



**Universidad Autónoma del Estado de México**

**Facultad de Odontología**

**Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Odontología  
“Dr. Keisaburo Miyata”**

**“Efecto remineralizante de pastas dentales a base de Xilitol,  
*Juniperus communis*, *Camellia sinensis*  
y su relación con la resistencia al descementado de brackets:  
estudio *in vitro*”**

## **Tesis**

**Que para obtener el grado de:  
Maestra en Ciencias Odontológicas**

**Presenta:**

**C.D. Sandra Isabel Jiménez Gayosso**

**Tutor académico**

**Dra. en C.S. Edith Lara Carrillo**

**Tutores adjuntos**

**Dr. en O. Rogelio José Scougall Vilchis  
Dr. en C.M. Raúl Alberto Morales Luckie**



2017-2021

**Toluca, Estado de México, febrero de 2019**

## ÍNDICE

| Contenido   | No. página |
|---|------------|
| Resumen.....  | 3          |
| Introducción.....   | 4          |
| 1.- Antecedentes.....   | 6          |
| 1.1 Esmalte dental.....   | 6          |
| 1.1.1 Propiedades del esmalte.....  | 7          |
| 1.1.2 Defectos del esmalte.....   | 7          |
| 1.1.2.1 Caries dental.....  | 7          |
| 1.1.2.1.1 Desarrollo de la caries dental.....                               | 8          |
| 1.1.2.1.2 Proceso de desmineralización-remineralización<br>del esmalte..... | 11         |
| 1.2 Método de detección de riesgo a caries.....                             | 13         |
| 1.2.1 Fluorescencia infrarroja por láser: Diagnodent.....                   | 14         |
| 1.3 Efectos terapéuticos de sustancias naturales.....                       | 16         |
| 1.3.1 Xilitol.....  | 16         |
| 1.3.2 <i>Juniperus communis</i> .....                                       | 17         |
| 1.3.3 <i>Camellia sinensis</i> .....  | 17         |
| 1.4 Resistencia al descementado de brackets.....                            | 19         |
| 1.4.1 Fuerzas de adhesión al esmalte.....                                   | 20         |
| 1.4.1.1 Técnica de adhesión al esmalte.....                                 | 21         |
| 2.- Planteamiento del problema.....   | 23         |
| 3.- Justificación.....  | 25         |
| 4.- Hipótesis.....  | 26         |
| 5.- Objetivos.....  | 27         |
| 6.- Material y Métodos.....   | 28         |
| 7.- Resultados.....   | 43         |
| 7.1 Artículo publicado.....   | 43         |
| 7.2 Artículo completo publicado.....  | 44         |
| 7.3 Resultados adicionales.....   | 53         |
| 8.- Discusión.....  | 60         |
| 9.- Conclusión.....   | 63         |
| 10.- Referencias.....   | 64         |
| 11.- Anexos.....  | 72         |

## RESUMEN

**Objetivo:** Explorar *in vitro* el efecto remineralizante de pastas dentales a base de Xilitol, *Camellia sinensis* y *Juniperus communis* y su relación con la resistencia al descementado de brackets. **Material y Métodos:** Se realizó un estudio experimental *in vitro* con una muestra de 138 premolares humanos, extraídos por razones ortodóncicas, que fueron tratados con 3 pastas experimentales y una pasta control con fluoruro. En 18 dientes se midieron los porcentajes atómicos de Ca y P mediante espectroscopía de rayos X por dispersión de energía (EDS). Además, se visualizó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) la superficie del esmalte en los dientes tratados. Mientras que 120 dientes fueron evaluados con fluorescencia láser (DIAGNOdent Pen®). Las mediciones de todos los dientes se llevaron a cabo en tres etapas: pretratamiento, posterior a un proceso de desmineralización artificial y posterior al tratamiento con las pastas. Después del tratamiento con las pastas se llevó a cabo la medición de la resistencia al descementado de brackets y el Índice de Adhesivo Remanente. En el análisis estadístico se utilizaron las pruebas de ANOVA de un factor, correlación de Pearson y ANOVA para muestras relacionadas. **Resultados:** Quien presentó mayor ganancia de iones de P fue el xilitol y el *Juniperus communis* comparado con el control ( $p < 0.01$ ). En cuanto al Ca, quien presentó más ganancia de iones fue el grupo tratado con la pasta a base de xilitol comparado con el grupo control ( $p < 0.01$ ). En la prueba de correlación de Pearson entre Ca y P, en todos los grupos se observaron correlaciones estadísticamente significativas ( $p < 0.01$ ), oscilando entre  $r = 0.7413$  (Grupo Xilitol) y  $r = 0.9510$  (Grupo Control). **Conclusiones:** La pasta con contenido de Xilitol fue la que mostró mayor propiedad remineralizante, tanto en el análisis mediante EDS, así como en las imágenes por SEM.

## INTRODUCCIÓN

El equilibrio de desmineralización y remineralización en la caries dental es un elemento fundamental para entender la presencia y avance de lesiones iniciales o lesiones subclínicas.<sup>1-3</sup> Estos ciclos son una serie compleja de eventos en la superficie del diente, que tienen lugar en los cambios ecológicos en la biopelícula dental.<sup>4,5</sup> Se observan clínicamente al inicio como una pequeña área desmineralizada. La remineralización es una ganancia neta de iones hacia los tejidos dentales, que reemplaza a la pérdida por el proceso de desmineralización. Esto se da mediante un proceso físico-químico que incluye la sobresaturación de iones en la solución con respecto al esmalte, la formación de núcleos y el crecimiento de cristales.<sup>6,7</sup>

Ya que el control de la caries dental sigue siendo un reto<sup>8</sup> como uno de los principales problemas en salud pública en el mundo, sus impactos negativos no deben ser subestimados. Entre otros efectos, dolor dental, pérdida de dientes, efecto sobre el bienestar general y la calidad de vida.<sup>9,10</sup> Es necesario buscar tratamientos efectivos que ayuden a prevenir el avance de esta enfermedad en etapas incipientes.<sup>1-3</sup> Durante el tratamiento de ortodoncia es común observar descalcificaciones del esmalte, así como la aparición de manchas blancas y caries.

La desmineralización del esmalte puede afectar la adhesión de brackets y por consiguiente presentar menor resistencia al descementado. El uso de agentes remineralizantes antes de la colocación de la aparatología fija, puede revertir o detener, así como prevenir los procesos de desmineralización del esmalte. Sin embargo, en la literatura odontológica no existe una clara información sobre el efecto de estos agentes agregados a las pastas dentales en la adhesión de brackets y otro tipo de aparatología.<sup>11</sup>

Es indiscutible la importancia del fluoruro, como un método viable y económico; muy probablemente, continuará siendo punta de lanza en la prevención de caries dental. Sin embargo, hay compuestos que sirven como coadyuvantes en el proceso de remineralización.<sup>12</sup> Actualmente existe un creciente interés por opciones que no contengan fluoruro; estos compuestos son biológicamente activos, principalmente

derivados de productos naturales como lo son el té (p. ej, la *Camellia Sinensis* o té verde), el café, las uvas, propóleos, así como algunas hierbas y setas asiáticas<sup>13</sup>, al igual que sintéticos como el fosfato de calcio amorfo, caseína y xilitol.<sup>14,15</sup> El xilitol [(CHOH)3(CH2OH)2] es un edulcorante no acidogénico; se asocia con el Ca en solución acuosa para inhibir la disolución de iones de calcio o fosfato del esmalte, actuando así como un transportador del calcio requerido para la remineralización del esmalte.<sup>16</sup>

# 1. ANTECEDENTES

## 1.1 Esmalte dental

El tejido duro dental comprende una combinación de esmalte y dentina, los cuales presentan diferentes composiciones y estructuras. Por su parte, el esmalte se encuentra más mineralizado que el hueso o la dentina. Se estima que contiene aproximadamente 96% de mineral por peso y 87% en volumen.<sup>17</sup> Es considerado el tejido más duro del cuerpo humano, debido a su bajo contenido de agua. Estructuralmente, el esmalte cubre toda la corona anatómica del diente por encima de la encía, protegiendo la dentina.<sup>18,19</sup>

Es un tejido translúcido, su color varía entre blanco-amarillento y un blanco grisáceo; sin embargo, este color no es propio, sino que depende de la dentina. Su transparencia puede atribuirse a variaciones en el grado de calcificación y homogeneidad: a mayor mineralización, mayor translucidez. Esta transparencia es muy importante en el cuidado bucal, ya que permite estudiar las áreas descalcificadas por caries mediante fibra óptica, pues el esmalte difundirá la luz blanca según su grado de mineralización.<sup>20</sup>

El esmalte posee millones de varillas que van de la unión amelodentinaria a la superficie del diente, las varillas tienen un diámetro de 4 a 7  $\mu\text{m}$  y de 6 a 8  $\mu\text{m}$  para dientes temporales y permanentes, respectivamente; entre cada varilla hay una matriz proteínica.<sup>17</sup> Se compone de 96% de material inorgánico, 3% de material orgánico y 1% de agua. La parte inorgánica se conforma principalmente de fosfato cálcico llamado hidroxiapatita  $[\text{Ca}_{10} (\text{PO}_4)_6 (\text{HO})_2]$ ; lo cual le atribuye la resistencia mecánica al roce, desgaste, etc, además de, permitirle interactuar con el medio vecino, como la saliva y sus componentes o elementos que se puedan colocar en la cavidad bucal.<sup>21</sup>

Sin embargo, esta hidroxiapatita no es pura como se presenta en algunos minerales en su estado natural, si no que se encuentra con impurezas de sodio, magnesio y cloro, principalmente.<sup>20</sup>

Los componentes principales que originan un cristal de hidroxiapatita (calcio, fosfato y grupo hidroxilo) se arreglan en configuraciones repetidas, conocidas como

unidades celulares, éstas son la subdivisión más pequeña de una sustancia cristalina y representa por completo la estructura estequiométrica del cristal.<sup>17</sup>

### 1.1.1 Propiedades del esmalte

El esmalte dental consta de ciertas propiedades, entre las cuales podemos nombrar las siguientes:

- **Dureza:** Es la resistencia superficial de una sustancia a ser rayada o a sufrir deformaciones de cualquier índole, motivadas por presiones. Presenta una dureza que corresponde a 5 en la escala de Mohs y equivale a la apatita.
- **Elasticidad:** Es muy escasa pues depende de la cantidad de agua y de sustancia orgánica que posee. Es un tejido frágil con tendencia a las macro y micro fracturas, cuando no tiene un apoyo dentinario elástico.
- **Permeabilidad:** Es extremadamente escasa. El esmalte puede actuar como una membrana semipermeable, permitiendo la difusión de agua y de algunos iones presentes en el medio bucal.
- **Radioopacidad:** Es la oposición al paso de los rayos X. En el esmalte ésta es muy alta, ya que es la estructura más radiopaca del organismo humano por su alto grado de mineralización.<sup>21</sup>

## 1.1 Defectos del esmalte

### 1.1.1 Caries dental

La caries dental sigue siendo uno de los principales problemas en salud pública, se encuentra dentro de las enfermedades más comunes en todo el mundo. Es la principal causa de dolor oral y pérdida dental, además de traer consigo dificultades para masticar, problemas del habla, trastornos generales de salud, problemas psicológicos, y en última instancia, reduce la calidad de vida.<sup>9,10</sup> Es ampliamente aceptado que la salud oral y general puede influir en la calidad de vida. Según el

Informe Mundial de la Salud Oral del año 2003, las enfermedades orales impiden las actividades escolares y laborales, lo cual genera pérdida de muchas horas productivas cada año en todo el mundo.<sup>22</sup>

A nivel mundial, la prevalencia y el patrón de la caries han cambiado considerablemente en las últimas 3 décadas. Por otra parte, en los países industrializados, la prevalencia y experiencia de caries dental en niños han disminuido enormemente.<sup>9,10</sup>

Sin embargo, a pesar de los avances en la odontología preventiva, la caries dental sigue siendo considerada como una de las enfermedades más prevalentes que afectan a los seres humanos.

La hipótesis de la ecología de la placa, propone que la caries dental es una consecuencia de los cambios en el equilibrio natural de la microflora residente, los cuales son provocados por una alteración en las condiciones ambientales locales. Algunas condiciones intraorales, tales como el consumo de sacarosa, puede generar cambios ambientales en la biopelícula dental, los cuales posteriormente pueden estimular un cambio en la composición bacteriana de la biopelícula, favoreciendo a las especies más acidogénicas y acidúricas.<sup>23</sup>

#### **1.1.1.1 Desarrollo de la caries dental**

La caries dental es considerada como una de las enfermedades más antiguas de la humanidad, siendo una enfermedad infecciosa de origen multifactorial.<sup>10</sup> Se considera una destrucción localizada de los dientes; la destrucción de tejido en el esmalte, el daño es principalmente causado por ácidos orgánicos como el ácido láctico. Los ácidos son producidos por microorganismos que fermentan carbohidratos sobre la superficie dentaria, particularmente azúcares.<sup>25</sup>

Entre los microorganismos más cariogénicos que se encuentran en la placa dental están: *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* y *Actynomices*, los cuales crecen en un pH de 5.5 o menos (pH crítico) cuando se combinan con los carbohidratos y son productores de etanol o ácido láctico, si éstos son removidos de la superficie dental, la nueva placa formada puede tener menos potencial cariogénico.<sup>26,27</sup> Gran parte de la población la padece de forma innecesaria, debido sobre todo al estilo de vida

(dieta e higiene bucal inadecuada), así como al acceso restringido a los servicios de salud odontológicos, la falta de cultura con respecto al cuidado bucal, debido a los elevados costos que la atención odontológica representa.<sup>10</sup>

Sin embargo, se considera que los principales microorganismos implicados en la caries dental son:<sup>28</sup>

- *Streptococcus sanguis* (primero en colonizar la película dental)
- *Streptococcus sobrinus*
- *Streptococcus mitis*
- *Streptococcus salivarius*
- *Streptococcus mutans* (predomina 7 días después de la colonización bacteriana)
- *Streptococcus oralis*
- *Actinomyces viscosus*
- *Actinomyces naeslundii*
- *Haemophilus*
- *Lactobacillus acidophilus*<sup>28</sup>

Por otro lado, el proceso de producción de caries dental, es hoy en día bien conocido; aunque algunos detalles aún no se han logrado dominar del todo. En el mecanismo de formación de la caries, la placa en la superficie del diente consiste en una película bacteriana que produce ácidos como un subproducto de su metabolismo (después de ingerir alimentos el pH desciende durante 5 minutos hasta 5.5 (pH crítico); la fermentación es un proceso químico que se da en forma natural y es causada por una de las varias funciones de las enzimas, lo cual se explica de la siguiente manera: la acción enzimática de las bacterias desdobla la sacarosa, produciendo polisacáridos como los dextranes (poliglucán) y los levanes (polifrufrán), los levanes y los dextranes una vez dentro de la placa dentobacteriana, sintetizan ácidos que en su momento comienzan con la disolución del mineral de fosfato de calcio del esmalte dental o la dentina, a este proceso se le conoce como desmineralización.<sup>29,30</sup>

Si este proceso no se detiene a tiempo o no existe una remineralización (mediante la agregación de minerales a través de la saliva, donde el pH vuelve a sus niveles de equilibrio entre 20 y 40 minutos más tarde a lo que se conoce como Curva de Stephan), entonces se produce una cavidad franca. La caries dental del esmalte se observa clínicamente por primera vez como la llamada "lesión de mancha blanca", la cual se trata de una pequeña área desmineralizada por debajo de la placa dental.

El proceso de desmineralización continúa cada vez que hay carbohidratos en la cavidad bucal. La saliva tiene numerosas funciones, incluyendo la capacidad búffer o amortiguadora (neutralizante) de los ácidos y la remineralización, proporcionando minerales que pueden reemplazar a los que se han disuelto durante la desmineralización.<sup>17</sup> Cabe resaltar que todos los carbohidratos que sean fermentables tales como la glucosa, sacarosa, fructosa o almidón cocido, pueden ser metabolizados por las bacterias acidogénicas y crear ácidos orgánicos como subproductos.<sup>31</sup>

Los ácidos producidos se difunden a través de la placa y el esmalte (o en su caso en la dentina, si ésta se expone), descomponiéndose para producir iones de hidrógeno, los cuales disuelven fácilmente el mineral, además de liberarse calcio y fosfato en solución, que se difunden fuera del diente. Por su parte, el ácido láctico se disocia más fácilmente que los otros ácidos, produciendo iones de hidrógeno que reducen rápidamente el pH en la placa; con esta reducción los ácidos se difunden aceleradamente en el esmalte o la dentina subyacente.<sup>5</sup>

Por otra parte, los dos grupos más importantes de bacterias que producen predominantemente el ácido láctico son los *S. mutans* y los *Lactobacilos*; cada grupo a su vez contiene varias especies, cada una de las cuales son consideradas como cariogénicas; los *Streptococcus* incluyen *S. mutans* y *S. sobrinus*. Las especies de *Lactobacilos* también son productores prolíficos de ácido láctico y aparecen en la placa antes de observarse clínicamente la caries.<sup>32</sup>

### 1.1.2 Proceso de desmineralización-remineralización del esmalte

El proceso de desmineralización-remineralización del esmalte es un ciclo continuo, pero variable, que se repite con la ingesta de los alimentos. Los ácidos orgánicos producidos por el metabolismo bacteriano, causan la disolución de iones calcio y fosfato a partir de la superficie del esmalte. Esta disolución puede causar en tan solo 4 semanas, lesiones de mancha blanca o caries tempranas. Si la difusión de iones en la superficie del esmalte continúa, se formará finalmente una cavitación.<sup>33</sup>

La desmineralización del esmalte consiste en la pérdida de la apatita del esmalte, siendo, en circunstancias orales generales, el resultado de las condiciones ácidas, producidas por el metabolismo de los microorganismos cariogénicos de la placa dental.<sup>17</sup>

Como ya es sabido, los cristales de hidroxiapatita del esmalte se componen de iones de calcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ), iones fosfato ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) e iones hidroxilo ( $\text{OH}^-$ ) en una relación estequiométrica 10:6:2, los cuales permanecen unidos dentro del cristal por enlaces iónicos, gracias a sus fuertes cargas eléctricas opuestas, que se equilibran entre ellos para cumplir estrictamente con la relación y reproduciendo un patrón de alta organización.

