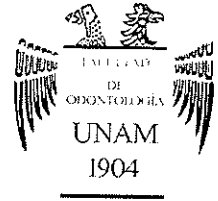




Universidad Nacional Autónoma de México



División de Estudios de Posgrado e
Investigación

Facultad de Odontología

Título del Artículo:

**Evaluación *in vitro* del efecto antimicrobiano de un
agente de remoción quimiomecánica de caries dental
a base de papaína (Brix3000®)**

Alumna:

C.D. Nery Jocelyn Àngel Hernández

Asesores:

Mtro. Omar Pérez Salvador

Dra. Argelia Almaguer Flores

Evaluación *in vitro* del efecto antimicrobiano de un agente de remoción quimiomecánica de caries dental a base de papaína (Brix3000®)

Nery Jocelyn Ángel Hernández¹, Omar Pérez Salvador², Argelia Almaguer Flores³

Resumen

Objetivo: El objetivo de este estudio fue la evaluación *in vitro* del efecto antimicrobiano de un agente de remoción quimiomecánica de caries a base de papaína (Brix3000®), mediante el conteo de unidades formadoras de colonias (UFCs), en muestras de dentina infectada obtenida de dientes temporales de niños de entre 2-6 años de edad. **Materiales y métodos:** Fue un estudio de tipo experimental *in vitro* y transversal, donde se evaluaron un total de 7 muestras de dentina obtenidas de dientes temporales que presentaban caries de segundo grado. Cada muestra fue dispersada mediante agitación por vórtex y posteriormente transferida a tres diferentes tubos, uno con 1 mL del gel a base de Papaína (Brix3000®), otro con 1 mL de Clorhexidina al 0.2 % (control positivo), y un tubo con 1 mL caldo enriquecido TSB (control negativo). Las muestras se dejaron reposar durante 5 minutos y posteriormente se realizaron 5 diluciones seriales de cada uno de los tubos. Después de este tiempo de exposición a cada uno de los compuestos, 100 µL de cada dilución fueron sembrados en placas de agar enriquecido HK, y se incubaron en una cámara de anaerobiosis durante 7 días. Posterior a la incubación anaeróbica, se realizaron los conteos de las UFCs para determinar el porcentaje de crecimiento de cada una de las muestras y la efectividad del compuesto experimental. **Resultados:** El crecimiento del número de UFCs de las muestras de dentina infectada expuestas al producto experimental Brix3000® fue de $9 \pm 4.1 \times 10^4$ /mL, mientras que el número de UFCs de las muestras que fueron expuestas a la clorhexidina al 0.2% fue de $22.6 \pm 12.3 \times 10^4$ /mL, lo que representó una disminución estadísticamente significativa del crecimiento bacteriano cuando se comparó con el número de UFCs que crecieron en las muestras que no fueron expuestas a ningún compuesto $153 \pm 43.9 \times 10^4$ /mL ($p < 0.001$). **Conclusión:** El agente de remoción quimiomecánica Brix3000® presentó un potencial antimicrobiano al observarse una disminución del crecimiento bacteriano del 84% comparado con el crecimiento bacteriano de las muestras que no fueron expuestas a ningún compuesto.

Palabras clave: remoción quimiomecánica de caries, papaína, Brix3000, crecimiento bacteriano.

Abstract

Objective: The aim of this study was the *in vitro* evaluation of the antimicrobial effect of a papain-based caries chemomechanical removal agent (Brix3000®), by counting CFU's, in infected dentin samples obtained from temporary teeth of Children between 2-6 years old. **Materials and Methods:** It was an experimental, *in vitro* and transversal study where a total of 7 dentin samples obtained from temporary teeth with second degree caries were evaluated. Each sample was dispersed by vortexing and subsequently transferred to three different tubes, one with 1 mL of the Papain-based gel (Brix3000®), another with 1 mL of 0.2% Chlorhexidine (positive control), and a tube with 1 mL TSB enriched broth (negative control). The samples were allowed to stand for 5 minutes and subsequently 5 serial dilutions of each of the tubes were made. After this exposure time to each of the compounds, 100 µL of each dilution were seeded in HK enriched agar plates, and incubated in an anaerobic chamber for 7 days. After anaerobic incubation, CFUs counts were performed to determine the percentage of growth of each sample and the effectiveness of the experimental compound. **Results:** The growth in the number of CFUs of infected dentin samples exposed to the Brix3000® experimental product was $9 \pm 4.1 \times 10^4$ / mL, while the number of CFUs in the samples that were exposed to 0.2% chlorhexidine was $22.6 \pm 12.3 \times 10^4$ / mL, which represented a statistically significant decrease in bacterial growth when compared to the number of CFUs that grew in the samples that were not exposed to any compound $153 \pm 43.9 \times 10^4$ / mL ($p < 0.001$). **Conclusion:** The Brix3000® chemomechanical removal agent showed an antimicrobial potential when a decrease in bacterial growth of 84% was observed compared to the bacterial growth of samples that were not exposed to any compound.

Key words: Chemomechanical caries removal, papain, Brix3000, bacterial growth.

¹ Egresada del programa de Especialización en Odontopediatría, DEPeI, Facultad de Odontología, UNAM.

² Profesor de Asignatura adscrito a la especialidad de Odontopediatría, DEPeI, Facultad de Odontología, UNAM.

³ Profesor Asociado C de Tiempo Completo, DEPeI, Facultad de Odontología, UNAM.

Introducción

La caries dental es una enfermedad infantil común y prevalente en la población mundial ¹. En México afecta al 91% de niños prescolares y escolares, causando ausentismo escolar, dolor y pérdida temprana de dientes ². Por lo que además de trabajar con los métodos de prevención, también es importante trabajar con los métodos de remoción de caries, principalmente aquellas que involucran la dentina, para que pueda realizarse fácilmente de forma selectiva y sin dolor.

