

EFFECTS *IN VIVO* DE LA APLICACIÓN DE UN BARNIZ DE NaF AL 5% SOBRE LA COLONIZACIÓN DE *S. MUTANS* EN ESMALTE.

EFFECTS OF *IN VIVO* APPLICATION OF 5% NAF OVER *S. MUTANS* ENAMEL COLONIZATION.

Iván Urzua A¹, Gustavo Moncada C¹, Vicente Aranguiz F¹, Julio Hoyos M¹, Claudia Cortes M² y María Teresa Ulloa F³.

1. Cirujano-Dentista. Departamento de Odontología Restauradora.

Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

2. Medico Cirujano. Medicina Interna, Hospital Clínico, Universidad de Chile

3. Tecnólogo Médico, Área de Microbiología, Facultad de Medicina. Universidad de Chile

PALABRAS CLAVE:

Caries Dental.
S. mutans.
Barniz de flúor.

RESUMEN

Se evaluaron los efectos *in-vivo* de la aplicación de Barniz de Fluoruro de Sodio al 5% (BFS) en la colonización de las superficies dentarias por *S. mutans*. Participaron en el estudio 44 pacientes, (20-30 años), bajo los siguientes criterios de inclusión: dentición completa (28 dientes), sin prescripción de antibióticos ni aplicación de fluoruros o colutorios antibacterianos durante los últimos 2 meses, ausencia de lesiones de caries o enfermedad periodontal activas. Los pacientes fueron distribuidos al azar en dos grupos de 22 pacientes cada uno: Grupo A: se les aplicó en tres oportunidades BFS (Duraphat, Colgate Oral Pharmaceutical) en el período de 10 días. Grupo B, sin tratamiento como grupo control. Se recolectó biopelícula de las superficies dentarias de esmalte en todos los pacientes, en cuatro oportunidades, al inicio, 7, 90 y 180 días. Las muestras fueron sembradas en medio de cultivo agar TYCSB. Los resultados del conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de *S. mutans* expresados en valor medio Log de UFC/ml (\pm DS) fueron para Grupo A: Inicial 4.43(\pm 0.18), 7 días 4.10(\pm 0.17), 90 días 4.30(\pm 0.19) y 180 días 4.40(\pm 0.16) y para el Grupo B: inicial 4.36(\pm 0.21), 7 días 4.36(\pm 0.19), 90 días 4.35(\pm 0.23) y 180 días 4.35(\pm 0.20). Se concluye que 3 aplicaciones de BFS al 5% durante 10 días, reducen significativamente las UFC *S. mutans* en la primera semana ($p < 0,05$), pero la reducción no fue significativa en el tiempo ($p > 0,05$) con tendencia a regresar a los niveles iniciales. Según este estudio, la aplicación del BFS al 5%, no se asocia con la reducción de las poblaciones de *S. mutans*.

KEYWORDS:

Dental Caries.
S. mutans.
Fluoride Varnish.

ABSTRACT

The aim of this *in vivo* study was to evaluate the quantitative effects of a 5% NaF Varnish over *S. mutans* colonization on human enamel. 44 patients, 20 -30 years old were enrolled, according to the following inclusion criteria: full dentition, not medicated with antibiotics in the previous 2 months, healthy systemic condition, no caries lesions, no active periodontal disease, and no local application of fluoride or antibacterial mouth rinse in the previous 2 months. The patients were randomly assigned in two groups. Group A: 22 patients treated with 3 applications of 5% NaF Varnish (Duraphat, Colgate Inc) in 10 days. Group B: without any treatment, as control. Six enamel surfaces in each patient were sampled determining the CFUs, at baseline, 7, 90 and 180 days. The samples were cultured in TYCSB agar and incubated at 37 °C under 3-5% CO₂ during 48 hours. The results of the study expressed in mean value of Log CFUs/ml (\pm SD) were for Group A at Baseline 4.43 (\pm 0.18), 7 days 4.10 (\pm 0.17), 90 days 4.30 (\pm 0.19), and 180 days 4.40 (\pm 0.16). Group B: at Baseline 4.36 (\pm 0.21), 7 days 4.36 (\pm 0.19), 90 days 4.35 (\pm 0.23) and 180 days 4.35 (\pm 0.20). This study showed a significant reduction in *S. mutans* at 7 days, ($p < 0.05$) after three applications of 5% NaF Varnish. This reduction was not significant in a long time ($p > 0.05$), backing to baseline level at 90 and 180 days. According with this study the application of 5% NaF Varnish is not associated with *S. mutans* reduction.

