



Universidad Autónoma del Estado de México

Facultad de Enfermería y Obstetricia

Doctorado en Ciencias de la Salud

**Rugosidad del Esmalte Dental Deciduo y
Permanente Irradiado con Láser Er:YAG y
Adhesión de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus
sanguinis***

TESIS

Para Obtener el Grado de:
Doctor en Ciencias de la Salud

Presenta:

Mtro. Bernardo Teutle Coyotecatl

Comité Tutorial:

Dra. en O. Rosalía Contreras Bulnes

Tutor Académico

Dr. en O. Rogelio J. Scougall Vilchis.

Tutor Interno

Dra. en C. Argelia Almaguer Flores

Tutor Externo



Toluca, Estado de México, Agosto del 2018

VOTOS APROBATORIOS



Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Enfermería y Obstetricia

Doctorado en Ciencias de la Salud

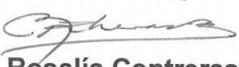
Fecha: 8 Agosto del 2018

DICTAMEN DE VOTOS APROBATORIOS TESIS

Los docentes que integran el **COMITÉ DE TUTORES** de la maestro (a): **Bernardo Teutle Coyotecatl**, egresado(a) del programa del Doctorado en Ciencias de la Salud de la generación 2015A-2017B, quien realizó el trabajo de tesis titulado: **“Rugosidad del Esmalte Dental Deciduo y Permanente Irradiado con Láser Er:YAG y Adhesión de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis*”**, bajo la Tutoría Académica del(la) Dr(a). **Rosalía Contreras Bulnes**, ha sido dirigido, revisado y discutido, por lo que se ha considerado **DICTAMINARLO COMO APROBADO**, ya que reúne los requisitos que exige el Artículo 75 del Reglamento de Estudios Avanzados de la Universidad Autónoma del Estado de México.

ATENTAMENTE
PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO

“2018, Año del 190 Aniversario de la Universidad Autónoma del Estado de México”


Dra. en O. Rosalía Contreras Bulnes
Tutora Académica


Dr. en O. Rogelio J. Scougall Vilchis
Tutor Interno


Dra. en C. Argelia Almaguer Flores
Tutor Externo

Paseo Tollocan s/n esq. Jesús Carranza
col. Moderna de la Cruz. C.P. 50180
Toluca, Estado de México
Tel. (722) 2706270 / 2702357
feyo@uaemex.mx





Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Enfermería y Obstetricia
Coordinación del Doctorado en Ciencias de la Salud

ACTA DE VOTOS APROBATORIOS DE TESIS

Fecha: 8 de Agosto del 2018

Nombre del Alumno (a): Bernardo Teutle Coyotecatl
Título de la tesis: "Rugosidad del Esmalte Dental Deciduo y Permanente Irradiado con Láser Er:YAG y Adhesión de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis*"

	Nombre	Dictamen (Aprobado o Rechazado)	Observaciones
Tutor Académico	Rosalía Contreras Bulnes	Aprobado	Cumple con todos los requisitos
Turno Interno	Rogelio J. Scougall Vilchis	APROBADO	
Tutor Externo	Argelia Almaguer Flores	Aprobado	


Rosalía Contreras Bulnes
TUTOR ACADÉMICO
Nombre y firma


Rogelio J. Scougall Vilchis
TUTOR INTERNO
Nombre y firma


Argelia Almaguer F.
TUTOR EXTERNO
Nombre y firma



Paseo Tollocan s/n esq. Jesús Carranza
col. Moderna de la Cruz. C.P. 50180
Toluca, Estado de México
Tel. (722) 2706270 / 2702357
feyo@uademex.mx

INDICE

	Pág.
Introducción	1
1. Antecedentes	3
2. Planteamiento del problema	14
3. Justificación	15
4. Hipótesis	16
5. Objetivos: general y específicos	17
6. Diseño metodológico	18
6.1 <i>Diseño de estudio</i>	18
6.2 <i>Universo y muestra</i>	19
6.3 <i>Procedimientos</i>	19
6.4 <i>Criterios de inclusión</i>	26
6.5 <i>Criterios de exclusión</i>	26
6.6 <i>Instrumentos</i>	27
6.7 <i>Recolección de datos</i>	28
6.8 <i>Análisis de datos</i>	28
6.9 <i>Aspecto ético</i>	28
7. Resultados	31
7.1 <i>Artículo aceptado</i>	31
7.1.1 <i>Título del artículo aceptado</i>	31
7.1.3 <i>Carta de aceptación</i>	31
7.2 <i>Artículo enviado</i>	32
7.2.1 <i>Título del artículo enviado</i>	32
7.2.2 <i>Carta de envío del artículo.</i>	32
8. Resultados adicionales	33
9. Discusión general	34
10. Conclusiones generales	42
11. Bibliohemerografía utilizada	43
12. Anexos	55

Introducción

La caries dental es la enfermedad crónica más frecuente que afecta a la población humana en todo el mundo.¹ Esta enfermedad implica la desmineralización del esmalte dental por altas concentraciones de ácidos orgánicos producidos por bacterias.²

Según la Academia Americana de Odontología Pediátrica (AAOP), el uso de flúor es seguro y altamente efectivo para reducir la prevalencia de caries.³ Como método alternativo al fluoruro, la irradiación con láser ha sido propuesta por intentar incrementar la resistencia del esmalte al ataque ácido,⁴ este método puede ser adecuado y bien tolerado en niños⁵ con caries o alto riesgo a padecerla.⁶ Desde el 2013, la AAOP reconoció el uso del láser como método alternativo y complementario para proporcionar procedimientos dentales en los niños.⁷

Diversos experimentos *in vitro* han demostrado el potencial del láser Er: YAG en la prevención de la caries dental, evitando la desmineralización del esmalte al reducir su permeabilidad,^{8, 9} al hacer cambios químicos^{4, 10-12} y morfológicos.⁴ Sin embargo, la irradiación láser produce efectos indeseables en su superficie: grietas, cráteres, superficies rugosas, entre otros,^{4, 8, 10, 11, 13-18} los cuales podrían incrementar la rugosidad superficial y permitir un mayor acúmulo de microorganismos. Algunos investigadores han hipotetizado que los efectos morfológicos secundarios causados por la irradiación láser podrían ser propensos a acumular bacterias^{10, 15-18} y por lo tanto dar como resultado caries secundaria.

En la literatura actual no existen suficientes estudios que esclarezcan esta teoría. Por lo anteriormente expuesto, este estudio tuvo como objetivo evaluar la influencia de varios protocolos de irradiación láser Er:YAG sobre la rugosidad superficial y la adhesión bacteriana al esmalte dental deciduo y permanente.

Los resultados obtenidos evidenciaron un aumento de la rugosidad en las superficies del esmalte dental deciduo y permanente proporcional a las condiciones de irradiación. Sin

embargo, la intensificación de la rugosidad de la superficie causada por la irradiación con láser Er:YAG no afectó la adhesión de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis*.

Solo en el esmalte dental decíduo la rugosidad producida al usar una densidad de energía de 12.7 J/cm^2 propició un incremento significativo en la adhesión de *S. mutans*.

1. Antecedentes

Esmalte dental

Las coronas de los dientes están cubiertas por el esmalte dental, que es el tejido más duro del cuerpo humano, está compuesto de materia inorgánica o fase mineral en un 92-96% y un 4% de material orgánico y agua. La fase mineral se compone principalmente de fosfato calcio en la forma de cristales de hidroxiapatita, que son carbonatados o fluorados. La formación promedio de la corona primaria es de 6 a 14 meses, mientras que en los dientes permanentes es de 3 a 4 años. Así, los dientes temporales presentan menor espesor del esmalte que su sucesor permanente.

La microestructura del esmalte consiste en cristales dispuestos en prismas o varillas, que pasan casi perpendiculares desde la unión amelodentinaria a la superficie del diente. La zona interfacial entre prismas es rica en proteínas y se denomina esmalte interprismático.

Los dientes deciduos presentan una capa de esmalte aprismatico más gruesa y uniforme comparado con los dientes permanentes. Los dientes deciduos presentan menor mineralización del esmalte (80.6 %), el cual es más delgado que en dientes permanentes.¹⁹ Por lo descrito anteriormente y otras propiedades físicas y químicas del esmalte de dientes permanentes y deciduos; se confirma que el esmalte de dientes permanentes es más resistente, y por lo tanto no pueden extrapolarse resultados de uno al otro.

Caries dental

La caries dental es una de las enfermedades crónicas más prevalentes en el mundo.²⁰ Datos obtenidos de la Organización Mundial de la Salud señalan que esta enfermedad afectó a 2400 millones de personas y a 621 millones de niños en todo el mundo. Los valores del índice cpod en niños entre 12 años de edad a nivel mundial es de 1.86.²¹ En México, el Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucles (SIVEPAB 2013) reportó un índice cpod de

3.8 en niños de 2 a 10 años, así como un 23.5 % de la población de 2 a 19 años de edad libre de caries.²² Esos datos epidemiológicos señalan la necesidad de un control efectivo de la caries.

El papel causal importante de la caries es llevado a cabo por la biopelícula formada por microorganismos en la superficie de los dientes. Uno de los principales factores etiológicos responsables de la enfermedad es *Streptococcus mutans*.²³

La formación de la biopelícula dental comienza cuando las proteínas de la saliva (como proteínas ricas en prolina, amilasas, lisozima, histatinas, peroxidasa y mucinas, entre otras) junto con otros componentes de la saliva cubren la superficie dental formando lo que se conoce como película salival o película adquirida. Esta película es formada por los componentes salivales absorbidos y es la base para que los microorganismos que inducen la formación de la biopelícula colonicen la cavidad oral.^{24, 25}

La adhesión bacteriana a superficies es un proceso extremadamente complicado, se ve afectado por algunos factores como: el medio ambiente, las propiedades de las bacterias y las características superficiales del material (composición química, carga superficial, hidrofobicidad y rugosidad topográfica).^{26, 27} La adhesión bacteriana a tejido humano o superficies es a menudo el primer evento percibido en el proceso de colonización del hospedero,²⁸ así como, el primer paso en la formación de la biopelícula. La adhesión bacteriana es un proceso reversible, no específico, llevado a cabo principalmente por fuerzas de Van der Waals y fuerzas electrostáticas; moduladas por propiedades fisicoquímicas, tanto del sustrato como de la superficie bacteriana.²⁶ La adhesión bacteriana en superficies lisas es reversible y puede llegar a ser irreversible en segundos o minutos después del contacto inicial.²⁹

Se han aislado más de 700 especies bacterianas de la cavidad oral humana y la mayoría de ellas están asociadas con la biopelícula dental.³⁰

Las especies de *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mitis* y *Streptococcus oralis* son descritos como colonizadores primarios de la placa dental³¹ ya que tienen la capacidad de fijarse a la película salival cuatro horas posteriores a la limpieza oral.³² *S. sanguinis* juega un rol importante en la colonización ya que se fija directamente a la superficie y facilita la unión de otros microorganismos.³³ Se ha reportado que *S. sanguinis* se encuentra presente en niños libres de caries, también que tiene una relación antagonista con *S. mutans* por lo que puede retardar su colonización en la cavidad bucal.³⁴

Las especies de *S. mutans* y *Streptococcus sobrinus* han sido identificados como los principales patógenos en la caries dental.³⁵ *S. mutans* es considerado el agente etiológico principal de la caries en humanos; es una bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa y favorece la formación de la biopelícula dental (placa dentobacteriana) sobre la superficie dental de humanos.³⁶ Su presencia incrementa el riesgo para la desmineralización del esmalte dental,³⁷ debido a la habilidad para adherir y acumular sacarosa en la placa dental, así como, producir y tolerar altas concentraciones de ácido.³⁸ La producción de polisacáridos insolubles al agua llamados mutacinas son determinantes importantes para la virulencia y cariogenicidad del *S. mutans*, ya que estas ayudan a la adhesión y colonización del microorganismo.³⁹

Se ha reportado que *S. mutans* solo o con sus agregados se fusiona con películas (biopelícula o película salival) a través de dos mecanismos independientes:

Mecanismo sacarosa dependiente

- Glucosiltransferasa (Gtf, por sus siglas en inglés). Es responsable de la formación de glucanos a partir de la sacarosa. Estos glucanos sintetizados proporcionan la posibilidad

de adherir la bacteria al esmalte dental o adherir los microorganismos unos con otros. Cada uno de los tres tipos de Gtf juega un rol diferente, aunque similar en la formación del biofilm. La glucosiltransferasa S (GtfS) es absorbida rápidamente in vivo (1 min aproximadamente) en la superficie de la hidroxiapatita del esmalte cubierto por la película salival. La glucosiltransferasa B (GtfB) es la principal responsable en la interacción con otros *S. mutans*. La glucosiltransferasa (GtfD) forma predominantemente polisacáridos solubles, metabolizables rápidamente y actúa como un primer para GtfB.

- Las proteínas de unión a glucano (Gbps, por sus siglas en inglés). Intervienen en la unión de las bacterias a los glucanos. Se conocen cuatro tipos de esta proteína: las proteínas de unión a glucano A (GbpA), las proteínas de unión a glucano B (GbpB), las proteínas de unión a glucano C GbpC, y las proteínas de unión a glucano D (GbpD). Las proteínas GbpC (y probablemente GbpB) están asociadas con la pared celular bacteriana y, por lo tanto, actúa como un receptor específico para glucano. Todos los cuatro tipos de proteínas juegan un papel en la adhesión de microorganismos y en la formación de la biopelícula.