La dentina es un tejido conjuntivo diferenciado, calcificado y sensible, surcado de túbulos ³. Forma la mayor parte de la estructura del diente, y está constituido por un 50% de materia inorgánica, 30% de materia orgánica y 20% de fluidos ⁴. El 90% del contenido orgánico del tejido dentinario es colágena tipo I, la cual es una proteína estructural fibrilar compuesta de aminoácidos, cuya unidad básica llamada tropocolágeno consta de tres cadenas polipeptídicas (dos de ellas iguales entre si) conformando una triple hélice muy compacta ^{5,6}.

En estados de salud dentinaria el tropocolágeno se mantiene estable por sus puentes de dihidroxilisinorleucina e hidroxilisinorleucina, mientras que en el proceso de caries estos puentes se encuentran cortados (desnaturalizado). Esto implica que el proceso de remineralización es imposible en este estadio; sin embargo, permite a las

enzimas proteolíticas actuar sobre algunas de sus moléculas al dividir los enlaces peptídicos ⁵.

En la dentina afectada, el colágeno que se llega a mantener intacto, contiene precursores de dihidroxinorleucina e hidroxinorleucina, lo que hace a la dentina más densa y con la capacidad de revertir un proceso carioso ^{5,7}. Según sus características clínicas, la caries en dentina puede ser aguda, con un aspecto amarillento y de consistencia blanda, o crónica, cuya consistencia es más dura, resistente y de color amarillo oscuro o marrón ⁸.

Fusayama y cols. describieron el avance de la caries en la dentina en dos capas: dentina infectada y dentina afectada. La dentina infectada es la capa más externa, contaminada por bacterias, no es vital dado que el canalículo dentinario no posee la prolongación del odontoblasto y tampoco es sensible. Es teñible a colorantes, no remineralizable debido a la presencia de cadenas peptídicas de tropocolágeno desnaturalizadas y puentes cortados, por lo que debe eliminarse. Por otro lado, la capa interna o dentina afectada, está libre de bacterias, es vital, sensible y no teñible. Se encuentra desmineralizada pero con capacidad de remineralizarse debido a que los puentes están modificados con dihidroxinorleucina e hidroxinorleucina (precursores), por lo que debe conservarse ⁹.

El concepto de Mínima Invasión (MI) en Odontología de acuerdo con Markley y cols., sugiere que "la pérdida de incluso una parte del diente debe considerarse una lesión grave y la meta de la odontología debe ser el preservar la salud y la estructura natural del diente" ¹⁰.

Un tratamiento de eliminación de caries en dentina de MI, busca evitar el realizar cavidades extensas, eliminar dentina infectada, provocar presión y calor sobre la pulpa, evitar vibración y ruido, el estímulo del dolor y la necesidad de usar anestesia local. También busca minimizar la ansiedad causada por el tratamiento dental, lo cual se complica con el uso de instrumentos rotatorios para eliminación de caries, principalmente en pacientes pediátricos, donde el manejo y control de la conducta es importante ¹¹.

La remoción quimiomecánica de dentina es uno de los métodos alternativos de MI que consiste en el uso de agentes químicos con preservación tisular, que actúan con una degradación dirigida al tejido infectado y desnaturalizado de la dentina, suavizándolo, y cuya remoción se complementa de forma mecánica con instrumentos manuales sin filo ¹². Por lo que se recomienda su uso en odontología pediátrica, ya que combina características atraumáticas con acciones bactericidas y bacteriostáticas ¹³.

Desde la década de 1970, composiciones químicas se han utilizado para la eliminación quimiomecánica de dentina. El primer producto disponible de este tipo, fue el Caridex™ (sistema NMAB, ácido-

N-monocloro-DL-2 aminobutírico) que aunque fue patentado en los EE. UU. en 1975, fue hasta 1984, que recibió la aprobación de la FDA para ser comercializado. Sin embargo, el sistema tenía limitaciones clínicas como el procedimiento manual, el gran volumen de solución necesario y el tiempo requerido para la eliminación completa de la caries ¹⁴⁻¹⁶.

Los estudios continuaron para mejorar el manejo y calidad del producto hasta que en 1999 surgió el Carisolv™ (MediTeam AB, Göteborg, Suecia), producto sueco que consistía en un gel de dos componentes: un fluido rojo de alta viscosidad con contenido de tres aminoácidos diferentes (ácido glutámico, leucina y lisina) y un fluido transparente con contenido de 0.5% de concentración de hipoclorito de sodio, así como instrumentos especiales de mano ¹⁷.

El mecanismo de acción del Carisolv™ consiste en la descomposición del tejido necrótico al contacto del gel con el tejido reblandecido, produciendo por el hipoclorito de sodio, una cloración de las fibras de colágeno parcialmente degradadas con la conversión de la hidroxiprolina en ácido pirrol 2-carboxílico, lo cual inicia la ruptura de las fibras colágenas y un selectivo ablandamiento de la capa superficial de dentina. Por otro lado, por su elevado pH (de 12) y por la selectividad dada por las cloraminas de la acción sobre el tejido desnaturalizado, solamente la fase orgánica de la dentina es afectada ¹⁸⁻²⁰.

En el 2003, surge Papacárie® (Fórmula y Acao, Sao Paulo, Sao Paulo, Brasil). Este producto tiene como principio activo la papaína (600 U), una endoproteína con actividad bactericida, bacteriostática y antiinflamatoria, compuesto por cloramina, azul de toluidina, agua, sales y espesantes^{21,22}.

El mecanismo de acción del Papacárie® consiste principalmente en la participación de la papaína sobre el tejido lesionado debido a la ausencia de una antiproteasa plasmática, la α 1-anti-tripsina, que impide su acción proteolítica en tejidos considerados normales. La α 1-anti-tripsina inhibe la digestión de proteínas, por lo tanto, como el tejido infectado no presenta α 1-anti-tripsina, la papaína actúa rompiendo las moléculas de colágeno parcialmente degradadas por la acción de la caries, ya que la misma tiene capacidad de digerir células muertas. Las cloraminas, además de poseer propiedades bactericidas y desinfectantes, son utilizadas para ablandar químicamente la dentina cariada, facilitando la remoción del tejido cariado. La porción degradada del colágeno de la dentina cariada es coloreada por el azul de toluidina, pigmento fotosensible que se adhiere a la membrana de la pared bacteriana y actúa como un potente antimicrobiano²¹.