CORRESPONDENCIA/CORRESPONDENCE:
Ivan Urzua A. **E-mail:** icevancl@yahoo.com

INTRODUCCIÓN

Los barnices de flúor han demostrado ser una herramienta eficiente en la prevención de la caries dental tanto en niños, adultos mayores y principalmente en adolescentes. Ensayos clínicos muestran una importante reducción de la incidencia de la enfermedad en el rango de 18% a 70%. Strohmeier, Brambilla (2001), Petersson (1993), Seppa et al (1981). Revisiones sistemáticas muestran reducción de lesiones de caries del 38 % comparado con otros agentes como los geles acidulados de fluoruros que alcanzan niveles de 21% de reducción de lesiones (Marihno et al. 2003)

La aplicación tópica trimestral de un barniz de fluoruro de Na al 5% (BFS) reduce la tasa de progresión de lesiones de caries proximales en molares y premolares, en pacientes que presentan hasta ocho lesiones de caries. Cuando el número de lesiones es mayor, se ha concluido que su acción no es estadísticamente significativa. (Modeer et al. 1984).

También se ha observado que la aplicación de BFS cada 4 meses sobre la dentición temporal puede ser efectiva en la reversibilidad de lesiones cariosas activas no cavitadas de esmalte, afirmándose que es una opción terapéutica viable para el tratamiento de lesiones de caries no cavitadas particularmente en niños. (Autio Gold, Courts 2001, Helfenstein et al. 1994)

A pesar que la acción preventiva y de control de la caries dental por medio de los fluoruros está reportada sostenidamente desde hace más de 50 años, el mecanismo íntimo de su acción preventiva es un problema complejo y no comprendido del todo aún (Zaura-Arite, ten Cate 2000).

Actualmente se acepta que el mecanismo de acción más importante de los barnices de fluoruros para lograr su efecto cariostático local, es el depósito de grandes cantidades de flúor sobre el esmalte, saliva y placa que en presencia de lesiones incipientes, presentan gran efecto inhibitorio de la pérdida de minerales, favoreciendo la remineralización, por medio de la liberación de bajas concentraciones de flúor en el tiempo (Zaura-Arite, ten Cate 2000).

Contradictoria información está disponible sobre el efecto de los BFS sobre las colonias de *S. mutans*. Mientras en estudios previos se ha demostrado que el BFS afecta la fisiología del *S. mutans*, produciendo inhibición significativa en la formación de ácido láctico. Ekenback et al. (2001), en otro estudio de laboratorio se demuestra que la aplicación de BFS reduce cuantitativamente las colonias de *S. mutans*, y que su efecto mayor se logra después de tres aplicaciones (Urzu et al 2003). Otros autores han observado que los BFS no presentan efectos en el tiempo sobre las poblaciones de *Lactobacilos*, *S. mutans* o sobre el total de *Streptococcus*, tanto en saliva como en placa. (Ekenback 2000, Sandham 1991, Zickert, Emilson 1982)

El objetivo de este estudio *in vivo* fue determinar el efecto de tres aplicaciones consecutivas de un barniz de NaF al 5% en el periodo de 10 días, en la colonización de *S. mutans* en saliva y sobre las superficies dentarias de esmalte humano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Autorizado el estudio por la comisión de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, se procedió a

seleccionar 44 pacientes entre 20 a 30 años de edad, los que aceptaron por escrito el consentimiento informado y se adscribieron a los siguientes criterios de inclusión: pacientes con dentición completa (mínimo de 28 piezas dentarias en boca), ausencia de alteraciones sistémicas producto de patologías o tratamientos médicos, que no se encontraran en tratamiento con antibiótico o enjuagatorio bucal antiséptico, ni de flúor durante los dos últimos meses, no presentar enfermedad periodontal activa, lesiones de caries cavitadas o restauraciones dentarias infiltradas macroscópicamente.