Mecanismo sacarosa independiente

- En este mecanismo se observa una interacción entre las partículas adhesivas de *S. mutans* y la película salival. Las aglutininas encontradas en la saliva son involucradas en el proceso de adhesión y agregación de *S. mutans* gracias a la interacción con el antígeno I/II, es una adhesina multifuncional anclada a la pared celular de la bacteria.²³

En la literatura se pueden encontrar algunos estudios con diversas técnicas e instrumentos que evalúan la adhesión de los microorganismos involucrados en el inicio y progresión de la caries. Por ejemplo, Mei et al.,⁴⁰ evaluaron las fuerzas de adhesión tanto de microorganismos

colonizadores iniciales (*S. mitis*, *S. sanguis*, *S. oralis*) como microorganismos cariogénicos (*S. mutans*) unidos a materiales ortodónticos y esmalte con y sin película salival adquirida, por medio de Microscopía de Fuerza Atómica (MFA). Dichos científicos encontraron que los microorganismos colonizadores iniciales de las superficies duras de la cavidad oral, presentaron mayor fuerza de adhesión en comparación a las bacterias cariogénicas. También midieron la rugosidad del esmalte pulido, donde encontraron que el esmalte sin película salival presentaba una rugosidad de 7.0 ± 3 nm y con película salival una rugosidad de 5.1 ± 1.1 nm.

Por otra parte, la colonización de *S. mutans* a una edad temprana, la alta frecuencia de consumo de azúcar, la higiene oral deficiente, el cepillado dental irregular y/o el cepillado dental sin supervisión por parte de los cuidadores son algunos de los factores de riesgo para el desarrollo de caries en niños.^{20, 41, 42} por lo que es necesario llevar a cabo tratamientos preventivos.

En relación a los tratamientos preventivos de la caries, la Academia Americana de Odontología Pediátrica (AAOP) declara que el uso de flúor es seguro y altamente efectivo para reducir su prevalencia.³ El efecto tópico cariostático del flúor está dado por los cambios en la fase mineral del esmalte dental, así como por la modulación de los efectos metabólicos de *S. mutans* y otras bacterias presentes en la placa dental.² Como alternativa al fluoruro, la irradiación láser se ha propuesto como un método para prevenir la desmineralización del esmalte.⁴ Por ser bien tolerado por los pacientes infantiles,⁵ este puede ser efectuado en niños con caries o con alto riesgo de padecerla.⁶ Además, desde el año 2013, la AAOP ha reconocido el uso del láser como método alternativo y complementario para proporcionar procedimientos dentales en los niños.⁷

Origen y características del láser

La palabra “LASER” es un acrónimo del inglés Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation (Amplificación de la Luz por Emisión Estimulada de Radiación). El principio del láser fue desarrollado de las teorías de Einstein a principios de los años 1900.^{43, 44} El proceso de emisión laser ocurre cuando un átomo excitado es estimulado para emitir un fotón antes de que el proceso ocurra espontáneamente. La emisión espontánea de un fotón por un átomo estimula la liberación de un fotón subsecuente y así sucesivamente.⁴³

En 1960 Maiman desarrolló el primer prototipo del láser, su dispositivo utilizaba un cristal de Rubí como medio y emitía una luz radiante coherente cuando era estimulado por energía.⁴⁵

La energía emitida por un láser es esencialmente una luz de un solo color (monocromática) y, por lo tanto, de una longitud de onda determinada. Los fotones que comprenden el haz de energía son emitidos como una luz coherente (en fase), unidireccional, monocromática que puede ser colimada dentro de un haz intensamente enfocado que exhibe pequeña divergencia.⁴⁴

Los láseres son llamados de acuerdo al elemento activo que es inducido a experimentar la transición cuántica que, a su vez, crea el haz de energía. Así, los láseres comúnmente utilizados en odontología consisten en una variedad de longitud de onda liberada, ejemplo: CO₂, Nd:YAG, Ho:YAG, Er:YAG, Er,Cr:YSGG, Nd:YAP, GaAs (diodo), y argón. Ver Tabla 1.

Tabla 1. Características de la longitud de onda de láseres usados en odontología clínica (Cobb et al.,⁴⁴)

Tipo de láser	Abreviación	Longitud de onda	Modo de emisión	Punta emisora
Dióxido de carbono	CO ₂	10.6 μm	Controlado o continuo	Guía de onda hueca; cuando el haz enfocado está a 1 o 2 mm de la superficie blanco
Neodimio:Ytrio-Aluminio-Granate	Nd:YAG	1.064 μm	Pulsado	Sistema de fibra óptica flexible de varios diámetros: superficie de contacto requerida para varios la mayoría de procedimientos
Holio:Ytrio-Aluminio-Granate	Ho:YAG	2.1 μm	Pulsado	Sistema flexible de fibra óptica; superficie de contacto requerida para varios procedimientos
Erbio:Ytrio-Aluminio-Granate	Er:YAG	2.94 μm	Pulsado de circulación libre	Sistema flexible de fibra óptica o guía de onda hueca; superficie de contacto requerida para varios procedimientos.
Erbio,Cromo:Ytrio-Selenio-Galio-Granate	Er,Cr:YSGG	2.78 μm	Pulsado de circulación libre	Inserciones de cristal de Zafiro con varios diámetros: superficie de contacto requerida para varios procedimientos.
Neodimio:Ytrio-Aluminio-Perovskita	Nd:YAP	1,340 μm	Pulsado	Sistema flexible de fibra óptica; superficie de contacto requerida para más procedimientos
Indio-Galio-Arsenido-Fosfido; Galio-Aluminio-Arsenido; Galio-Arsenido	InGaAsP (diodo) GaAlAs (diodo) GaAs (diodo)	Rango de 635 a 950 nm	Controlado o continuo	Sistema flexible de fibra óptica; superficie de contacto requerida para más procedimientos
Argón	Ar	488 a 514 nm	Controlado o continuo	Sistema flexible de fibra óptica

Cuando la luz láser llega al tejido, esta puede reflejarse, dispersarse, ser absorbida o transmitida al tejido circundante.⁴³ Los parámetros variables que afectan la absorción de energía son: energía (watts), modo de emisión (continuo o pulsado), duración del pulso, energía/pulso, densidad de energía, duración de la exposición, potencia pico del pulso, angulación de la punta liberadora de energía respecto a la superficie blanco y las propiedades ópticas del tejido.⁴⁴

Los estudios tempranos en láser dental comienzan en 1963, un poco más tarde que en otros campos de la medicina, por ejemplo, oftalmología o dermatología. La primera investigación fue basada en el láser de rubí cuya longitud de onda no es adecuada para el tratamiento

dental.⁴⁶ La primera aplicación del láser en el tejido dental fue reportada por Goldman et al. y Stern and Sognaes, quienes describen los efectos del láser de rubí en el esmalte y dentina.⁴⁴

Láser Er:YAG para uso dental

La emisión estimulada de iones Er³⁺ en cristales de Ytrio-Aluminio-Granate fue presentada en 1975, preparando la vía del nuevo tipo de láser llamado Er:YAG. Su longitud de onda emitida de 2940 nm (2.94 μm) coincide exactamente con la máxima absorción de agua, siendo aproximadamente 15 veces más alta que la absorción de un láser de CO₂ y 20,000 veces mayor que la de un láser de Nd:YAG. También es bien absorbida por la hidroxiapatita, este láser parece haber sido hecho para la eliminación eficaz de la dentina y el esmalte con efectos secundarios menores, tales como el daño térmico.⁴⁷ Desde 1988, cuando apareció la primera publicación de ablación de esmalte y dentina por irradiación láser Er:YAG, el número de investigaciones usando el láser como herramienta dental ha aumentado continuamente.⁴⁶

El primer sistema disponible en el mercado fue Key Laser 1 introducido por KaVo en 1992, posteriormente se desarrolló más en Key Laser 2 y Key Laser 3. Actualmente muchos fabricantes han vendido láseres Er:YAG con importantes diferencias en sus especificaciones técnicas. Ver Tabla 2. En 1997 la FDA aprobó este tipo de láser para la remoción de caries y preparación de cavidades en Estados Unidos, desde entonces se incrementó el número de fabricantes que han comercializado el Er:YAG.⁴⁷

Tabla 2. Principales láseres Er: YAG representativos disponibles en el mercado (Bader et al.,⁴⁷)

	Opus Duo, Opus Dent	Fidelis Plus II	DELight	Key Laser	Samart 2940 D
Potencia	12 W	15 W	6 W	6W	
Energía pulsada	100-1000 mJ	1000 mJ	300 mJ	10-600 mJ	700 mJ
Tasa de repetición de pulsos	7-20 Hz	2-50 Hz	30 Hz	1-25 Hz	20 Hz
Duración de pulsos	250 – 400 μ s	100–1000 μ s	200 μ S	250-500 μ s	80 a 450 ms
	Fibra hueca flexible		Fibra con aplicador descubierto, 400 μ m	Pieza de mano enfocada	
Tamaño de punta hasta	1.3 mm				
Haz de enfoque con diodo laser rojo	3mW, 635 nm				Haz de enfoque con diodo 5mW 680 nm
Contacto	Contacto cerca y sin contacto				
Puntas de zafiro	Cónicas 200 – 1000 μ m (en contacto y sin contacto) 1300 μ m puntas sin contacto	Pieza de mano enfocada, puntas de zafiro	Puntas de zafiro Puntas huecas Puntas descubiertas		
	Puntas metálicas huecas de contacto para cortar tejido blando	Brazos articulados con espejos.			Brazo articulado con 7 espejos
Combinación	CO ₂	Nd:YAG			

Mecanismos de ablación del láser Er:YAG

Durante la irradiación la energía del láser es absorbida selectivamente por moléculas de agua y componentes orgánicos hidratados de los tejidos biológicos. Como consecuencia se produce la evaporación de agua y componentes orgánicos, dando como resultado efectos térmicos causados por el calentamiento generado por este proceso, que es denominado “evaporación fototérmica”. Además, en los procedimientos de tejidos duros, la producción de vapor de agua induce a un incremento de la presión interna del tejido, que da como resultado una expansión explosiva llamada “microexplosión” la cual produce cambios en la morfología del esmalte.¹⁶

Los estudios previos con Microscopía Electrónica de Barrido, han demostrado que el corte con láser genera un menor daño a los prismas y túbulos; la capa de lodillo dentinario y escombros en no están presentes en comparación con el corte convencional (fresa de carburo). Esta característica del láser puede ser una ventaja para la eliminación de la caries remanente ya que la capa de lodillo dentinario en sí es una fuente de bacterias residuales en una cavidad preparada.⁴⁸

El rango de umbral de ablación del láser Er:YAG oscila entre 6 J/cm² en pulsos de 100 μs y 10 J/cm² en pulsos de 700 μs. Esto significa que el láser de Er: YAG es el más eficiente de todos sistemas conocidos para remover tejidos dentales duros.⁴⁷

Efectos del láser Er:YAG en la prevención de caries

Un tratamiento láser apropiado puede prevenir la desmineralización del esmalte mediante la reducción de la solubilidad, área superficial y porosidad, a través de cambios cristalográficos y composicionales.⁸

La inhibición de las vías de difusión del esmalte a través de la modificación de la matriz orgánica puede ser uno de los principales mecanismos involucrados en la prevención de la caries por inducción laser. Este mecanismo poco convencional para bloquear el esmalte fue asociado con el “bloqueo orgánico” inducido por el tratamiento con láser de baja densidad, el cual preserva y modifica la Matriz Orgánica obliterando los canales de difusión en el esmalte. En contraste con el “bloqueo inorgánico” causado por las terapias láser con alta densidad, el cual funde la hidroxiapatita del esmalte.⁴⁹

Teóricamente, la reducción de la difusión del esmalte en un experimento realizado por Maung et al.,⁸ puede ser causado por una desnaturalización parcial de la Matriz Orgánica del esmalte (bloquea las vías de difusión) y/o la fundición y subsecuente fusión de los cristales inorgánicos.

Otros estudios han reportado que el láser puede mejorar la resistencia del esmalte dental al ataque ácido. Por ejemplo: Díaz et al.,¹² evaluaron los cambios químicos asociados a la resistencia ácida del esmalte tratado con láser Er:YAG y observaron cambios químicos asociados con un incremento en la resistencia ácida del esmalte.

Varios estudios científicos han reportado que la irradiación del esmalte dental con láser Er:YAG causa efectos morfológicos indeseables como: cráteres,^{10, 11, 15, 17, 18} grietas,^{8, 13, 16, 17} prismas del esmalte expuestos,^{11, 14, 18} áreas fundidas y ablacionadas,^{4, 14, 18} superficies con apariencia de lava.⁴ La presencia de estos efectos morfológicos probablemente aumenta la rugosidad superficial del esmalte. Un incremento en la rugosidad superficial promueve la adhesión bacteriana.²⁷ Diversos autores han hipotetizado que los efectos morfológicos secundarios a la irradiación con láser Er:YAG podrían ser propensos a la acumulación de bacterias^{10, 15-18} y probablemente dar como resultado procesos cariosos.