Finalmente, con el propósito de expandir esta técnica, surge un nuevo producto llamado Brix3000® (Brix Medical Science, Carcañá, Argentina) en el 2016. Su componente principal es la papaína bioencapsulada con tecnología EBE

(Emulsión Buffer Encapsulante), que inmoviliza y le confiere estabilidad²³. De acuerdo con el fabricante, la diferencia de este producto con otros parecidos es la cantidad de Papaína utilizada (3,000 U/mg en una concentración del 10%), y la bioencapsulación de la misma por la tecnología EBE, lo cual le otorga al gel el pH óptimo para inmovilizar la enzima y liberarla al momento de ejercer su proteólisis sobre el colágeno, incrementando su actividad por encima de un 50-60%. De esta manera, se logra una alta actividad proteolítica sobre tejido necrótico para remover fibras de colágeno en tejido cariado, menor disolución del principio activo por los fluidos bucales, y mayor potencia antibacteriana y antifúngica, con aumento de su poder antiséptico a nivel de los tejidos. Es de acción selectiva, es decir, solo actúa en tejido necrosado y pierde su capacidad enzimática al tomar contacto con tejidos sanos²⁴⁻²⁷.

No existe un criterio objetivo para determinar cuándo una cavidad está libre de dentina de bacterias, razón por la cual los estudios sobre el contenido bacteriológico de la lesión son especialmente importantes. Existen diversos estudios que han evaluado el método de remoción quimiomecánica con respecto a la comodidad del paciente, el tiempo clínico para la remoción y su efecto sobre el tejido cariado, sin embargo, son pocas las investigaciones sobre la evaluación de la eficacia de estos agentes para reducir el recuento total viable de bacterias.

Por esta razón, el principal objetivo de este estudio fue la evaluación *in vitro* del efecto antimicrobiano de un agente de remoción quimiomecánica de caries a base de papaína (Brix3000®), mediante el conteo de UFCs, utilizando muestras de dentina infectada obtenida de dientes temporales de niños de entre 2-6 años de edad.

Materiales y Métodos

A. Diseño experimental.

El presente proyecto de investigación comprendió la realización de un estudio de tipo experimental, *in vitro* y transversal, en donde fueron evaluadas un total de 7 muestras de dentina obtenidas de dientes temporales que presentaban caries de segundo grado con el objetivo de evaluar el efecto antimicrobiano de un agente de remoción quimiomecánica a base de papaína (Brix3000®).

Población de estudio.

Las muestras de dentina fueron obtenidas de dientes temporales que presentaban caries de segundo grado en niños de entre 2-6 años de edad que acudieron por primera vez a la clínica de la especialidad de Odontopediatría de la División de Estudios de Posgrado e Investigación (DEPeI) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), durante el mes de agosto del 2019.

- *Criterios de inclusión.* Para participar en el estudio los pacientes debían tener un clínico tratante asignado por

la Coordinación de la especialidad de Odontopediatría, y presentar al menos un diente con caries de segundo grado, cavitado y accesible, previamente diagnosticado y con ruta clínica pre-establecida de tratamiento de remoción de caries y restauración.

- *Criterios de exclusión.* Los pacientes donadores de la muestra de dentina infectada no debían estar bajo tratamiento de antibiótico por lo menos dos semanas antes de la toma de su muestra.

De los pacientes que fueron incluidos para participar en el estudio, se obtuvo previamente un consentimiento informado firmado por los padres o tutores de aceptación, donde se les explicó que la toma de muestra de la dentina infectada no provocaba ningún problema secundario ni afectaría de manera alguna el tratamiento de rutina previamente planificado por el clínico tratante a cargo del caso.

B. Evaluaciones microbiológicas

Recolección de la muestra.

La recolección de la muestra de dentina infectada se realizó bajo aislamiento absoluto utilizando dique de hule y eyector de saliva. Se aplicó anestesia tópica alrededor de los dientes a aislar. No se administró anestesia local a menos que el paciente presentara dolor. La toma de la muestra se realizó con una cucharilla de dentina (YDM®) de 2 mm de diámetro con filo, que se detuvo hasta

que la dentina remanente presento más firmeza, y de acuerdo a los criterios clínicos de dureza ²⁸.

Las muestras de dentina infectada se transfirieron a un tubo estéril que contenía 1 mL de caldo enriquecido TSB (caldo de soya tripticasa (Becton Dickinson, Microbiology Systems, BBL™, Sparks, MD, USA), adicionado con 0.3 µg/mL de menadione (vitamina K, Sigma-Aldrich Química, S.A. de C.V., Toluca, México), 5 µg/mL de hemina (Sigma)). El procesamiento de las muestras se realizó dentro de los primeros 30 minutos después de la recolección.

Determinación del efecto antimicrobiano.

Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Genética Molecular de la Facultad de Odontología de la UNAM. Cada muestra fue dispersada mediante agitación por vórtex por tres periodos de 10 segundos. Posteriormente se transfirieron 100 µL de la muestra a tres diferentes tubos para microcentrífuga estériles con 1 mL del gel a base de Papaína (Brix3000®) al 5% (producto experimental), otro con 1 mL de Gluconato de clorhexidina (Sigma Aldrich) al 0.2 % (control positivo), y un tubo con 1 mL caldo enriquecido TSB que fue utilizado como control negativo, y se dejaron reposar durante 5 minutos.

Una vez transcurridos los 5 minutos, se realizaron 5 diluciones seriales de cada uno de los tubos, transfiriendo 100 µL de la muestra de cada tubo a tubos que contenían 900 µL de caldo enriquecido

TSB. Finalmente, 100 µL de cada dilución fueron sembrados en placas de agar enriquecido HK (agar base para *Mycoplasma* (Becton Dickinson, Microbiology Systems, BBL®, Sparks, MD, USA) suplementado con 5% de sangre de carnero desfibrinada (Laboratorios Microlab S.A. de C.V., México, D.F.), 0.3 µg/mL de menadione (vitamina K, Sigma-Aldrich Química, S.A. de C.V., Toluca, México), 5 µg/mL de hemina (Sigma)).