En la etapa inicial se realizó la ficha clínica de cada uno de los pacientes incluyendo un recuento salival de las UFC/ml de *S. mutans* y el índice de placa.

Con lo cual se formaron 2 grupos randomizados homogenizando el riesgo cariogénico.

Grupo A: constituido por 22 pacientes tratados con barniz NaF al 5%(BFS) (Duraphat, Colgate Oral Phamaceutical). El BFS al 5% se aplicó sobre todas las superficies dentarias de los pacientes del grupo A, con minibrush (Econotips Hager & Werken GnCo Germany), en 3 aplicaciones diferentes en un periodo de 10 días, la primera aplicación el día 1, la segunda aplicación el día 5 y tercera el día 10, según protocolo de Petersson (1993).Cada paciente se cepilló sus dientes, sin crema dental, previa a la aplicación del barniz.

Grupo B: formado por 22 pacientes que no recibieron aplicaciones del barniz. Ambos grupos recibieron iguales indicaciones sobre su técnica de cepillado, no uso de colutorios, ni pastas de alto contenido de flúor, mantener frecuencia de cepillado constante durante el periodo del estudio y cambio del cepillo de dientes cada dos meses.

Se efectuaron tomas de muestras de placa dental a todos los pacientes en cuatro periodos de tiempo: previo a la aplicación del BFS, a los 7, 90 y 180 días. Las muestras de placa se tomaron siempre en las mismas 6 superficies vestibulares en cada uno de los pacientes, (4 molares y 2 incisivos) La recolección se efectuó frotando un mini-brush (VivaBrush, Vivadent), con presión manual y con 3 movimientos de mesial a distal. Cada minibrush fue depositado en un tubo Eppendorf con 1 ml de Buffer Fosfato pH 7. Las muestras fueron procesadas en el laboratorio el mismo día que fueron tomadas. Cada tubo fue agitado en Vortex (Maxi Mix II Barnsted Thermoryne, USA) por 1 minuto para liberar las bacterias del minibrush al buffer de esta suspensión se tomaron 20 ul. para realizar la siembra con la técnica de rastrillo en placas agar TYCSB (tripticase soya, extracto de levadura, cisteína, sacarosa y bacitracina) a 37°C y CO2 al 3-5 % durante 48 hrs. Para posteriormente efectuar el recuento de colonias y se expresa en logaritmo de UFC.

Los datos fueron analizados estadísticamente mediante el test t de student.

RESULTADOS

Al comparar ambos grupos, se observa la reducción significativa de UFC en placa, solamente en las muestras tomadas a los 7 días (Grupo A: 4,10 Grupo B: 4,36) (p=0,000). Al comparar las observaciones del grupo experimental y control, en la línea base, 90 y 180 días después de su aplicación, no presentan diferencias estadísticamente significativas. (**Tabla 1**)

Grupo	n	Basal	7 días	90 días	180 días
A	22	4.43 (±0.18)	4.10 (±0.17)	4.30 (±0.19)	4.40 (±0.16)
B	22	4.36 (±0.21)	4.36 (±0.19)	4.35 (±0.23)	4.35 (±0.20)
P		0,25	0,000	0,39	0,28

Tabla I.
Promedios de Unidades Formadoras de Colonias (UFCs)/placa. Separados por grupo, expresado en Log106 y ± DS en el tiempo.