Para observar la relación que existe entre los cambios indeseables causados por los efectos fototérmicos del láser Er:YAG y la adhesión bacteriana se han realizado escasos experimentos en especímenes de esmalte dental.

Hu et al.,⁵⁰ evaluaron los efectos en las propiedades fisicoquímicas del esmalte al aplicar calor así como el impacto en la adhesión bacteriana. Observaron que el calentamiento no influyó en la adhesión de *S. sanguis*, pero redujo significativamente las proporciones de áreas ocupadas por *S. mitis* y *S. oralis*. La reducción de la adherencia de *S. mitis* a esmalte cubierto con saliva no fue significativa. Las proporciones de áreas ocupadas por las 3 cepas bacterianas en el esmalte cubierto con saliva no fueron diferentes significativamente de aquellas con esmalte sin saliva. Concluyeron que el tratamiento térmico y laser fototérmico puede modular las propiedades fisicoquímicas del esmalte, previniendo la adhesión de algunas especies bacterianas.

2. Planteamiento del problema:

Dentro de los efectos benéficos de la irradiación laser del esmalte dental con Er:YAG se encuentran: la resistencia ácida por la disminución de carbonato ligado; la inhibición de la difusión mediante la modificación de la matriz orgánica (MO);^{8, 9} el sellado físico de la superficie por la fundición y fusión de los cristales de hidroxiapatita,⁴ etc. Sin embargo, al mismo tiempo el esmalte dental sufre daños secundarios como resultado de los fenómenos térmicos causados por la irradiación, entre estos podemos observar: fracturas, cráteres, exposición de prismas, grietas, fusión, aumento de la rugosidad superficial.^{4, 8, 9-12, 14-17} Estos efectos son resultado de la densidad de energía, tiempo de irradiación, distancia focal y la irrigación empleada durante el procedimiento.⁵¹ La superficie irregular del esmalte producida por irradiación parece ser más propensa a la adhesión de bacterias y la acumulación de biopelícula dental.^{10, 15-18} Esta condición puede ser aprovechada por *S. mutans* el agente etiológico principal de la caries en humanos, el cual crece como una biopelícula en la superficie dental e incrementa el riesgo para la desmineralización del esmalte por su habilidad para adherir y acumular sacarosa, así como, producir y tolerar altas concentraciones de ácido. Así como también por *S. sanguinis* el cual es una bacteria que se considera colonizadora inicial de la superficie dental. No existe información científica sobre los efectos secundarios provocados por la irradiación laser Er:YAG en el esmalte y la relación que guarda con la adhesión *S. mutans* y *S. sanguinis* por lo cual el presente estudio pretende responder las siguientes preguntas:

¿Cuánto aumenta la rugosidad del esmalte temporal y permanente irradiado con láser Er:YAG?

¿Los cambios morfológicos del esmalte temporal y permanente irradiado con láser Er:YAG propicia un incremento en la adhesión de *S. mutans* y *S. sanguinis*?

3. Justificación:

Debido a que el láser Er:YAG ha demostrado ser un agente prometedor en odontología preventiva y mínimamente invasiva, por su capacidad de cambiar la estructura física y química del esmalte, a través de sus efectos fototérmicos y de esta manera hacerlo más resistente a la caries dental, resulta conveniente evaluar la relación que guardan los cambios morfológicos superficiales del esmalte irradiado y la adhesión bacteriana. Ya que existe poca información al respecto.

Adicionalmente, resulta necesario establecer parámetros adecuados de irradiación láser, para evitar cambios morfológicos graves que puedan favorecer la colonización de *S. mutans* y *S. sanguinis*; y de esta manera favorecer el desarrollo de la caries dental en los órganos dentarios tratados.

En este proyecto de investigación, los experimentos fueron realizados en dientes permanentes y temporales tomando en cuenta que ambos están presentes en la dentición mixta de un paciente escolar, el cual está en la edad adecuada para llevar a cabo tratamientos preventivos.

4. Hipótesis:

Fase I

Los cambios morfológicos del esmalte permanente producidos por la irradiación con láser

Er:YAG aumentan significativamente su rugosidad.

Los cambios morfológicos del esmalte permanente producidos por la irradiación con láser

Er:YAG propician el incremento en la adhesión de *S. mutans* y *S. sanguinis*.

Fase II

Los cambios morfológicos del esmalte deciduo producidos por la irradiación con láser

Er:YAG aumentan significativamente su rugosidad.

Los cambios morfológicos del esmalte deciduo producidos por la irradiación con láser

Er:YAG propician el incremento en la adhesión de *S. mutans* y *S. sanguinis*.

5. Objetivos:

General:

- Determinar la rugosidad del esmalte dental deciduo y permanente irradiado con láser Er:YAG y su efecto en la adhesión cuantitativa de *S. mutans* y *S. sanguinis*.

Específicos:

Fase I y II

- Determinar la rugosidad del esmalte antes y después de la irradiación con láser Er:YAG por medio de perfilometría.
- Determinar la adhesión cuantitativa de *S. mutans* y *S. sanguinis* a esmalte dental no irradiado y tratado con láser Er:YAG a través del ensayo de viabilidad celular de XTT.
- Describir la adhesión cualitativa de *S. mutans* y *S. sanguinis* a esmalte dental no irradiado y tratado con láser Er:YAG mediante la Microscopía Confocal de Barrido Láser (MCBL) utilizando la tinción LIVE/DEAD.
- Describir la adhesión cualitativa de *S. mutans* y *S. sanguinis* a esmalte dental no irradiado y tratado con láser Er:YAG con Microscopía Electrónica de Barrido (MEB).

6. Diseño metodológico:

6.1. Diseño de estudio

Experimental *in vitro*. Dividido en dos fases (Figura 1).

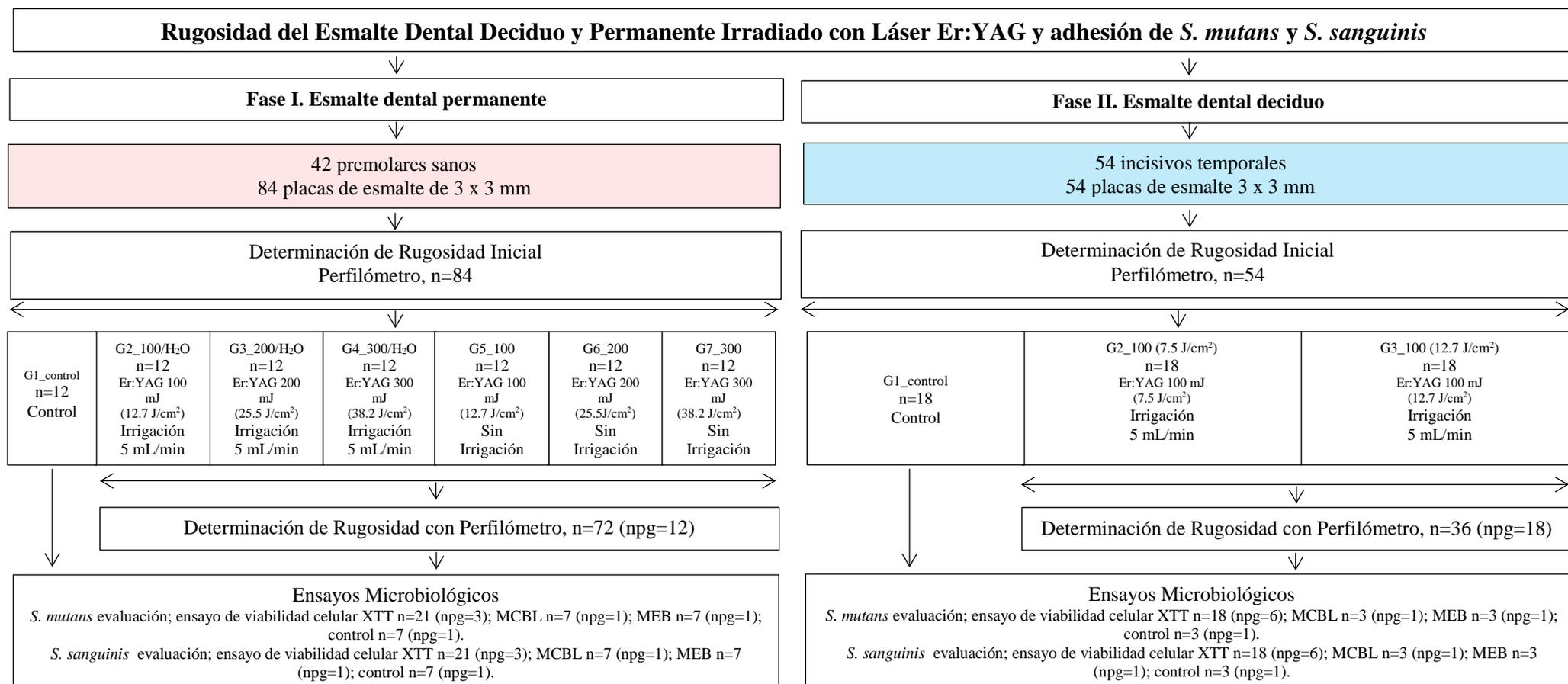


Figura 1. Diagrama de diseño de estudio por fase

6.2. Universo y muestra

El universo se conformó de premolares (Fase I) e incisivos temporales (Fase II) extraídos en Clínicas de Licenciatura de la Facultad de Estomatología de la Benemérita universidad Autónoma de Puebla (BUAP), así como, en Consultorios de atención odontológica, donde brindan servicio especializado de Ortodoncia y Odontopediatría, en la ciudad de Puebla, Puebla.

El muestreo fue por conveniencia. Se utilizaron 84 bloques de esmalte permanente en la fase I y 54 bloques de esmalte temporal en la fase II

6.3. Procedimientos

Selección y preparación de las muestras

Fase I

Los premolares fueron recolectados bajo consentimiento informado del paciente o padre y asentimiento informado del paciente según el caso (Ver Anexo 1, 2 y 3). Una vez extraídos se colocaron en solución de timol al 0.2 % y se transportaron al laboratorio para su procesamiento. En el laboratorio los premolares se enjuagaron con agua de la llave, los restos de tejido blando les fueron retirados con un bisturí, las coronas se cepillaron levemente con un cepillo suave (Sulcus, Oral-B, México), se enjuagaron con agua deionizada y se almacenaron a 4° C en solución de timol al 0.2 % hasta su análisis.

Antes de obtener los bloques de esmalte, los premolares se enjuagaron con agua desionizada y se evaluaron con dispositivos de detección de caries (DIAGNOdent® pen y Spectra™).^{12, 17, 52} posterior a esto, se separó la corona de la raíz utilizando un disco de diamante (BesQual, Nueva York, Estados Unidos) montado en un motor de baja velocidad (Micromotor STRONG 207S-106, Saeshin Precision Co., Ltd. Daegu, Corea) bajo constante irrigación de agua desionizada para evitar el calentamiento y deshidratación de la muestra; la corona se fijó con

resina termoplástica (Allied High Tech Products, Rancho Dominguez, CA, Estados Unidos) a un portaobjetos de vidrio. Los cortes se realizaron de manera sistematizada, utilizando un disco de diamante (South Bay Technology, Inc., San Clemente, CA, Estados Unidos), montado sobre una cortadora (South Bay Technology, Inc., Estados Unidos) para obtener 1 bloque de 3x3 mm de la superficie bucal^{12, 17} y lingual. Finalmente las muestras se lavaron exhaustivamente con agua desionizada, se secaron a temperatura ambiente para evaluar su rugosidad inicial.

Fase II

Los incisivos temporales fueron recolectados bajo consentimiento informado de alguno de los padres o tutores del paciente y asentimiento informado del menor de edad (Ver Anexo 2 y 3). Una vez extraídos se colocaron en solución de timol al 0.2 % y se transportaron al laboratorio para su procesamiento. En el laboratorio los incisivos se enjuagaron con agua de la llave, los restos de tejido blando les fueron retirados con un bisturí, las coronas se cepillaron levemente con un cepillo suave (Sulcus, Oral-B, México), se enjuagaron con agua desionizada y se almacenaron a 4° C en solución de timol al 0.2 % hasta su análisis.

Antes de obtener los bloques de esmalte, los incisivos temporales se enjuagaron con agua desionizada y se evaluaron con dispositivos de detección de caries (DIAGNOdent® pen y Spectra™).^{12, 17, 18, 52} posterior a esto, si los dientes tenían raíz se separaba de la corona utilizando un disco de diamante (BesQual, Nueva York, Estados Unidos) montado en un motor de baja velocidad (Micromotor STRONG 207S-106, Saeshin Precision Co., Ltd. Daegu, Corea) bajo constante irrigación de agua desionizada para evitar el calentamiento y deshidratación de la muestra; la corona se fijó con resina termoplástica (Allied High Tech Products, Rancho Dominguez, CA, Estados Unidos) a un portaobjetos de vidrio. Los cortes se realizaron de manera sistematizada, utilizando un disco de diamante (South Bay Technology, Inc., San Clemente, CA, Estados Unidos), montado sobre una cortadora (South Bay

Technology, Inc., Estados Unidos) para obtener 1 bloque de 3x3 mm de la superficie labial.¹⁸ Finalmente las muestras se lavaron exhaustivamente con agua desionizada y se secaron a temperatura ambiente para evaluar su rugosidad inicial.