Debido a que, todos los iones en los cristales, el  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{PO}_4^{-3}$  y  $\text{OH}^-$  del esmalte pueden interactuar con las moléculas de agua, que también tienen carga eléctrica. Si se deja un fragmento de esmalte suficiente tiempo en agua, los iones serán retirados uno a uno por las moléculas de agua, por lo que los cristales perderán iones hasta que se alcanza una concentración tan alta en el agua circundante que ya no se podrán seguir extrayendo del cristal.<sup>17</sup> En este caso se obtendrá una solución subsaturada, que quiere decir una solución con una concentración de iones por debajo de la que se encuentra en el cristal, que favorece que el agua interactúe con cada ion y lo retire del cristal (donde está en mayor concentración). Así produce la salida de iones hacia el medio y dirige el proceso hacia la pérdida de iones (desmineralización).<sup>34</sup>

El proceso de desmineralización de un cristal se detiene cuando, después de salir un gran número de iones o por la adición de éstos, se alcanza una alta

concentración de iones en el medio alrededor del cristal. En este caso, la solución está sobresaturada de iones y el proceso se conduce hacia la remineralización, es decir, a la deposición de iones sobre los cristales ya formados.

Por su parte, la remineralización se define como la ganancia neta de material calcificado en la estructura dental, que reemplaza el que previamente se había perdido por desmineralización. Esto se da mediante un proceso físico-químico que incluye la sobresaturación de iones en la solución con respecto al esmalte, la formación de núcleos y el crecimiento de cristales.

Cuando la solución está sobresaturada de iones, éstos comienzan a formar enlaces y a deshidratarse, formando núcleos sólidos. Los núcleos se agrupan para precipitar en forma de cristales en aquellos espacios del esmalte que, debido a la desmineralización, tienen mayor área de contacto. Por último, los cristales precipitados crecerán de forma isotrópica (en diferentes direcciones y velocidades) por deposición de iones en sus diversas caras (Fig. 1).<sup>34,35</sup>

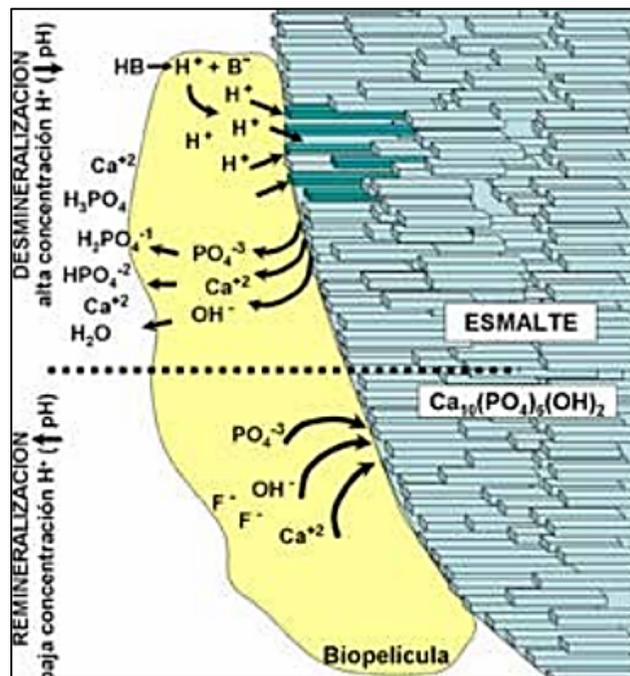


Fig. 1 Proceso desmineralización-remineralización.

Fuente: La remineralización del esmalte bajo el entendimiento actual de la caries dental. Univ Odontol. pp. 49-59.

### **1.3 Método de detección de riesgo a caries**

La lesión inicial, denominada mancha blanca, es la primera evidencia visible de actividad cariogénica en la superficie del tejido dentario. Esta evidencia es la consecuencia del acúmulo de numerosos episodios de desmineralización y mineralización. Actualmente las lesiones iniciales de caries o lesiones precavitadas son más frecuentes que las lesiones con cavidades francas en las superficies dentales.<sup>36</sup>

Por otra parte, se ha demostrado que la detección de caries en fosas y fisuras es más difícil. Una de las razones mencionadas, es la insolubilidad del esmalte reforzada por el fluoruro en la superficie dental que da lugar a la falta de detección de caries, razón por la cual diferentes organizaciones e instituciones han aprovechado el progreso de la tecnología y equipos para su detección, incluso capaces de detectarla en sus etapas iniciales.<sup>37</sup>

Existen diferencias sustanciales en la forma de realizar el diagnóstico de las lesiones cariosas. Cuando el odontólogo detecta lesiones oclusales por medio de herramientas diagnósticas convencionales, como la exploración visual-táctil (altamente subjetiva), el diagnóstico es dudoso, y los diferentes criterios de actuación ante las lesiones cariosas precoces conduce a actitudes terapéuticas muy desiguales.

Esto trae como consecuencia un alto porcentaje de retratamientos, o, por el contrario, pueden dejar de tratar numerosas lesiones con afectación dentinaria que exigían la intervención operatoria.

Existen diversos métodos para el diagnóstico de la caries dental, que incluyen el examen visual, radiografía digital, dispositivos con fluorescencia, tales como la fluorescencia cuantitativa inducida por la luz (QLF), la fluorescencia láser (LF o DIAGNOdent) y la cámara de fluorescencia (FC).<sup>37</sup>

### 1.3.1 Fluorescencia infrarroja por láser: Diagnodent

Hibst y Gall en 1998, desarrollaron un dispositivo láser para la detección de caries (Diagnodent® KaVo, Biberach, Alemania) que utiliza la fluorescencia inducida por láser: 655 nm InGaAsP (indio, galio y arseniuro de fósforo) láser diodo. Se ha sugerido que la caries asociada a las bacterias o sus subproductos podrían ser la fuente de reacción a la creciente fluorescencia. La fluorescencia laser ha sido sugerida para la detección de cálculo, así como para determinar el grado de desmineralización de las lesiones de caries.<sup>38</sup>

Permite detectar las mínimas modificaciones invisibles, hasta una profundidad de 2 mm dentro de la estructura dental.

El principio de detección de caries se basa en calcular la diferencia entre la fluorescencia de la zona desmineralizada y el esmalte que se encuentra sano, arrojando de esta manera un valor numérico entre 0 y 99, el cual es indicado en la pantalla del dispositivo, donde números mayores son una indicación de una mayor área de caries.<sup>37</sup>

El láser de diodo semiconductor con una longitud de onda de 655 nm ilumina la superficie dental a través de una sonda flexible, con luz láser roja que penetra varios milímetros la estructura dentaria, donde una parte es absorbida por los componentes orgánicos e inorgánicos y otra parte es emitida como fluorescencia, dentro del espacio infrarrojo, hacia el dispositivo a través de nueve fibras ópticas dispuestas concéntricamente alrededor de la fibra óptica central, posteriormente la información es cuantificada por los fotodiodos del equipo y convertida a dígitos, los cuales se mostrarán en la pantalla digital de forma cuantitativa para reflejar la intensidad de la fluorescencia detectada (en unidades relacionadas con un estándar de calibración).<sup>39,40</sup>

El aparato láser cuenta con dos sondas para detectar caries: sonda de fisura F (azul) para escanear superficies planas y fisuras, sonda de superficies proximales A (negra) para escanear las zonas proximales. Brinda la ventaja de detectar las mínimas modificaciones invisibles, hasta de una profundidad de 2mm dentro del

diente, debido a que la profundidad de la mancha blanca es de 75 µm, por lo que se tiene un resultado fiable en la detección temprana de caries.

El diagnóstico es basado en los valores que presenta DIAGNOdent pen, determinando el diagnóstico de caries, así como las necesidades de tratamiento del área examinada (Tabla 1).<sup>41</sup>

**Tabla 1: Valores establecidos por DIAGNOdent Pen**

| <b>Valor DIAGNOdent</b> | <b>Diagnóstico</b>           | <b>Tratamiento</b>   |
|-------------------------|------------------------------|--|
| <b>0-12</b>             | Sustancia dental sana        | Medidas profilácticas normales (pasta dentífrica de flúor)   |
| <b>13-24</b>            | Desmineralización incipiente | Medidas profilácticas intensivas (fluoración, remineralización)  |
| <b>&gt;25</b>           | Desmineralización intensa    | Procedimientos restauradores mínimamente invasivos (remineralización, restauración en lesiones importantes). |

Fuente: [www.kavo.diagnodentpen.pdf](http://www.kavo.diagnodentpen.pdf)

## 1.4 Efecto terapéuticos de sustancias naturales

### 1.4.1 Xilitol

El xilitol o pentinol es un alcohol azucarado natural de cinco carbonos, empleado durante muchos años como edulcorante no acidógeno.<sup>42</sup> Un aspecto importante del xilitol es que no puede ser fermentado por las bacterias de la placa dental, siendo considerado que el efecto que presenta contra la caries, se debe a su capacidad para inhibir el crecimiento y el metabolismo del grupo *S. mutans*, así como de la placa dentobacteriana.

Entre los productos que lo contiene se encuentran: la pasta dental, goma de mascar y enjuague bucal. Actualmente, se incorpora como edulcorante en varios productos: dulces, gomas de mascar, confitería, productos de higiene oral, cosméticos y medicamentos.<sup>43</sup>

Algunos investigadores han indicado que el xilitol puede estar involucrado en el proceso des-remineralización del esmalte, actuando como portador de  $\text{Ca}^{2+}$ , el cual es necesario para la remineralización. También se ha demostrado que una combinación de fluoruro y xilitol es más eficaz contra la caries que el fluoruro solo. Sin embargo, el grado de beneficio del xilitol en combinación con fluoruro en productos orales tópicos, tales como la pasta dental, aún no está claro con respecto al proceso de remineralización.<sup>44,45</sup>

El efecto y mecanismo remineralizante del xilitol actúa cuando los alimentos o la goma de mascar contiene materiales que estimulen la salivación y no puedan ser fermentados; entonces, la placa y a su vez la superficie dental, quedan expuestas a un ambiente con un pH que se acerca al de la saliva, esto favorece la remineralización del diente. Cuando estos eventos suceden en repetidas ocasiones después de episodios de desmineralización, es probable que ocurran episodios de remineralización de importancia clínica potencial.<sup>46</sup>

#### **1.4.2 Enebro (*Juniperus communis*)**

La planta de Enebro está ampliamente diseminada en Croacia y crece en regiones templadas de Europa, Asia y América del Norte, produce bayas azul-negro (conos femeninos) que son la fuente donde se extrae el aceite esencial.

El aceite esencial de bayas de enebro tiene propiedades diuréticas, irritación gastrointestinal y propiedades antisépticas.<sup>47</sup> Sin embargo, se ha encontrado efecto antimicrobiano ante *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecium*.<sup>48,49</sup>

Se caracteriza por presentar actividad bactericida frente a microorganismos gram negativos como lo son *Salmonella enteritidis*, *Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli* y positivos como *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus flavus*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*.<sup>47</sup>

#### **1.4.3 Té verde (*Camellia sinensis*)**

El té verde o *Camellia sinensis* por su nombre científico, es esencialmente originario de China, posteriormente fue trasladado a la India y Japón, para más tarde, hacerse popular en Europa, Rusia y, por último, en Irán. Se define por tener numerosos beneficios medicinales, debido principalmente a sus propiedades antibacterianas y antioxidantes.<sup>50</sup>

Los componentes eficaces del té verde se atribuyen principalmente a su contenido de polifenoles comúnmente conocidos como catequinas, incluyendo epigallocatequina-3-galato, epigallocatequina, epicatequina-3-galato y epicatequina, las cuales presentan una amplia gama de actividades biológicas que incluyen la prevención de caries dental, periodontopáticas y cáncer bucal.<sup>51</sup> Además, se ha propuesto que su contenido de polifenoles inhibe diversas bacterias patógenas, entre las que se encuentran el *S. mutans* y *S. sobrinus*.

A tal punto que la Sociedad Americana de Microbiología, en su encuentro del 2004 con los investigadores de la Universidad de Pace de Nueva York, concluyen que los extractos de té verde eliminan las bacterias y que por tal característica ya puede ser incluido dentro de las alternativas para la higiene oral.

Por otra parte, se ha relacionado la presencia de taninos que inhibe la síntesis del dextrán, el flúor que inhibe la acción enzimática, así como los flavonoides que inhiben la adherencia, la inhibición de la producción de ácido láctico por los extractos, entre otros, confieren efecto inhibitorio en el desarrollo del *S. mutans*, así como hongos, lo cual ha propiciado la adición de los extractos en algunas pastas dentales.<sup>52</sup>

## 1.5 Resistencia al descementado de brackets

La adhesión directa de brackets a la superficie del esmalte dental es un procedimiento necesario para realizar el tratamiento clínico, sin embargo, éste es un acontecimiento temporal puesto que son retirados al finalizar el tratamiento activo. Hoy en día los métodos adhesivos son más conservadores y además requieren menor tiempo de aplicación, por lo cual están sustituyendo a los procedimientos tradicionales.<sup>53</sup>

Actualmente se han introducido nuevos productos adhesivos, consecuentemente, el número de estudios dedicados a evaluar su desempeño también se ha multiplicado, es por eso que hoy en día existe abundancia de estudios probando diferentes materiales adhesivos *In-vivo* e *In-vitro* en un intento para evaluar sus características.<sup>54</sup>

Pickett<sup>55</sup> indica que las fuerzas de adhesión deberían ser suficiente para soportar las fuerzas de masticación, el estrés ejercido por los arcos, así como para permitir el control del diente en los tres planos del espacio.

Al mismo tiempo, la fuerza de adhesión debería permitir hasta cierto punto el descementado del bracket sin causar ningún daño a la superficie del esmalte. Algunos estudios han sugerido que la fuerza de adhesión debería situarse entre 2.8-10MPa como adecuada.

Se han descrito diversos factores que predisponen al fallo de la adhesión. El estrés oclusal durante la función es una causa importante de descementado. En pacientes con sobremordida vertical excesiva los brackets anteriores inferiores son especialmente susceptibles a un aumento de las fuerzas oclusales y por consiguiente al descementado.<sup>55</sup>

Por otra parte, las fallas en el descementado se producen dentro de 14 semanas posteriores a su colocación.

Egan<sup>56</sup> indica que en los aditamentos que son recolocados, el porcentaje de fallo es de un 14% y para los aditamentos que requieren la colocación por tercera vez, el porcentaje de fracaso es de 25%, por lo tanto, sugiere que la causa de los fracasos

repetidos podría ser la alteración del esmalte que sigue a los procedimientos de adhesión anteriores.<sup>57</sup>

### **1.5.1 Fuerzas de adhesión al esmalte**

La adhesión se define como la fuerza que existe cuando dos sustancias están en íntimo contacto, las moléculas de una se adhieren o se insertan en las moléculas de otras. El material o película que se agrega para formar adhesión se llama adhesivo.<sup>58</sup>

Por su parte, el fenómeno de la adhesión es considerado el proceso de mayor importancia para la odontología contemporánea. Se fundamenta en que por medio de los adhesivos se ha logrado realizar tratamientos más conservadores.

En la ortodoncia se ha tenido múltiples ventajas, ya que antes de su aparición y durante gran parte del siglo XX, se usaban aleaciones de oro por su maleabilidad, luego se sustituyó por brackets soldados a bandas metálicas. Esta técnica presentaba múltiples desventajas, entre las cuales se encontraba la pobre adhesión a la estructura del esmalte, así como imprecisión para ubicar los aparatos fijos, acumulación de placa bacteriana y mala apariencia estética que resultaba en tratamientos más largos y complejos.<sup>58,59</sup>

Las fuerzas de adhesión se pueden medir por medio de fuerzas de tensión, compresión, cizalla y torsión, con el fin de lograr el fallo de adhesión y poder cuantificar cuál es la fuerza requerida para poder fallar la muestra.

Estas pruebas se realizan, generalmente, aplicando fuerzas de cizalla sobre los brackets hasta que estos fallen, y posteriormente, se cuantifica la fuerza a la que fueron desplazados.<sup>60</sup>

En ortodoncia, la fuerza de adhesión debe ser suficiente para prevenir que los brackets se descementen, pero a su vez no deben dañar la superficie del esmalte y poder ser removidos fácilmente.

Se ha sugerido que las fuerzas mínimas de adhesión para los brackets oscilan en un rango entre 5.9 a 7.8MPa. Y que los valores necesarios para soportar fuerzas biomecánicas oscilan entre 6 y 8MPa.<sup>61</sup>

Por otro lado, en un esfuerzo por mejorar los procedimientos de adhesión, reducir la pérdida de esmalte y el tiempo de trabajo, agentes adhesivos de autograbado

han sido introducidos en el mercado. Estos agentes de unión, han sido considerados como biocomponentes hidrofílicos que permiten la difusión de monómeros y simultáneamente disuelven la hidroxiapatita de manera parcial, dando como resultado una zona de resina infiltrada.<sup>62</sup>

Cehreli et al,<sup>63</sup> mencionaron que los sistemas de adhesión en la ortodoncia moderna pueden ser clasificados en dos categorías:

- Primera categoría: incluye un agente grabador como el ácido fosfórico y un agente adhesivo en componentes separados.
- Segunda categoría: incluye un agente de autograbado, que combina el grabador y el adhesivo en un solo procedimiento.

La técnica de grabado para la colocación de las brackets ortodóncicos con sistemas adhesivos convencionales que emplean acondicionador de esmalte y una solución adhesiva, continúa siendo ampliamente aceptada por la mayoría de los ortodontistas como técnica de rutina. No obstante, el grabado ácido produce efectos iatrogénicos sobre la superficie del esmalte, entre ellos la pérdida de esmalte.

Con el paso del tiempo, clínicos e investigadores han trabajado incansablemente para mejorar las ventajas de los agentes de unión y tratar de mantener una superficie de esmalte sana e intacta después de retirar la aparatología ortodóncica fija, teniendo como ideal la pérdida mínima de esmalte en cada etapa del tratamiento.<sup>64</sup>

#### **1.5.1.1 Técnica de adhesión al esmalte**

Desde que se inició la restaurativa adhesiva se ha utilizado la técnica de grabado ácido total, que consiste en aplicar ácido fosfórico para crear microporosidades en el esmalte y abrir los túbulos dentinarios, y de esta manera la porción más externa de los túbulos sirva como retención a la resina adhesiva, formando una capa híbrida con el colágeno de la dentina y las microretenciones en el esmalte.<sup>58</sup>

La adhesión convencional de los brackets ortodóncicos involucran las siguientes etapas:

1. En primer lugar, la superficie del esmalte se pule con una copa de hule con pasta para profilaxis libre de flúor con una pieza de mano de baja velocidad.

