

Efectividad bactericida del diamino fluoruro de plata a diferente concentración sobre estreptococos cariogénicos en muestras de saliva y dentina de escolares. Un estudio *in vitro*.

Bactericidal effectiveness of silver diamine fluoride of different concentrations on cariogenic streptococcus in saliva and dentinal samples of schoolchildren. A study in vitro.

María Teresa Pérez Morales,* Raquel Retana Ugalde,** José Óscar González Moreno***

RESUMEN

La OMS y la FDI han publicado que entre el 60 y 90% de los escolares padecen caries. En nuestro país, el Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Orales (SIVEPAB) 2012, reporta un 85% de caries a nivel nacional en población pediátrica. Los agentes anticariogénicos como el diamino y el fluoruro de plata son un tratamiento alentador, este agente puede actuar como bactericida o bacteriostático en función de su concentración y su capacidad para inhibir el crecimiento de estreptococos del grupo *viridans*, y por ende, de la caries. **Problema:** ¿Cuál es la efectividad bactericida del diamino fluoruro de plata (Saforide®) a diferente concentración sobre la microbiota cariogénica de escolares? **Objetivo:** Determinar la eficacia bactericida del diamino fluoruro de plata (DFP) a diferentes concentraciones en el crecimiento bacteriano de *Streptococcus mitis*, *S. mutans* y *S. salivarius* en muestras de saliva y dentina en escolares. **Material y métodos:** Se llevó a cabo un estudio experimental con una variable independiente, el efecto bactericida del diamino fluoruro de plata y se tomó el halo de inhibición como la dependiente. Se utilizaron medidas descriptivas como prueba de comparación y análisis de varianza usando *post-hoc* Tukey[‡] con una confianza del 95%, y análisis de datos exploratorios. **Resultados:** Se analizaron 100 muestras, de las cuales 48.3% correspondió a *S. mutans*, 41.4% a *S. salivarius* y 10.3% a *S. mitis*, se obtuvo una mayor zona de inhibición para las tres bacterias al 38% mostrando una diferencia estadísticamente significativa 12% ($p < 0.05$). También se observó un efecto bacteriostático al 12%, no así para el 38%, donde se encontró un efecto bactericida. **Conclusión:** Nuestros resultados sugieren que al 38% de la concentración hay un claro efecto bactericida en el grupo de estreptococos *viridans* y el 12% no se recomienda para la detención de caries debido al efecto bacteriostático.

Palabras clave: Diamino fluoruro de plata, Saforide®, efectividad bactericida.

ABSTRACT

WHO and FDI have ruled that 60-90% of schoolchildren are affected by caries. In our country, the System of Epidemiological Surveillance of Oral Pathologies (SIVEPAB) (SIVEPAB) 2012. Report a rate of 85% of caries nationally in pediatric population. Anticariogenic diamine agents such as silver fluoride are an encouraging decrease in treatment for these high rates of tooth decay in our country, this agent can act as bactericidal or bacteriostatic based on their concentration and their ability to inhibit endogenous metalloproteinase (MMP-2, 8, 9). **Problem:** What will be the bactericidal effectiveness of silver diamine fluoride different concentration on cariogenic Streptococci saliva samples taken from school and dentin? **Objective:** Determine the bactericidal effectiveness Silver diamine fluoride (SDF) to different concentration on bacterial growth of Streptococcus mitis, S. mutans, and S. salivarius in saliva samples and dentin in school. **Material and methods:** An experimental study was conducted as an independent variable the bactericidal effect of silver diamine fluoride was taken as dependent inhibition halo. Descriptive measures were used as a comparison test and analysis of variance using Post-hoc Tukey with 95% confidence, and exploratory data analysis. **Results:** One hundred samples, of which 48.3% corresponded to S. mutans, 41.4% to S. salivarius and 10.3% to S. mitis, were analyzed, we obtained a larger zone of inhibition for all three organisms at 38% showing a statistically significant difference from 12% ($p < 0.05$). It was also observed that the 12% sample bacteriostatic effect, not to the concentration of 38% was found a bactericidal effect. **Conclusion:** Our results suggest that 38% concentration has a bactericidal effect on Streptococcus viridans group and 12% showed not recommended for the arrest or detention of dentine caries bacteriostatic effect.

Keywords: Silver diamine fluoride, saforide®, bactericidal effectiveness.

* Egresada de la especialidad, profesora de asignatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.