Irradiación del esmalte con láser Er:YAG

Fase I

Ochenta y cuatro muestras de esmalte permanente fueron divididas aleatoriamente en 7 grupos (n=12). Ver Tabla 3.

Se usó un sistema láser Er:YAG (Lumenis OPUS DUO™ Er:YAG + CO₂, Yokneam, Israel) para irradiar las muestras, a una longitud de onda fija de 2.94 μm, un pulso de energía de 100 a 300 (dependiendo del grupo experimental), pulso de repetición de 10 Hz, un pulso de duración de 250 a 400 μs, punta de zafiro de 1.0 mm de diámetro. La irradiación se llevó a cabo de forma manual a lo largo de la muestra completa, de tal manera, que la punta escaneo la muestra suavemente en una sola dirección y perpendicular a ella. Cada muestra se irradia por 15 s en modo enfocado a una distancia de 1 mm con irrigación de agua desionizada 5 mL/min o sin irrigación dependiendo del grupo. Los niveles de energía fueron calibrados con un dispositivo incluido en el equipo, la energía liberada se evaluó periódicamente con un medidor de potencia (LaserMate-P, Coherent Co., Santa Clara, CA).

Tabla 3. Parámetros de irradiación láser para los grupos experimentales.

Dientes permanentes	
G1_control	No irradiado.
G2_100/H ₂ O	100 mJ (12.7 J/cm ²) 10 Hz, 15 s, 5 ml/min.
G3_200/H ₂ O	200 mJ (25.5 J/cm ²) 10 Hz, 15 s, 5 ml/min.
G4_300/H ₂ O	300 mJ (38.2 J/cm ²) 10 Hz, 5 s, 5 ml/min.
G5_100	100 mJ (12.7 J/cm ²) 10 Hz, 15 s.
G6_200	200 mJ (25.5 J/cm ²) 10 Hz, 15 s.
G7_300	300 mJ (38.2 J/cm ²) 10 Hz, 15 s.

Fase II

Cincuenta y cuatro muestras de esmalte temporal fueron divididas aleatoriamente en 3 grupos (n=18). Ver Tabla 4.

La irradiación de las muestras se llevó a cabo con el uso un sistema láser Er:YAG (Lumenis OPUS DUO™ Er:YAG + CO₂, Yokneam, Israel) en modo no contacto y no enfocado, con una longitud de onda fija a 2.94 μm , con un pulso de repetición de 7 Hz, un pulso de duración de 400 μs , un pulso de energía de 100 mJ. Las muestras fueron escaneadas manualmente una vez por 13 s con la punta de zafiro perpendicular a las mismas, a una distancia de 1 mm bajo irrigación con agua desionizada 5 mL/min. Los niveles de energía se calibraron con un dispositivo incluido en el equipo, la energía liberada se monitoreo periódicamente con el medidor de potencia (LaserMate-P, Coherent Co., Santa Clara, CA).

Tabla 4. Parámetros de irradiación láser para los grupos experimentales.

Dientes temporales	
G1_control	No irradiado.
G2_100(7.5 J/cm ²)	100 mJ (7.5 J/cm ²) 7 Hz, 13 s, 5 ml/min.
G3_100(12.7 J/cm ²)	100 mJ (12.7 J/cm ²) 7 Hz, 13 s, 5 ml/min.

Análisis de la rugosidad superficial

Fases I y II

La rugosidad superficial de las muestras de esmalte fue medida antes y después de los tratamientos con láser Er:YAG usando un perfilómetro (Mitutoyo surfstest SJ-301, Tokio, Japón). La superficie de cada muestra fue escaneada en una longitud de 0.5 mm, por una aguja de diamante, con un módulo de medición de 0.08 mm (λ), a una velocidad de 0.25 mm/s y con un filtro de Gauss. El área evaluada estuvo limitada al tamaño de las muestras (3x3 mm).

La medición se realizó perpendicular a la muestra. Para cada muestra, se hicieron tres mediciones por el mismo operador. Los parámetros de rugosidad evaluados fueron los siguientes: Ra (distancia media del perfil a la línea media sobre la longitud de evaluación) y Rz (medida de los valores absolutos de las alturas de las cinco crestas del perfil más altas y de las profundidades de los cinco valles del perfil más bajos, dentro de la longitud evaluada). Todas las mediciones se llevaron a cabo siguiendo la norma ISO 4287-1997.^{53, 54}

Pruebas de adherencia bacteriana

Fase I y II

Dos cepas *S. mutans* (ATCC 25175) y *S. sanguinis* (ATCC 10556) fueron utilizadas para la realización de los experimentos de adhesión bacteriana sobre las superficies de esmalte. Las cepas bacterianas fueron adquiridas como cultivos liofilizados (American Type Culture Collection, Rockville, MD) y crecidas en placas de agar enriquecido HK [agar infusión cerebro-corazón (BBL, Becton-Dickinson) agar soya tripticaseina (BBL, Becton, Dickinson), extracto de levadura (BBL, Becton, Dickinson), suplementado con 5 µg/mL de Hemin (Sigma-Aldrich), 0.3 µg/mL de menadiona (Sigma-Aldrich) y sangre de oveja desfibrinada al 5% (Microlab, Ciudad de México)] a 37 ° C en condiciones anaeróbicas (80% N₂, 10% de CO₂ y 10% H₂) para obtener cultivos puros.

Previo a los ensayos de adhesión bacteriana las muestras fueron lavadas en agua desionizada por 10 min en un sistema de limpieza ultrasónica (Quantrex Q140, L&R Ultrasonics, NJ, Estados Unidos) y después esterilizadas en autoclave (121 °C por 15 min) dentro de tubos eppendorf con 1 mL de agua desionizada.⁵⁵⁻⁵⁸ Todos los experimentos se realizaron utilizando tres o seis muestras por grupo experimental. Las muestras de esmalte estéril se colocaron individualmente en placas de cultivo celular de 96 pozos con fondo plano (Marca Costar Cat. # 3599, EE. UU.). Las suspensiones bacterianas de *S. mutans* y *S. sanguinis* se ajustaron a una

densidad óptica (DO) = 1 a 600 nm en un espectrofotómetro (Eppendorf BioPhotometer D30, Alemania) para obtener una concentración de 10^9 cel/mL de cada cepa. De la suspensión ajustada se añadieron 100 μ L a cada uno de los pozos con las muestras de esmalte y se añadió caldo de cultivo enriquecido TSB para obtener un volumen total de 200 μ L. Las placas de 96 pozos se incubaron a 37 °C en condiciones anaerobias durante 24 h para permitir la adhesión bacteriana en las superficies del esmalte. Después de la incubación anaeróbica, cada muestra se lavó tres veces con el caldo de cultivo TSB para eliminar las bacterias no adheridas, y se procedió a preparar las muestras para ser analizadas por cada uno de los métodos utilizados.

Ensayo de viabilidad celular XTT

Fase I y II

La adhesión bacteriana se midió de forma semicuantitativa utilizando el ensayo de viabilidad celular XTT (XTT Cell viability Kit, Cell Signaling Technology, Inc., Danvers, Massachusetts, Estados Unidos). Se añadieron 50 μ L del reactivo XTT a 100 μ L del caldo de cultivo enriquecido a cada pozo (150 μ L de volumen total) y se incubaron en la oscuridad durante 4 horas a 37 °C en condiciones anaeróbicas. Pasado el tiempo, se tomaron 100 μ L del sobrenadante de cada pozo y se transfirieron a una nueva placa de cultivo celular de 96 pozos. Posteriormente, se midió la absorbancia a 450 nm (longitud de onda de referencia 620 nm) con un lector de microplacas FilterMax TM F5 (Molecular Devices, Estados Unidos). Para transformar los valores de absorbancia en el número de cel/mL, se realizó una curva de calibración estándar.

Microscopía confocal de barrido láser

Fase I y II

Se preparó una muestra adicional de cada grupo experimental para ser observada con un microscopio confocal de barrido láser. Las muestras se tiñeron usando el kit LIVE/DEAD[®] BacLight[™] bacterial viability kits (Molecular Probes, Eugene, OR, Estados Unidos). Este kit estaba compuesto por dos colorantes fluorescentes: STYO[®] 9 que es una tinción de ADN general que hace que todas las bacterias emitan fluorescencia verde, mientras que el yoduro de propidio se dirige a las bacterias con membranas comprometidas y produce fluorescencia a longitudes de onda rojas.^{58, 59-61} Los colorantes se mezclaron (proporción 1:1) y se colocaron 3 µL directamente a las superficies, se incubaron en oscuridad y a temperatura ambiente durante 15 minutos. Pasado el tiempo, el tinte residual se enjuagó con agua desionizada estéril. Tres imágenes de sitios elegidos al azar^{50, 62} fueron obtenidas inmediatamente con el microscopio confocal de barrido láser (CLSM FV 1000 Olympus, Tokio, Japón) equipado con lentes UPLSAPO 100x O NA: 1.4 y UPLFLN 40x O NA: 1.30 (Olympus).

Microscopía electrónica de barrido

Fase I y II

Para observar de manera cualitativa las bacterias adheridas a la superficie del esmalte, una muestra por grupo fue preparada para ser observada por medio de Microscopía Electrónica de Barrido. Después del ensayo de adhesión bacteriana, las muestras seleccionadas se lavaron y fijaron con glutaraldehído al 2,0% durante 24 h. Pasado el tiempo se lavaron tres veces con solución buffer de lavado (pH 7,4), se deshidrataron a través de series graduales de soluciones con etanol al 20, 40, 60, 80 y 100%. Las muestras fueron secadas al vacío y recubiertas con oro. La evaluación de tres áreas elegidas al azar se llevó a cabo en JEOL (JSM-6610LV, Inc., Estados Unidos) a 20 kV.

6.4. Criterios de inclusión

Fase I

- Premolares extraídos por razones ortodóncicas.^{12, 17}
- Dientes con esmalte sano [DIAGNOdent® pen (DIAGNOdent®, KaVo, Biberach, Alemania). Valor 0 – 13; Spectra™ (Air Techniques, Melville, Nueva York), valor 0.0 -0.9, código verde]^{12, 17, 52}

Fase II

- Dientes deciduos extraídos por estar próximos a exfoliar, por prolongada retención o por indicación ortodóncica u ortopédica.¹⁸
- Dientes deciduos con esmalte sano [DIAGNOdent® pen (DIAGNOdent®, KaVo, Biberach, Alemania). Valor 0 – 13; Spectra™ (Air Techniques, Melville, Nueva York), valor 0.0 -0.9, código verde]^{18, 52}

6.5. Criterios exclusión

Fase I

- Premolares con fluorosis u otras alteraciones del esmalte.
- Premolares con caries, con fracturas y con obturaciones.
- Premolares con defectos de estructura o color en superficies bucales.^{12, 17}

Fase II

- Dientes deciduos con fluorosis u otras alteraciones del esmalte.
- Dientes deciduos con caries, con fracturas y con obturaciones.¹⁸

Criterios eliminación

Fase I y II

- Muestras que presentaron hoyos, grietas o algún otro defecto de la superficie del esmalte al analizarlas con el microscopio, antes de irradiar el esmalte con el láser Er:YAG.^{12, 17, 18}

6.6. Instrumentos

- DIAGOdent pen® (KaVo, Biederach, Alemania)
- Spectra™ (Air Techniques, Melville, Nueva York)
- Micromotor STRONG 207S-106 (Saeshin Precision Co., Ltd. Daegu, Corea)
- Recortadora de baja velocidad (South Bay Technology, Inc., Estados Unidos)
- Disco de diamante (South Bay Technology, Inc., San Clemente, CA, Estados Unidos)
- Láser Er:YAG (Lumenis OPUS DUO™ Er:YAG + CO₂, Yokneam, Israel)
- Sistema de limpieza ultrasónica (Quantrex Q140, NJ, Estados Unidos)
- Perfilómetro (Mitutoyo surfest SJ-301, Tokio, Japón)
- Espectrofotómetro (Eppendorf BioPhotometer D30, Alemania)
- Lector de microplacas FilterMax™ F5 (Molecular Devices, Estados Unidos)
- Microscopio confocal de barrido láser (CLSM FV 1000 Olympus, Tokio, Japón)
- Microscopio electrónico de barrido JEOL (JSM-6610LV, Inc., Estados Unidos)

6.7. Recolección de datos

Se implementó un sistema de documentación que posibilitó la colección ordenada de los datos recabados durante la fase de experimentación. Este sistema incluyó:

Bitácora de trabajo utilizada para llevar el registro diario de las actividades realizadas, los cálculos para la preparación de las muestras, los medios de cultivo y soluciones requeridas, métodos empleados en cada fase, instrucciones para la operación de los equipos, así como los acuerdos con los tutores durante el desarrollo del proyecto.

Los resultados obtenidos de cada experimento se vaciaron en bases de datos hechas en procesador de textos (Word), hojas de cálculo (Excel) y software de procesamiento estadístico (SPSS).