2. Posteriormente, el esmalte es acondicionado con ácido fosfórico al 37% de 15-30s, seguido por el lavado con agua y aire comprimido libre de aceite hasta que el esmalte presenta una textura blanco mate. El ácido logra disolver y penetrar las zonas inter e intraprismáticas, de manera que crea un área socavada que luego se impregna con la resina adhesiva produciendo al polimerizar una unión íntima con el esmalte.<sup>58</sup>
3. Finalmente, un acondicionador del esmalte es aplicado sobre el mismo, la bracket es colocada sobre el diente junto con la resina y se fotocura.<sup>65</sup>

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A pesar de que la prevalencia de caries ha disminuido notablemente en los últimos 20 años en la mayoría de los países occidentales, sigue siendo una de las enfermedades de mayor prevalencia e incidencia, tanto para adultos como para niños en la mayor parte del mundo.<sup>5</sup> En México, la Encuesta Nacional de Caries Dental 1988-2001, aplicada en niños de 6 a 12 años de edad reportan una prevalencia que varía de un 27.5% a 82.9% y de un 30% a más del 70% respectivamente.<sup>66</sup>

Esta enfermedad tiene el potencial de causar daño al diente, iniciando en el esmalte, posteriormente a la dentina y finalmente a la pulpa. Es una enfermedad reversible cuya progresión depende de un balance de desmineralización y remineralización y se presenta tanto en países en vías de desarrollo como en industrializados. Todas estas características hacen de la caries dental un problema de salud pública.<sup>1</sup>

Por otra parte, es necesario manejar la presencia de lesiones iniciales o lesiones subclínicas relacionadas con alto riesgo de caries. En las últimas décadas, diversos trabajos clínicos y de laboratorio han indicado el efecto del fluoruro contra la caries dental, el cual ejerce un efecto preventivo, favoreciendo el equilibrio des-remineralización.

Por otro lado, es común que durante el tratamiento de ortodoncia se observen descalcificaciones del esmalte, así como la aparición de manchas blancas y caries. Esta desmineralización del esmalte puede afectar la adhesión de brackets y por consiguiente presentar menor resistencia al descementado. El uso de agentes remineralizantes antes de la colocación de la aparatología fija, puede revertir o detener, así como prevenir los procesos de desmineralización del esmalte. Sin embargo, en la literatura odontológica no existe una clara información sobre el efecto de estos agentes agregados a las pastas dentales en la adhesión de brackets y otro tipo de aparatología.<sup>11</sup>

No obstante, existe la necesidad de buscar productos complementarios al fluoruro. Actualmente, ha existido un creciente interés en los compuestos biológicamente activos derivados de productos naturales que pueden tener un potencial terapéutico contra la desmineralización inicial de la caries dental.<sup>51</sup>

Debido a que no han sido estudiadas un gran número de sustancias naturales incorporadas a pastas dentales, que pudieran brindar efecto remineralizante, surge la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es el efecto remineralizante de pastas dentales a base de Xilitol, *Juniperus communis*, *Camellia sinensis* y cómo influye en la resistencia al descementado de brackets?

### 3. JUSTIFICACIÓN

La salud oral sigue siendo un aspecto fundamental de las condiciones generales de salud en América Latina, debido a la importancia que tiene como parte de la carga global de morbilidad oral, los costos relacionados con su tratamiento y la posibilidad de aplicar medidas eficaces de prevención.

Por otro lado, el éxito del tratamiento de Ortodoncia no solo depende de la adhesión, pero representa una parte fundamental para asegurar un avance en la terapéutica para la corrección de las maloclusiones. Es por este motivo que factores como: el acondicionamiento del esmalte y las condiciones de la superficie del esmalte, son de gran importancia para evitar el descementado del bracket.

Además, la prevención de las desmineralizaciones del esmalte con el acondicionamiento del mismo antes del cementado del bracket, puede ser de gran ayuda para evitar las lesiones de mancha blanca durante el tratamiento de ortodoncia, además de favorecer la resistencia al descementado.

Debido a que es de suma importancia conocer el efecto remineralizante de pastas con componentes como *Xilitol*, *Juniperus communis*, *Camellia sinensis* y cómo influye en la resistencia al descementado de brackets, este estudio pretende evaluar dicho efecto, con el fin de brindar más opciones al momento de prevenir las enfermedades bucodentales como caries, así como las lesiones de mancha blanca.

## 4. HIPÓTESIS

### 4.1 Hipótesis de trabajo

Las pastas dentales a base Xilitol, *Juniperus communis* y *Camellia sinensis* presentarán mejor efecto remineralizante e influirán en una adecuada resistencia al descementado de brackets, en comparación con una pasta dental convencional.

### 4.2 Hipótesis nula

El efecto remineralizante de pastas dentales a base Xilitol, *Juniperus communis*, *Camellia sinensis* y su influencia con la resistencia al descementado de brackets será menor o igual en comparación de una pasta dental convencional.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo general

Evaluar el efecto remineralizante de pastas dentales a base de Xilitol, *Juniperus communis*, *Camellia sinensis* y su relación con la resistencia al descementado de brackets.

### 5.2 Objetivos específicos

- Obtener mediciones basales de dientes premolares humanos mediante DIAGNOdent Pen®, SEM y EDS.
- Medir la desmineralización en dientes premolares humanos con DIAGNOdent Pen®, SEM y EDS.
- Cuantificar la remineralización en dientes premolares humanos posterior a su tratamiento con pastas dentales a base de Xilitol, *Camellia sinensis* y *Juniperus communis* con DIAGNOdent Pen®, SEM y EDS.
- Determinar la remineralización en dientes premolares humanos posterior a su tratamiento con una pasta control mediante DIAGNOdent Pen®, SEM y EDS.
- Analizar la resistencia al descementado de brackets en una superficie de premolares humanos remineralizada con pastas dentales a base de Xilitol, *Juniperus communis* y *Camellia sinensis*.

## **6. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **6.1 Diseño del Estudio**

El presente estudio tuvo un diseño de tipo experimental, prospectivo, prolectivo y comparativo.

### **6.2 Población y universo de estudio**

Dientes premolares humanos libres de caries.

### **6.3 Selección de la muestra**

- Muestreo por conveniencia con un total de 138 premolares humanos libres de caries, extraídos por razones ortodóncicas los cuales se obtuvieron de la clínica de ortodoncia del Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Odontología “Dr. Keisaburo Miyata”, Centro de Especialidades Odontológicas del Instituto Materno Infantil del Estado de México (IMIEM) y consultorios particulares.

### **6.4 Criterios de:**

#### **Inclusión**

- Premolares sin presencia de restauraciones ni caries en la cara bucal.
- Premolares sin tratamiento previo con agentes químicos.
- Premolares sin fracturas en la superficie del esmalte.
- Premolares con la corona dental íntegra.

#### **Exclusión**

- Premolares con defectos en la corona clínica como: hipoplasia del esmalte, fluorosis dental y restos de cementante de brackets.

#### **Eliminación**

- Premolares que resultaron dañados durante el proceso.

## 6.5 Variables de Estudio

**Tabla 2. Definición Operacional y Conceptual de Variables Dependientes**

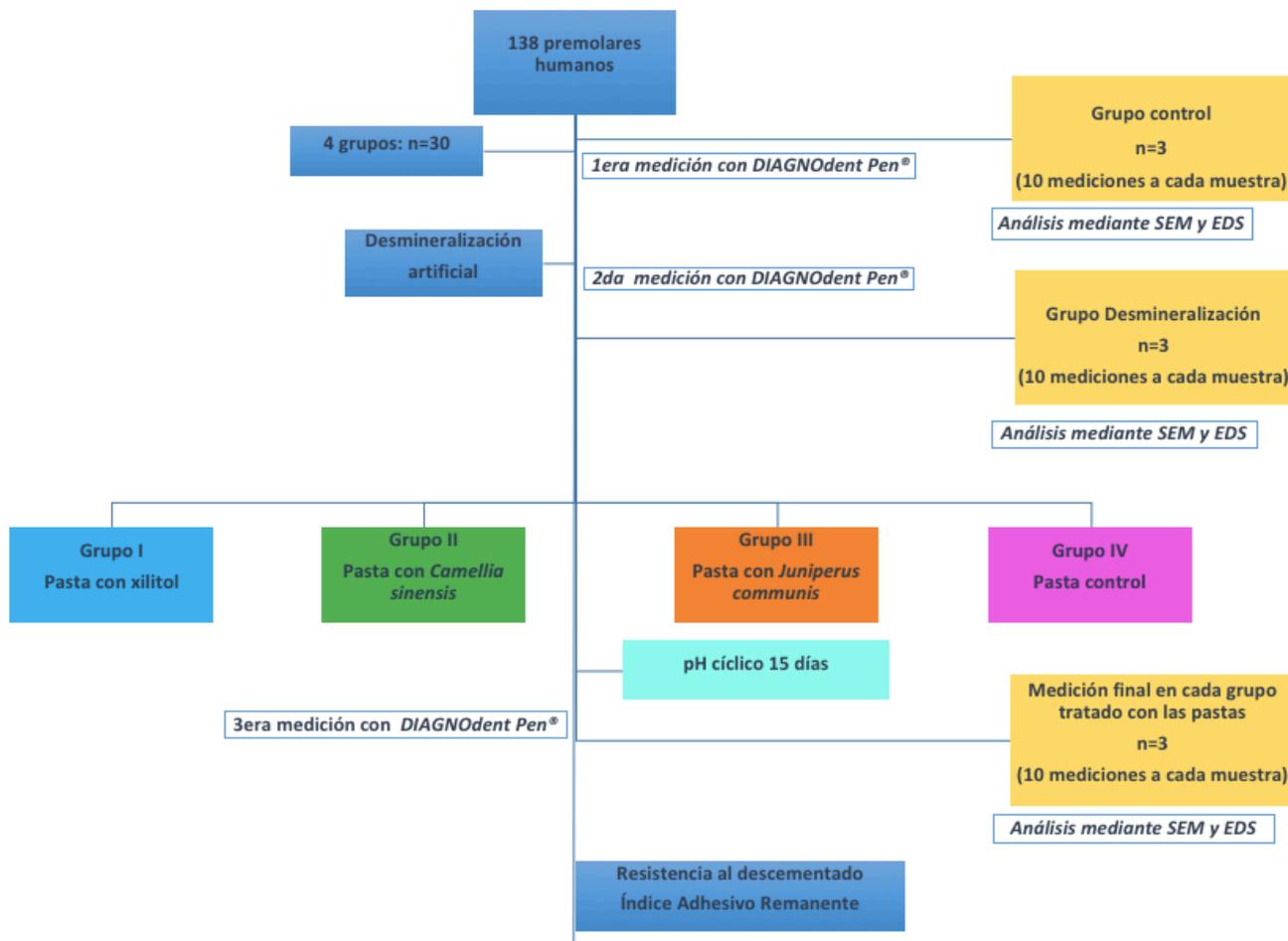
| Variable                           | Definición conceptual  | Definición operacional   | Tipo de variable      | Escala de medición |
|------------------------------------|--|--|-----------------------|--------------------|
| <b>Grado de mineralización</b>     | Proceso progresivo caracterizado por la pérdida de sustancia mineral en la superficie del esmalte. Medido con DIAGNOdent Pen® (Kavo Diagnodent Classic).             | Valor obtenido mediante DIAGNOdent Pen®.   | Cuantitativa discreta | Absoluta           |
| <b>Resistencia al descementado</b> | Propiedad física de los materiales dentales para evitar la separación entre dos superficies unidas por algún agente cementante.                                      | Resistencia que presentan los brackets cementados a las superficies dentales (premolares) al ser sometidos a una fuerza externa, registrada en megapascales (MPa). | Cuantitativa continua | Razón              |
| <b>Adhesivo remanente</b>          | Cantidad de adhesivo residual en el diente luego del retiro de brackets.   | Cantidad de adhesivo residual en el diente observada posterior al descementado del bracket según el índice ARI.  | Cualitativa ordinal   | Ordinal            |
| <b>Calcio (Ca)</b>                 | Metal alcalinotérreo divalente, con número atómico 20, constituyente del esmalte dental.   | Porcentaje atómico de Ca (%at de Ca): número de átomos de Ca por cada 100 átomos contenidos en la superficie del esmalte dental; determinado mediante EDS.         | Cuantitativa continua | Razón              |
| <b>Fósforo (P)</b>                 | Elemento con número atómico 15, no metal, constituyente del esmalte dental en forma de grupos fosfato (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ) con configuración tetraédrica | Porcentaje atómico de P (%at de P): número de átomos de P por cada 100 átomos contenidos en la superficie del esmalte dental; determinado mediante EDS.            | Cuantitativa continua | Razón              |
| <b>Oxígeno (O)</b>                 | No metal que se encuentra en el esmalte dental en su forma divalente, con número atómico 8.  | Porcentaje atómico de O (%at de O): número de átomos de O por cada 100 átomos contenidos en la superficie del esmalte dental; determinado mediante EDS.            | Cuantitativa continua | Razón              |

**Tabla 3. Definición Operacional y Conceptual de la Variable Independiente**

| Variable        | Definición conceptual  | Definición operacional  | Tipo de variable               | Escala de medición |
|-----------------|--|---|--------------------------------|--------------------|
| Pastas dentales | El dentífrico o pasta de dientes se usa para la limpieza dental, casi siempre con un cepillo de dientes. Suelen contener flúor como monofluorofosfato de sodio (Na <sub>2</sub> PO <sub>3</sub> F), arcilla, fluoruro de sodio (NaF) y mármol, además de alguna sustancia como <i>Juniperus communis</i> , <i>Camellia sinensis</i> y xilitol. | 1.- Dentiste<br>2.- Fluocaril<br>3.- Splat blackwood<br>4.- Pasta control | Cualitativa nominal politómica | Nominal            |

## 6.6 Procedimiento

A continuación, se muestra un esquema en el cual se resume el procedimiento:



El procedimiento se llevó a cabo de la siguiente manera:

Se dividieron las pastas dentales en 4 grupos: Dentiste (Grupo Xilitol), Splat Special Blackwood (Grupo *Juniperus communis*) y Fluocaril (Grupo *Camellia sinensis*) como grupos experimentales y Colgate Triple Acción (Grupo pasta control).

**Tabla 4. Componentes de las pastas dentales**

| Pastas dentales  | Componentes  |
|--|--|
| <b>Fluocaril (Grupo <i>Camellia sinensis</i> )</b>               | Sorbitol, agua, sílice hidratada, lauril sulfato de sodio, sabor, goma de celulosa, benzoato de sodio, extracto de hoja de <i>psidium guajava</i> , monofluorofosfato de sodio, hexametfosfato de sodio, fluoruro de sodio, metilparabeno, sacarina de sodio, fosfato disódico, extracto de hoja de <i>Camellia sinensis</i> . |
| <b>Dentiste 100% Natural (Grupo Xilitol)</b>                     | Xilitol, dióxido de silicio, aceite de menta, mentol, vitamina C, aceite de eucalipto, extracto de salvia, extracto de manzanilla, extracto de hinojo, extracto de <i>Glycyrrhiza glabra</i> , extracto de corteza de canela.  |
| <b>Splat Special Blackwood (Grupo <i>Juniperus communis</i>)</b> | Extracto de enebro, carbón activado, biosol, extracto de stevia.   |
| <b>Colgate Triple Acción (Grupo pasta control)</b>               | Sorbitol, agua, sílice hidratada, lauril sulfato de sodio, sabor, aroma, pirofosfato tetrasodio, fluoruro de sodio, sacarina sódica, goma de celulosa, goma de xantán, dióxido de titanio.   |

- **Evaluación del efecto remineralizante con DIAGNOdent Pen®**

Una vez extraídos los dientes fueron lavados a corriente de agua, retirando residuos de sangre y tejido que pudieran contener, posteriormente se almacenaron en timol al 0.2 %.

Se cortó la corona dental con un disco de carburo 2 mm por debajo del área cervical a chorro de agua para evitar que se sobrecaliente el diente, para después ser montadas en acrílico autopolimizable. Se llevó a cabo una primera medición de la superficie del esmalte con DIAGNOdent Pen® (Kavo Diagnodent Classic).

Se realizó un proceso de lavado y pulido de la superficie vestibular de cada corona dentaria, mediante cepillos rotatorios, con pasta profiláctica libre de flúor Proxyt (Ivoclar Vivadent, México) con motor de baja velocidad; para después ser lavadas en agua corriente y secadas con aire comprimido (Fig. 2).



Figura 2. a) Eliminación de tejido del diente, b) Montaje del diente en acrílico.

Posteriormente, se les colocó barniz de uñas transparente resistente al ácido (Revlon, Francia), dejando una ventana de 5x5 mm. Se dividieron los bloques de esmalte en 4 grupos para ser tratados con cada una de las pastas.

La suspensión de cada pasta de dientes fue preparada mediante una relación en peso de 3:1 de agua desionizada y pasta de dientes, se transfirieron 17 g de pasta a un tubo de ensaye con 51 ml de agua desionizada, para posteriormente ser mezclados utilizando un vibrador (Vortech, Corea) (Fig. 3).

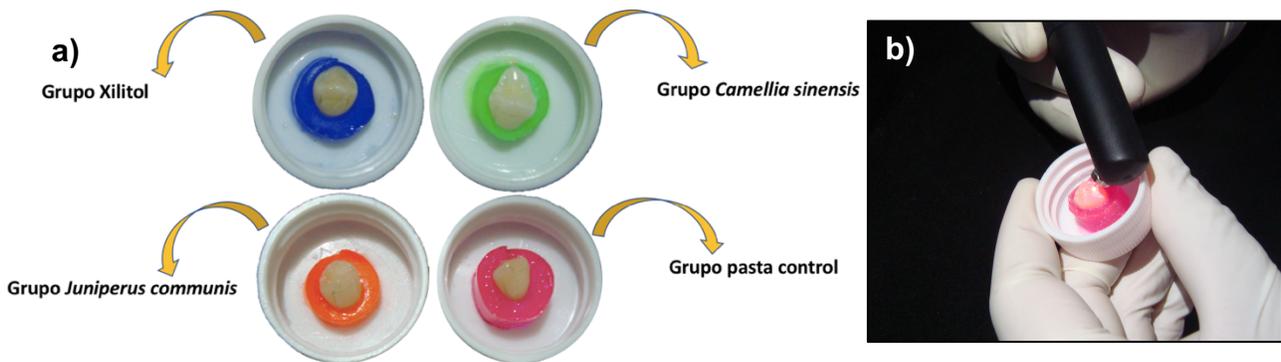


Figura 3. a) Conformación de los grupos de acuerdo a cada pasta correspondiente, b) Primera medición con DIAGNOdent.

### Proceso de desmineralización artificial

A continuación, se llevó a cabo un proceso de desmineralización artificial, para lo cual los 4 grupos fueron sumergidos en una solución desmineralizante 2.2 Mm  $\text{CaCl}_2$  (cloruro de calcio), 2.2 Mm  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (fosfato de sodio monobásico), 0.05 Mm

$\text{CH}_3\text{COOH}$  (ácido acético), 1M KOH (hidróxido de potasio) ajustando el pH a 4.4 durante 96 horas a 37°C en incubadora.