Todas las placas fueron incubadas en una cámara de anaerobiosis con ambiente de 80% N₂, 10% CO₂ y 10% H₂ a 35°C durante 7 días. El tiempo entre la recolección de muestras y el término de su procesamiento no excedió en ningún caso los 30 minutos.

Después de 7 días de incubación anaeróbica se realizó el conteo de las unidades formadoras de colonias (UFCs) que crecieron provenientes de las muestras que fueron expuestas al gel a base de Papaína (Brix3000®) y a los controles positivo y negativo. El efecto antimicrobiano fue determinado con base al número de UFCs que se contaron en las muestras incubadas placas de agar enriquecido HK y que no fueron expuestas a ningún agente químico (control negativo).

C. Análisis estadístico.

Los resultados del conteo de las UFCs se presentan como la media (ME) ± el error estándar de la media (EEM). El análisis

para determinar las diferencias significativas se determinaron utilizando la prueba de t de Student. Se utilizó el programa SPSS 24 (IBM Corp., Chicago, IL, EE. UU.) Para el análisis estadístico, el nivel de significancia se estableció a partir de un valor de $p < 0.05$.

Resultados

En la figura 1, se presenta el comportamiento del crecimiento bacteriano de cada una de las siete muestras de dentina infectada obtenidas de los pacientes y que fueron expuestas al producto experimental Brix3000®, utilizando como controles el gluconato de

clorhexidina al 0.2% (Control positivo) y el medio de cultivo sin ningún compuesto (Control negativo).

Se observó una clara reducción del crecimiento de las UFCs al exponerse al medio de cultivo con el gluconato de clorhexidina al 0.2% (control positivo), resultado esperado ya que el efecto antimicrobiano y el amplio espectro de la actividad bacteriana son características principales de la clorhexidina; sin embargo, se observó una reducción aún mayor de UFCs en casi todas las muestras de dentina infectada cultivadas con el producto experimental Brix3000®, como se muestra en la figura 2.

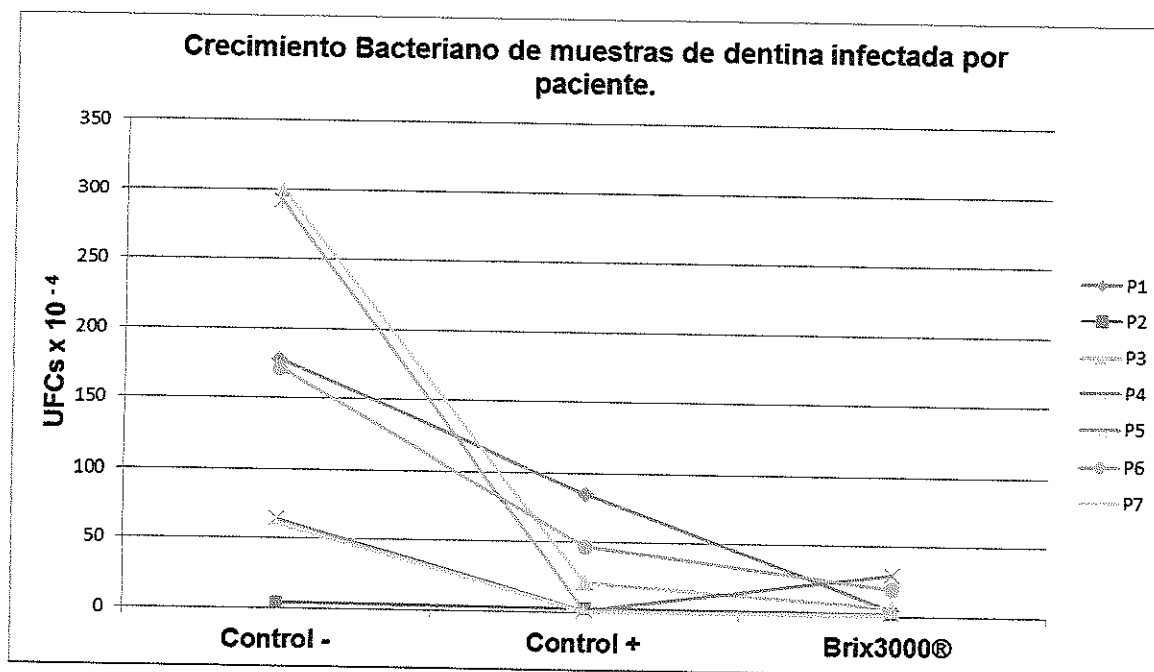


Figura 1. Comportamiento del crecimiento bacteriano de cada muestra de dentina infectada obtenida de los pacientes, expuestas al medio de cultivo sin ningún compuesto (Control negativo), al gluconato de clorhexidina al 0.2% (Control positivo) y al producto experimental Brix3000®.

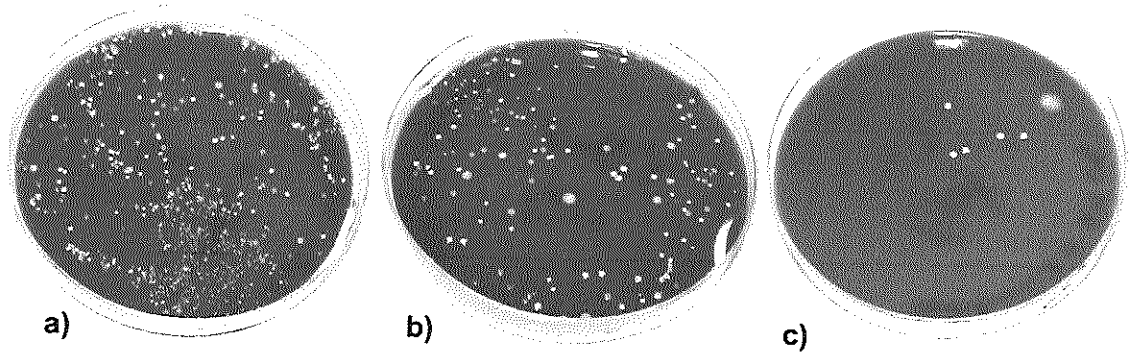


Figura 2. Imagen representativa del conteo de las unidades formadoras de colonias (UFCs) de muestras de dentina infectada cultivadas en placas de agar enriquecido HK y expuestas a: a) Caldo de cultivo HK (control negativo), b) Gluconato de Clorhexidina al 0.2% (control positivo), y c) Brix3000® al 5% (experimental).