6.8. Análisis de datos

Todos los datos se analizaron utilizando el paquete estadístico SPSS 24 (SPSS IBM., Nueva York). Se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para evaluar la distribución de datos. Se realizaron pruebas de t-student; t pareada y/o Wilcoxon; análisis de varianza (ANOVA); pos hoc Bonferroni o Tamhane; prueba de homogeneidad de varianza de Levene; Kruskal-Wallis; con base en los objetivos planteados en cada fase y con un nivel de significancia de $p < 0.05$.

6.9. Aspecto ético

La presente investigación contempló los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (64^a Asamblea General de octubre de 2013) En el Artículo 7 de este documento se establece que “la investigación médica está sujeta a normas éticas que sirven para promover y asegurar el

respeto a todos los seres humanos y para proteger su salud y sus derechos individuales”. La donación de órganos dentarios no represento daño alguno para los sujetos participantes, pues fue posterior a la exfoliación de los órganos dentarios de acuerdo a su cronología normal o después de la extracción voluntaria de éstos por persistencia en la cavidad bucal. La decisión de extraer un órgano dentario fue siempre por prescripción fundamental del Odontopediatra u Ortodoncista y en ningún caso se vio influenciada por terceras personas.

Además, con apego al Artículo 9, se protegió a las personas que participaron en la investigación, velando por su integridad, salud, intimidad y dignidad, resguardando su información personal en calidad de confidencialidad.

La participación fue voluntaria en todos los casos y cada individuo potencial recibió la información adecuada a cerca del proyecto de investigación y de su colaboración en el mismo, de acuerdo al Artículo 26. Todas las dudas acerca de los objetivos, métodos, disposición de las muestras, beneficios calculados, entre otros, fueron aclaradas por el investigador o por el odontólogo tratante hasta asegurar el completo entendimiento de la información.

Asimismo, se cumplieron las leyes y reglamentos vigentes en México, destacando algunas consideraciones estipuladas en el reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación en Salud.

Según el Artículo 17, la presente investigación se consideró “con riesgo mínimo”, debido a que involucró la obtención de dientes deciduos y permanentes exfoliados o extraídos por indicación terapéutica. El paciente menor de edad firmó un escrito de asentimiento informado, conforme a lo establecido en el Artículo 37 y su representante legal y dos testigos firmaron el

consentimiento informado que reunió los requisitos enunciados en el Artículo 22. Sin embargo, debido a que en las instituciones públicas de atención odontológica el número de pacientes es elevado y hay poco tiempo para firmar los documentos de consentimiento y asentimiento informado, en algunos casos se recurrió únicamente al asentimiento y consentimiento verbal.

Además, en todo momento se cuidó la integridad de los investigadores implementando las medidas adecuadas de seguridad en el laboratorio.

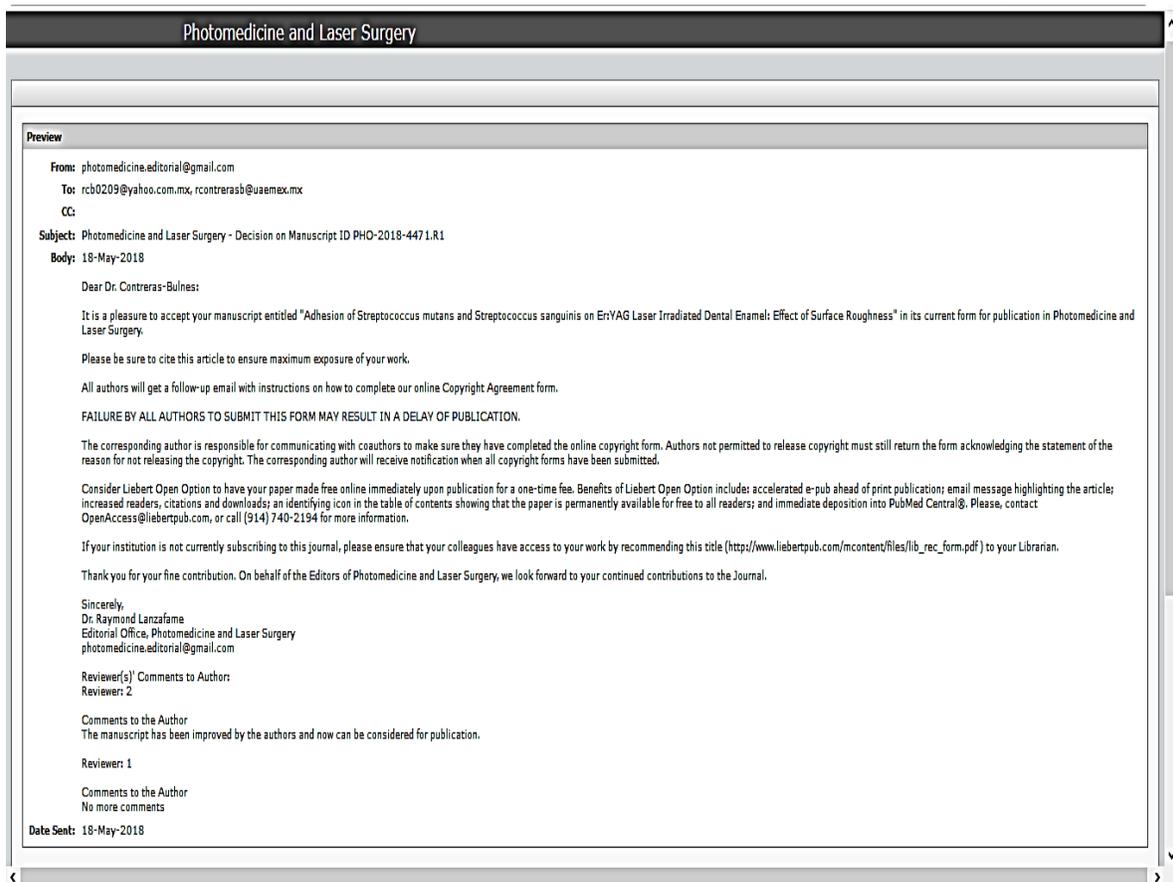
7. Resultados

7.1. Artículo aceptado

7.1.1. Título del artículo aceptado

Adhesion of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* on Er:YAG Laser Irradiated Dental Enamel:
Effect of Surface Roughness

7.1.2. Carta de aceptación



The image shows a screenshot of an email interface. At the top, there is a header bar with the text "Photomedicine and Laser Surgery". Below this, the email content is displayed in a preview window. The email header includes the following information:

- From:** photomedicine.editorial@gmail.com
- To:** rcb0209@yahoo.com.mx, rcontrerasb@uaemex.mx
- CC:**
- Subject:** Photomedicine and Laser Surgery - Decision on Manuscript ID PHO-2018-4471.R1
- Body:** 18-May-2018

The main body of the email contains the following text:

Dear Dr. Contreras-Bulnes:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Adhesion of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* on Er:YAG Laser Irradiated Dental Enamel: Effect of Surface Roughness" in its current form for publication in *Photomedicine and Laser Surgery*.

Please be sure to cite this article to ensure maximum exposure of your work.

All authors will get a follow-up email with instructions on how to complete our online Copyright Agreement form.

FAILURE BY ALL AUTHORS TO SUBMIT THIS FORM MAY RESULT IN A DELAY OF PUBLICATION.

The corresponding author is responsible for communicating with coauthors to make sure they have completed the online copyright form. Authors not permitted to release copyright must still return the form acknowledging the statement of the reason for not releasing the copyright. The corresponding author will receive notification when all copyright forms have been submitted.

Consider Liebert Open Option to have your paper made free online immediately upon publication for a one-time fee. Benefits of Liebert Open Option include: accelerated e-pub ahead of print publication; email message highlighting the article; increased readers, citations and downloads; an identifying icon in the table of contents showing that the paper is permanently available for free to all readers; and immediate deposition into PubMed Central®. Please, contact OpenAccess@liebertpub.com, or call (914) 740-2194 for more information.

If your institution is not currently subscribing to this journal, please ensure that your colleagues have access to your work by recommending this title (http://www.liebertpub.com/mcontent/files/lib_rec_form.pdf) to your Librarian.

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of *Photomedicine and Laser Surgery*, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,
Dr. Raymond Lanzafame
Editorial Office, *Photomedicine and Laser Surgery*
photomedicine.editorial@gmail.com

Reviewer(s)' Comments to Author:
Reviewer: 2

Comments to the Author
The manuscript has been improved by the authors and now can be considered for publication.

Reviewer: 1

Comments to the Author
No more comments

Date Sent: 18-May-2018

7.2. Artículo enviado

7.2.1. Título del artículo enviado

Effect of Er:YAG Laser Irradiation on Deciduous Enamel Roughness and Bacterial Adhesion

7.2.2. Carta de envío del artículo

Lasers in Surgery & Medicine

Preview (LSM-18-0143)

From: lsm@manuscriptmgt.com
To: rcontrerasb@uaemex.mx
CC:
Subject: Lasers in Surgery & Medicine - Manuscript LSM-18-0143
Body: 04-Jul-2018

Manuscript number: LSM-18-0143

Dear Professor Contreras-Bulnes:

Thank you for submitting your manuscript entitled Effect of Er:YAG Laser Irradiation on Deciduous Enamel Roughness and Bacterial Adhesion by Bernardo Teutle-Coyotecatl , Bernardo ; Contreras-Bulnes, Rosalia ; Scougall-Vilchis , Rogelio ; Almaguer-Flores , Argelia ; Rodriguez-Vilchis, Laura Emma; Velázquez-Enríquez , Ulises; Arenas-Alatorre, Jesús. We will be passing it on to the editors for evaluation shortly. Please note, however, that if the format or any part of your paper to include text; abstract and/or references or figures are not styled according to our author instructions we will not be able to process your submission. In such case, we will contact you and we will unsubmit your paper back to you for proper formatting and re-submission.

To track the progress of your manuscript through the editorial process using our new web-based system, simply point your browser to:

<https://mc.manuscriptcentral.com/lsm>

and log in using the following user ID and password:

(User ID): rcontrerasb@uaemex.mx
(Password): @@PERSON_PASSWORD_DIRECT_LINK57753004@@

May we also kindly ask you to always include the manuscript ID number LSM-18-0143 in any future correspondence regarding this article.

If you experience problems associated with the submission web site, please click on the "Get Help Now" link at <http://mc.manuscriptcentral.com/lsm>

Brian J. Wong MD, PhD
Lasers in Surgery & Medicine Editor-in-Chief

Date Sent: 04-Jul-2018

8. Resultados adicionales

Participación en congresos de investigación.

Rugosidad Superficial del Esmalte Dental Irradiado con Láser Er:YAG

- VIII Coloquio Nacional Salud-Enfermedad Bucal. Toluca, Estado de México. Febrero 2017.
SEGUNDO LUGAR en modalidad investigación (Ver Anexo 4).
- XXV Encuentro Nacional y XVI Iberoamericano de Investigación en Odontología de la UAO/UAZ. Zacatecas, Zacatecas. Noviembre 2017. **PRIMER LUGAR** en la categoría de DOCTORADO en la modalidad CARTEL (Ver Anexo 5).

Efecto de la Rugosidad Superficial del Esmalte Dental Irradiado con Láser Er:YAG en la Adhesión de *Streptococcus mutans*.

- I Congreso Internacional de Microbiología Básica y Aplicada y II Simposio de Modelos Microbianos. Puebla, Puebla. México. Septiembre 2017 (Ver Anexo 6).
- IX Coloquio Nacional Salud-Enfermedad Bucal. Toluca, Estado de México. Febrero 2018 (Ver Anexo 7).

Rugosidad del Esmalte Dental Irradiado y Adhesión de *Streptococcus mutans*.

- Quinto Magno Congreso Internacional en Estomatología. Puebla, Puebla. Abril 2018 (Ver Anexo 8).

Aceptado para participar: Rugosidad del Esmalte Primario Irradiado con Láser Er:YAG y su Efecto en la Adhesión Bacteriana “Exposición Oral”

- XXVI Encuentro Nacional y XVII Iberoamericano de Investigación en Odontología de la UAO/UAZ. León, Guanajuato. Noviembre 2018 (Ver Anexo 9).

9. Discusión general

En este estudio se evaluó la rugosidad superficial del esmalte dental deciduo y permanente; antes y después de ser irradiado con láser Er:YAG a diferentes densidades de energía y condiciones de irrigación; y su efecto en la adhesión de *S. mutans* y *S. sanguinis*.

Los parámetros de irradiación se eligieron basados en una revisión exhaustiva de la literatura y estudios piloto, tanto en dientes permanentes^{10, 12, 63, 64} como en temporales.^{8, 9, 12, 17, 18, 49, 63, 65,}

⁶⁶ Las muestras de esmalte estudiadas no se aplanaron o trataron mecánicamente antes de la irradiación láser con el fin de mantener la morfología original,⁶⁷ tal como sucede en el procedimiento clínico.