Una vez creada la desmineralización se realizó una segunda medición de la superficie del esmalte con DIAGNOdent Pen® (Kavo Diagnodent Classic) (Fig.4).<sup>67</sup>



Figura 4. a) proceso de desmineralización artificial, b) diente desmineralizado, c) medición con DIAGNOdent.

### Aplicación de pH cíclico

Los 4 grupos fueron sometidos a un modelo de pH cíclico con duración de 15 días a 37°C para simular las condiciones del medio ambiente bucal.

Cada muestra fue sumergida en una solución desmineralizante (2.2 mM  $\text{CaCl}_2$  (cloruro de calcio), 2.2 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (fosfato de sodio monobásico), 0.05 mM  $\text{CH}_3\text{COOH}$  (ácido acético), 1M KOH (hidróxido de potasio), pH 4.4, 10 ml/muestra) dos veces al día por 3 horas y durante 2 horas en solución remineralizante (1.5Mm  $\text{CaCl}_2$ , 0.9Mm  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 0.15Mm KCl, pH 7.0, 10 ml/muestra) entre los ciclos de desmineralización.<sup>67</sup>

Cada muestra fue sumergida en la suspensión de pasta de dientes (5 ml por cada muestra) durante 60 segundos antes del inicio del primer ciclo de desmineralización y antes y después del segundo ciclo del mismo. A continuación, todas las muestras fueron almacenadas en la solución remineralizante en una incubadora a 37°C durante 16 horas para completar 24 horas.<sup>67</sup>

Después de la aplicación de cada fase del modelo de pH cíclico, las muestras fueron lavadas con agua desionizada durante 30 segundos con el fin de evitar la reacción cruzada de las soluciones. Las soluciones fueron cambiadas cada 96 horas. Finalmente se llevó a cabo una tercera medición de la superficie del esmalte con DIAGNOdent Pen® (Kavo Diagnodent Classic) (Fig. 5).<sup>67</sup>

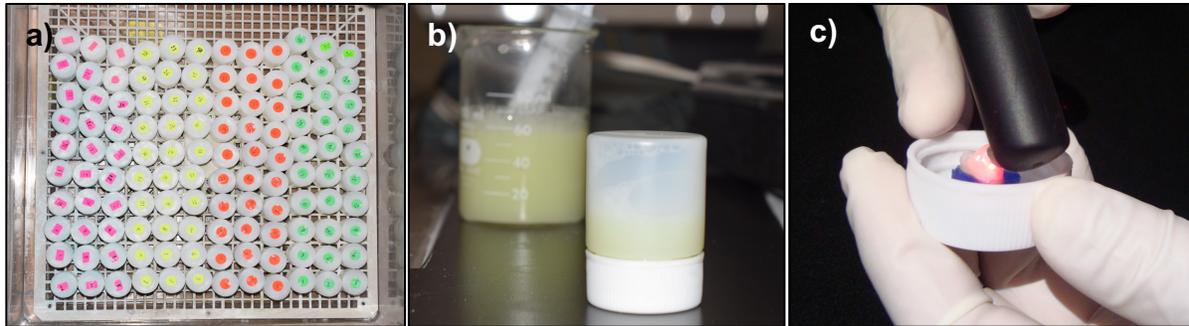


Figura 5. a) aplicación de pH cíclico, b) suspensión de la pasta de dientes, c) tercera medición con DIAGNOdent.

- **Análisis del efecto remineralizante con Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Espectroscopía de Rayos X por Dispersión de Energía (EDS)**

Se llevó a cabo el análisis mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Espectroscopía de Rayos X por Dispersión de Energía (EDS), en tres fases, cabe mencionar que se realizaron 10 mediciones por cada muestra.:

- Medición basal (3 dientes premolares humanos) .
- Posterior a un proceso de desmineralización artificial (3 dientes).
- Con remineralización (3 dientes por cada pasta).

Las muestras fueron preparadas de la siguiente manera:

- Se obtuvo de cada superficie bucal de la corona del diente un bloque con un área de esmalte de 5x2 mm, el cual fue cortado con un disco de carburo. Cada bloque de esmalte fue considerado como la unidad experimental (Fig. 6).

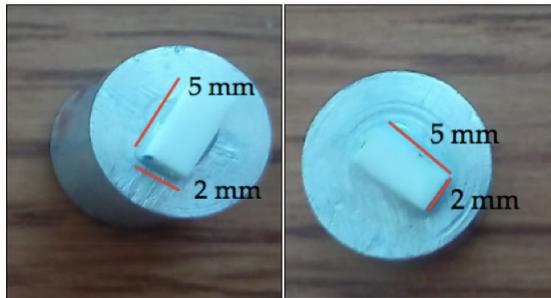


Figura 6. Correspondiente a los bloques de esmalte preparados para el análisis mediante SEM y EDS.

### **Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)**

Posterior a la obtención de las unidades experimental, se realizó la limpieza de las muestras por 5 minutos en contenedores separados, llenos de agua tridestilada en un baño ultrasónico (Quantrex Q140, L&R Ultrasonics, N.J., EUA) y después fueron secados al aire.

Los bloques fueron fijados a un portamuestras de aluminio con cinta adhesiva de carbón (SPI Supplies, EUA). El análisis se realizó usando un microscopio electrónico de barrido (JEOL, JSM-6510LV, Japón).

### **Espectroscopía de Rayos X por Dispersión de Energía (EDS)**

Toda el área visualizada en SEM a una magnificación estandarizada de 100x y una distancia de trabajo de 10 mm fue analizada para determinar los porcentajes atómicos (%at) de calcio (Ca), oxígeno (O) y fósforo (P) utilizando un sistema detector de rayos X (Oxford Instruments, 7582, Reino Unido) acoplado al microscopio electrónico de barrido.

- **Evaluación de la resistencia al descementado**

Una vez que los dientes fueron remineralizados y divididos en los grupos antes establecidos, se pulió la superficie vestibular por 10 segundos utilizando una copa de hule a baja velocidad y pasta profiláctica libre de fluoruro, para después ser lavados con agua por 30 segundos y secados con aire comprimido libre de aceite. Se acondicionó la superficie del esmalte con ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) al 37% durante 15 segundos, se lavó con agua y secó con aire comprimido libre de aceite hasta tener una apariencia de tiza blanca. Se empleó como adhesivo en la superficie grabada Transbond™ LR Adhesive (3M Unitek, California, EUA), el cual fue fotopolimerizado con Ortholux Luminous Curing Light (3M Unitek) durante 12 segundos.

En seguida, se cementaron los brackets (Gemini, 3M Unitek; Roth slot 0.018") con resina (Transbond Plus Color Change, 3M Unitek, Ca, E.U.A), eliminando el exceso

de resina alrededor del bracket y fotopolimerizando con Ortholux Luminous Curing Light (3M Unitek) durante 12 segundos (Fig. 7).

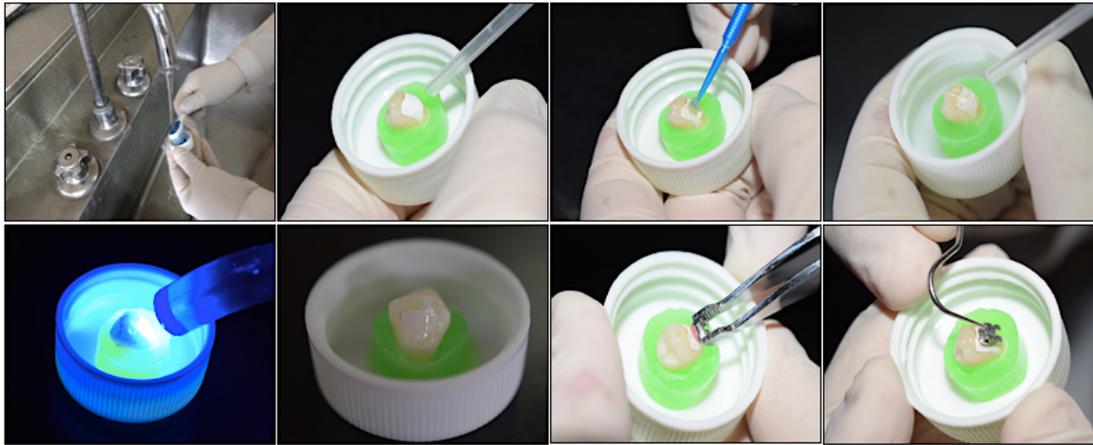


Figura 7. Proceso del cementado de los brackets.

Posteriormente, se colocó un alambre de acero inoxidable (0.017x0.025) en la ranura del bracket sostenido con ligadura metálica preformada de 0.010”.

A continuación, se aplicó una carga ocluso-gingival a nivel de la interfase bracket-diente para producir una fuerza de desprendimiento, lo cual se realizó con el extremo aplanado de una barra de acero, unida a una máquina de ensayos universal (EZ Graph, Shimadzu, Kioto, Japón). Los valores de la resistencia al descementado fueron medidos a una velocidad de 0.5mm/min. La carga aplicada al desprendimiento se registró en Newtons, posteriormente fueron convertida en Megapascales (MPa) (Fig. 8).

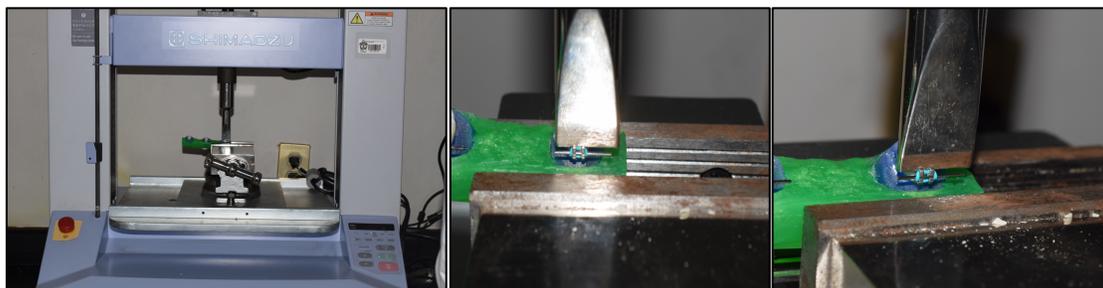


Figura 8. Máquina de ensayos universales EZ Graph, Shimadzu, Kioto, Japón).

- **Índice de Adhesivo Remanente**

Posterior a la descementación de los brackets se evaluó la cantidad de adhesivo residual en la superficie de los dientes de acuerdo con la puntuación original del ARI, utilizando la siguiente escala: 0 = ausencia de adhesivo residual en el diente; 1 = menos del 50% de adhesivo residual en el diente; 2 = más del 50% de adhesivo residual en el diente; 3 = todo el adhesivo residual en el diente, con la impresión de la base de la bracket.

### **6.7 Consideraciones bioéticas**

- La presente investigación fue evaluada y aprobada por el comité de ética de esta institución, apegándonos a los artículos 97°, 98°, 100° y 101° de la Ley General de Salud, adaptándose a los principios científicos y éticos que justifican una investigación médica.
- Esta investigación tuvo como objetivo contribuir al conocimiento en salud, en el campo odontológico de prevención y control de la caries, apegándonos al artículo 96° de la Ley General de Salud y el artículo 3° en su apartado I, II y III del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud.
- Involucró el manejo de tejidos humanos o datos identificables, por lo cual se apegó a la Declaración Internacional sobre los Datos Genéticos Humanos, al manejar dientes humanos, los cuales son considerados muestras biológicas, de las que es posible la obtención de datos genéticos, se veló por el respeto de la dignidad humana y la protección de los derechos humanos y las libertades fundamentales, resguardando los datos genéticos humanos, los cuales no fueron utilizados por esta investigación.
- Para el manejo de los tejidos humanos, se tomó en cuenta el artículo 74° del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de la Disposición de Órganos, Tejidos y Cadáveres de Seres Humanos, cumpliendo con los principios éticos generales, respetando la autonomía, dignidad y protección a los derechos y bienestar de las personas implicadas

en este estudio, apegándonos al artículo 13° del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud y la pauta 8 de las Pautas Éticas Internacionales para la Investigación Biomédica en Seres Humanos, minimizando los riesgos, siendo éstos razonables a la luz de los beneficios esperados, tomando en cuenta que el diseño de la investigación fue válido y los investigadores competentes para conducirla y para proteger el bienestar de los sujetos de investigación (apegándonos al artículo 4° de la Constitución de los Estados Unidos Mexicanos sobre el derecho de las personas a la protección de la salud, así como al artículo 2° de la Ley General de Salud y artículo 14° en su apartado I, IV y VI del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud).

- Se incorporó el análisis de las Pautas Éticas Internacionales para la Investigación Biomédica en Seres Humanos: 4 y 5, llevando a cabo consentimiento bajo información de cada uno de los individuos involucrados en este estudio, así como el consentimiento informado para el uso de tejidos dentarios, garantizando la seguridad, como lo indican los siguientes artículos: artículo 14° apartado V, artículo 20°, 21° y 22° del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, puesto que este estudio no genera ninguna clase de riesgo, considerándose de acuerdo al artículo 17° apartado II del mismo reglamento, como una investigación con riesgo mínimo (involucrando dientes permanentes extraídos por indicación terapéutica), resguardando la confidencialidad de los datos recabados, identificándolos sólo cuando los resultados lo requieran y el individuo en cuestión lo autorice, de acuerdo al artículo 16° del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud y apegándose al principio rector 11 de los Principios Rectores de la OMS sobre Trasplante de Células, Tejidos y Órganos Humanos.
- La donación de órganos dentarios estuvo apegada a la normatividad de los artículos 313° apartado I de la Ley General de Salud, de control sanitario de donaciones y trasplantes de órganos, tejidos y células de seres humanos, por conducto de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos

Sanitarios, artículo 314° apartado III, V, XIII de la Ley General de Salud acerca del destino y manejo del tejido dentario y células, los cuales no fueron sacados del territorio nacional y el artículo 17 bis apartado VIII de la misma ley, sobre el control y vigilancia sanitarios de las donaciones y trasplantes de órganos y tejidos y células de seres humanos.

- El individuo tuvo la capacidad de elegir mediante un consentimiento informado de donación de tejidos, la donación de sus tejidos dentarios, apegándonos al artículo 320°, 321°, 322° y 323° de la Ley General de Salud en materia de donación de órganos, tejidos, células y cadáveres y consentimiento expreso, así como en el principio rector 3 de los Principios Rectores de la OMS sobre Trasplante de Células, Tejidos y Órganos Humanos, acerca de la donación de órganos, además de guiarnos en el artículo 327° de la prohibición del comercio de órganos, tejidos y células la Ley General de Salud.

## 6.8 Análisis estadístico

El análisis de los datos de este estudio se realizó de la siguiente manera:

- Todos los datos se analizaron utilizando el paquete estadístico SPSS 23.0 (SPSS Inc., Chicago, EE. UU.). Para el análisis mediante EDS, se llevó a cabo la prueba de ANOVA de un factor con comparaciones múltiples de Bonferroni para la comparación de los porcentajes atómicos de Ca y P, así como una prueba de correlación de Spearman entre Ca y P.
- Mientras que para analizar los datos obtenidos con fluorescencia láser, se realizó una prueba de ANOVA de medidas repetidas para determinar las diferencias entre las etapas (pretratamiento, posterior a desmineralización artificial y después del tratamiento con las pastas).
- Para evaluar la resistencia al descementado se aplicó el análisis de varianza unifactorial (ANOVA) y para la evaluación del remanente de adhesivo, se utilizó la prueba estadística de  $\chi^2$ .
- El nivel de significancia establecido fue de  $p \leq 0.05$ .

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Artículo publicado

#### Remineralizing Effect of Xylitol, Juniperus Communis and Camellia Sinensis Added to a Toothpaste: An *In Vitro* Study

#### Efecto remineralizante del Xilitol, Juniperus Communis y Camellia Sinensis adicionados en pastas dentales: Estudio *in vitro*

Sandra I. Jiménez-Gayosso DDS<sup>1,2</sup>; Edith Lara-Carrillo DDS, MSc, PhD<sup>1</sup>;  
Rogelio J. Scougall-Vilchis DDS, MSc, PhD<sup>1</sup>; Raúl A. Morales-Luckie BS Chem, PhD<sup>3</sup>;  
Carlo E. Medina Solís DDS, MSc<sup>1,2</sup>; Ulises Velázquez-Enriquez DDS, MSc, PhD<sup>1</sup>;  
Gerardo Maupomé DDS, MSc, PhD<sup>4,5</sup>; Brenda-Herrera-Serna DDS, MSc<sup>1,6</sup>

1. Advanced Studies and Research Centre in Dentistry "Dr. Keisaburo Miyata" of Faculty of Dentistry at Autonomous University State of Mexico, Toluca, Mexico.
2. Academic Area of Dentistry of Health Sciences Institute at Autonomous University of Hidalgo State, Pachuca, Mexico.
3. Sustainable Chemistry UAEMex-UNAM Research Center of Faculty of Chemistry at Autonomous University State of Mexico, Toluca, Mexico.
4. Richard M. Fairbanks School of Public Health, Indiana University/Purdue University in Indianapolis. Indianapolis, USA.
5. Indiana University Network Science Institute. Bloomington, USA.
6. Autonomous University of Manizales, Colombia.

Correspondence to: Dra. Edith Lara-Carrillo - laracaedith@hotmail.com

Received: 1-VIII-2018

Accepted: 11-IX-2018

Published Online First: 18-IX-2018

DOI:

ABSTRACT

The aim of this study was to explore the remineralizing effect of toothpastes based on Xylitol, Camellia Sinensis and Juniperus Communis. An *in vitro* experimental study was carried out in an 18 human premolars sample, which were treated with one of the 3 evaluated toothpastes and a control fluoride one. The atomic percentages of Ca and P were evaluated by Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS). In addition, the enamel surface of treated teeth was visualized by Scanning Electron Microscopy (SEM). The evaluations were carried out in three stages: pre-treatment, after an artificial demineralization process and after the treatment with the toothpastes. In the statistical analysis, the one-way ANOVA and Pearson correlation tests were used. Xylitol and Juniperus Communis showed the greatest gain of P ions compared to the control group ( $p < 0.01$ ). As for Ca, the group treated with xylitol-based toothpaste showed more ion gain compared with the control group ( $p < 0.01$ ). In the Pearson correlation test between Ca and P, statistically significant correlations were observed in all groups ( $p < 0.01$ ), ranging between  $r = 0.7413$  (Xylitol Group) and  $r = 0.9510$  (Control Group). We concluded that Xylitol paste showed the highest remineralizing property, both in the EDS analysis and in the SEM images.

KEYWORDS

Remineralization; Xylitol; Juniperus Communis; Camellia Sinensis; Toothpaste; *In Vitro* Techniques.