La **tabla 1** muestra la media \pm el error estándar de la media (EEM) de los conteos obtenidos de las UFCs provenientes de las 7 muestras de dentina infectada. El control negativo presentó una media de 153 ± 43.9 , el control positivo una media de 22.6 ± 12.3 y el grupo experimental con el Brix3000® una media de 9 ± 4 .

Se encontró una diferencia significativa entre el número de las UFCs obtenidas con el producto Brix3000® comparándola con el número de las UFCs del control negativo (medio de cultivo sin producto) con un valor de significancia de $p < 0.001$.

En la **tabla 2** se muestra el porcentaje de reducción del número de UFCs bacterianas de las muestras de dentina infectada expuestas al producto experimental Brix3000® comparado con las muestras que no fueron expuestas a ningún producto (control negativo). Se

Tabla 1. Media y error estándar de la media (EEM) de los conteos de las UFC's $\times 10^{-4}$

	Brix3000® (experimental)	Control + (Clorhexidina)	Control - (Medio de cultivo)
Media	9.0***	22.6**	153.0
EEM	4.1	12.3	43.9

** $p < 0.01$ vs. Control negativo
 *** $p < 0.001$ vs. vs. Control negativo

observó que hubo una reducción significativa de crecimiento de colonias bacterianas en los cultivos expuestos al Brix3000®.

Con estos datos podemos determinar que hubo una reducción en el crecimiento bacteriano del 84% utilizando el compuesto experimental (Brix3000®), comparándolo con las muestras de dentina infectada que no fueron expuestas a ningún compuesto.

Tabla 2. Porcentaje de reducción del total de UFCs x 10⁻⁴

Muestra	Grupo Control – (medio de cultivo)	Grupo Brix3000®	Reducción (%)
1	178	5	97.2%
2	4	2	50.0%
3	301	6	98.0%
4	64	29	54.7%
5	292	2	99.3%
6	172	19	89.0%
7	60	0	100.0%
Medía de reducción (%)			84.0%

Discusión

Los agentes de remoción quimiomecánica de la caries dental, se caracterizan por su propiedad única de especificidad al diferenciar entre la dentina infectada y la dentina afectada²⁹⁻³⁹. Existen diversos productos de remoción quimiomecánica en el mercado como el Carisolv™, Papacarie® y Brix3000®, los cuales son agentes eficaces de remoción quimiomecánica de dentina infectada²⁹⁻⁴³. Sin embargo, la actividad antimicrobiana de estos productos no se ha evaluado lo suficiente como para atribuirles propiedades bacteriostáticas y/o bactericidas.

Respecto a los estudios publicados utilizando Carisolv™ y Papacarie® se ha reportado que estos compuestos tienen la capacidad de reducir el crecimiento total de colonias de un 89 % comparándolos con la remoción de caries de forma manual y con pieza de mano de alta y baja velocidad⁴⁴⁻⁵⁴.

En el presente estudio, se evaluó el efecto antimicrobiano del producto a base de papaína Brix3000® en muestras de dentina infectada después de ser expuestas al producto quimiomecánico. Haciendo una revisión exhaustiva de la literatura, no fue posible encontrar algún estudio previo que haya evaluado el efecto antimicrobiano de este compuesto, ya que es un producto relativamente nuevo. Por lo que este estudio puede considerarse pionero de las evaluaciones microbiológicas de este producto.

Como se mencionó anteriormente, diversos estudios que han reportado el efecto antimicrobiano tanto del Papacarie® como del Carisolv, los cuales reportan una reducción de más del 80% de la carga bacteriana presente en las muestras de dentina infectada⁴⁴⁻⁵⁹, lo que concuerda con los resultados obtenidos en este estudio donde encontramos una reducción significativa del 84% en el número de UFC's de las muestras de caries infectadas expuestas al Brix3000®.

Respecto al control positivo utilizado en este estudio (Clorhexidina al 0.2%), este compuesto es un producto antiséptico ampliamente utilizado en el área adontológica por su efecto antimicrobiano comprobado⁶⁰. Se ha reportado que este antiséptico tiene actividad antimicrobiana, antifúngica, antibacteriana de amplio espectro contra microorganismos Gram positivos y Gram negativos, hongos y algunos virus⁶¹. Aunque la clorhexidina es considerada como un excelente agente coadyuvante en el tratamiento de infecciones orales como la gingivitis y

periodontitis ⁶², hay poca evidencia que respalde su uso en lesiones cariosas ⁶³. En nuestro estudio, el porcentaje de reducción del crecimiento bacteriano de muestras de dentina infectada fue del 77%, lo que significa que el compuesto experimental fue superior en la eliminación de microorganismos provenientes de lesiones cariosas.

Por otra parte, el criterio clínico de dureza dentinaria aunque se considera subjetivo, parece ser suficiente para guiar al operador a decidir cuándo dejar de remover la caries ^{28,64}. Se ha demostrado que incluso cuando no se extrae todo el tejido carioso reblandecido, las bacterias residuales no son dañinas para el complejo dentino – pulpar y no conducen a una mayor progresión de la lesión o reacciones pulpares, siempre y cuando haya un buen sellado con un material restaurativo ⁶⁵⁻⁶⁸. De acuerdo con Kidd y cols. ni siquiera es posible eliminar toda la dentina infectada, esto debido a la estructura tubular de la dentina, donde existe una penetración bacteriana temprana dentro de los túbulos durante el proceso de caries, impidiendo la eliminación total de los microorganismos patógenos presentes. Incluso la llamada eliminación completa de caries (realizada con la pieza de mano de alta velocidad) no garantiza la eliminación completa de los microorganismos ^{69,70}.