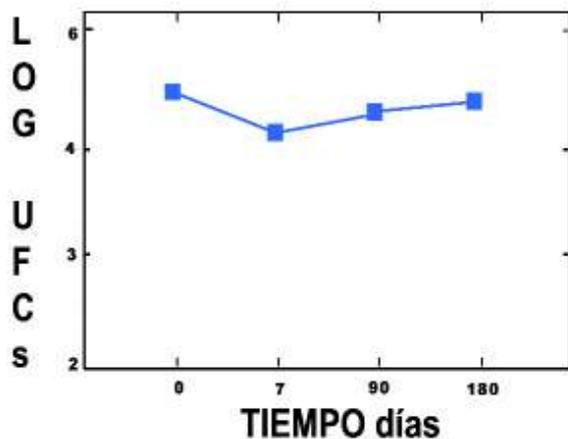


Gráfico I. Cantidad de UFC / placa en el tiempo para el grupo A.

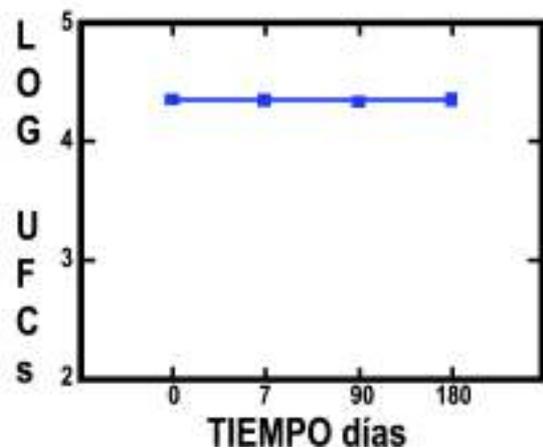


Gráfico II. Cantidad de UFC/ placa en el tiempo para el grupo B.

La curva del grupo B, muestra como la cantidad de UFCs se mantuvo constante con el valor basal durante los 3 periodos estudiados 7, 90 y 180 días.

RESULTADOS

Los fluoruros son ampliamente utilizados como efectivo agente en el control de lesiones de caries. Sin embargo Marquis (1995) estima que su acción anticaries se vincula principalmente por sus efectos sobre la fase mineral de los dientes, en el proceso de re mineralización, también los fluoruros han mostrado un importante efecto sobre las bacterias de la placa bacteriana, que son responsables de la acidificación que resulta en la desmineralización del diente

En el presente estudio se observa que la aplicación BFS al 5% sobre piezas dentarias de pacientes adultos, presenta efectos sobre la población de *S. mutans* como lo han demostrado *in vitro* durante los últimos años otras investigaciones de Zaurarite , ten Cate (2000), Ekenback et al. (2001) que contradicen lo publicado por Ekenback. (2000) cuando señala que no existe diferencia en la cantidad de colonias de *S. mutans* cuando se efectúan tratamientos preventivos con BFS al 5%. También son opuestos a este estudio los resultados publicado por Zickert , Emilsson (1982), quienes al observar la

acción de los BFS en escolares, concluyen que no presenta acciones sobre las poblaciones de *S. mutans* tanto en saliva como en placa dental. La explicación de estas diferencias podría estar dada por los periodos post tratamiento investigados por dichos autores, que incluyeron observaciones a los 4 -10 y 21 días, no considerando la observación a la semana y realizaron sólo dos aplicaciones del barniz (Zickert , Emilsson 1982). Sin embargo, todos ellos están de acuerdo que la aplicación tópica del BFS al 5% presenta clínicamente efecto carioestático.

En este estudio el efecto del BFS sobre la reducción en el número de colonias de *S. mutans* se observó restringido en el tiempo, observándose sólo en el periodo de 7 días una reducción estadísticamente significativa. Estas observaciones sugieren que el efecto preventivo sobre las lesiones de caries en esmalte, pareciera que no se explican por la acción antibacteriana de los barnices de fluoruro de sodio, especialmente si se considera el efecto temporal y reversible observado sobre las colonias de *S. mutans*.