JIMÉNEZ S., LARA E., SCUGALL R., MORALES R., MEDINA C., VELÁZQUEZ U., MAUPOMÉ G., HERRERA B., 2018: Remineralizing Effect of Xylitol, Juniperus Communis and Camellia Sinensis Added to a Toothpaste: An *In Vitro* Study. -ODOVOTOS-Int. J. Dental Sc., .

ODOVOTOS-Int. J. Dent. Sc. | No. . ISSN: 1659-1046. 97



## 7.2 Artículo completo publicado

# Remineralizing Effect of Xylitol, Juniperus Communis and Camellia Sinensis Added to a Toothpaste: An *In Vitro* Study

## Efecto remineralizante del Xilitol, Juniperus Communis y Camellia Sinensis adicionados en pastas dentales: Estudio *in vitro*

Sandra I. Jiménez-Gayosso DDS<sup>1,2</sup>; Edith Lara-Carrillo DDS, MSc, PhD<sup>1</sup>;  
Rogelio J. Scougall-Vilchis DDS, MSc, PhD<sup>1</sup>; Raúl A. Morales-Luckie BS Chem, PhD<sup>3</sup>;  
Carlo E. Medina Solís DDS, MSc<sup>1,2</sup>; Ulises Velázquez-Enríquez DDS, MSc, PhD<sup>1</sup>;  
Gerardo Maupomé DDS, MSc, PhD<sup>4,5</sup>; Brenda-Herrera-Serna DDS, MSc<sup>1,6</sup>

1. Advanced Studies and Research Centre in Dentistry "Dr. Keisaburo Miyata" of Faculty of Dentistry at Autonomous University State of Mexico, Toluca, Mexico.
2. Academic Area of Dentistry of Health Sciences Institute at Autonomous University of Hidalgo State, Pachuca, Mexico.
3. Sustainable Chemistry UAEMex-UNAM Research Center of Faculty of Chemistry at Autonomous University State of Mexico, Toluca, Mexico.
4. Richard M. Fairbanks School of Public Health, Indiana University/Purdue University in Indianapolis. Indianapolis, USA.
5. Indiana University Network Science Institute. Bloomington, USA.
6. Autonomous University of Manizales, Colombia.

Correspondence to: Dra. Edith Lara-Carrillo - [laracaedith@hotmail.com](mailto:laracaedith@hotmail.com)

Received: 1-VIII-2018

Accepted: 11-IX-2018

Published Online First: 18-IX-2018

DOI:

ABSTRACT

The aim of this study was to explore the remineralizing effect of toothpastes based on Xylitol, Camellia Sinensis and Juniperus Communis. An *in vitro* experimental study was carried out in an 18 human premolars sample, which were treated with one of the 3 evaluated toothpastes and a control fluoride one. The atomic percentages of Ca and P were evaluated by Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS). In addition, the enamel surface of treated teeth was visualized by Scanning Electron Microscopy (SEM). The evaluations were carried out in three stages: pre-treatment, after an artificial demineralization process and after the treatment with the toothpastes. In the statistical analysis, the one-way ANOVA and Pearson correlation tests were used. Xylitol and Juniperus Communis showed the greatest gain of P ions compared to the control group ( $p < 0.01$ ). As for Ca, the group treated with xylitol-based toothpaste showed more ion gain compared with the control group ( $p < 0.01$ ). In the Pearson correlation test between Ca and P, statistically significant correlations were observed in all groups ( $p < 0.01$ ), ranging between  $r = 0.7413$  (Xylitol Group) and  $r = 0.9510$  (Control Group). We concluded that Xylitol paste showed the highest remineralizing property, both in the EDS analysis and in the SEM images.

KEYWORDS

Remineralization; Xylitol; Juniperus Communis; Camellia Sinensis; Toothpaste; *In Vitro* Techniques.

JIMÉNEZ S., LARA E., SCUGALL R., MORALES R., MEDINA C., VELÁZQUEZ U., MAUPOMÉ G., HERRERA B., 2018: Remineralizing Effect of Xylitol, Juniperus Communis and Camellia Sinensis Added to a Toothpaste: An *In Vitro* Study. -ODOVTOS-Int. J. Dental Sc., .

ODOVTOS-Int. J. Dent. Sc. | No. . ISSN: 1659-1046. 97

## RESUMEN

El objetivo de este estudio fue explorar el efecto remineralizante de las cremas dentales compuestas de Xilitol, Camellia Sinensis y Juniperus Communis. Se llevó a cabo un estudio experimental *in vitro* en una muestra de 18 premolares humanos, los cuales fueron tratados con una de las tres pastas dentales evaluadas y una fluorada. Los porcentajes atómicos de Ca y P fueron evaluados por Espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDS). Además, la superficie del esmalte de los dientes tratados fue examinada por Microscopia Electronica de Barrido (SEM). Las evaluaciones fueron llevadas a cabo en tres etapas: pre-tratamiento, después de un proceso artificial de desmineralización y después del tratamiento con las pastas dentales. Se usaron ANOVA de una vía y correlación de Pearson para el análisis estadístico. Xilitol y Juniperus Communis mostraron la mayor ganancia de iones P comparados con el grupo control ( $p < 0.01$ ), con rangos entre  $r = 0.7413$  (Grupo con Xylitol) and  $r = 0.9510$  (Group Control). Se concluyó que la pasta con Xilitol mostró las mayores propiedades remineralizantes, tanto en el análisis EDS y las imágenes SEM.

## PALABRAS CLAVE

Remineralización; Xylitol; Juniperus communis; Camellia sinensis; Pasta dental; Técnicas *in vitro*.

## INTRODUCTION

The balance of demineralization and remineralization in dental caries is fundamental to understand the presence and progress of initial or subclinical lesions (1-3). These cycles are a complex series of events on the tooth surface, which take place in ecological changes within the dental biofilm (4,5). At the beginning they are observed clinically as a small demineralized area. Remineralization is a net gain of ions towards the dental tissues, which replaces the loss due to the demineralization process. This occurs through a physical-chemical process that includes the supersaturation of ions in the solution in relation to enamel, the formation of nucleus and crystals (6,7). Since the control of dental caries remains a challenge (8) as one of the main public health problems in the world, its negative impacts should not be underestimated. Among other effects, dental pain, tooth loss, effects on general well-being and quality of life must be mentioned (9,10). It is important to look for effective treatments to

prevent the disease in its incipient stages (1-3). The importance of fluoride is indisputable as a viable and economical method; most likely, it will continue to lead the prevention of dental caries. However, there are compounds that serve as adjuvants in the remineralization process (11). Currently there is a growing interest in options that do not contain fluoride. These compounds are biologically active, mainly derived from natural products such as tea (eg, Camellia Sinensis or green tea), coffee, grapes, propolis, as well as some Asian herbs and mushrooms (12), synthetic products such as amorphous calcium phosphate, casein and xylitol (13-15). Xylitol  $[(\text{CHOH})_3(\text{CH}_2\text{OH})_2]$  is a non-acidic sweetener; it is associated with Ca in aqueous solution to inhibit the dissolution of enamel's calcium or phosphate ions, thus acting as a calcium transporter required for enamel remineralization (16).

The objective of this article was to evaluate the remineralizing effect of toothpastes based on Xylitol, and of two biologically active natural botanical

agents, *Camellia sinensis* and *Juniperus communis*. This exploration of its remineralizing potential was compared against a fluoridated toothpaste.

#### MATERIALS AND METHODS

An experimental *in vitro* study was carried out. The protocol was reviewed and approved by the Research and Ethics Committee of the Autonomous University State of Mexico.

We included 18 human premolars extracted for orthodontic reasons. All the patients signed an informed consent.

Bicuspid had no restorations, fractures or decay on the vestibular face. The teeth were stored in 0.2% thymol after extraction. Teeth were randomly assigned to one of six groups. Control group, which was not exposed to any procedure; Demineralization only group, exposed to an artificial demineralization process; Xylitol group, exposed to 100% Natural Dentiste toothpaste (Bangkok, Thailand); *Camellia sinensis* group, exposed to Fluocaril toothpaste (Bangkok, Thailand); *Juniperus communis* group, exposed to Splat Special Blackwood toothpaste (Moscow, Russia); and Toothpaste Control Group, exposed to Colgate Triple Action toothpaste (San Jose Iturbide, Guanajuato, Mexico).

ALL THE TEETH WERE SUBJECTED TO THE FOLLOWING PROCESSES FOR FURTHER ANALYSIS

#### ARTIFICIAL DEMINERALIZATION PROCESS

An artificial demineralization process was performed, for which the specimens were immersed in a demineralizing solution (2.2 Mm CaCl<sub>2</sub>, 2.2 Mm NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.05 Mm CH<sub>3</sub>COOH and 1M KOH) adjusting the pH to 4.4 during 96 hours at 37 ° C in an incubator (17).

#### CYCLIC PH MODEL

The specimens were exposed to a cyclic pH model for 15 days at 37°C in order to simulate the conditions of the oral environment.

Each specimen was immersed in a demineralizing solution (2.2Mm CaCl<sub>2</sub>, 2.2Mm NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.05 Mm CH<sub>3</sub>COOH, 1M KOH, pH 4.4, 10 mL/specimen) twice a day for 3 hours and for 2 hours in the remineralizing solution (1.5Mm CaCl<sub>2</sub>, 0.9Mm NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.15Mm KCl, pH 7.0, 10mL / specimen) between the demineralization cycles.

The specimens treated with the toothpastes were embedded in suspension of toothpaste according to their group (5 mL per specimen) for 60s before the onset of the first demineralization cycle and before and after the second demineralization cycle. Then, they were stored in remineralizing solution in an incubator at 37°C for 16 hours to complete 24 hours of a cycle (17).

#### TEETH PREPARATION FOR ANALYSIS BY SEM AND EDS

We obtained 3x3 mm blocks of enamel from the vestibular surface of the teeth. They were cut with a carbide disc, then we cleaned of specimens for 5 minutes in separate containers, filled with tri-distilled water in an ultrasonic bath (Quantrex Q140, L & R Ultrasonics, NJ, USA). Next, the blocks were fixed to an aluminum specimen holder with carbon adhesive tape (SPI Supplies, USA).

The atomic percentages of Ca and P were evaluated, which were analyzed with EDS. In addition, the enamel surface was visualized by SEM.

The SEM analysis was performed using a scanning electron microscope (JEOL, JSM-6510LV, Japan) in the low vacuum mode at 10 Pa of pressure

in the chamber, with an electron acceleration voltage of 15 kV and detecting backscattered electrons.

The morphology of the enamel surface was observed at a magnification of 500x at a working distance of 50 mm. We determined the atomic percentages (% at) of Ca and P using an X-ray detector system (Oxford Instruments, 7582, United Kingdom) coupled to the scanning electron microscope.

#### STATISTICAL ANALYSIS

Data were analyzed using the statistical package SPSS 23.0 (SPSS Inc., Chicago, USA). The one-way ANOVA test was performed with Bonferroni's correction for multiple comparisons of atomic percentages of Ca and P; the value of  $p$  was adjusted to 0.001667. We also used the Pearson Correlation test between Ca and P, with a significance of  $p \leq 0.05$ .

#### RESULTS

##### QUANTITATIVE EVALUATION OF CHEMICAL COMPOSITION WITH EDS

The chemical composition of the enamel surface was determined before treatment, after a demineralization process and after the treatment with each of the remineralizing toothpastes, which were presented in at%.

Table 1 shows the results of the atomic percentage analysis of the Ca and P elements of each study group. In the Pearson correlation

test between Ca and P, statistically significant correlations were observed in all groups ( $p < 0.01$ ), ranging from  $r=0.7413$  (Xylitol Group) to  $r=0.9510$  (Control Group).

When performing the one-way ANOVA test for the comparison of P, statistically significant differences were found between the Control Toothpaste Group vs the Xylitol Group ( $p < 0.001$ ), the Control Toothpaste Group vs the Camellia Sinensis Group ( $p=0.003$ ) and between the Control Toothpaste Group vs Juniperus Communis Group ( $p < 0.001$ ). With respect to Ca, statistically significant differences were obtained between the Xylitol Group vs. the Demineralization Group ( $p=0.001$ ) and between the Control Toothpaste Group vs the Xylitol Group ( $p < 0.001$ ) (Table 2 and 3).

##### QUALITATIVE ANALYSIS WITH SEM OF THE SPECIMENS' SURFACES

In Fig. 1 we observe the microphotographs representative of the SEM enamel surfaces analysis for the groups. In the pretreatment analysis of the enamel surface morphology, shown in Fig.1a), we observe the prisms exposed in a "key hole" shape, as well as in a circular form. On the enamel surface after artificial demineralization we can observe a smooth appearance without perikymata pattern, with irregular fissures, as well as small defects in its periphery and presence of numerous irregular holes (Fig.1b). In the enamel surfaces treated with the toothpastes studied, smooth surfaces with various porosities and grooves were found in the groups treated with Camellia Sinensis and Juniperus Communis toothpastes (Fig.1c-f).

**Table 1.** Analysis of the Ca and P element atomic percentage.

| Chemical element at% | Control Group         | Deminerzalization Group | Xylitol Group        | Camellia sinensis Group | Juniperus communis Group | Control Toothpaste Group | F   | p value* |
|----------------------|-----------------------|-------------------------|----------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-----|----------|
| Ca                   | 16.96±3.56            | 15.22±1.57              | 21.01±3.05           | 17.19±4.48              | 17.77±1.67               | 14.66±4.70               | 6.8 | 0.000    |
| P                    | 11.38±2.33            | 11.15±1.10              | 12.93±1.56           | 12.26±2.02              | 13.03±1.00               | 9.31±2.51                |     |          |
| Correlation†         | r= 0.9510<br>p<0.0010 | r= 0.9161<br>p<0.0010   | r=0.7413<br>p=0.0058 | r=0.9371<br>p<0.0010    | r=0.9161<br>p<0.0010     | 0.7626<br>p<0.0012       |     |          |

\* Analysis of variance (ANOVA)

† Pearson correlation of Ca y P

**Table 2.** Multiple comparisons of Bonferroni for P.

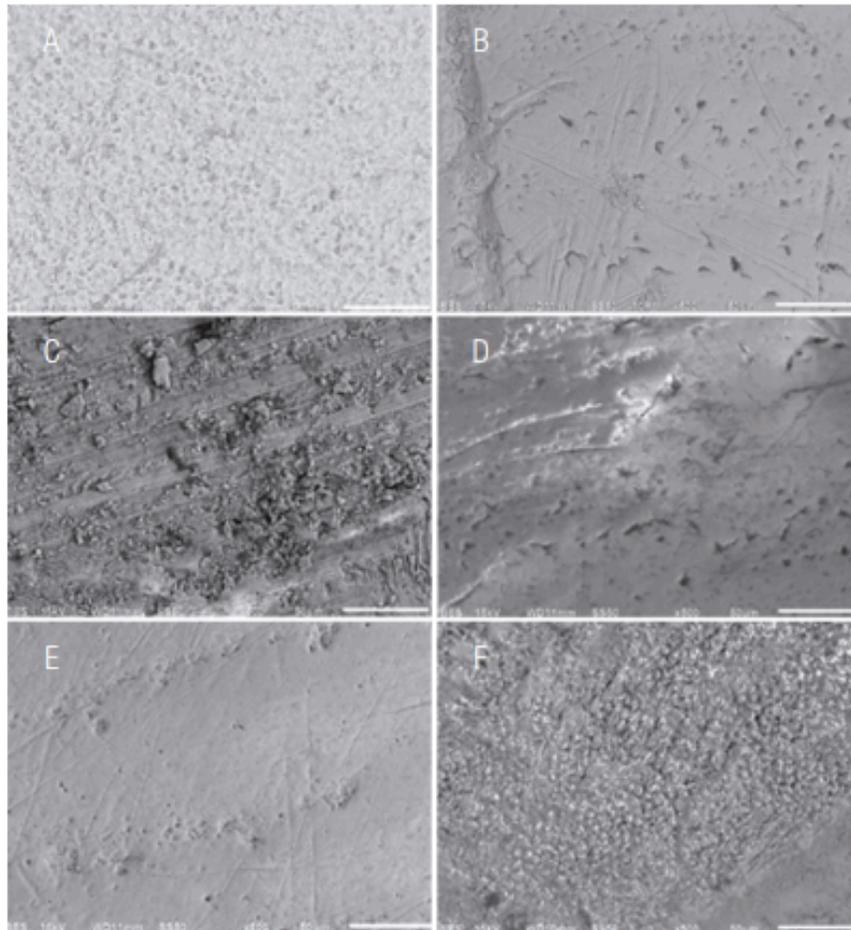
|                          | Control Group    | Deminerzalization Group | Xylitol Group   | Camellia sinensis Group | Juniperus communis Group |
|--------------------------|------------------|-------------------------|-----------------|-------------------------|--------------------------|
| Deminerzalization Group  | -0.2325<br>1.000 |                         |                 |                         |                          |
| Xylitol Group            | 1.5525<br>0.662  | 1.785<br>0.319          |                 |                         |                          |
| Camellia sinensis Group  | .8775<br>1.000   | 1.11<br>1.000           | -0.675<br>1.000 |                         |                          |
| Juniperus communis Group | 1.65<br>0.491    | 1.8825<br>0.231         | 0.0975<br>1.000 | 0.7725<br>1.000         |                          |
| Control Toothpaste Group | -2.0725<br>0.119 | -1.84<br>0.266          | -3.625<br>0.000 | -2.95<br>0.003          | -3.7225<br>0.000         |

\*The p value was adjusted to a significance of 0.001667.

**Table 3.** Multiple Bonferroni comparisons for Ca.

|                          | Control Group     | Deminerzalization Group | Xylitol Group     | Camellia sinensis Group | Juniperus communis Group |
|--------------------------|-------------------|-------------------------|-------------------|-------------------------|--------------------------|
| Deminerzalization Group  | -1.74<br>1.000    |                         |                   |                         |                          |
| Xylitol Group            | 4.04583<br>0.074  | 5.78583<br>0.001        |                   |                         |                          |
| Camellia sinensis Group  | .224167<br>1.000  | 1.96417<br>1.000        | -3.82167<br>0.116 |                         |                          |
| Juniperus communis Group | .811666<br>1.000  | 2.55167<br>1.000        | -3.23417<br>0.347 | .5875<br>1.000          |                          |
| Control Toothpaste Group | -2.29833<br>1.000 | -.558333<br>1.000       | -6.34417<br>0.000 | -2.5225<br>1.000        | -3.11<br>0.431           |

\*The p value was adjusted to a significance of 0.001667.



**Figure 1.** a) Pretreatment enamel surface morphology, b) Enamel surface after an artificial demineralization process, c) Enamel surface after treatment with xylitol toothpaste, d) Enamel surface after Camellia sinensis.