** Jefa de Carrera de QFB, profesor de tiempo completo.

*** Profesor de tiempo completo de la carrera de QFB.

Recibido: 30 Julio 2018. Aceptado para publicación: 29 Marzo 2019.

‡ Las pruebas de rango post-hoc permiten determinar qué medias difieren. La prueba de rango post-hoc identifica subconjuntos homogéneos de medias que no se diferencian entre sí.

INTRODUCCIÓN

La caries es un problema de salud pública a nivel mundial, de ahí que la Organización Mundial de la Salud (OMS), en su último informe en el 2007, dictaminara que la caries se encuentra en un 60 a 90% de los niños en edad escolar;¹ por otro lado, en México, donde de acuerdo con los resultados del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales de esta país, (SIVEPAB) 2007, con información de usuarios que acuden a los servicios de salud odontológicos, el 100% padece caries en diversos grados, lo que genera un índice de necesidad de tratamiento en más del 70%.² Aunado a esto, en un informe más reciente (SIVEPAB) 2012, se examinó un total de 4,764 de niños y adolescentes de las 32 entidades federativas del país que acudieron a las diferentes instancias del sector salud con edades comprendidas de dos a 10 años de edad, los cuales presentaron un índice de caries de más del 85%.³ Sin embargo, a pesar de los altos índices de caries, el empleo de agentes anticariogénicos como el diamino fluoruro de plata (Saforide®) en nuestro país es limitado, reportándose en ensayos clínicos una efectividad del 90% en la detención de caries dentinarias y remineralización del esmalte en caries incipientes,^{4,5} por tanto, sería de gran utilidad emplearlo ampliamente en poblaciones pediátricas que no cuentan o son pocas sus posibilidades de acceder a los servicios de salud bucal, puesto que, si se usa de manera adecuada, el riesgo de fluorosis es bajo, es importante mencionar que este agente es relativamente de bajo costo, no requiere equipo especializado y es de fácil manipulación, por lo cual fue posible realizar esta investigación específicamente en población pediátrica; asimismo, los estudios que se han hecho en el campo microbiológico son escasos, de ahí la importancia de este estudio mediante el cual se pretende determinar la efectividad bactericida del diamino fluoruro de plata a diferente concentración 12 y 38% sobre estreptococos cariogénicos, así como determinar la sensibilidad de cada microorganismo mediante la formación de halos de inhibición en cultivo *in vitro*, lo cual fue la pieza clave de esta investigación para poder determinar la sensibilidad y el efecto bactericida. El propósito final de este estudio es promover futuras investigaciones encaminadas a determinar concentraciones mínimas inhibitorias sobre metaloproteinasas endógenas en una concentración que tenga un espectro antimicrobiano específico para la detención de caries y así ser usada en poblaciones

pediátricas de comunidades alejadas y contribuir a disminuir los altos índices de caries en la población pediátrica de países como México.

Objetivo. Determinar la efectividad bactericida del diamino fluoruro de plata a diferente concentración sobre el crecimiento bacteriano de los estreptococos (*Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mutans*) en muestras de saliva y dentina en escolares.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un estudio experimental en 100 muestras de microbiota cariogénica de niños de tres a seis años de edad de la Ciudad de México. Las muestras se transportaron en tubos de ensaye con caldo nutritivo; posteriormente, se sembraron en agar sangre, agar almidón y agar Mueller-Hinton por el método sembrado masivo y agotamiento de estrías; asimismo, se realizaron pruebas bioquímicas para identificar a los estreptococos cariogénicos del grupo *viridans*, sobre los cuales se probó el efecto bactericida del diamino fluoruro de plata a dos concentraciones diferentes colocando sensidiscos de papel filtro impregnados con el agente cariostático al 12 y 38% utilizando como control positivo clorhexidina al 2%. Finalmente, se evaluó el halo de inhibición para cada microorganismo.

Técnicas

- 1 Preparación y esterilización de medios de cultivo
- 2 Toma de muestra de caries grado 1 o 2 en tubos con caldo nutritivo
- 3 Sembrado por estría en placa de agar sangre de carne-ro al 5%
- 4 Sembrado por estría cerrada en tubo con medio Mueller-Hinton para obtención de cepario
- 5 Prueba bioquímica de catalasa sobre las colonias del cepario, para descartar los microorganismos catalasa+
- 6 Tinción de Gram para corroborar microorganismos Gram+
- 7 Sembrado en caldo rojo de fenol y manitol
- 8 Sembrado por estría en agar almidón-lugol para corroborar la degradación de almidón
- 9 Sembrado masivo con hisopo en placa de Mueller-Hinton para prueba de sensibilidad con sensidiscos de papel filtro
- 10 Lectura de halos de inhibición e identificación de microorganismos