Varias investigaciones han demostrado que, a menudo, hay un bajo número de microorganismos residuales (10^1 a 10^3 UFC's) que se quedan atrás en la dentina dura clínicamente sana (dentina afectada)

a pesar de una reducción significativa en el recuento bacteriano. Sin embargo, este bajo nivel de bacterias es considerado clínicamente aceptable por varios autores ^{46,47,55,67,68}. Además, la recurrencia de la caries no puede atribuirse exclusivamente a los recuentos bacterianos residuales en la dentina, ya que existen otros factores que pueden influir sobre la recurrencia de la caries secundaria, como la falla marginal o en el sellado del material restaurado, lo que lleva a fugas e infiltración de bacterias y carbohidratos ⁵⁶.

Sin embargo, otros autores coinciden en que los recuentos elevados de bacterias que quedan después de un procedimiento de extracción de caries pueden considerarse clínicamente significativos, ya que causan una mayor progresión de la enfermedad ^{20,71}. No obstante, las restauraciones adhesivas que proporcionan márgenes completamente sellados y con los antisépticos de cavidades antimicrobianos, como la clorhexidina, esta pequeña cantidad de bacterias tiene un efecto menor en la producción de cualquier desmineralización adicional. ^{66,67}

Con los resultados observados en el presente estudio, podemos decir que el producto experimental Brix3000® tiene un efecto antimicrobiano al reducir significativamente el número de bacterias presentes en muestras de dentina infectada cultivadas *in vitro*. Sin embargo se necesitan más estudios que evalúen el efecto antimicrobiano de este producto utilizando un mayor número de muestras e identificando las especies bacterianas

presentes en las muestras que tengan más sensibilidad o resistencia a este tipo de agentes de remoción quimiomecánica de caries dental.

Conclusión

El efecto antimicrobiano del producto Brix3000® fue demostrado ya que se observó una disminución estadísticamente significativa en la cantidad de microorganismos provenientes de muestras de dentina infectada expuestas a este agente, comparándola con la cantidad de microorganismos detectados en las muestras de dentina infectada que no fueron expuestas a ningún producto antimicrobiano.

Referencias

1. Petersen PE. The World Oral Health Report 2003 WHO Global Oral Health Programme. Community Dent Oral Epidemiol [Internet]. 2003;31 Suppl 1:3-23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15015736>
2. Guerrero V M, Godínez AG, Melchor C G, Rodríguez M E, Luengas E. Epidemiología de caries dental y factores de riesgo asociados a la dentición primaria en preescolares. Revista ADM, Mayo-Junio 2009;65(3):10-20.
3. López-Jordi M C, Schiaffino R, Kalil. Proteólisis enzimática del colágeno dentinario. Odontostomatología 2010; 12(14): 35-44.
4. Xin X, Yuan Z, Wenyuan S, Yaling L, Xuedong Z. Biofilm and Dental Caries. In: Xuedong Z, editor. Dental Caries, Principles and Management. China: Springer; 2016. p. 27-58.
5. Barrancos- Mooney J, Rodríguez G. Cariología. En: Barrancos- Mooney J, Barrancos P, editores. Operatoria Dental: Integración Clínica. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana; 2007. p. 297-340.
6. Ross M, Pawlina W. Histología : texto y atlas color con biología celular y molecular. 6a edición. Buenos Aires, Argentina : Médica Panamericana; 2012: 996.
7. Vermelho A B, De Melo A C, De Sá M H, Dos Santos A L, D'ávila-Levy C M, Couri S, et al.

- Enzimas proteolíticas: aplicações biotecnológicas. In: Bon E P, Ferrara M A, Corvo M L, editores. Enzimas em biotecnologia: produção, aplicações e mercado. Rio de Janeiro: Interciência, 2008. p. 269-285.
8. Bradford EW. The dentine: a barrier to caries. Brit Dent J. 1960;109(10):387.
 9. Fusayama T, Ohgushi K. Electron microscopic structure of the two layers of carious dentin. J Dent Res 1975; 54:1019-1026.
 10. Markley M. Restorations of silver amalgam. JADA 1951;43(2):133-46
 11. Carrillo SC. Revisión de los principios de preparación de cavidades. Revista ADM 2008;65(5):263-271.
 12. Yip HK, Samaranayake LP. Caries removal techniques and instrumentation: a Review. Clin Oral Invest. 1998; 2: 148-154.
 13. El-Tekeya M, El-Habashy L, Mokhles N, El-Kimary E. Effectiveness of 2 Chemomechanical Caries Removal Methods on Residual Bacteria in Dentin of Primary Teeth. Pediatr Dent 2012; 34: 325-30.
 14. Bordoni N, Squassi A. Tratamientos preventivos en cariológia. En: Barrancos- Mooney J, Barrancos P, editores. Operatoria Dental: Integración Clínica. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana; 2007. p. 629-650.
 15. Habib C M, Kronman J, Goldman M. A chemical evaluation of collagen and hydroxyproline after treatment with GK-101 (N-monochloroglycine). Phar Thera Dent 1975; 2; 209-215.
 16. Beeley J A, Yip H K, Stevenson A G. Chemochemical caries removal: a Review of the techniques and latest developments. . British Dental Journal 2000; 188(8):427-430...
 17. Ericson D, Zimmerman M, Raber H, Götrick B, Bornstein R. Clinical evaluation of efficacy and safety of a new method for chemomechanical removal of caries. Caries Res 1999; 33: 171-177.
 18. Jiyao L. Clinical Management of Dental Caries. In: Xuedong Z, editor. Dental Caries, Principles and Management. China: Springer; 2016. p. 107-128.
 19. Kathuria V, Ankola A, Hebbal M, Mocherla M. Carisolv an Innovation in Caries Removal. J Clin Diagn Res. 2013; 7(12): 3111-3115
 20. Yazici AR, Atilla P, Özgünlaltay G, Müftüoğlu S. In vitro comparison of the efficacy of Carisolv™ and conventional rotary instrument in caries removal. J Oral Rehabil. 2003; 30: 1177-1182
 21. Silva LR, Motta LJ, Reda SH, Façanha RAA, Bussadori SK. Papacárie – um novo sistema para a remoção química e mecânica do tecido cariado – relato de caso clínico. Rev Paul Odontol. 2004; 26(6): 4-8.
 22. Bussadori SK, Guedes CC, Fernandes KPS, Martins MD, Masuda, MS. Utilização do gel à base de papaína para remoção química e