La rugosidad de la superficie del esmalte dental fue evaluada por perfilometría; esta técnica se ha empleado para medir la rugosidad del esmalte dental erosionado tratado con irradiación subablativa de láser Er:YAG.⁶⁸

Los niveles de *S. mutans* y *S. sanguinis* adheridos a las superficies del esmalte irradiado con láser Er:YAG se determinaron con el ensayo de viabilidad celular XTT; un método factible, práctico y directo para evaluar la viabilidad bacteriana sin necesidad de separar los microorganismos de su sustrato. Este método representa una ventaja por evitar el proceso de sonicación que compromete la viabilidad celular, el cual es utilizado en los procedimientos clásicos como el recuento de unidades formadoras de colonias, además de requerir varios días y en ocasiones múltiples procedimientos,⁶⁹ lo cual es una desventaja. El ensayo de viabilidad celular XTT se basa en la reducción del colorante XTT a formazan soluble en agua por las

enzimas de la cadena respiratoria localizada en la membrana citoplasmática.⁷⁰ De esta manera, la cantidad de formazan generado es proporcional a la biomasa bacteriana.⁶⁹

Además se utilizó microscopía confocal de barrido láser (MCBL), método no invasivo y no destructivo para la observación de biopelículas ya que no se requieren procesos de fijación y deshidratación;^{71, 72} y se ha reportado como una buena técnica para analizar placa dental en el esmalte.⁶² Así como también, la microscopia electrónica de barrido (MEB) la cual permite la visualización de estructuras superficiales con una apariencia tridimensional a diferentes resoluciones.⁵⁹ La MEB ha sido empleada para observar la colonización microbiana sobre superficies dentales.⁷³

Esmalte dental permanente

En cuanto a los hallazgos observados en el esmalte dental permanente, las mediciones basales de rugosidad superficial fueron homogéneas; los valores de rugosidad de las muestras no tratadas fueron menores a los reportados por Barac et al.,⁵³ quienes utilizaron terceros molares no erupcionados (no expuestos al ambiente oral), por el contrario en el presente estudio se emplearon premolares erupcionados. Mientras que los dientes no erupcionados tienen una apariencia menos homogénea con diferentes estrías de periquimatos y variación en el número de prismas expuestos,⁷⁴ por otro lado, los dientes erupcionados manifiestan ausencia de cristales grandes y pequeños, bordes de prismas y cutícula primaria eliminados por abrasión, desgaste y erosión.⁷⁵ Tales características y condiciones mencionadas probablemente den lugar a las diferencias en rugosidad entre dientes erupcionados y no erupcionados.

Todas las superficies irradiadas exhibieron un aumento en su rugosidad, excepto el grupo G5_100, que fue irradiado con la energía por pulso más baja y sin agua. Los valores de

rugosidad incrementaron en relación al aumento de la energía por pulso. Los cambios morfológicos fueron proporcionales a la energía por pulso utilizada y se hicieron más evidentes con el uso de densidades de energía altas, como se ha reportado previamente.^{10, 15-17}

El aumento de la rugosidad observado en los grupos irradiados pudiera estar relacionado con cambios morfológicos tales como la formación de superficies escamosas, cráteres pequeños o grandes, áreas de pérdida superficial de tejido, grietas y la formación de bloques de esmalte.^{4, 10, 11, 13, 16, 17}

Los grupos irradiados con láser y agua presentaron una mayor rugosidad superficial en comparación con los grupos irradiados sin agua. Probablemente la irrigación durante el tratamiento causó la ablación de la superficie del esmalte. Se ha observado que la tasa de ablación y la eficiencia pueden aumentar aplicando agua en spray.^{76, 77} La irrigación con agua produjo un aumento en la rugosidad de la superficie cuando se aplicaron energías por pulso de 100 y 300 mJ, este hecho pudo ser generado por la reacción entre la temperatura y el spray de agua, sin embargo se requieren estudios adicionales para explicar esto. El uso de enfriamiento con agua durante la irradiación ha sido discutido, se han logrado resultados satisfactorios con o sin su empleo,^{4, 14} aunque su función aún no se ha establecido claramente.

Los resultados de rugosidad obtenidos, difieren con los reportados por Țălu et al.,⁷⁸ quienes estudiaron muestras dentales tratadas con láser Er:YAG a 100, 200 mJ con y sin agua en spray; ellos reportaron mayor rugosidad en los grupos irradiados sin agua. Esta diferencia puede deberse a la técnica utilizada para medir la rugosidad; ya que la caracterizaron por microscopía de fuerza atómica (MFA). Debido a la incompatibilidad entre la alta rugosidad alcanzada en nuestras muestras irradiadas a 200 y 300 mJ y el rango z del escáner del MFA, no fue posible utilizar dicho instrumento. McConnell et al.,⁷⁹ observaron que el MFA no podía hacer mediciones en muestras muy rugosas debido a la condición descrita.

A pesar de presentar diferencias de rugosidad entre las superficies del esmalte irradiado y no irradiado, esta condición no fue suficiente para producir un aumento significativo en la adhesión bacteriana, como esperábamos y como había sido hipotetizado por varios autores.¹⁰

15

El análisis MEB mostró superficies de esmalte dental cubiertas por células de *S. mutans* sin la forma clásica de cadena, como resultado de la incubación anaeróbica previamente reportada por Olsson.⁸⁰

Esmalte dental deciduo

Para llevar a cabo el estudio del esmalte dental deciduo, se utilizaron incisivos primarios porque la caries en bebés y niños pequeños comienza como una mancha blanca en los incisivos primarios superiores a lo largo del margen gingival de las superficies anteriores.²⁰

Las muestras de esmalte sin tratar presentaron homogeneidad en los valores de rugosidad como fue observado en los dientes permanentes.⁸¹ Las superficies irradiadas del esmalte deciduo mostraron un aumento en la rugosidad cuando la densidad de energía incrementó; esto pudo estar asociado a la aparición de cambios morfológicos acentuados como el desprendimiento de material, cráteres extensos y numerosos observados por Zamudio-Ortega et al.,¹⁸ como producto de la degeneración térmica.⁴ Este hallazgo coincide con los resultados obtenidos en los dientes permanentes.⁸¹

En este estudio, se observó un marcado crecimiento bacteriano sobre el esmalte temporal, la superficie control presentó cantidades de *S. mutans* adheridas por encima de 2×10^8 células por mililitro (cel/mL) y cantidades de *S. sanguinis* por encima de 3×10^8 cel/mL. Correlaciones significativas entre el número de *S. mutans* en placa y saliva fueron reportadas por Mundorff

et al.,⁸² sus resultados sugieren una relación bacteriana 1:3 para placa y saliva, respectivamente. El crecimiento de *S. mutans* por encima de 10^5 unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL) en saliva es considerado como niveles de riesgo a caries en niños,⁸³ Aunque no son comparables las cantidades de UFC/mL presentes en saliva con el número de UFC/mg en la placa dental, así como el número de cel/mL adheridas al esmalte, los valores de riesgo a caries sirven como un parámetro de referencia para monitorear las cifras de bacterias adheridas al sustrato estudiado.

Los valores obtenidos en este trabajo de investigación excedieron el valor de riesgo de caries mencionado. De acuerdo con estos hallazgos, los niveles de *S. mutans* adheridos al esmalte permanente no irradiado también han sido reportados como altos (25×10^6 cel/mL), respecto a los valores de riesgo a caries citados anteriormente. Ambas cepas de *Streptococcus* mostraron una mayor adherencia significativa al esmalte deciduo no tratado en comparación con el esmalte permanente, bajo las mismas condiciones de crecimiento.⁸¹ Por lo tanto, parece que la rugosidad de la superficie del esmalte no es un factor influyente *per se* sobre la adherencia bacteriana, ya que los valores de rugosidad en el esmalte temporal son similares a los valores de rugosidad reportados en el esmalte permanente.⁸¹ Probablemente, el mayor contenido de material orgánico y la presencia de abundantes micro-porosidades en el esmalte primario^{67, 84} podrían ser la causa del mayor número de *S. mutans* adheridos a las superficies no tratadas en comparación con el esmalte permanente.

Cuando se irradió con una densidad de energía baja, como en el grupo G2_100(7.5 J/cm^2), no se observaron diferencias significativas en la adhesión bacteriana con respecto al grupo control, contrario a la adhesión significativa de *S. mutans* en la superficie del esmalte temporal

irradiada con una densidad de energía alta (12.7 J/cm²). Estos hallazgos sugieren que sería apropiado irradiar el esmalte temporal con fines preventivos a 7.5 J/cm², porque el crecimiento bacteriano no aumenta y hay una ventaja adicional al producir cambios químicos favorables, como el aumento de la relación Ca/P después de la irradiación, con aumento de la ácido resistencia, revelada por la ausencia de cambios en la relación Ca/P y sin cambios morfológicos después de la disolución ácida.¹⁸

Aunque las cepas bacterianas no se inocularon juntas durante el proceso de incubación, se encontró una mayor adhesión de *S. sanguinis* en comparación con *S. mutans* en superficies no tratadas y superficies irradiadas con una densidad de energía de 7.5 mJ/cm²; este hallazgo podría explicarse por la presencia de una mayor fuerza de adhesión de *S. sanguinis* al esmalte dental.⁴⁰ La densidad de energía de 12.7 J/cm² aumentó aproximadamente siete veces la rugosidad del esmalte dental temporal y favoreció el crecimiento significativo de *S. mutans*, en comparación con los otros grupos; a pesar de que la densidad de energía de 7.5 J/cm² cuadruplicó la rugosidad, no se observaron cambios en el crecimiento bacteriano en relación con el grupo control.

El aumento en la adhesión de *S. mutans* en el grupo G3_100(12.7 J/cm²) dio como resultado un crecimiento similar al presentado por *S. sanguinis*, aun cuando se sabe que éste tiene una fuerza de adhesión mayor que *S. mutans*.⁴⁰ La mayor rugosidad de las superficies podría promover la unión bacteriana debido al aumento en el área de contacto entre el material y las bacterias²⁷ y ser la razón por la cual no se observaron diferencias estadísticas entre ambas cepas. Por esta razón, el parámetro de uso de la densidad de energía 12.7 J/cm² no sería adecuado como un método de protección contra la caries dental en dientes temporales.

En general, cuando se examinó la adhesión de ambas especies de *Streptococcus* a la superficie del esmalte dental permanente y deciduo no tratado, se encontró una mayor adhesión de *S. sanguinis* comparado con *S. mutans*. Investigaciones previas demostraron la relación antagónica entre *S. sanguinis* y *S. mutans* han sugerido que *S. sanguinis* podría retrasar la colonización de *S. mutans* en la cavidad oral.^{85, 86} Por lo tanto la prevalencia en la adhesión de *S. Sanguinis*, es deseable ya que podría retrasar la adhesión del microorganismo cariogénico. Mitrakul y col.,³⁴ reportaron cantidades más altas de *S. sanguinis* en muestras de saliva en niños libres de caries, resultando en una correlación inversa con cpod.

Cuando la viabilidad bacteriana se observó con MCBL en ambos sustratos estudiados, una capa de células viables (verde) fue vista en todas las superficies, mientras algunas muestras presentaron células muertas (rojas), tales resultados pudieron deberse a las curvas propias de crecimiento bacteriano.⁸⁷ Los resultados cualitativos con MEB fueron consistentes con los obtenidos por el ensayo de viabilidad celular XTT, un hallazgo importante fue la observación de una mayor cantidad de bacterias adheridas en las superficies no irradiadas del esmalte temporal, con respecto al esmalte permanente.⁸¹

Respecto a la investigación sobre el láser y su efecto en la adhesión bacteriana, Hu et al.,⁵⁰ reportaron que, el calentamiento redujo la fuerza de adhesión tanto de *S. mitis* como de *S. oralis* al esmalte con o sin recubrimiento de saliva; sin embargo, el calentamiento no afectó la adhesión de *S. sanguinis* en las mismas condiciones. Ellos concluyeron que el tratamiento térmico y los tratamientos fototérmicos/láser podrían modular las propiedades fisicoquímicas del esmalte dental, evitando la adhesión de algunas especies bacterianas. Los resultados

obtenidos en el presente estudio revelaron que *S. sanguinis* no mostró significancia estadística al comparar las superficies irradiadas con el control.

Aunque se ha considerado que la adhesión bacteriana es promovida por un incremento de la rugosidad superficial en materiales dentales de restauración debido al aumento entre el área de contacto del material y los microorganismos,²⁷ protegiendo a las bacterias de la fuerza desalojo,²⁸ nuestros resultados parecen contrastar este fenómeno ya que, a pesar de que la irradiación con láser Er:YAG incrementó significativamente la rugosidad superficial del esmalte permanente y deciduo, en general no existieron diferencias significativas entre el número de bacterias adheridas en todos los grupos estudiados, pese a observar una tendencia al aumento de la adhesión de *S. mutans* en las superficies irradiadas ($p>0.05$).

Parece ser que la irradiación con láser Er:YAG produce cambios en la superficie del esmalte que modifican la adhesión bacteriana, aunque se requieren investigaciones adicionales para esclarecerlo.

10. Conclusiones generales

Dentro de las limitaciones del presente estudio *in vitro*, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

Para el *esmalte permanente*:

- El aumento de la rugosidad de la superficie se relacionó con el aumento de la energía por pulso y el uso de agua en espray.
- El incremento de la rugosidad superficial del esmalte irradiado no favoreció la adhesión de *S. mutans* y *S. sanguinis*.

Para el *esmalte deciduo*:

- El aumento de la rugosidad superficial del esmalte dental deciduo fue proporcional a la densidad de energía utilizada.
- El incremento de la rugosidad superficial producida por la irradiación con láser Er:YAG, no aumentó la adhesión de *S. sanguinis*.
- La rugosidad lograda en el grupo G3_100(12.7 J/cm²) propicia un incremento significativo en la adhesión de *S. mutan*, similar a *S. sanguinis*.