RESULTADOS

Se analizaron 100 muestras, de las cuales el 48.3% correspondió a *S. mutans*, un 41.4% a *S. salivarius* y un 10.3% de *S. mitis*; en este sentido, obtuvimos un mayor halo de inhibición para los tres microorganismos al 38% mostrando una diferencia estadísticamente significativa con respecto al control ($p < 0.05$), resultados que se encuentran acordes a lo reportado por Almeida en el 2011.⁶ Asimismo, al evaluar los datos obtenidos con las concentraciones de Saforide® pudimos observar que al 12% sólo se muestra un efecto bacteriostático al encontrar crecimiento bacteriano y un halo muy reducido, no así para la concentración del 38% donde no hubo crecimiento (Figura 1 y Cuadro I).

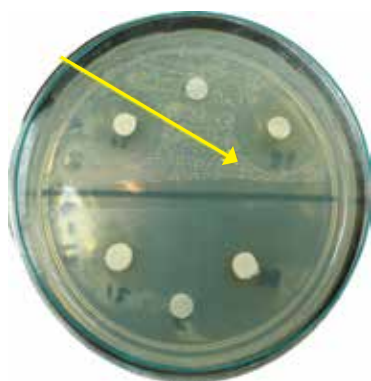
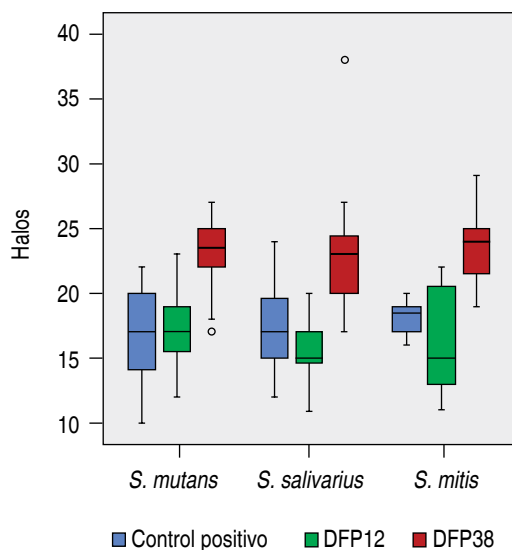


Figura 1. La gráfica muestra los promedios de los halos de inhibición.

Cuadro I. Resultados mediales de halos de inhibición para cada microorganismo.

Microorganismo	Saforide al 38%	Saforide al 12%	Clorhexidina 2%
<i>S. mutans</i>	23 mm	17 mm	17 mm
<i>S. mitis</i>	24 mm	15 mm	18.5 mm
<i>S. salivarius</i>	23 mm	15 mm	17 mm

En el presente cuadro se observan los valores de la mediana para los halos de inhibición a diferentes concentraciones que se obtuvieron con los diferentes microorganismos. $p < 0.05$

DISCUSIÓN

El fluoruro diamino de plata es un agente anticariogénico que puede comportarse como bactericida o bacteriostático con base en su concentración empleada, ha sido utilizado desde 1960⁷ en la detención de caries en países como Inglaterra, Brasil, China y Japón.⁷ Los iones de plata (Ag^+) contenidos en este agente anticariogénico han demostrado un efecto antibacteriano, la plata metálica (Ag) es relativamente inerte, puede interactuar con la humedad en el ambiente oral y posteriormente liberar iones de plata (Ag^+).^{7,8} Se ha descubierto en diversos ensayos bacteriológicos que los iones de plata poseen los siguientes efectos antibacterianos: destrucción de la estructura de la pared celular, desnaturalización de las enzimas citoplasmáticas de la bacteria, la inhibición de la replicación del ADN bacteriano, interacción con la cadena lateral reactiva de la collagenasa bacteriana para inactivar así sus funciones catalíticas.⁹ Finalmente, se ha investigado el efecto inhibitorio sobre metaloproteinasas (MMP) endógenas presentes en el colágeno tipo I de la dentina actuando de manera selectiva sobre MMP 2, 8 y 9.¹⁰ Sin embargo, a pesar de las investigaciones reportadas, la caries sigue siendo una problemática de salud pública a nivel mundial, reportando altos índices de esta enfermedad en la población pediátrica de nuestro país; tomando en cuenta esto, se realizó esta investigación de evaluación *in vitro* sobre estreptococos cariogénicos en donde los resultados obtenidos reportaron un efecto bactericida del diamino fluoruro de plata al 38%, y un efecto bacteriostático tanto para el diamino fluoruro de plata al 12% como para la clorhexidina al 2%, tomada como control positivo al ser considerada un potente agente antibacteriano en odontología, estos resultados