- mecânica do tecido cariado. *Rev Assoc Paul Cir Dent*. 2006; 60(6): 450-3.
23. Bsereni L, Torresi F. Eficacia del gel de papaína contra la caries. *DENTAL TRIBUNE Hispanic & Latin America*, 2016: 3.
 24. Torresi F, Bsereni L. Eficácia do método de remoção químico-mecânica da cárie dentária como papaína em adultos. *Rev Assoc Paul Cir Dent* 2017;71(3):266-9.
 25. BRIX. [Página principal en Internet]. Argentina: Medical Science; c. 2014 [actualizado 2014; citado 20 Jul 2017]. [aprox. 2 pantallas]. Disponible en: <http://www.brix-lab.com/index.php/es/investigacion-2/119-la-actividad-enzimatica>.
 26. BRIX. [Página principal en Internet]. Argentina: Medical Science; c. 2014 [actualizado 2014; citado 20 Jul 2017]. [aprox. 2 pantallas]. Disponible en: <http://www.brix-lab.com/index.php/es/investigacion-2/105-tecnologia-e-b-e>.
 27. Felizardo KR, Guedes GF, Santos EA, Ferreira FCA, Lopes MB. Agentes de remocao químico-mecânica da cárie: revisao de literatura. *J Clin Dent Res*. 2018 ;15(3):84-103.
 28. Bausells HII. Quantificação da dureza e avaliação histobacteriológica da dentina remanescente não corada pelo "caries detector". Estudio in vitro em molares decíduos com cárie profunda. Araraquara: Faculdade de Odontologia, 1990.
 29. Hamama H, Yiu C, Burrow M. Current update of chemomechanical caries removal methods. *Aust Dent J*. 2014;59(4):446–56.
 30. Ericson D, Zimmerman M, Raber H, Götrick B, Bornstein R. Clinical evaluation of efficacy and safety of a new method for chemomechanical removal of caries. *Caries Res* 1999; 33: 171-177.
 31. Kathuria V, Ankola A, Hebbal M, Mocherla M. Carisolv an Innovation in Caries Removal. *J Clin Diagn Res*. 2013; 7(12): 3111-3115.
 32. Silva LR, Motta LJ, Reda SH, Façanha RAA, Bussadori SK. Papacárie – um novo sistema para a remoção química e mecânica do tecido cariado – relato de caso clínico. *Rev Paul Odontol*. 2004; 26(6): 4-8.
 33. Bussadori SK, Guedes CC, Fernandes KPS, Martins MD, Masuda, MS. Utilização do gel à base de papaína para remoção química e mecânica do tecido cariado. *Rev Assoc Paul Cir Dent*. 2006; 60(6): 450-3.
 34. Kabir R, Aeran H, Katre A, Kumar P. Chemomechanical Caries Removal: A Clinical Review. *Indian J Dent Sci*. December 2013; 5(5): 130-133.
 35. Pai VS, Nadig RR, Jagadeesh T, Usha G, Karthik J, Sridhara K. Chemical analysis of dentin surfaces after Carisolv treatment. *J Conserv Dent* 2009; 12: 118-122.
 36. Bussadori SK, Castro LC, Galvão AC. Papain gel: a new chemo mechanical caries removal agent. *J Clin Pediatr Dent*. 2005; 30(2):115-9.
 37. Sotelo Mercado E, Juárez López ML, Murrieta Pruneda F. Evaluación clínica de un método de remoción química de caries en Odontopediatría. *Rev ADM*. Julio-Agosto 2009; 65(4): 24-29.
 38. Pereira AA, Carvalho Freitas I, Souza de Mendonça SM. The Use Of Papain Gel In The Remotion Of Injuries Carious Dentin. *Rev. Odontol. Univ. Cid. São Paulo*. 2013; 25(1): 68-76.
 39. Jain K, Bardia A, Geetha S, Goel A. Papacarie: A Chemomechanical Caries Removal Agent. *IJSS Case Reports & Reviews* 2015;1(9):57-60.
 40. Bsereni L, Torresi F. Eficacia del gel de papaína contra la caries. *DENTAL TRIBUNE Hispanic & Latin America*, 2016: 3.
 41. Torresi F, Bsereni L. Eficácia do método de remoção químico-mecânica da cárie dentária como papaína em adultos. *Rev Assoc Paul Cir Dent* 2017;71(3):266-269.
 42. BRIX. [Página principal en Internet]. Argentina: Medical Science; c. 2014 [actualizado 2014; citado 20 Jul 2017]. [aprox. 2 pantallas]. Disponible en: <http://www.brix-lab.com/index.php/es/investigacion-2/119-la-actividad-enzimatica>
 43. BRIX. [Página principal en Internet]. Argentina: Medical Science; c. 2014 [actualizado 2014; citado 20 Jul 2017]. [aprox. 2 pantallas]. Disponible en: <http://www.brix-lab.com/index.php/es/investigacion-2/105-tecnologia-e-b-e>.
 44. Modimi KV, *et al*. Microbiological Assessment of Carious Dentine using Chemomechanical Caries Removal and Conventional Hand Excavation in Primary and Permanent Teeth: A Clinical Study. *J Int Oral Health* 2016; 8(7):760-766.
 45. Lima GQ, Oliveira EG, De Souza J I, Monteiro Neto V. Comparison Of The Efficacy Of Chemomechanical And Mechanical Methods Of Caries Removal In The Reduction Of Streptococcusmutans And Lactobacillus Spp In Carious Dentine Of Primary Teeth. *J Appl Oral Sci*. 2005;13(4):399-405.
 46. Lager A, Thornqvist E, Ericson D. Cultivable bacteria in dentine after caries excavation using rose-bur or carisolv. *Caries Res* 2003; 37: 206-11.
 47. Azrak B, Callaway A, Grundhøber A, Stender E, Willershausen B. Comparison of the efficacy of chemomechanical caries removal (Carisolv) with that of conventional excavation in reducing the cariogenic flora. *Int J Paediatr Dent* 2004;14:182-91.
 48. Sterer N, Shavit L, Lipovetsky M, Haramaty O, Ziskind D. Efecto de excavación quimio-mecánica (Carisolv™) sobre las bacterias