## DISCUSSION

In the present study, the remineralizing effect of Xylitol, Camellia sinensis and Juniperus communis added to dentifrices was evaluated, using a fluoride toothpaste as a control. We studied the morphological and chemical changes of human premolars enamel surface after their treatment with the toothpastes previously mentioned. It was found that specimens treated with the Juniperus communis toothpaste had a

higher atomic percentage of P; however, it cannot be definitively concluded if this result is due to the active component of Juniperus communis, since pyrophosphates are found within the ingredients of this toothpaste. On the other hand, when analyzing the atomic percentages of Ca, statistically significant differences were observed between the group treated with the Xylitol toothpaste and the control group. This ion gain benefits the remineralization process by the net addition into the enamel structure, which replaces

what was previously lost by demineralization. It should be mentioned that this occurs through a physical-chemical process that includes the ions supersaturation of the solution respecting to enamel, the formation of nucleus and crystal growth (18,19).

It is well known that Xylitol in high concentrations has the ability to form compounds with calcium ions and penetrate the demineralized enamel, where it can contribute to transporting dissolved ions by decreasing the calcium and phosphate diffusion coefficient (15,20). Studies have shown greater remineralizing effect in both varnishes (15) and in toothpastes (21) when xylitol is added to fluoride. In our study we found a positive correlation between the presence of calcium and phosphorus; however, this was the weakest correlation, even compared with the control toothpaste group. *In vivo* studies have shown that the remineralization process can be accelerated because xylitol reduces the acidity of the bacterial biofilm, allowing fluoride to act under more favorable conditions (22).

Recent studies have shown the remineralizing effect of *Camellia sinensis* (23,24) Likewise, it has been shown that its addition to carbonated drinks reduces the demineralization they cause (25). In this study we found that the addition of this compound to toothpastes helps to increase calcium and phosphate ions, obtaining a strong correlation. These results are not definitive: in a dynamic environment such as the mouth, antibacterial effects should be evaluated (26). It should be determined whether remineralization is influenced by the variable fluoride levels in the *Camellia sinensis* leaves (27).

Reviewing the literature, no evidence was found of the *Juniperus communis* remineralizing effect (28) However, its antioxidant effect has been proven, which is directly related to its application

to prevent oxidative damage to biological systems by reactive forms of oxygen H<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub><sup>-</sup> and OH) that are produced during cellular metabolism in organisms (29,30). It is worth mentioning that, in the present study, an almost perfect correlation was found between the amount of calcium and phosphate ions when applying the *Juniperus communis* toothpaste (28). For these reasons it is advisable to perform *in vivo* studies to evaluate these effects - both the effects of the different types of *Juniperus* by themselves, and in conjunction with pyrophosphates in the toothpaste.

Although the use of fluorides is essential in the prevention of dental caries, it is important to explore the value of available alternatives. The present research aims to expand the knowledge about remineralizing substances that are not based on fluoride. These have become attractive for patients interested in using products that are perceived to be biologically natural alternatives, or with fluorides excluded in their formulation. The cultural tendency to exclude fluorides from water-manifested in multiple votes in developed countries in which local populations reject the addition of fluorides to drinking water-makes it necessary to evaluate the different options available in the market for prevention of dental caries.

This study has the limitation that it was undertaken in a small sample. Despite its exploratory nature, our results confirm some past literature reports, and provide new evidence. Xylitol toothpaste showed the highest remineralizing property, both in the EDS analysis and in the SEM images. Although the *Camellia sinensis* toothpaste showed positive results by EDS, the SEM images showed a smooth surface, similar to the demineralized surface. The *Juniperus communis* toothpaste was associated with a high percentage of phosphate; this may be due to the fact that its composition includes pyrophosphates, which can form synthetic phosphates.

## REFERENCES

1. Abdurraheem R. H., Garib B. T. Effect of different tea in remineralization of artificially-induced initial enamel caries of human teeth (Study in vitro). *J Dent Sci (Tikrit)* 2011; 1:19-24.
2. Ando M., Ferreira-Zandoná A. G., Eckert G. J., Zero D. T., Stookey G. K. Pilot clinical study to assess caries lesion activity using quantitative light-induced fluorescence during dehydration. *Journal of Biomedical Optics* 2017; 22: 03: 50-55.
3. Anita P., Sivasamy S., Madam-Kumar P. D., Balan I. N., Ethiraj S. In vitro antibacterial activity of *Camellia sinensis* extract against cariogenic microorganisms. *J Basic Clin Pharm* 2014; 6: 35-39.
4. Arends J., Christoffersen J., Schuthof J., and Smits M. T. Influence of xylitol on demineralization of enamel. *Caries Res* 1984; 18: 296-301.
5. Azzimonti B., Cochis A., El Beyrouthy M., Iriti M, Uberti F, Sorrentino R, et al. Essential oil from berries of lebanese *Juniperus excelsa* M. Bieb displays similar antibacterial activity to chlorhexidine but higher cytocompatibility with human oral primary cells. *Molecules* 2015; 20: 9344-9357.
6. Barbosa C. S., Kato M. T., Buzalaf M. A. R. Effect of supplementation of soft drinks with green tea extract on their erosive potential against dentine. *Aust Dent J* 2011; 56: 317-321.
7. Cardoso C. A., Cassiano L. P., Costa E. N., Souza-E-Silva C. M., Magalhães AC, Grizzo LT, et al. Effect of xylitol varnishes on remineralization of artificial enamel caries lesions in situ. *J Dent* 2016b; 50: 74-78.
8. Cardoso J. G., Iorio N. L., Rodrigues L. F., Couri M. L., Farah A., Maia L. C., et al. Influence of a Brazilian wild green propolis on the enamel mineral loss and *Streptococcus mutans*' count in dental biofilm. *Arch Oral Biol* 2016a; 65: 77-81.
9. Castellanos J. E., Marín L. M., Úsuga M. V., Castiblanco G. A., Martignon S. La remineralización del esmalte bajo el entendimiento actual de la caries dental. *Univ Odontol* 2013; 32: 49-59.
10. Cheng L., Li J., He L., Zhou X. Natural products and caries prevention. *Caries Res* 2015; 49: 38-45.
11. Cochrane N. J., Cai F., Huq N. L., Burrow M. F., Reynolds E. C. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res* 2010; 89: 1187-1197.
12. Donahue G. J., Waddell N., Plough A. L., del Aguila M. A., Garland T. E. The ABCDs of treating the most prevalent childhood disease. *Am J Public Health* 2005; 95: 1322-1324.
13. Ekambaram M., Itthagarun A., King N. M. Comparison of the remineralizing potential of child formula dentifrices. *Int J Paediatr Dent* 2011; 21: 132-140.
14. Featherstone J. D. The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc* 2000; 131: 887-899.
15. Grewal N., Gumber S., Kaur N. Comparative evaluation of enamel remineralization potential of processed cheese, calcium phosphate-based syntetic agent, and a fluoride-containing toothpaste: An in situ study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2017; 35: 19-27.
16. Hariri I., Sadr A., Nakashima S., Shimada Y., Tagami J., Sumi Y. Estimation of the enamel and dentin mineral content from the refractive index. *Caries Res* 2013; 47: 18-26.
17. Höferl M., Stoilova I., Schmidt E., Wanner J., Jirovetz L., Trifinova D., et al. Chemical composition and antioxidant properties of Juniper Berry (*Juniperus communis* L.) essential oil. Action of the essential oil on the antioxidant protection of *Saccharomyces cerevisiae* model organism. *Antioxidants (Basel)* 2014; 3: 81-98.
18. Innes N. P., Frencken J. E., Bjorndal L., Maltz M., Manton D. J., Ricketts D., et al. Managing

- carious lesions: Consensus recommendations on terminology. *Adv Dent Res* 2016; 28: 49-57.
19. Khurshid Z., Zafar M. S., Zohaib S., Najeeb S., Naseem M. Green tea (*Camellia sinensis*): Chemistry and oral health. *Open Dent J* 2016; 10: 166-173.
  20. Longbottom C. L., Huysmans M. C., Pitts N. B., Fontana, M. Glossary of key terms. *Monogr Oral Sci.* 2009; 21: 209-216.
  21. Mäkinen K. K., Isotupa P. K., Kivilompolo T., Makinen L. P., Tiovanen J., Soderling E. Comparison of erythritol and xylitol saliva stimulants in the control of dental plaque and mutans streptococci. *Caries Res* 2001; 35: 129-135.
  22. Malekafzali B., Ekrami M., Mirfasihi A., Abdolazimi Z. Remineralizing Effect of Child Formula Dentifrices on Artificial Enamel Caries Using a pH Cycling Model. *J Dent (Tehran)* 2015; 12 (1): 11-17.
  23. Martorell P., Forment J. V., de Llanos R., Montón F., Llopis S., González N., Genovés S., Cienfuegos E., Monzó H., Ramón D. Uso de *Saccharomyces cerevisiae* y *Caenorhabditis elegans* como modelo organismos para estudiar el efecto de los polifenoles del cacao en la resistencia al estrés oxidativo. *J. Agric. Comida Chem.* 2011; 59: 2077-2085.
  24. Masood M., Yusof N., Hassan M. I., Jaafar N. Longitudinal study of dental caries increment in Malaysian school children: a 5-year cohort study. *Asia Pac J Public Health* 2014; 26: 260-267.
  25. Miake Y., Saeki Y., Takahashi M., Yanagisawa T. Remineralization effects of xylitol on demineralized enamel. *J Electron Microscop* 2003; 52 (5): 471-476.
  26. Mirkarimi M., Toomarian L. Effect of green tea extract on the treatment of dentin erosion: an in vitro study. *J Dent (Tehran)* 2012; 9: 224-228.
  27. Peres M. A., Barros A. J., Peres K. G., Araujo C. L., Menezes A. M. Life course dental caries determinants and predictors in children aged 12 years: a population-based birth cohort. *Community Dent Oral Epidemiol* 2009; 37: 123-133.
  28. Rochel I. D., Souza J. G., Silva T. C., Pereira A. F. F., Rios D., Buzalaf M. A. R., et al. Effect of experimental xilitol and fluoride containing dentifrices on enamel erosion with or without abrasion in vitro. *J Oral Sci* 2011; 53: 163-168.
  29. Spratt D. A., Daglia M., Papetti A., Stauder M., O'Donnell D., Ciric L., et al. Evaluation of plant and fungal extracts for their potential anti-gingivitis and anticaries activity. *J Biomed Biotechnol* 2012; 2012: About 12 pages.
  30. Ten Cate J. M., Arends J. Remineralization of artificial enamel lesions in vitro: III. A study of the deposition mechanism. *Caries Res* 1980; 14 (6): 351-358.



Attribution (BY-NC) - (BY) You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggest the licensor endorses you or your use. (NC) You may not use the material for commercial purposes.

### 7.3 Resultados adicionales

#### Evaluación cuantitativa de composición química con EDS

La composición química de la superficie del esmalte de los premolares fue determinada antes del tratamiento, después de un proceso de desmineralización y posterior al tratamiento con cada una de las pastas dentales remineralizantes, los cuales fueron presentados en at%.

En el Tabla 1 se observan los resultados del análisis del porcentaje atómico de los elementos Ca y P en cada uno de los grupos de estudio. En la prueba de correlación de Pearson entre Ca y P, en todos los grupos se observaron correlaciones estadísticamente significativas ( $p < 0.01$ ), yendo de  $r = 0.7413$  (Grupo Xilitol) a  $r = 0.9510$  (Grupo Control).

Al realizar la prueba de ANOVA de un factor con comparaciones múltiples de Bonferroni para la comparación de P, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el Grupo Pasta control vs Grupo Xilitol ( $p < 0.001$ ), Grupo Pasta control vs Grupo *Camelia sinensis* ( $p = 0.003$ ) y entre el Grupo Pasta control vs *Juniperus communis* ( $p < 0.001$ ). Con respecto al Ca se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre el Grupo Xilitol vs el Grupo Desmineralización ( $p = 0.001$ ) y entre el Grupo Pasta control vs Grupo Xilitol ( $p < 0.001$ ) (Tabla 2 y 3).

Tabla 1. Análisis del porcentaje atómico del elemento Ca y P.

| Elemento químico at% | Grupo Control         | Grupo Desmineralización | Grupo Xilitol        | Grupo <i>Camelia sinensis</i> | Grupo <i>Juniperus communis</i> | Grupo Pasta control | F    | Valor de p* |
|----------------------|-----------------------|-------------------------|----------------------|-------------------------------|---------------------------------|---------------------|------|-------------|
| Ca                   | 16.96±3.56            | 15.22±1.57              | 21.01±3.05           | 17.19±4.48                    | 17.77±1.67                      | 14.66±4.70          | 6.80 | 0.000       |
| P                    | 11.38±2.33            | 11.15±1.10              | 12.93±1.56           | 12.26±2.02                    | 13.03±1.00                      | 9.31±2.51           |      |             |
| <b>Correlación†</b>  | r= 0.9510<br>p<0.0010 | r= 0.9161<br>p<0.0010   | r=0.7413<br>p=0.0058 | r=0.9371<br>p<0.0010          | r=0.9161<br>p<0.0010            | 0.7626<br>p<0.0012  |      |             |

\*Análisis de varianza (ANOVA)

†Correlación de Pearson de Ca y P

Valores presentados como media±desviación estándar

Tabla 2. Comparaciones múltiples de Bonferroni para P.

|  | Grupo Control    | Grupo Desmineralización | Grupo Xilitol           | Grupo <i>Camelia sinensis</i> | Grupo <i>Juniperus communis</i> |
|--|------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| <b>Grupo Desmineralización</b>         | -0.2325<br>1.000 |                         |                         |                               |                                 |
| <b>Grupo Xilitol</b>                   | 1.5525<br>0.662  | 1.785<br>0.319          |                         |                               |                                 |
| <b>Grupo <i>Camelia sinensis</i></b>   | .8775<br>1.000   | 1.11<br>1.000           | -0.675<br>1.000         |                               |                                 |
| <b>Grupo <i>Juniperus communis</i></b> | 1.65<br>0.491    | 1.8825<br>0.231         | 0.0975<br>1.000         | 0.7725<br>1.000               |                                 |
| <b>Grupo Pasta control</b>             | -2.0725<br>0.119 | -1.84<br>0.266          | -3.625<br><b>0.000*</b> | -2.95<br><b>0.003*</b>        | -3.7225<br><b>0.000*</b>        |

\*Se ajustó el valor de p a una significancia de 0.001667.

Tabla 3. Comparaciones múltiples de Bonferroni para Ca.

|  | <b>Grupo Control</b> | <b>Grupo Desmineralización</b> | <b>Grupo Xilitol</b>      | <b>Grupo <i>Camelia sinensis</i></b> | <b>Grupo <i>Juniperus communis</i></b> |
|--|----------------------|--------------------------------|---------------------------|--------------------------------------|--|
| <b>Grupo Desmineralización</b>         | -1.74<br>1.000       |                                |                           |                                      |  |
| <b>Grupo Xilitol</b>                   | 4.04583<br>0.074     | 5.78583<br><b>0.001*</b>       |                           |                                      |  |
| <b>Grupo <i>Camelia sinensis</i></b>   | .224167<br>1.000     | 1.96417<br>1.000               | -3.82167<br>0.116         |                                      |  |
| <b>Grupo <i>Juniperus communis</i></b> | .811666<br>1.000     | 2.55167<br>1.000               | -3.23417<br>0.347         | .5875<br>1.000                       |  |
| <b>Grupo Pasta control</b>             | -2.29833<br>1.000    | -.558333<br>1.000              | -6.34417<br><b>0.000*</b> | -2.5225<br>1.000                     | -3.11<br>0.431                         |

\*El valor de p fue ajustado a una significancia de 0.001667.

### Evaluación con fluorescencia láser (DIAGNOdent)

En la tabla 4 se observan los resultados del análisis de los valores obtenidos con fluorescencia láser, para lo cual se realizó la prueba de ANOVA de medidas repetidas encontrando diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.000$ ) en los grupos estudiados.

Tabla 4. Análisis de varianza de medidas repetidas

|                        | <b>G1</b> | <b>G2</b> | <b>G3</b> | <b>G4</b> | <b>Valor de p</b> |
|------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------------------|
| <b>Pretratamiento</b>  | 1.90±0.66 | 1.70±0.75 | 1.73±0.58 | 1.63±0.62 | <b>0.000*</b>     |
| <b>Desmineralizado</b> | 5.27±1.23 | 5.77±1.10 | 5.20±0.96 | 5.33±1.30 | <b>0.000*</b>     |
| <b>Postratamiento</b>  | 1.87±0.73 | 1.93±0.64 | 2.10±0.71 | 2.33±0.66 | <b>0.000*</b>     |

\* valor de  $p \leq 0.005$ .

Valores presentados como media y desviación estándar

## **Análisis cualitativo con SEM de las superficies de los especímenes**

En la Fig. 9 podemos observar las microfotografías representativas del análisis mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) de las superficies de esmalte para el grupo estudiado. En el análisis de la morfología de la superficie del esmalte en el pretratamiento, mostrado en la Fig. 1a), se observó un patrón donde destacan los prismas expuestos en forma de "orificio de llave", así como en forma circular.