contrastan con lo reportado por investigadores como Almeida et al. (2011)⁶ y Medeiros et al. (2009)⁵ los cuales reportan una efectividad bactericida en ambas concentraciones tanto al 30% como para el 12%; con respecto a los halos de inhibición, se reportaron resultados similares a los encontrados en nuestra investigación; es decir, a mayor diámetro del halo mayor efecto antibacteriano, en especial observable para *S. mutans*. Asimismo, investigadores como Mei Lei et al. (2012) han estudiado cómo el diamino fluoruro de plata a una concentración al 38% inhibe específicamente las enzimas MMP 2, 8 y 9 producidas por los odontoblastos que al ser activadas por los cambios de pH degradan la matriz de colágeno extracelular de la dentina, incluso han reportado cómo el Saforide® al 12% inhibe básicamente a la MMP 2, y pobremente a las MMP 8 y 9, corroborando que a la concentración al 12% no es efectivo para el arresto de caries en dentina.¹⁰ La concentración al 38% ha demostrado mayor efectividad clínica en diversos ensayos clínicos sobre la concentración al 30% logrando así tener los mejores resultados de éxito clínico al ser aplicado en caries en dentina.^{5,11}

CONCLUSIÓN

Nuestros resultados sugieren que la concentración al 38% tiene un efecto bactericida sobre estreptococos del grupo *viridans* y al 12% mostró un efecto bacteriostático.

REFERENCIAS

1. Castillo CJ, Lazo NR. Prevención de caries dental en odontología pediátrica. En: Castillo MR. Estomatología pediátrica. Madrid: Ripano; 2011. pp. 116-123.

2. Secretaría de Salud. Programa de acción específico 2007-2012 Salud Bucal. México. 2008. Disponible en: <http://www.spps.gob.mx/salud-bucal>.
3. Resultados del sistema de vigilancia epidemiológica de patologías bucales SIVEPAP 2011. Julio 2012. México: 1-47ISBN 978-607-460-298-2. Disponible en: <http://www.spps.salud.gob.mx/>.
4. Yee R, Holmgren C, Mulder J, Lama D, Walker D, van-Palestein HW. Efficacy of silver diamine fluoride for arresting caries treatment. J Dent Res. 2009; 88 (7): 644-647.
5. Santos L de M, Reis JI, Medeiros MP, Ramos SM, Araujo JM. *In vitro* evaluation of fluoride products in the development of carious lesions in deciduous teeth. Pediatric Dentistry. 2009; 23 (3): 296-301.
6. Almeida L, Cavalcanti Y, Valença AM. *In vitro* antibacterial activity of silver diamine fluoride in different concentrations. Acta Odontol Latinoam. 2011; 24 (2): 127-131.
7. Chu CH, Lo EC. Promoting caries arrest in children with silver diamine fluoride: a review. Oral Health Prev Dent. 2008; 6 (4): 315-321.
8. Ditterich RG, Romanelli-Vasconcellos MCMO, Rastelli MC, Czlusniak GD, Stadler-Wambier D. Diamino Fluoreto de Prata: Uma Revisão de literatura. UEPG. 2006; 12 (2): 45-52.
9. Peng JJ, Botelho MG, Matinlinna JP. Silver compounds used in dentistry for caries management: a review. J Dent. 2012; 40 (7): 531-541.
10. Mei ML, Li QL, Chu CH, Lo EC. The inhibitory effects of silver diamine fluoride at different concentrations on matrix metalloproteinases. Journal of Dentistry. Dent Mater. 2012; 28 (8): 903-908.
11. Mei ML, Ito L, Cao Y, Lo ECM, Li QL, Chu CH. An ex vivo study of arrested primary teeth caries with silver diamine fluoride therapy. J Dent. 2014; 30: 1-8.

Correspondencia:

Raquel Retana Ugalde

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.
Coordinación de Postgrado.
Batalla 5 de Mayo, esq. Fuerte de Loreto
Col. Ejército de Oriente, 09230, México
Tel: 553334-1119, 5548348905.
E-mail: retanara@unam.mx