- residuales cariogénicas. *J Minim Interv Dent* 2008; 1(1):61-67.
49. Subramaniam P, Girish Babu KL, Neeraja G. Comparison of the Antimicrobial Efficacy of Chemomechanical Caries Removal (carisolv™) with that of Conventional Drilling in Reducing Cariogenic Flora. *J Clin Pediatr Dent* , 2008; 32(3): 215–220.
 50. Motta LJ, Bussadori SK, Campanelli AP, Silva AL, Alfaya TA, Godoy CH, et al. Efficacy of PapacarieH in reduction of residual bacteria in deciduous teeth: a randomized, controlled clinical trial. *Clinics*. 2014;69(5):319-322.
 51. Matsumoto SF, Motta LJ, Alfaya TA, Guedes CC, Fernandes KP, Bussadori SK.(2013) Assesment of chemomechanical removal of carious lesions using Papacarie DuoTM: Randomized longitudinal clinical trial. *Indian J Dent Res*24:488-92.
 52. Aneundi RT, Patil SB, Tegginmani V, Shetty SD. A comparative microbiological study to assess caries excavation by conventional rotary method and a chemo-mechanical method. *Contemp Clin Dent* 2012;3:388-92.
 53. Kulkarni G, Rane DC, Mishra VK. Comparison of the Efficacy of Chemomechanical Caries Removal (Papacarie - A Papain Gel) and Conventional Excavation in Reducing Cariogenic Flora: An In Vivo Study. *J Int Oral Health* 2016; 8(5):564-568.
 54. Goyal PA, Kumari R, Kannan VP, Madhu S. Efficacy and Tolerance of Papain Gel with Conventional Drilling Method: A Clínico-Microbiological Study. *J Clin Pediatr Dent*, 2015; 39(2): 109- 112.
 55. Reddy M, Shankar S, Pentakota V, Kolli H, Ganta H, Katari P. Efficacy of antimicrobial property of two commercially available chemomechanical caries removal agents (Carisolv and Papacarie): An ex vivo study. *J Int Soc Preven Community Dent*, 2015; 5(3): 184-189.
 56. Ammari M, Moliterno L, Júnior R, Séllos M, Soviero V, Coutinho-Filho W. Efficacy of chemomechanical caries removal in reducing cariogenic microbiota: a randomized clinical trial. *Braz Oral Res.*, (São Paulo) 2014;28(1):1-6.
 57. Motta L, Bussadori S, Guedes C, Reda S, Santos E. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of two materials used for chemical and mechanical removal of carious dentin: Carisolv™ and Papacarie®. *Arquivos em Odontologia*, Belo Horizonte, 2005; 41(4):273-368.
 58. Saliba Moimaza S, Coelho Okamurab A, Coêlho Limac D, Adas Salibad T, Adas Salibae N. Clinical and Microbiological Analysis of Mechanical and Chemomechanical Methods of Caries Removal in Deciduous Teeth. *Oral Health Prev Dent* 2019; 17: 283–288.
 59. Venkatesh Babu NS, Basavaraj N, Milind LS, Golai S. Evaluation of clinical efficacy of two chemo-mechanical caries removal agents in primary molars – a comparative study. *Malaysian Dental Journal* 2015; 37(1): 1-8.
 60. Matthijs S, Adriaens PA. Chlorhexidine varnishes: A review. *J Clin Periodontol* 2002;29:1–8.
 61. Twetman S. Antimicrobials in Future Caries Control? A Review with Special Reference to Chlorhexidine Treatment. *Caries Res* 2004;38:223–229.
 62. Sanz M, BÉaumer A, Buduneli N, Dommisch H, Farina R, Kononen E, Linden G, Meyle J, Preshaw PM, Quirynen M, Roldan S, Sanchez N, Sculean A, Slot DE, Trombelli L, West N, Winkel E. Effect of professional mechanical plaque removal on secondary prevention of periodontitis and the complications of gingival and periodontal preventive measures—Consensus report of group 4 of the 11th european workshop on periodontology on effective prevention of periodontal and peri-implant diseases. *J Clin Periodontol* 2015; 42(16): 214–220.
 63. Autio-Gold J. The Role of Chlorhexidine in Caries Prevention. *Oper Dent* 2008;33(6):710-716.
 64. Pinheiro I, Borges B, Colombo A, De Lima K. Clinical And Microbiological Characteristics In Predicting Dentine Caries Progression. *Acta Odontol. Latinoam*. 2009; 22(2):143-149.
 65. Silva NRFA, Carvalho RM, Pegoraro LF, Tay FR, Thompson VP. Evaluation of a Self-limiting Concept in Dentinal Caries Removal. *J Dent Res* 2006;85:282-286.
 66. Kidd EA, Joyston-Bechal S, Beighton D. Microbiological validation of assessments of caries activity during cavity preparation. *Caries Res* 1993;27:402-8.
 67. Kidd EA, Ricketts DN, Beighton D. Criteria for caries removal at the enamel-dentine junction: A clinical and microbiological study. *Br Dent J* 1996;180:287-91.
 68. Bjorndal L, Larsen T, Thylstrup A. A clinical and microbiological study of deep carious lesions during stepwise excavation using long treatment intervals. *Caries Res* 1997;31:411-7.
 69. Kidd EA. How to 'clean' must a cavity be before restoration?. *Caries Res*. 2004 ; 38(3):305-13.
 70. Kidd EAM, Fejerskov O. What constitutes dental caries? Hispopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res*; 2004; 83: 35-38.
 71. Gupta S, Singh C, Ramakrishna Y, Chaudhry K, Munshi AK. Clinical and Microbiological Evaluation of the Carious Dentin Before and After Application of Papacarie Gel. *J Clin Pediatr Dent*. 2013 ; 38(2): 133 – 138.