Hasta hoy la caries es un problema prevalente en niños, esta enfermedad involucra la desmineralización del esmalte dental a causa de los ácidos producidos por las bacterias. La alta afinidad de *S. mutans* al esmalte requiere de la búsqueda de nuevas estrategias de prevención de caries que no dependan de la cooperación del paciente y de sus cuidadores; en este sentido, el tratamiento con láser puede ser una opción porque evita la desmineralización del esmalte dental y el ataque ácido. Como se pudo observar, la irradiación con láser Er:YAG incrementó la rugosidad del esmalte, sin embargo no tuvo efecto sinérgico en la adhesión de microorganismos, por lo que podría ser utilizado en un futuro como un tratamiento alternativo en las terapias preventivas.

11. Bibliohemerografía utilizada

1. Petersen PE, Phantumvanit P. Perspective in the effective use of fluoride in Asia. *J Dent Res.* 2012; 91(2): 119-121.
2. van Houte J. Role of micro-organisms in caries etiology. *J Dent Res.* 1994; 73(3): 672-681.
3. American Academy of Pediatric Dentistry. Guideline on fluoride therapy. *Pediatr Dent.* 2017; 39(6): 181-184.
4. Hossain M, Nakamura Y, Kimura Y, Yamada Y, Ito M, Matsumoto K. Caries-preventive effect of Er:YAG laser irradiation with or without water mist. *J Clin Laser Med Surg.* 2000; 18(2): 61-65.
5. Martens LC. Laser physics and a review of laser applications in dentistry for children. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2011; 12(2): 61-67.
6. Raucci-Neto W, de Castro-Raucci LMS, Lepri CP, Faraoni-Romano JJ, da Silva JMG, Palma-Dibb RG. Nd:YAG laser in occlusal caries prevention of primary teeth: a randomized clinical trial. *Laser Med Sci* 2015; 30(2): 761-768.
7. American Academy of Pediatric Dentistry. Policy on the use of lasers for pediatric dental patients. *Pediatr Dent.* 2017; 39(6): 93-95.
8. Maung NL, Wohland T, Hsu YS. Enamel diffusion modulated by Er:YAG laser (Part 1)-FRAP. *J Dent.* 2007; 35(10): 787-793.

9. Maung NL, Wohland T, Hsu CY. Enamel diffusion modulated by Er:YAG laser (Part 2). Organic matrix. *J Dent.* 2007; 35(10): 794-799.
10. de Andrade LEH, Pelino JEP, Lizarelli RFZ, Bagnato VS, de Oliveira Jr OB. Caries resistance of lased human enamel with Er:YAG laser – morphological and ratio Ca/P analysis. *Laser Phys Letters.* 2007; 4(2): 157-162.
11. Cechinni RCM, Zezell DM, Oliveira E, Freitas PM, Eduardo CP. Effect of Er:YAG laser on enamel acid resistance: morphological and atomic spectrometry analysis. *Laser Surg Med.* 2005; 37(5): 366-372.
12. Díaz-Monroy JM, Contreras-Bulnes R, Olea-Mejía OF, García-Fabila MM, Rodríguez-Vilchis LE, Sánchez-Flores I, Centeno-Pedraza C. Chemical changes associated with increased acid resistance of Er:YAG laser irradiated enamel. *Sci World J.* 2014; 1: 1-6.
13. Apel C, Meister J, Götz H, Duschner H, Gutknecht N. Structural changes in human dental enamel after subablative erbium laser irradiation and its potential use for caries prevention. *Caries Res.* 2005; 39(1): 65-70.
14. Correa-Alfonso AM, Ciconne-Nogueira JC, Pécora J, Palma-Dibb RG. Influence of the irradiation distance and the use of cooling to increase enamel-acid resistance with Er:YAG laser. *J Dent.* 2010; 38(7): 534-540.
15. Rodríguez-Vilchis LE, Contreras-Bulnes R, Sánchez-Flores I, Samano EC. Acid resistance and structural changes of human dental enamel treated with Er:YAG laser. *Photomed Laser Surg.* 2010; 28(2): 207-211.

16. Rodríguez-Vilchis LE, Contreras-Bulnes R, Olea-Mejía OF, Sánchez-Flores I, Centeno-Pedraza C. Morphological and structural changes on human dental enamel after Er:YAG laser irradiation: AFM, SEM and EDS evaluation. *Photomed Laser Surg.* 2011; 29(7): 493-500.
17. Díaz-Monroy JM, Contreras-Bulnes R, Olea-Mejía OF, Rodríguez-Vilchis LE, Sánchez-Flores I. Morphological changes produced by acid dissolution in Er:YAG laser irradiated dental enamel. *Micros Res Tech.* 2014; 77(6): 410-414.
18. Zamudio-Ortega CM, Contreras-Bulnes R, Scougall-Vilchis RJ, Morales-Luckie RA, Olea-Mejía OF, Rodríguez-Vilchis LE, García-Fabila MM. Morphological and chemical changes of deciduous enamel produced by Er:YAG laser, fluoride, and combined treatment. *Photomed Laser Surg.* 2014; 32(5): 252-259.
19. Hueb MA, Paes C, Gómez JM, Alexandra M, Hueb FC, Palma RG. Microstructure and mineral composition of dental enamel of permanent and deciduous teeth. *Micros Res Tech.* 2010; 73: 572-577.
20. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet.* 2007; 369(9555):51-59.
21. World Health Organization. Oral Health Country/Area Profile Programme (CAPP). Geneva: WHO; 2006. Available at: "https://www.mah.se/CAPP/Country-Oral-Health-Profiles/Global_burden_of_caries_disease/". Accessed September 6, 2018.
22. SIVEPAB: Resultados del sistema de vigilancia epidemiológica de patologías bucales. México, 2013.

23. Krzysciak W, Jurczak A, Koscielniak D, Bystrowska B, Skalniak A. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilm. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014; 33(4): 499-515.
24. Ahn SJ, Ahn SJ, Wen ZT, Brady LJ, Burne RA. Characteristics of biofilm formation by *Streptococcus mutans* in the presence of saliva. *Infect Immun*. 2008; 76(9): 4259-4268.
25. Ruhl S. The scientific exploration of saliva in the post-proteomic era: from database back to basic function. *Expert Rev Proteomics*. 2012; 9(1): 85-96.
26. Katsikogianni M, Missirlis YF. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions. *Eur Cell Mater*. 2004; 8: 37-57.
27. Song F, Koo H, Ren D. Effects of material properties on bacterial adhesion and biofilm formation. *J Dent Res*. 2015; 94(8): 1027-1034.
28. Teughels W, Van Assche N, Sliepen I, Quirynen M. Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. *Clin Oral Implants Res*. 2006; 17(2suppl): 68-81.
29. Mei L, Busscher HJ, van der Mei HC, Ren Y. Influence of surface roughness on streptococcal adhesion forces to composite resins. *Dent Mater*. 2011; 27(8): 770-778.
30. Struzycka I. The oral microbiome in dental caries. *Pol J Microbiol*. 2014; 63(2): 127-135.
31. Kreth J, Merritt J, Qi F. Bacterial and host interactions of oral streptococci. *DNA Cell Biol*. 2009; 28(8): 397-403.

32. Kolenbrander PE, London J. Adhere today, here tomorrow: oral bacterial adherence. *J Bacteriol.* 1993; 175(11): 3247-52.
33. Hung HT, Ye DQ, Lai CH. Comparison of the adhesion of *Streptococcus sanguinis* to commonly used dental alloys stratified by gold content. *J Dent Sci.* 2016; 11(4): 437-442.
34. Mitrakul K, Vongsawan K, Sriutai A, Thosathan W. Association between *S. mutans* and *S. sanguinis* in severe early childhood caries and caries-free children a quantitative real-time PCR analysis. *J Clin Pediatr Dent.* 2016; 40(4): 281-289.
35. Koga T, Oho T, Shimazaky Y, Nakano Y. Immunization against dental caries. *Vaccine.* 2002; 20(16): 2027-2044.
36. Hamada S, Slade HD. Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Rev.* 1980; 44(2): 331-384.
37. Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev.* 1986; 50(4): 353-80.
38. Banas JA. Virulence properties of *Streptococcus mutans*. *Front Biosci.* 2004; 9(10): 1267-1277.
39. Montanaro L, Campoccia D, Rizzi S, Donati ME, Breschi L, Prati C, Arciola CR. Evaluation of bacterial adhesion of *Streptococcus mutans* on dental restorative materials. *Biomaterials.* 2004; 25(18): 4457-4463.

40. Mei L, Busscher HJ, van de Mei HC, Chen Y, de Vries J, Ren Y. Oral bacterial adhesion forces to biomaterial surfaces constituting the bracket-adhesive-enamel junction in orthodontic treatment. *Eur J Oral Sci.* 2009; 117(4): 419-426.
41. Seow WK. Biological mechanisms of early childhood caries. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1998; 26(1 Suppl): 8-27.
42. Meyer F, Enax J. Early childhood caries: epidemiology, aetiology, and preventive. *Int J Dent.* 2018; 2018.
43. Aoki A, Sasaki KM, Watanabe H, Ishikawa I. Lasers in nonsurgical periodontal therapy. *Periodontol.* 2000; 36(1): 59-97.
44. Cobb CM. Lasers in periodontics: a review of the literature. *J Periodontol.* 2006; 77(4): 545-564.
45. Maiman TH. Stimulated optical radiation in ruby. *Nature.* 1960; 187: 493-494
46. Jelínková H, Dostálová T, Hamal K, Krejsa O, Kubelka J, Procházka S. Er:YAG laser in dentistry. *Laser Phys.* 1998; 8(1): 176-181.
47. Bader C, Krejci I. Indications and limitations of Er:YAG laser applications in dentistry. *Am J Dent.* 2006; 19(3): 178-186.
48. Türkün M, Türkün LE, Çelik EU, Ateş M. Bactericidal effect of Er,Cr:YSGG laser on *Streptococcus mutans*. *Dent Mater J.* 2006; 25(1): 81-86.

49. Liu Y, Hsu CY, Teo CM, Teoh SH. Subablative Er:YAG laser effect on enamel demineralization. *Caries Res.* 2013; 47(1): 63-68.
50. Hu XL, Ho B, Lim CT, Hsu CS. Thermal Treatments Modulate Bacterial Adhesion to Dental Enamel. *J Dent Res.* 2011; 90(12): 1451-1456.
51. Ramalho KM, Hsu CY, de Freitas PM, Aranha AC, Esteves-Oliveira M, Rocha RG, de Paula Eduardo C. Erbium lasers for the prevention of enamel and dentin demineralization: a literature review. *Photomed Laser Surg.* 2015; 33(6): 301-319.
52. Markowitz K, Rosenfeld D, Peikes D, Guzy G, Rosivack G. Effect of pit and fissure sealants on caries detection by a fluorescent camera system. *J Dent.* 2013; 41(7): 590-599.
53. Barac R, Gasic J, Trutic N, Sunaric S, Popovic J, Djekic P, Mitic A. Erosive effect of different soft drinks on enamel surface in vitro: application of stylus profilometry. *Med Princ Pract.* 2015; 24(5): 451-457.
54. International Standards Organization: geometrical product specifications (GPS). Surface texture: Profile method; measurement standard I. ISO, 2001
55. Ota-Tsuzuki C, Martins FL, Giorgetti AP, de Freitas PM, Duarte PM. In vitro adhesion of *Streptococcus sanguinis* to dentine root surface after treatment with Er:YAG laser, ultrasonic system, or manual curette. *Photomed Laser Surg.* 2009; 27(5): 735-741.
56. Aykent F, Yondem I, Ozyesil AG, Gunal SK, Avunduk MC, Ozkan S. Effect of different finishing techniques for restorative materials on surface roughness and bacterial adhesion. *J Prosthet Dent.* 2010; 103(4): 221-227.

57. Espinosa-Cristóbal LF, Martínez-Castañón GA, Téllez-Déctor EJ, Niño-Martínez N, Zavala-Alonso NV, Loyola-Rodríguez JP. Adherence inhibition of *Streptococcus mutans* on dental enamel surface using silver nanoparticles. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2013; 33(4): 2197-2202.
58. Cohen J, Featherstone JD, Le CQ, Steinberg D, Feuerstein O. Effects of CO₂ laser irradiation on tooth enamel coated with biofilm. *Lasers Surg Med*. 2014; 46(3): 216-223.
59. Hannig C, Follo M, Hellwig E, Al-Ahmad A. Visualization of adherent micro-organisms using different techniques. *J Med Microbiol*. 2010; 59(Pt 1): 1-7.
60. Chen Y, Wong RW, Seneviratne CJ, Hägg U, McGrath C, Samaranayake LP. Comparison of the antimicrobial activity of Listerine and Corsodyl on orthodontic brackets *in vitro*. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2011; 140(4): 537-542.
61. Babu JP, Garcia-Godoy F. In vitro comparison of commercial oral rinses on bacterial adhesion and their detachment from biofilm formed on hydroxyapatite disks. *Oral Health Prev Dent*. 2014; 12(4): 365-371.
62. Konishi N, Torii Y, Kurosaki A, Takatsuka T, Itota T, Yoshiyama M. Confocal laser scanning microscopic analysis of early plaque formed on resin composite and human enamel. *J Oral Rehabil*. 2003; 30(8): 790-795.
63. Liu JF, Liu Y, Stephen HC. Optimal Er:YAG laser energy for preventing enamel demineralization. *J Dent*. 2006; 34(1): 62-66.