El mecanismo de acción de los fluoruros ha sido discutido por muchos años; en estudios de laboratorio, Bowden (1990) demostró que a concentraciones bajas y constantes de flúor, los *S. mutans* producen menos ácidos. El mismo año Hamilton

publica que su acción sobre las bacterias orales inhibe el metabolismo de los carbohidratos debido en parte a la inhibición de la enzima glucolítica, enolasa, que convierte los 2-P-gliceratos en P- piruvatos. La reducción de los P-Enol, Piruvatos en la presencia de flúor, resulta en la inhibición de la vía de transporte del azúcar del sistema fosfo- transferasa. (Hamilton 1990, Bowden 1990)

Otra información indica que además de su efecto sobre la enolasa, también actúa sobre la membrana celular. Marquis (1990) incorporó el concepto que los fluoruros actúan reduciendo la tolerancia ácida de la placa bacteriana por medio de perturbar el flujo normal de protones a través de la membrana celular. Los *S. mutans* se encontraron inusualmente sensibles a los fluoruros, en parte, porque el translocador de protones ATPasa es directamente inhibido por el flúor de la biopelícula dentaria. Así los fluoruros sirven para formar ácido fluorhídrico y también para reducir la capacidad de la célula para expulsar protones, reduciendo la tolerancia ácida causada por el flúor en las bacterias, pudiendo esperarse como resultado, la concomitante reducción en el potencial cariogénico (Marquis 1990, Marquis 1995)

Otras observaciones sobre los mecanismos de acción de los fluoruros sobre los *S. mutans* señalan la acción directa sobre la inhibición de la acción de las peroxidases, al unirse los fluoruros a esta enzima bloqueándola. (Marquis 1990). 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 nuestros resultados en los cuales observamos que su efecto es de corto plazo (7 días) y transitorio en el tiempo.

Los resultados obtenidos en este estudio son similares a los observados por Ekenbach et al. (2001) en la acción después de la semana, coincidiendo que tal reducción no fue significativa al mes y 6 meses después de las aplicaciones de BFS, cuya tendencia fue a volver a los niveles cercanos al basal.

Lo observado para el grupo control también es importante, pues queda demostrado que en condiciones similares para ambos grupos, quienes no tuvieron contacto con el barniz, mantuvieron los niveles de UFC durante los 4 momentos estudiados.

La evidencia actual afirma que el principal producto que permanece en la interfase diente - saliva luego de la aplicación de estos barnices, son los gránulos de fluoruro de calcio, que juegan el rol de reservorio del ión flúor y que es capaz de acumularse en la biopelícula dental y en condiciones termodinámicas específicas es capaz de re-precipitar, formando cristales que son más resistentes al ataque ácido. (Beltran - Aguilar , Goldstein 2000)

Desde el punto de vista clínico el protocolo de aplicación de BFS, de Petersson et al. (1983), demostró que el método más eficiente para la aplicación ha sido el de 3 veces al año, efectuadas en un período de 10 días, siendo capaz de reducir la incidencia de lesiones de caries ínter-proximales, como también para detener la progresión de lesiones incipientes. Seppa et al. (1981) observaron que si bien resulta eficaz aumentar de dos a cuatro aplicaciones anuales de barnices de flúor, no provee protección adicional en una población de bajo riesgo de caries; no obstante en poblaciones con alta prevalencia de caries, aún protegida por aguas fluoruradas, el efecto cariostático del barniz de flúor, sugiere que no debe ser discontinuado.

