (2001). Effect of fluoride on glucose incorporation and metabolism in biofilm cells of *Streptococcus mutans*. *European Journal of Oral Sciences*, 109(3), 182–186. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0722.2001.00005.x>
- Banas, J. A. (2004). Virulence properties of *Streptococcus mutans*. *Frontiers in Bioscience*, 9(1–3), 1267. <https://doi.org/10.2741/1305>
- Bansal, A., Ingle, N., Kaur, N., & Ingle, E. (2015). Recent advancements in fluoride: A systematic review. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry*, 5(5), 341. <https://doi.org/10.4103/2231-0762.165927>
- Bordoni, N., Escobar, A., & Castillo, Ramón. (2010). *Odontología Pediátrica: La salud bucal del niño y del adolescente en el mundo actual*. Editorial Médica Panamericana.
- Bowden, G. H. (1990). Effects of fluoride on the microbial ecology of dental plaque. *Journal of Dental Research*, 69 Spec No, 653–659; discussion 682-3. <https://doi.org/10.1177/00220345900690S127>
- Carvalho, D. M., Salazar, M., Oliveira, B. H. de, & Coutinho, E. S. F. (2010). O uso de vernizes fluoretados e a redução da incidência de cárie dentária em pré-escolares: uma revisão sistemática. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 13(1), 139–149. <https://doi.org/10.1590/S1415-790X2010000100013>
- Colgate. (2019, March 1). *Barniz Colgate® Duraphat®*. <https://www.colgateprofesional.com.mx/products/products-list/colgate-duraphat-barniz-de-fluoruro-de-sodio-al-5-rx>
- Devine, D., Marsh, P., & Meade, J. (2015). Modulation of host responses by oral commensal bacteria. *Journal of Oral Microbiology*, 7(1), 26941. <https://doi.org/10.3402/jom.v7.26941>
- Erdem, A. P., Sepet, E., Avshalom, T., Gutkin, V., & Steinberg, D. (2011). Effect of CPP-ACP and APF on *Streptococcus mutans* biofilm: A laboratory study. *American Journal of Dentistry*, 24(2), 119–123.
- Fejerskov, O. (2004). Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Research*, 38(3), 182–191. <https://doi.org/10.1159/000077753>
- GC Latinámerica. (2017, March 1). *MI Varnish™*. <http://gclatinamerica.com/descripcion/mi-varnish-153>
- Hajiahmadi, M., Faghri, J., Salehi, Z., & Heidari, F. (2021). Comparative Evaluation of Antibacterial Effect of Propolis and Aloe Vera, Xylitol, and Cpp-Acp Gels on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* in Vitro. *International Journal of Dentistry*, 2021, 5842600. <https://doi.org/10.1155/2021/5842600>
- Hamilton, I. R. (1990). Biochemical effects of fluoride on oral bacteria. *Journal of Dental Research*, 69 Spec No, 660–667; discussion 682-3. <https://doi.org/10.1177/00220345900690S128>