64. Liu Y, Hsu CYS, Teo CMJ, Teoh SH. Potential mechanism for the laser-fluoride effect on enamel demineralization. *J Dent Res.* 2013; 92(1): 71-75.
65. Liu Y, Hsu CYS. Laser-induced compositional changes on enamel: a FT-Raman study. *J Dent.* 2007; 35(3): 226-230.
66. Castellan CS, Luiz AC, Bezinelli LM, et al. In vitro evaluation of enamel demineralization after Er:YAG and Nd:YAG laser irradiation on primary teeth. *Photomed Laser Surg.* 2007; 25(2): 85-90.
67. Zamudio-Ortega CM, Contreras-Bulnes R, Scougall-Vilchis RJ, Morales-Luckie RA, Olea-Mejía OF, Rodríguez-Vilchis LE. Morphological, chemical and structural characterization of deciduous enamel: SEM, EDS, XRD, FTIR and XPS analysis. *Eur J Paediatr Dent.* 2014; 15(3): 275-280.
68. Curylofo-Zotti FA, Lepri TP, Colucci V, Turssi CP, Corona SA. Sub ablative Er: YAG laser irradiation on surface roughness of eroded dental enamel. *Microsc Res Tech.* 2015; 78(11): 989-993.
69. Perez LM, Alvarez BL, Codony F, Fittipaldi M, Adrados B, Peñuela G, Morató J. A new microplate screening method for evaluating the viability of aerobic respiring bacteria in high Surface. *Lett Appl Microbiol.* 2010; 51(3): 331-337.
70. Peeters E, Nelis HJ, Coenye T. Comparison of multiple methods for quantification of microbial biofilms grown in microtiter plates. *J Microbiol Methods.* 2008; 72(2): 157-165.

71. Pereira-Cenci T, Deng DM, Kraneveld EA, Manders EM, Del Bel Cury AA, Ten Cate JM, Crielaard W. The effect of *Streptococcus mutans* and *Candida glabrata* on *Candida albicans* biofilms formed on different surface. Arch Oral Biol. 2008; 53(8): 755-764.
72. Anami LC, Pereira CA, Guerra E, e Souza RODA, Jorge AOC, Bottino MA. Morphology and bacterial colonization of tooth/ceramic restoration interface after different cement excess removal techniques. J Dent. 2012; 40(9): 742-749.
73. Nyvad B, Fejerskov O. Scanning electron microscopy of early microbial colonization of human enamel and root surfaces in vivo. Scand J Dent Res. 1987; 95(4): 287-296.
74. Mullan F, Austin RS, Parkinson CR, Hasan A, Bartlett DW. Measurement of surface roughness changes of unpolished and polished enamel following erosion. PLoS One. 2017; 12:e0182406.
75. Palmara J, Phakey PP, Rachinger WA, Orams HJ. Electron microscopy of surface enamel of human unerupted and erupted teeth. Arch Oral Biol. 1980; 25(11-12): 715-725.
76. Visuri SR, Walsh JT, Wigdor HA. Erbium laser ablation of dental hard tissue: effect of water cooling. Lasers Surg Med. 1996; 18(3): 294-300.
77. Kim ME, Jeoung DJ, Kim KS. Effects of water flow on dental hard tissue ablation using Er:YAG laser. J Clin Laser Med Surg. 2003; 21(3): 139-144.
78. Țălu Ș, Contreras-Bulnes R, Morozov IA, Rodríguez-Vilchis LE, Montoya-Ayala G. Surface nanomorphology of human dental enamel irradiated with Er:YAG laser. Laser Phys. 2015; 26(2): 25601(9p).

79. McConnell MD, Liu Y, Nowak AP, Pilch S, Masters JG, Composto RJ. Bacterial plaque retention on oral hard materials: effect of surface roughness, surface composition, and physisorbed polycarboxylate. *J Biomed Mater Res A*. 2010; 92(4): 1518-1527.
80. Olsson J, Carlén A, Holmberg K. Inhibition of *Streptococcus mutans* adherence to hydroxyapatite with combinations of alkyl phosphates and nonionic surfactants. *Caries Res*. 1991; 25(1): 51-57.
81. Teutle-Coyotecatl B, Contreras-Bulnes R, Scougall-Vilchis RJ, et al. Adhesion of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* on Er:YAG laser irradiated dental enamel: effect of surface roughness. *Photomed Laser Surg*. Forthcoming 2018.
82. Mundorff SA, Eisenberg AD, Leverett DH, Espeland MA, Proskin HM. Correlations between numbers of microflora in plaque and saliva. *Caries Res*. 1990; 24(5): 312-317.
83. Anderson M. Risk assessment and epidemiology of dental caries: review of the literature. *Pediatr Dent*. 2002; 24(5): 377-385.
84. Gentile E, Di Stasio D, Santoro R, et al. *In vivo* microstructural analysis of enamel in permanent and deciduous teeth. *Ultrastruct Pathol*. 2015; 39(2): 131-134.
85. Cawfield PW, Dasanayake AP, Li Y, Pan Y, Hsu J, Hardin JM. Natural History of *Streptococcus sanguinis* in the oral cavity of infants: evidence for a discrete window of infectivity. *Infect Immun*. 2000; 68(7): 4018-4023.

86. Kreth J, Zangh Y, Herzberg MC. *Streptococcal* antagonism in oral biofilms: *Streptococcus sanguinis* and *Streptococcus gordonii* interference with *Streptococcus mutans*. J Bacteriol. 2008; 190(13): 4632-4640.

87. Nassar HM, Li M, Gregory RL. Effect of honey on *Streptococcus mutans* growth and biofilm formation. Appl Environ Microbiol. 2012; 78(2): 536-540.



Anexo 2

Facultad de Enfermería y Obstetricia

Doctorado en Ciencias de la Salud

ASENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE MENOR DE EDAD PARA LA DONACIÓN DE ÓRGANOS DENTARIOS

Nombre(s) del paciente Apellido paterno Apellido materno
en forma voluntaria y sin alguna presión asiento en donar _____ órgano(s) dentario(s).

Estoy de acuerdo en que estas muestras sean utilizadas en algún proyecto de investigación del Doctorado en Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de México, y sé que con esto estaré contribuyendo en la búsqueda de nuevos métodos para prevenir la caries dental.

Declaro que no he recibido dinero por la donación que hago y sé que las muestras no serán vendidas o distribuidas con fines comerciales. Se me ha hecho saber que todos mis datos personales serán guardados en secreto y confidencialidad.

He sido informado(a) acerca del proyecto de investigación vigente en el que podrían ser incluidos los dientes que dono, entiendo claramente toda la información de este documento y me han sido aclaradas todas las dudas que tenía sobre mi participación.

Además mi padre/madre _____
Nombre(s) del padre o tutor Apellido paterno Apellido materno

conoce las condiciones de la presente donación y cuento con su consentimiento informado por escrito.

Fecha de nacimiento del paciente: _____

Género: masculino femenino

Anexo 4



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: Bernardo Teutle Coyotecatl, Rosalía Contreras-Bulnes, Rogelio J. Scougall Vilchis
y Argelia Almaguer Flores

Por haber obtenido el **SEGUNDO LUGAR** en modalidad **INVESTIGACIÓN** titulado:
Rugosidad Superficial del Esmalte Dental Irradiado con Láser Er:YAG

VIII Coloquio Nacional Salud • Enfermedad Bucal

Toluca, Estado de México a 8 de febrero de 2017.

PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO
"2017 Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"


M. en C. S. Julio B. Robles Navarro
Director
Facultad de Odontología




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

CIEA
Centro de Investigación y Estudios Avanzados
—Odontología "Dr. Kessaburo Miyata"—

CASEB
Cuerpo Académico
Salud-Enfermedad Bucal

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS
AVANZADOS EN ODONTOLÓGIA





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 **Bernardo Teutle Coyotcatl**; Rosalía Contreras Bulnes; Rogelio J. Scougall Vilchis; Argelia Almaguer Flores y Laura E. Rodríguez Vilchis

Por haber obtenido el **PRIMER LUGAR** en la categoría de **Doctorado** en la modalidad de **CARTEL** con el trabajo titulado

RUGOSIDAD SUPERFICIAL DEL ESMALTE DENTAL IRRADIADO CON LÁSER Er:YAG

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



BUAP

La Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
A través del Instituto de Ciencias,
otorga la siguiente

CONSTANCIA

A: Bernardo Teutle Coyotecatl, Rosalía Contreras Bulnes, Rogelio J. Scougall Vilchis, Argelia Almaguer Flores, Laura E. Rodríguez Vilchis, Jesús A. Arenas Alatorre.

Por la presentación del trabajo titulado:

Efecto de la rugosidad superficial del esmalte dental irradiado con láser Er:YAG en la adhesión de *Streptococcus mutans*.

En el I Congreso Internacional de Microbiología Básica y Aplicada y II simposio de Modelos Microbianos llevados a cabo el 6, 7 y 8 de septiembre del 2017, en la unidad de seminarios de Ciudad Universitaria

"Pensar bien para vivir mejor"
Puebla, México, Septiembre 2017


Dr. Jesús Francisco López Olguín
Director del ICUAB


Dra. Alejandra P. Espinosa Téxis
Presidenta del comité organizador

Dra. Fabiola Avelino Flores
Coordinadora del Instituto de Ciencias Microbiológicas



Anexo 7



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: **Bernardo Teutle Coyotecatl, Rosalía Contreras Bulnes, Rogelio J. Scougall Vilchis,
Argelia Almaguer Flores, Laura E. Rodríguez Vilchis y Jesús A. Arenas Alatorre**

Por su presentación del trabajo en modalidad **DOCTORADO** titulado:
"Efecto de la Rugosidad Superficial del Esmalte Dental Irradiado con Láser Er:Yag en la
Adhesión de Streptococcus Mutans"

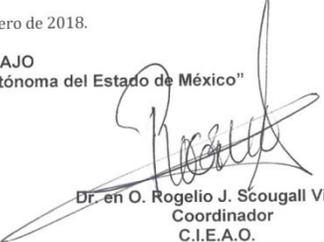


**IX Coloquio
Nacional**
Salud • Enfermedad Bucal

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
en Odontología "Dr. Keisaburo Miyata"



Cuerpo Académico
CASEB
Salud-Enfermedad Bucal

La Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

A través de la Facultad de Estomatología
Orga el presente

RECONOCIMIENTO

A: Teutle Coyotecatl Bernardo, Contreras Buines Rosalía, Scougall Vilchis Rogelio J., Almaguer Flores Argelia, Rodríguez Vilchis Laura E., Arenas Alatorre Jesús A.

Por su participación académica en el IV Encuentro de Investigación,
en el marco de las actividades del
QUINTO MAGNO CONGRESO INTERNACIONAL EN ESTOMATOLOGÍA
con la presentación del cartel titulado:

**"Rugosidad del esmalte dental irradiado y adhesión de
Streptococcus mutans"**

Los días 5, 6 y 7 de abril de 2018 en el Complejo Cultural Universitario
de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

"Pensar bien, para vivir mejor"
H. Puebla de Z., a 07 de abril de 2018

D. en C. Hortencia Chávez Oscki
Directora



BUAP

Anexo 9



MTR. BERNARDO TEUTLE COYOTECATL
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO (UAEMEX)
Presente

La Sociedad Nacional de Investigadores en Odontología (SNIO) y la Escuela Nacional de Estudios Superiores (ENES) Unidad León de la UNAM después de evaluar el resumen enviado para participar en el Encuentro Nacional e Iberoamericano ha decidido **Aceptar con cambios** su trabajo titulado: **"RUGOSIDAD DEL ESMALTE PRIMARIO IRRADIADO CON LÁSER Er:YAG Y SU EFECTO EN LA ADHESIÓN BACTERIANA"** en modalidad: **Oral**, categoría: **Doctorado** con el área temática: **Básica** con clave **DBO-47**.

El lugar de la presentación se realizará en las instalaciones de la ENES Unidad León. El lugar, hora y fecha será notificado posteriormente. Les solicitamos consulte las indicaciones de la presentación para su modalidad en la convocatoria del evento. Asimismo, le recordamos que para ser considerado dentro de las memorias del evento es requisito indispensable que se haya cubierto el registro y la cuota correspondiente estipulado en la convocatoria que puede encontrar en [https://www.masporevento.com/evento/ver/XXVI Encuentro Nacional y XVII Iberoamericano de Investigacion en Odontologia](https://www.masporevento.com/evento/ver/XXVI_Encuentro_Nacional_y_XVII_Iberoamericano_de_Investigacion_en_Odontologia)

ATENTAMENTE

Dra. Laura Susana Acosta Torres
Directora de la ENES Unidad León,
UNAM

Dr. Jorge Alanís Tavira
Presidente de la Sociedad Nacional de
Investigadores en Odontología (SNIO)
A.C.