Mientras que en la superficie del esmalte posterior al proceso de desmineralización artificial se observó una apariencia lisa sin patrón de periquematías, con fisuras irregulares, así como, pequeños defectos en su periferia y presencia de innumerables orificios irregulares, lo cual se puede constatar en la Fig. 1b). De las superficies tratadas con las pastas estudiadas, se encontraron superficies lisas con diversas porosidades y surcos en las que fueron tratadas con la pasta de *Camellia Sinensis* y *Juniperus Communis* (Fig. 9c-f)

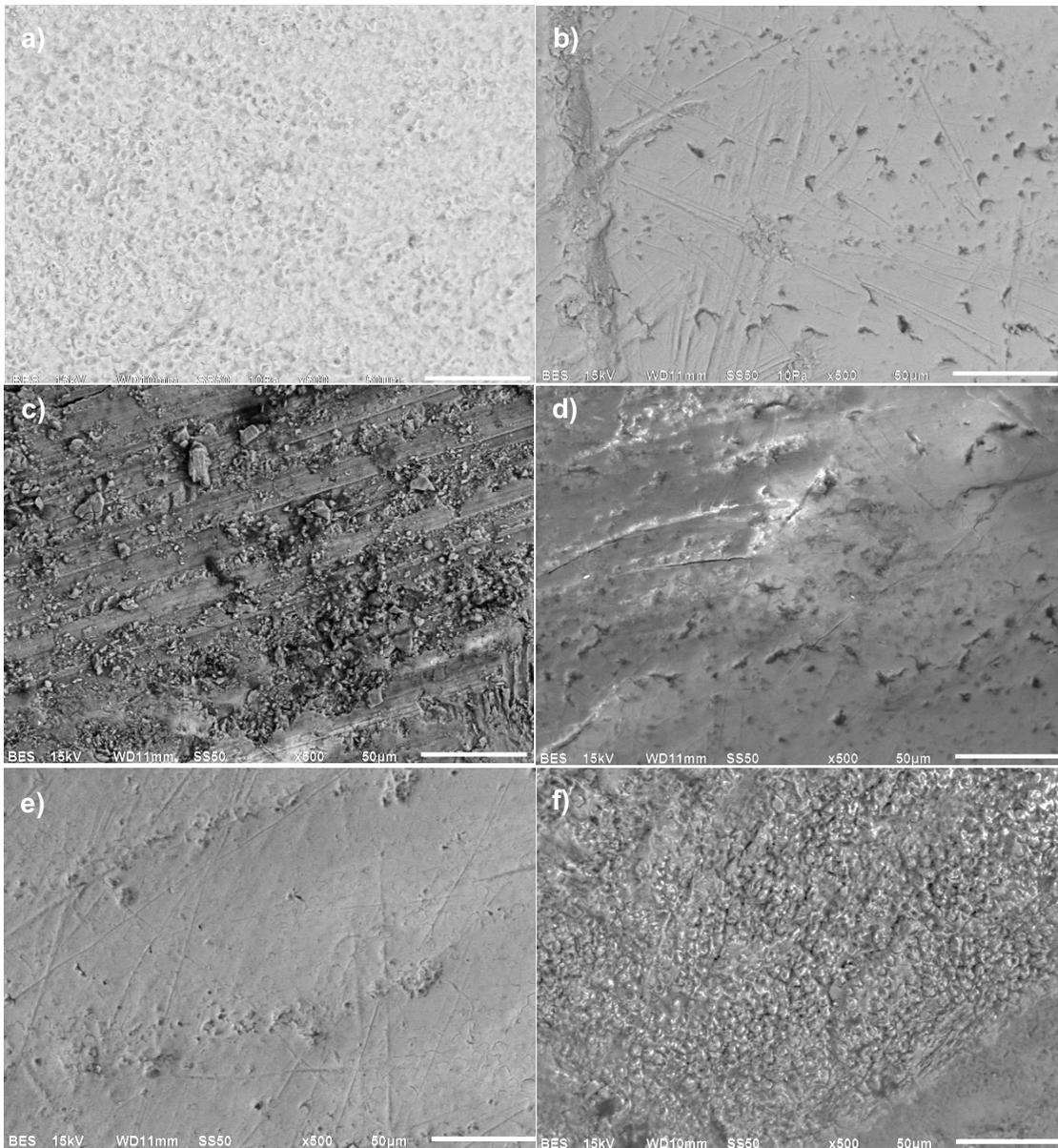


Fig. 9 Morfología de la superficie del esmalte en el pretratamiento, b) superficie del esmalte posterior a un proceso de desmineralización artificial, c) superficie del esmalte posterior al tratamiento con la pasta de xilitol, d) superficie del esmalte posterior al tratamiento con la pasta de *Camellia sinensis*, e) superficie del esmalte posterior al tratamiento con la pasta de *Juniperus communis* y f) superficie del esmalte posterior al tratamiento con la pasta control.

## Resistencia al descementado

Los valores de la resistencia al descementado de los grupos evaluados se muestran en la tabla 5. Donde observamos que el Grupo *Camellia sinensis* presentó mayor resistencia al desalojo que el resto de los grupos.

Tabla 5. Análisis descriptivo de la resistencia al descementado con valores expresados en MPa.

| Grupo                     | Media $\pm$ DE   | Rango      |
|---------------------------|------------------|------------|
| Xilitol                   | 7.80 $\pm$ 3.62  | 2.7 – 16.3 |
| <i>Camellia sinensis</i>  | 12.70 $\pm$ 5.01 | 2.2 – 27.4 |
| <i>Juniperus communis</i> | 8.83 $\pm$ 4.73  | 2.0 – 23.0 |
| Pasta control             | 7.40 $\pm$ 2.83  | 3.2 – 13.5 |

Al realizar la prueba de ANOVA de un factor se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos estudiados ( $p=0.05$ ), posteriormente se llevaron a cabo comparaciones múltiples de Bonferroni encontrando diferencias entre en Grupo xilitol vs Grupo *Camellia sinensis* ( $p=0.001$ ), Grupo *Camellia sinensis* vs *Juniperus communis* ( $p=0.002$ ), así como entre el Grupo *Camellia sinensis* vs Grupo control ( $p=0.001$ ) (Tabla 6).

Tabla 6. Comparaciones múltiples de Bonferroni para la resistencia al descementado.

|  | Grupo xilitol            | Grupo <i>Camellia sinensis</i> | Grupo <i>Juniperus communis</i> |
|--|--------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| <b>Grupo <i>Camellia sinensis</i></b>  | -4.9077<br><b>0.001*</b> |                                |                                 |
| <b>Grupo <i>Juniperus communis</i></b> | -0.9864<br>1.000         | 3.9212<br><b>0.002*</b>        |                                 |
| <b>Grupo Control</b>                   | 0.3925<br>1.000          | 5.3003<br><b>0.001*</b>        | 1.3790<br>1.000                 |

Análisis de varianza (ANOVA)

\*Se ajustó el valor de p a una significancia de 0.0083333

## Índice de Adhesivo Remanente

La puntuación del ARI se presenta en la tabla 7. La comparación de los resultados con la prueba  $\chi^2$  indicó diferencias estadísticamente significativas entre los grupos estudiados ( $p=0.004$ ). El Grupo Xilitol fue el grupo que menos adhesivo remanente presentó. Así mismo, el Grupo Control fue el que presentó mayor cantidad de resina en las superficies del esmalte.

Tabla 7. Puntuación del ARI (%).

| <b>Grupo</b>                           | <b>0</b>    | <b>1</b>    | <b>2</b>   |
|--|-------------|-------------|------------|
| <b>Grupo xilitol</b>                   | 12<br>40.00 | 18<br>60.00 | 0<br>0.00  |
| <b>Grupo <i>Camellia sinensis</i></b>  | 10<br>33.33 | 19<br>63.33 | 1<br>3.33  |
| <b>Grupo <i>Juniperus communis</i></b> | 9<br>30.00  | 16<br>53.33 | 5<br>16.67 |
| <b>Grupo Control</b>                   | 3<br>10.00  | 18<br>60.00 | 9<br>30.00 |
| <b>Valor de p 0.004*</b>               |             |             |            |

\*Prueba de  $\chi^2$ ,  $p= 0.05$

## 8. DISCUSIÓN

Actualmente el control de la caries dental sigue siendo un reto.<sup>51</sup> Se sabe que esta patología inicia con la presencia de un biofilm bacteriano y su progresión depende de un balance de desmineralización y remineralización.<sup>15</sup> Desde este punto de vista, es necesario buscar tratamientos efectivos que ayuden a prevenir el avance de esta enfermedad en etapas incipientes.<sup>1</sup>

La importancia del fluoruro, como un método viable y rentable es indiscutible, y muy probablemente, continúe siéndolo en aquellos países en los cuales no existen sistemas preventivos a nivel nacional o que tienen incidencia de caries relativamente alta, sin embargo, existen compuestos alternativos que sirven como coadyuvantes en el proceso de remineralización.<sup>12</sup> Actualmente existe un creciente interés por compuestos biológicamente activos derivados principalmente de productos naturales como lo son el té, el café, las uvas, propóleos, así como algunas hierbas y setas asiáticas<sup>13</sup>, al igual que sintéticos como el fosfato de calcio amorfo, caseína y xilitol.<sup>14,15</sup>

En la presente investigación se decidió evaluar el efecto remineralizante del Xilitol, *Camellia sinensis* y *Juniperus communis* adicionados a dentífricos como alternativa al fluoruro debido a las razones previamente mencionadas.

Se sabe que el Xilitol en altas concentraciones tiene la capacidad de formar compuestos con los iones de calcio y penetrar en el esmalte desmineralizado, donde puede contribuir con el transporte de iones disueltos al disminuir el coeficiente de difusión del calcio y fosfato.<sup>15,68</sup> Estudios han demostrado mayor efecto remineralizante tanto en barnices<sup>15</sup> como en dentífricos<sup>69</sup> cuando además de fluoruro se les adiciona xilitol. En nuestro estudio encontramos una correlación positiva entre la presencia de calcio y fósforo, sin embargo, fue la correlación más débil, incluso comparada con el grupo de la pasta convencional. Es recomendable realizar estudios *in vivo* ya que se ha demostrado que el proceso de remineralización puede verse acelerado debido a que el xilitol reduce la acidez del biofilm bacteriano, permitiendo al fluoruro actuar en condiciones más favorables.<sup>70</sup>

Estudios recientes han demostrado que el efecto remineralizante de la *Camellia sinensis* es similar al fluoruro de sodio.<sup>71</sup> Así mismo, se ha demostrado que su adición a bebidas carbonatadas reduce la desmineralización producida por las mismas.<sup>72</sup> En el presente estudio se encontró que la adición de este componente a dentífricos ayuda al aumento de iones de calcio y fosfato, obteniéndose una correlación fuerte al realizar la prueba de Correlación de Spearman. Dichos resultados son parciales, ya que en un ambiente dinámico como lo es la cavidad bucal, podría evaluarse el efecto antibacterial antes estudiado<sup>73</sup> lo cual podría potencializar la remineralización al contener en sus hojas fluoruro.<sup>74</sup>

Al revisar en la literatura, no se encontró evidencia del efecto remineralizante de *Juniperus communis*.<sup>75</sup> Sin embargo, estudios comprueban su efecto antioxidante.<sup>76</sup> Cabe mencionar que, en el presente estudio, se encontró una correlación casi perfecta entre la cantidad de iones de calcio y fosfato al aplicar la pasta con dicho componente. Estudios han demostrado el efecto antibacterial de distintos tipos de *Juniperus*.<sup>75</sup> Es importante hacer hincapié en el aporte del presente estudio, debido a que en la actualidad se ha buscado utilizar agentes naturales biológicamente activos capaces de ayudar en el proceso de remineralización.<sup>13</sup> Así mismo, se han buscado compuestos que potencialicen el efecto ya conocido como lo es el del fluoruro en la adición de iones a la molécula de hidroxiapatita, los cuales mejoran las propiedades físicas, así como la resistencia a la desmineralización. La ventaja del presente estudio es que se analizó el efecto remineralizante de sustancias naturales adicionadas a dentífricos, los cuales podemos encontrarlas en el mercado a precios accesibles. Así mismo, el presente estudio *in vitro* nos brinda una idea de cómo se comportan dichos compuestos cuando son adicionados a pastas, de esta manera nos da una pauta para poderlos utilizar *in vivo*, por tal razón es recomendable realizar estudios *in vivo* para evaluar dicho efecto. Así mismo, se debe evaluar únicamente el compuesto, ya que la adición de fluoruro puede sesgar los resultados obtenidos.

Respecto a la resistencia al descementado de brackets ortodónticos, la literatura menciona que los resultados son variables, ya que los estudios *in vitro* arrojan datos significativamente mayores que los realizados *in vivo*.<sup>77</sup> Así mismo, se sabe que en

el resultado pueden influir innumerable cantidad de factores, como lo son: irregularidad anatómica de la superficie del esmalte de premolares humanos, el equipo y tiempo de fotopolimerización, el tipo de brackets, el tiempo de almacenaje de las muestras antes de realizar el estudio, el modo de medir la resistencia al descementado, así como la dirección de la fuerza.<sup>77</sup> En el presente estudio, el grupo remineralizado con *Camelia sinensis* mostró mayor resistencia al descementado, lo cual podemos atribuirlo a que al estar menos mineralizada la superficie, los tags de la resina profundizan más en la superficie del esmalte.

Ha sido estudiado anteriormente el índice adhesivo remanente<sup>77,78</sup> debido a la importancia que representa el conocer el estado en el cual queda la superficie del esmalte después del tratamiento de ortodoncia. Es ideal que después de remover el bracket del diente la superficie del esmalte quede sin, o con muy poco, adhesivo residual.<sup>77</sup>

Diversos autores han estudiado el Índice Adhesivo Remanente comparando diferentes sistemas adhesivos.<sup>77-78</sup> En el presente trabajo se estudió dicho índice siendo la variable independiente el grado de mineralización de dientes premolares humanos con un mismo sistema adhesivo. Se encontró que, entre mayor mineralización del diente, el Índice Adhesivo Remanente disminuía.

Lo anterior es de suma importancia debido a que desde un punto de vista clínico y conservador, una cantidad de adhesivo remanente escasa puede ser preferible para limpiar la superficie del esmalte de una manera más fácil, rápida y con una mínima intervención, cabe señalar que en el presente estudio no se observaron fracturas en el esmalte, precisando que los valores medios de la resistencia al descementado no excedieron los 14 Mpa, lo anterior es de importancia puesto que se ha encontrado que el esmalte puede fracturarse cuando la fuerza supera dicho valor.<sup>53</sup>

## 9. CONCLUSIÓN

Actualmente el uso de fluoruros es esencial en la prevención de caries dental, sin embargo, es importante conocer las distintas alternativas disponibles para tal efecto. La presente investigación pretende ampliar el conocimiento sobre sustancias remineralizantes, de esta manera el odontólogo puede contar con diferentes opciones disponibles en el mercado para evitar el desarrollo de lesiones cariosas.

Se encontró que la pasta adicionada con xilitol presentó mayor efecto remineralizante, lo cual la hace una opción viable debido a que es un producto ampliamente difundido. Se recomienda realizar estudios sobre el efecto remineralizante aislado de *Juniperus communis* debido a que la adición de pirofosfatos puede generar un sesgo de confusión.

La resistencia al descementado y el Índice Adhesivo Remanente son variables muy relacionadas. En el presente estudio se concluyó que entre más mineralizado esté el diente, menor resistencia al descementado y menor el índice adhesivo remanente, lo cual nos da pie a futuras investigaciones, para lograr encontrar un equilibrio entre adhesión y mantener una superficie del esmalte inalterada.

## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Donahue GJ, Waddell N, Plough AL, del Aguila MA, Garland TE. The ABCDs of treating the most prevalent childhood disease. *Am J Public Health* 2005;95:1322-4.
2. Ando M, Ferreira-Zandoná AG, Eckert GJ, Zero DT, Stookey GK. Pilot clinical study to assess caries lesion activity using quantitative light-induced fluorescence during dehydration. *J Biomed Opt* 2017;22:03:50-5.
3. Hariri I, Sadr A, Nakashima S, Shimada Y, Tagami J, Sumi Y. Estimation of the enamel and dentin mineral content from the refractive index. *Caries Res* 2013;47:18-26.
4. Innes NP, Frencken JE, Bjorndal L, Maltz M, Manton DJ, Ricketts D, et al. Managing carious lesions: Consensus recommendations on terminology. *Adv Dent Res* 2016;28:49-57.
5. Featherstone JD. The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc* 2000;131:887-99.
6. Castellanos JE, Marín LM, Úsuga MV, Castiblanco GA, Martignon S. La remineralización del esmalte bajo el entendimiento actual de la caries dental. *Univ Odontol* 2013;32:49-59.
7. Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res* 2010;89:1187-97.
8. Cheng L, Li J, He L, Zhou X. Natural products and caries prevention. *Caries Res* 2015;49:38-45.
9. Masood M, Yusof N, Hassan MI, Jaafar N. Longitudinal study of dental caries increment in Malaysian school children: a 5-year cohort study. *Asia Pac J Public Health* 2014;26:260-7.
10. Peres MA, Barros AJ, Peres KG, Araujo CL, Menezes AM. Life course dental caries determinants and predictors in children aged 12 years: a population-based birth cohort. *Community Dent Oral* 2009;37:123-33.

11. Otal V, Espasa JE, Boj JR, Durán J. Resistencia a las fuerzas de tracción de la unión esmalte-bracket de productos adhesivos. *Rev Esp Ortod* 2002; 32:317-23.
12. Mäkinen KK, Isotupa PK, Kivilompolo T, Mäkinen LP, Tiovanen J, Soderling E. Comparison of erythritol and xylitol saliva stimulants in the control of dental plaque and mutans streptococci. *Caries Res* 2001;35:129-35.
13. Spratt DA, Daglia M, Papetti A, Stauder M, O'Donnell D, Ciric L, et al. Evaluation of plant and fungal extracts for their potential antigingivitis and anticaries activity. *J Biomed Biotechnol* 2012;2012:About 12 pages.
14. Grewal N, Gumber S, Kaur N. Comparative evaluation of enamel remineralization potential of processed cheese, calcium phosphate-based syntetic agent, and a fluoride-containing toothpaste: An *in situ* study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2017;35:19-27.
15. Cardoso CA, Cassiano LP, Costa EN, Souza-E-Silva CM, Magalhães AC, Grizzo LT, et al. Effect of xylitol varnishes on remineralization of artificial enamel caries lesions in situ. *J Dent* 2016b;50:74-8.
16. Miake Y, Saeki Y, Takahashi M, Yanagisawa T. Remineralization effects of xylitol on demineralized enamel. *J Electron Microsc* 2003;52(5): 471-76.
17. Harris NO, García-Godoy F. *Odontología Preventiva Primaria*. México: Manual Moderno; 2001.
18. Chun KJ, Choi HH, Lee JY. Comparison of mechanical property and role between enamel and dentin in the human teeth. *J. Dent. Biomech* 2014;5:[about 7p.] Consultado el 11 de octubre 2016. Disponible en: <https://triggered.clockss.org/ServeContent?url=http://dbm.sagepub.com%2Fcontent%2F5%2F1758736014520809.full>
19. Staines M, Robinson WH, Hood JAA. Spherical indentation of tooth enamel. *J Mater Sci* 1981;16:2551-6.
20. Reyes GJ. Observación del esmalte dental humano con microscopia electrónica. *Rev Tamé* 2013;1:90-6.
21. Gómez de Ferraris E, Campos MA. *Histología y embriología bucodental*. 2nd Ed. España: Panamericana; 2004.