- Kalra, D., Kalra, R., Kini, P., & Allama Prabhu, C. (2014). Nonfluoride remineralization: An evidence-based review of contemporary technologies. *Journal of Dental and Allied Sciences*, 3(1), 24. <https://doi.org/10.4103/2277-4696.156525>
- Koo, H. (2008). Strategies to enhance the biological effects of fluoride on dental biofilms. *Advances in Dental Research*, 20(1), 17–21. <https://doi.org/10.1177/154407370802000105>
- Loesche, W. J. (1986). Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiological Reviews*, 50(4), 353–380. <https://doi.org/10.1128/mr.50.4.353-380.1986>
- Marquis, R. E. (1995). Antimicrobial actions of fluoride for oral bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 41(11), 955–964. <https://doi.org/10.1139/m95-133>
- Marsh, P. D. (2003). Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology*, 149(2), 279–294. <https://doi.org/10.1099/mic.0.26082-0>
- Mishra, P., Fareed, N., Battur, H., Khanagar, S., Bhat, M., & Palaniswamy, J. (2017). Role of fluoride varnish in preventing early childhood caries: A systematic review. *Dental Research Journal*, 14(3), 169. <https://doi.org/10.4103/1735-3327.208766>
- Nakano, K., Nomura, R., Nakagawa, I., Hamada, S., & Ooshima, T. (2004). Demonstration of *Streptococcus mutans* with a cell wall polysaccharide specific to a new serotype, k, in the human oral cavity. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(1), 198–202. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.1.198-202.2004>
- Patel, P. M. (2017). Comparison of the Effect of Fluoride Varnish, Chlorhexidine Varnish and Casein Phosphopeptide- Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) Varnish on Salivary *Streptococcus mutans* Level: A Six Month Clinical Study. *Journal of clinical and diagnostic research*. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/26541.10409>
- Pitts, N., Zero, D., Marsh, P., Ekstrand, K., Weintraub, J., Ramos-Gomez, F., Tagami, J., Twetman, S., Tsakos, G., & Ismail, A. (2017). Dental caries. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1), 17030. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.30>
- Reynolds, E. C. (1997). Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. *Journal of Dental Research*, 76(9), 1587–1595. <https://doi.org/10.1177/00220345970760091101>
- Schüpbach, P., Neeser, J. R., Golliard, M., Rouvet, M., & Guggenheim, B. (1996). Incorporation of Caseinoglycomacropeptide and Caseinophosphopeptide into the Salivary Pellicle Inhibits Adherence of Mutans Streptococci. *Journal of Dental Research*, 75(10), 1779–1788. <https://doi.org/10.1177/00220345960750101101>
- Urzua Iván, Moncada Gustavo, Aranguiz Vicente, Hoyos Julio, Cortes Claudia, & Ulloa María. (2006). Efectos in vivo de la aplicacion de un barniz de NaF al 5% sobre la colonización de *S. mutans* en esmalte. *Revista de Operatoria Dental y Biomateriales*, 1.
- van Houte, J. (1994). Role of Micro-organisms in Caries Etiology. *Journal of Dental Research*, 73(3), 672–681. <https://doi.org/10.1177/00220345940730031301>
- Vashisht, R., Indira, R., Ramachandran, S., Kumar, A., & Srinivasan, M. (2013). Role of casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate in remineralization of white spot lesions and inhibition of *Streptococcus mutans*? *Journal of Conservative Dentistry*, 16(4), 342. <https://doi.org/10.4103/0972-0707.114370>
- Vashisht, R., Rajamani. I., Ramachandran, S., Kumar, A., & ManaliRamakrishnan, S. (2013). Role of casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate in

remineralization of white spot lesions and inhibition of *Streptococcus mutans*? *Journal of Conservative Dentistry*, 16(4), 342. <https://doi.org/10.4103/0972-0707.114370>

XI. Anexos

X1.1 Hoja de recolección de datos

MI varnish® (cm)	
CAJA 1	1.824
CAJA 2	2.861
CAJA 3	2.522
CAJA 4	2.415
CAJA 5	2.674
CAJA 6	3.156
CAJA 7	2.506
CAJA 8	2.395
CAJA 9	2.238
CAJA 10	2.213
PROMEDIO	2.4804
DESVIACION ESTANDAR	0.348403559
RANGO	(3.81 - 1.82)

Clinpro™ (cm)	
CAJA 1	0.938
CAJA 2	1.227
CAJA 3	1.026
CAJA 4	1.005
CAJA 5	1.713
CAJA 6	1.03
CAJA 7	0.917
CAJA 8	1.1
CAJA 9	0.994
CAJA 10	1.041
PROMEDIO	1.0991
DESVIACION ESTANDAR	0.220395304
RANGO	(1.71 - 0.91)

Duraphat® (cm)	
CAJA 1	0.815
CAJA 2	0.902
CAJA 3	0.904
CAJA 4	0.897
CAJA 5	0.897
CAJA 6	0.916
CAJA 7	0.863
CAJA 8	0.948
CAJA 9	0.909
CAJA 10	0.956
PROMEDIO	0.9007
DESVIACION ESTANDAR	0.037952734
RANGO	(0.95 - 0.81)

H2O (cm)	
CAJA 1	0.7
CAJA 2	0.822
CAJA 3	0.824
CAJA 4	0.799
CAJA 5	0.733
CAJA 6	0.783
CAJA 7	0.777
CAJA 8	0.8
CAJA 9	0.842
CAJA 10	0.83
PROMEDIO	0.791
DESVIACION ESTANDAR	0.042687235
RANGO	(0.84 - 0.70)

NACLO (cm)	
CAJA 1	0.918
CAJA 2	1.151
CAJA 3	2.356
CAJA 4	1.647
CAJA 5	1.03
CAJA 6	1.813
CAJA 7	2.366
CAJA 8	1.372
CAJA 9	1.869
CAJA 10	2.31
PROMEDIO	1.6832
DESVIACION ESTANDAR	0.525044531
RANGO	(2.36 - 0.91)

	MI varnish®	Clinpro™	Durapaht ®	H2O	NACLO
PROMEDIO	2.4804	1.0991	0.9007	0.791	1.6832
DESVIACION ESTANDAR	0.348403559	0.220395304	0.037952734	0.042687235	0.525044531
RANGO	(3.81 - 1.82)	(1.71 - 0.91)	(0.95 - 0.81)	(0.84 - 0.70)	(2.36 - 0.91)