CONCLUSIONES

Dentro de los parámetros establecidos para este estudio se puede concluir que tres aplicaciones consecutivas de un barniz de fluoruro de sodio al 5%, en un período de 10 días, es capaz de reducir las UFC de *S. mutans*, pero su efecto sólo se observó a los 7 días después de aplicado. La disminución de la población bacteriana fue de 53,4%. La reducción observada no fue mantenida a los 90 y 180 días, con tendencia a regresar a los niveles iniciales de UFC de *S. mutans*. El grupo Control, que no recibió tratamiento con barniz y recibió las mismas indicaciones que el grupo experimental, no presentó cambios estadísticamente significativos en la cantidad de UFC de *S. mutans* durante todo el estudio. Por lo tanto la acción beneficiosa de los barnices de fluoruro de sodio, en la prevención de la caries dental, no pareciera estar asociada a la reducción del agente infeccioso.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Autio Gold JT, Courts F: Assessing the effect of fluoride varnish on early enamel carious lesions in the primary dentition. *J. Am Dent Assoc* 2001; 132: 1247-1253.
2. Beltran- Aguilar ED, Goldstein JW. Fluoride Varnishes: A review of their clinical use, cariostatic mechanism, efficacy and safety *J Am Dent Assoc*, 2000;131: 589-596.
3. Bowden GHW. Effects of fluoride on the microbial ecology of dental plaque. *J Dent Res* 1990; 69: 653-659
4. Ekenback SB, Linder LE, Lonnie H. Effect of four dental varnishes on the colonization of cariogenic bacteria on exposed sound root surfaces. *Caries Res.* 2000; 34 (1): 70-74.
5. Ekenback SB, Linder LE, Sund ML, Lonnie H. Effect of fluoride on glucose incorporation and metabolism in biofilm cells of *Streptococcus mutans*.
6. *Eur.J.OralSci.*2001;109(3):182-6.
7. Hamilton 1990 Efectos Bioquímicos del flúor sobre las bacterias orales *J Dent Res.*1990;Feb;69 Spec N°:660-7.
8. Helfenstein U, Steiner M. Fluoride Varnishes (Duraphat): A meta-analysis. *Community Dent Oral Epidemiol* 1994; 22:1-5.
9. Marinho VCC, Higgins JPT, Logan S., Sheiham A. Fluoride Varnish for preventive dental caries in children adolescents. *The Cochrane Library*, Issue 3; 2003 Oxford Update software.
10. Marquis RE. Diminished acid tolerance of plaque bacteria caused by fluoride. *J Dent Res.* 1990; 69 Spec No:672-5.
11. Marquis RE. Antimicrobial actions of fluoride for oral bacteria action. *Can J Microbiol* 1995;41 (11):995-64.
12. Modeer T, Twetman S., Bergstrand F. Three-year study of the effect of fluoride varnish (Duraphat) on proximal caries progression in teenagers. *Scand J Dent Res.*1984;92 (5):400-7.
13. Petersson LG. Fluoride mouth rinses and fluoride varnishes. *Caries Res.* 1993;27Suppl1:35-42.
14. Sandham HJBrown J, Chan KH, Phillips HI, Burgess RC, Stokl AJ. Clinical trial in adults of an antimicrobial varnish for reducing *mutans* streptococci. *J Dent Res.* 1991 Nov;70(11):1401-8.
15. Seppa L, Tuutti H, Luoma H. A 2-year report on caries prevention by fluoride varnishes in a community with fluoridated water. *Scand J Dent Res.* 1981;89(2):143-8.
16. Strohmenger L, Brambilla E. The use of fluoride varnishes in the prevention of dental caries: a short review. *Oral Dis.* 2001;7(2):71-80.
17. Urzua I, Moncada G, Aranguiz V, Uzeda P, Ulloa MT. Reducción de la colonización de *Streptococcus mutans* sobre dientes, con una, dos y tres aplicaciones de un Barniz de Fluoruro de Na al 5%. Estudio in-vitro. *Rev Facultad Odont U de Chile.* 2003;21(1):25-32
18. Zaura-Arite E, ten Cate JM. Effects of fluoride and chlorhexidine containing varnishes on plaque composition and on desmineralization of dentinal grooves in situ. *Eur J Oral Sci.* 2000;108(2):154-61.
19. Zickert I, Emilson CG. Effect of a fluoride containing varnish on *S. Mutans* in plaque and saliva. *Scand J Dent Res.* 1982; 90 (6):423-8.

ARTÍCULO RECIBIDO: 26/03/06

ARTÍCULO ACEPTADO: 17/06/06