22. Chokshi K, Chokshi A, Konde S, Shetty SR, Chandra KN, Jana S, et al. An in vitro comparative evaluation of three remineralizing agents using confocal microscopy. *J Clin Diagn Res* 2016;10:39-42.
23. Nurelhuda NM, Al-Haroni M, Trovik TA, Bakken V. Caries experience and quantification of streptococcus mutans and streptococcus sobrinus in saliva of sudanese schoolchildren. *Caries Res* 2010;44:402-7.
24. De la Fuente-Hernández J, González-De Cossio M, Ortega-Maldonado M, Sifuentes-Valenzuela MC. Caries y pérdida dental en estudiantes preuniversitarios mexicanos. *Salud Publ Mex* 2008;50;235-40.
25. Krasse B. Caries risk: A practical guide for assessment and control. Chicago: Quintessence Publishing Co. Inc; 1985.
26. Bratthall D. Selection for prevention of high caries risk groups, *J Dent Res* 1980;59:2178-82.
27. Núñez DP, García-Bacallao L. Bioquímica de la caries dental. *Rev Haban Cienc Méd* 2010;9:156-66.
28. Liébana UJ. Microbiología oral. 2nd Ed. España: Mc Graw Hill; 1995.
29. Featherstone JD, Rodgers BE. Effect of acetic, lactic and other organic acids on the formation of artificial carious lesions. *Caries Res* 1981;15:377-85.
30. Featherstone JD, Mellberg JR. Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res* 1981;15:109-14.
31. Geddes DA. Acids produced by human dental plaque metabolism in situ. *Caries Res* 1975;9:98-109.
32. Leverett DH, Proskin HM, Featherstone JD, et al. Caries risk assessment in a longitudinal discrimination study. *J Dent Res* 1993;72:538-43.
33. Anderson AM, Kao E, Gladwin M, Benli O, Ngan P. The effects of argon laser irradiation on enamel decalcification: An in vivo study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2002;122:251-9.
34. Castellanos JE, Marín LM, Úsuga MV, Castiblanco GA, Martignon S. La remineralización del esmalte bajo el entendimiento actual de la caries dental. *Univ Odontol* 2013;32:49-59.

35. Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res* 2010;89:1187-97.
36. Iijima Y, Takagi O, Ruben J, Arends J. In vitro Remineralization of in vivo and in vitro formed enamel lesions. *Caries Res* 1999;33:206-13.
37. Nokhbatolfoghahaie H, Alikhasi M, Chiniforush N, Khoei F, Safavi N, Yaghoob Zadeh B. Evaluation of Accuracy of DIAGNOdent in Diagnosis of Primary and Secondary Caries in Comparison to Conventional Methods. *Lasers Med Sci* 2013;4:159-67.
38. Sridhar N, Tandon S, Rao N. A comparative evaluation of DIAGNOdent with visual and radiography for detection of occlusal caries: An in vitro study. *Indian J Dent Res* 2009;20:326-31
39. Lussi A, Hibst R, Paulus R. DIAGNOdent: an optical method for caries detection. *J Dent Res* 2004;83:80-3.
40. Jablonski-Momení A, Ricketts DN, Rolfsen S, Stoll R, Heinzl-Gutenbrunner M, Stachniss V, Pieper K. Performance of laser fluorescence at tooth surface and histological section. *Lasers Med Sci* 2011; 26:171-8.
41. Kavo Kerr Group. Instrucciones de uso DIAGNOdent pen 2190. Consultado el 05 de septiembre 2016. Disponible en: [www.kavo.diagnodentpen.pdf](http://www.kavo.diagnodentpen.pdf)
42. Zhan L, Cheng J, Chang P, Ngo M, Denbesten PK, Hoover CI, Featherstone JD. Effects of xylitol wipes on cariogenic bacteria and caries in young children. *J Dent Res* 2012;91:85-90.
43. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. The influence of xylitol and fluoride on dental erosion in vitro. *Arch Oral Biol* 1998;43:157-61.
44. Sano H, Nakashima S, Songpaisan Y, Phantumvanit P. Effect of a xylitol and fluoride containing toothpaste on the remineralization of human enamel in vitro. *J Oral Sci* 2007;49:67-73.
45. Smits MT, Arends J. Influence of xylitol-and/or fluoride containing toothpaste on the remineralization of surface softened enamel effects in vivo. *Caries Res* 1985;19:528-35.

46. Cobos OC, Valenzuela EE, Araiza MA. Influencia de un enjuague a base de fluoruro y xilitol en la remineralización *in vitro* del esmalte en dientes temporales. Rev Odont Mex 2013;17:204-9.
47. Pepeljnjak S, Kosalec I, Kaloera Z, Blazevik Z. Antimicrobial activity of juniperberry essential oil (*Juniperus communis.*, *Cupressaceae*). Acta Pharm 2005;5:417-22.
48. Nelson RRS. In-vitro activities of five plant essential oils against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. J Antimicrob Chemoth 1997;40:305-6.
49. Filipowicz N, Kamin'ski M, Kurlenda J, Asztemborska M, Ochocka JR. Antibacterial and antifungal activity of juniper berry oil and its selected components. Phytother Res 2003;17:227-31.
50. Moghbel A, Farzadeh A, Aghel N, Agheli H, Raisi N. The effect of green tea on prevention of mouth bacterial infection, halitosis, and plaque formation on teeth. IJT 2011;5:502-15.
51. Cheng L, Li J, He L, Zhou X. Natural products and caries prevention. Caries Res 2015;49:38-45.
52. Moromi NH, Martínez CE, Villavicencio GJ, Burga SJ, Ramos PD. Efecto antimicrobiano *in vitro* de la *Camellia sinensis* sobre bacterias orales. Odontol. Sanmarquina 2007;10:18-20.
53. Scougall-Vilchis RJ, Zárate-Díaz C, Hotta M, Yamamoto K. Efectos de un nuevo agente de autograbado en la resistencia al descementado de las brackets ortodóncicas. Rev Esp Ortod 2008;38:207-12.
54. Wendl B, Muchitsch P, Pichelmayer M, Droschl H, Kern W. Comparative bond strength of new and reconditioned brackets and assessment of residual adhesive by light and electron microscopy. Eur J Orthod 2011;33:288-4.
55. Pickett KL, Sadowsky PL, Jacobson A, Lacefield W. Orthodontic in vivo bond strength: comparison with in vitro results. Angle Orthod 2001;1:141-8.
56. Egan F, Alexander S, Cartwright G. Bond strength of rebonded orthodontic brackets. Am J Orthod Dentofac Orthop 1996;109:64-6.

57. Basudan AM, Al-Emran SE. The effects of in-office reconditioning on the morphology of slots and bases of stainless steel brackets and on the shear/peel bond strength. *J Orthod* 2001;28:231-6.
58. Aguilar-Ellis AG, Ferreto-Gutiérrez I, Rodríguez-Wong L, Cáceres-Zapata H. Fuerza de adhesión de un sistema adhesivo de uso de ortodoncia aplicado en intervalos de tiempo. *Odovtos-Int. J. Dent. Sc* 2013;15:7-12.
59. López S, Palma J, Guerrero J, Ballesteros M, Elorza H. Fuerza de retención al esmalte con adhesivos usados en ortodoncia, utilizando dos tipos de base de brackets (estudio comparativo *in vitro*). *Rev Odont Mex* 2004;8:122-6.
60. Luque H. Fuerza de adhesión de brackets reacondicionados con diferentes técnicas adheridas repetidas veces en la misma superficie del esmalte. *Odontol Sanmarquina* 2008;11:60-5.
61. Scougall-Vilchis RJ. Evidencia científica para la aplicación de los agentes de autograbado en ortodoncia clínica. *Rev ADM* 2010;67:8-12.
62. Trites B, Foley TF, Banting D. Bond strength comparison of 2 self-etching primers over a 3-month storage period. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2004;126:709-16.
63. Cehreli ZC, Kecik D, Kocadereli I. Effect of self-etching primer and adhesive formulations on the shear bond strength of orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2005;127:573-9.
64. Bishara SE, VonWald L, Laffoon JF, Warren JJ. Effect of a selfetch primer/adhesive on the shear bond strength of orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2001;119:621-4.
65. Velázquez-Ramírez CI, Scougall-Vilchis RJ, Centeno-Pedraza C, Arjona-Serrano J, Kubodera-Ito T. Resistencia al descementado de las brackets fabricadas con resina compuesta. *Rev Esp Ortod* 2012;42:73-7.
66. Rodríguez-Vilchis LE, Contreras-Bulnes R, Arjona-Serrano J, Soto-Mendieta MR, Alanís-Tavira J. Prevalencia de caries y conocimientos sobre salud-enfermedad bucal de niños (3 a 12 años) en el Estado de México. *Rev ADM* 2006;63:170-5.

67. Malekafzali, B, Ekrami M, Mirfasihi A, Abdolazimi Z. Remineralizing effect of child formula dentifrices on artificial enamel caries using a pH cycling model. *J Dent (Tehran)* 2015;12:11-7.
68. Arends J, Christoffersen J, Schuthof J, and Smits M T. Influence of xylitol on demineralization of enamel. *Caries Res.* 1984;18:296–301.
69. Rochel ID, Souza JG, Silva TC, Pereira AFF, Rios D, Buzalaf MAR, et al. Effect of experimental xylitol and fluoride containing dentifrices on enamel erosion with or without abrasion *in vitro*. *J Oral Sci.* 2011;53:163-8.
70. Ekambaram M, Itthagaran A, King NM. Comparison of the remineralizing potential of child formula dentifrices. *Int J Paediatr Dent.* 2011;21:132-40.
71. Abdulraheem RH, Garib BT. Effect of different tea in remineralization of artificially-induced initial enamel caries of human teeth (Study *in vitro*). *J Dent Sci (Tikrit).* 2011;1:19-24.
72. Barbosa CS, Kato MT, Buzalaf MAR. Effect of supplementation of soft drinks with green tea extract on their erosive potential against dentine. *Aust Dent J.* 2011;56:317-21.
73. Anita P, Sivasamy S, Madam-Kumar PD, Balan IN, Ethiraj S. In vitro antibacterial activity of *Camellia sinensis* extract against cariogenic microorganisms. *J Basic Clin Pharm.* 2014;6:35-9.
74. Khurshid Z, Zafar MS, Zohaib S, Najeeb S, Naseem M. Green tea (*Camellia sinensis*): Chemistry and oral health. *Open Dent J.* 2016
75. Azzimonti B, Cochis A, El Beyrouthy M, Iriti M, Uberti F, Sorrentino R, et al. Essential oil from berries of lebanese *Juniperus excelsa* M. Bieb displays similar antibacterial activity to chlorhexidine but higher cytocompatibility with human oral primary cells. *Molecules* 2015;20:9344-57.
76. Höferl M, Stoilova I, Schmidt E, Wanner J, Jirovetz L, Trifinova D, et al. Chemical composition and antioxidant properties of Juniper Berry (*Juniperus communis* L.) essential oil. Action of the essential oil on the antioxidant protection of *Saccharomyces cerevisiae* model organism. *Antioxidants (Basel)* 2014;3:81-98.

77. Scougall-Vilchis RJ, Ohashi S, Yamamoto K. Effects of 6 self-etching primers on shear bond strength of orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 2009;135:424.e1-7.
78. Rodrigues-Tonetto M, Alves-De Campos E, Fernández E, Kuga MC, Ferrarezzi-De Andrade M, Cohelo-Bandéca M. Bond strength and adhesive remnant index of experimental brackets bonded with self-adhesive resin cement. *Rev Clin Periodoncia Implantol Rehabil Oral* 2017;10:115-7.

## 11. ANEXOS

### Anexo 1

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS  
**CONSENTIMIENTOS BAJO INFORMACIÓN PARA PARTICIPACIÓN EN LA  
INVESTIGACIÓN**

A quien corresponda:

Por medio de la presente, yo \_\_\_\_\_ acepto libre y voluntariamente, participar en el proyecto de investigación titulado: **Efecto remineralizante de pastas dentales a base de Xilitol, *Juniperus communis*, *Camellia sinensis* y su relación con la resistencia al descementado de brackets: estudio *in vitro***. El cuál se llevará a cabo en el Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Odontología de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma del Estado de México, como parte del trabajo de tesis que realizará la C.D. Sandra Isabel Jiménez Gayosso.

Se me ha informado que el procedimiento consiste en la obtención de dientes, los cuales me fueron extraídos debido a previas razones ortodóncicas, teniendo en cuenta que lo antes mencionado no implicará ningún riesgo para mi salud. Además, se me ha garantizado la confidencialidad y protección de mis datos personales y en ningún caso, serán utilizados para otros fines, la razón de la investigación es netamente de carácter académico.

He sido informado, que mi participación en esta investigación, es totalmente gratuita y voluntaria. Por lo tanto, entiendo, que mi aceptación no tendrá ningún costo. También ha quedado claro que mi negativa a aceptar la participación, no alterará en lo absoluto mi atención dental, además de, conocer mi derecho a saber los resultados que arroje esta investigación. He tenido la oportunidad de que se me aclaren todas las dudas que se me presentaron, antes de aceptar esta solicitud.

Firman:

\_\_\_\_\_  
Nombre, fecha y firma del paciente y/o padre o tutor

\_\_\_\_\_  
Nombre, fecha y firma del investigador

\_\_\_\_\_  
Nombre, fecha y firma del testigo

## Anexo 2

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

### CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL USO DE TEJIDO DENTARIO

El presente documento tiene como objetivo solicitar su autorización para la donación gratuita de dientes, con el fin de utilizarlos para la realización del proyecto de investigación titulado: **Efecto remineralizante de pastas dentales a base de Xilitol, *Juniperus communis*, *Camellia sinensis* y su relación con la resistencia al descementado de brackets: estudio *in vitro***. El cuál se llevará a cabo en el Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Odontología de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma del Estado de México, como parte del trabajo de tesis que realizará la C.D. Sandra Isabel Jiménez Gayosso.

Es importante que lea detenidamente este documento, entienda su contenido y el objeto del mismo y que, en su caso, haga todas las preguntas que crea preciso.

La finalidad de la donación es dotar a los investigadores de órganos dentarios, necesarios para desarrollar avances en el terreno del conocimiento sobre el tema anteriormente expuesto, lo cual puede ayudar al aporte de conocimiento en el área odontológica.

La donación es voluntaria por lo que, si Ud. da el consentimiento para su uso, en cualquier momento puede revocarlo, en caso de producirse esta revocación, su muestra dejará de formar parte de la investigación; sin embargo, esto no alterará en lo absoluto su atención dental.

La donación tiene por disposición legal carácter altruista, por lo que, no obtendrá ni ahora ni en el futuro ningún beneficio económico por la misma. Es importante aclarar que no está previsto compensarle por los productos desarrollados a partir de esta investigación, Ud. renuncia a cualquier beneficio económico que pudiera corresponderle en el futuro. Asimismo, tener el derecho de conocer los resultados que arroje esta investigación.

Firman:

\_\_\_\_\_  
Nombre, fecha y firma del paciente y/o padre o tutor

\_\_\_\_\_  
Nombre, fecha y firma del investigador

\_\_\_\_\_  
Nombre, fecha y firma del testigo

### Anexo 3: Presentación en foros

Reconocimiento de primer lugar modalidad oral

**FDILA FEDERACIÓN DENTAL IBERO LATINOAMERICANA**

# XXXIII CONGRESO DENTAL INTERNACIONAL FDILA

\*\*\*\*\* Riviera Maya \*\*\*\*\*  
2017

## Otorga el presente RECONOCIMIENTO

Sandra Isabel Jiménez-Gayosso, Edith Lara-Carrillo, Rogelio José Scougall-Vichis, Raúl Alberto Morales-Luckie, Carlo Eduardo Medina-Solis, César Tadeo Hernández-Martínez.

TEMA: Efecto remineralizante de pastas dentales a base de Xilitol, Juniperus communis, Camellia sinensis: estudio in vitro.

A: \_\_\_\_\_

En virtud de haber obtenido el **1º lugar** en el concurso internacional de *investigación* modalidad *oral* categoría *posgrado* dentro del programa de educación continua de CEUNI, llevado a cabo en el marco del XXXIII Congreso Dental Internacional celebrado en Riviera Maya, Quintana Roo, México del 25 al 29 de Octubre de 2017.

|  |                             |  |
|--|-----------------------------|--|
| Dr. en C. Adán Yañez Larios                  | Dr. José E. Rodríguez Cerro | Mtro. Victor Manuel Ramírez Anguiano                   |
|  |                             |  |
| PRLSIDENTE                                   | RECTOR                      | PRESIDENTE   |
| Federación Dental Ibero-Latinoamericana A.C. | Sistema CEUNI               | FEDERACION DE LAS UNIV. FACULTADES DE ODONTOLOGIA A.C. |
|  |                             |  |

**"POR UN MISMO IDIOMA: LA EXCELENCIA PROFESIONAL"**



LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ZACATECAS  
"Francisco García Salinas"  
A TRAVÉS DE LA UNIDAD ACADÉMICA DE ODONTOLOGÍA

Y LA SOCIEDAD NACIONAL DE INVESTIGADORES EN ODONTOLOGÍA

Otorgan el presente

**RECONOCIMIENTO**

A **Sandra Isabel Jiménez Gayosso**; Edith Lara Carrillo; Rogelio José Scougall Vilchis; Raúl Alberto Morales Luckie y Carlo Eduardo Medina Solís

Por haber obtenido el **SEGUNDO LUGAR** en la categoría de **MAESTRÍA** modalidad **CARTEL** con el trabajo titulado

**EFFECTO REMINERALIZANTE DE PASTAS DENTALES A BASE DE XILITOL, *Juniperus communis*, *Camellia sinensis*: ESTUDIO IN VITRO**

en el **XXV Encuentro Nacional y XVI Iberoamericano de Investigación en Odontología** y las **IV Jornadas de Investigación en Odontología de la UAO/UAZ**, celebrados del 8 al 10 de noviembre del 2017, en la Ciudad de Zacatecas, Zacatecas

Dr. José Luis Elías Salazar  
Director de la UAO/UAZ

Dr. Jorge Alanís Tavira  
Presidente de la SNIO

## Constancia de participación



La Universidad Autónoma del Estado de México a través de la  
Facultad de Odontología,  
el Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Odontología y el Cuerpo Académico Salud • Enfermedad Bucal

otorga la presente

# Constancia

A: Sandra Isabel Jiménez Gayosso, Edith Lara Carrillo, Rogelio J. Scougall Vilchis, Raúl Alberto Morales Luckie, Carlo Eduardo Medina Solís y César Tadeo Hernández Martínez

Por su presentación del trabajo en modalidad MAESTRIA titulado:  
"Efecto Remineralizante de Pastas Dentales a Base de Xilitol, Juniperus Communis,  
Camellia Sinensis: Estudio in Vitro"



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS  
AVANZADOS EN ODONTOLÓGIA

**IX** Coloquio  
Nacional  
Salud • Enfermedad Bucal

Toluca, Estado de México a 8 de febrero de 2018.

**PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO**

"2018, año del 190 Aniversario de la Universidad Autónoma del Estado de México"

  
Dra. en C.S. Edith Lara Carrillo  
Directora  
Facultad de Odontología

  
Dr. en O. Rogelio J. Scougall Vilchis  
Coordinador  
C.I.E.A.O.

**CIEAO**  
Centro de Investigación y Estudios Avanzados  
"Odontología "Dr. Keisaburo Miyata""



Cuerpo Académico  
**CASEB**  
Salud-Enfermedad Bucal