

# CAPACIDAD DE SELLADO DE UN ADHESIVO Y UNA RESINA INFILTRANTE

con pretratamiento del sustrato  
en caries radiculares artificiales

*Sealing ability of an adhesive and an resin infiltrating  
with substrate pretreatment in artificial root caries*

POR

PAULA CRISTINA **BARALT BRACHO** <sup>1</sup>

ROBERT ANTONIO **RAMÍREZ MOLINA** <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Postgrado en Rehabilitación Bucal.

<sup>2</sup> Cátedra de Operatoria Dental. Departamento de Restauradora, Facultad de Odontología, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

**Autor de correspondencia:** Paula Cristina Baralt Bracho. Postgrado en Rehabilitación Bucal, Facultad de Odontología, calle 24, entre avenidas 2 y 3. Mérida, Venezuela.  
[paulacrist22@gmail.com](mailto:paulacrist22@gmail.com)

## Resumen

La caries radicular es frecuente en adultos mayores. El tratamiento microinvasivo incluye el sellado con adhesivos o la infiltración con resinas para inhibir la progresión de la lesión. El objetivo del estudio fue evaluar la capacidad de sellado de un adhesivo y una resina infiltrante con pretratamiento de clorhexidina en caries radiculares artificiales. Se realizó una investigación experimental, *ex vivo*. Se seleccionaron 10 terceros molares humanos realizando en c/u 4 ventanas a nivel del LAD. Una ventana no fue desmineralizada, las otras 3 fueron desmineralizadas de las cuales una no fue tratada, otra fue tratada con el adhesivo *Prime & Bond 2.1*® y otra se trató con *Icon*®; un grupo recibió pretratamiento del sustrato con clorhexidina al 2%. Fueron sometidas a termociclado manual y se tiñeron con azul de metileno. Se obtuvieron imágenes de alta resolución, midiendo la penetración del pigmento en Adobe Photoshop CS® 6.0. El análisis estadístico se realizó con ANOVA univariado y pruebas de Tukey HSD y Dunnett con un valor de significancia  $p = 0,05$ . El nivel sustrato mostró diferencias estadísticamente significativas siendo mayor la microfiltración en la dentina. No se observó diferencia significativa en la microfiltración entre las ventanas tratadas con adhesivo y las tratadas con *Icon*® ( $p = 1,000$ ). El pretratamiento no mostró diferencias significativas en la microfiltración entre el grupo pretratado y no pretratado. No se observó diferencia significativa entre el sellado y la infiltración en caries radiculares artificiales. La resina infiltrante *Icon*® penetra completamente el cuerpo de la lesión en esmalte más no se une a la dentina. El pretratamiento con clorhexidina al 2% no influye en la capacidad de sellado del adhesivo o del infiltrante.

**PALABRAS CLAVE:** caries dental, caries radicular, capacidad de sellado, sellado, adhesivo, infiltración de resina, resina infiltrante, clorhexidina, microfiltración.

## Abstract

Root decay is common in older adults. The microinvasive treatment method includes adhesive sealing or resin infiltration to inhibit the progression of the lesion. The aim of the present study was to evaluate the sealing capacity of an adhesive and an resin infiltrant with pretreatment of chlorhexidine in artificial root caries. In this experimental, *ex vivo* investigation, 10 third human molars were selected, each one had 4 windows on the DEJ level. One window was not demineralized, the other 3 were demineralized artificially. One was not treated, another was treated with *Prime & Bond 2.1*® adhesive and another was treated with *Icon*®; a group received pretreatment of the substrate with 2% chlorhexidine. The specimens were thermocycled and then were stained with methylene blue. Dye penetration was scored with high resolution images measuring with Adobe Photoshop CS® 6.0 software. Statistical analysis was performed with univariate ANOVA and Tukey HSD and Dunnett tests with a  $p = 0.05$  significance value. The substrate level had statistically significant differences with greater microfiltration in the dentin. No significant difference was observed in microfiltration between the windows treated with adhesive and those treated with *Icon*® ( $p = 1,000$ ). Pretreatment showed no significant differences in the microleakage between the pretreated and untreated group. No significant difference was observed in the microfiltration between sealing and infiltration in artificial root caries. *Icon*® infiltrant completely penetrates the body of the lesion in enamel but it doesn't bond to dentin. Pretreatment with 2% chlorhexidine does not influences the sealing ability of the adhesive or the infiltrating resin.

**KEY WORDS:** dental caries, root caries, sealing ability, sealing, adhesive, resin infiltration, resin infiltrant, chlorhexidine, microleakage.

## Introducción

La caries dental sigue siendo la enfermedad bucodental crónica más común en los niños y casi universal en los adultos, afectando individuos de todas las culturas, etnias y niveles socio económicos<sup>1</sup>. Es una enfermedad curable y prevenible. La caries dental puede afectar las superficies oclusales, proximales y radiculares de los dientes. Las lesiones cariosas radiculares se presentan con frecuencia en adultos mayores ya que presentan más susceptibilidad debido a la recesión gingival y consecuente exposición de las superficies radiculares. La incidencia de caries radiculares oscila entre el 12% y el 77% en pacientes de 60 años o más y se considera un problema de salud bucodental en los adultos mayores<sup>2-5</sup>. En estas caries radiculares el sustrato difiere en gran medida del esmalte dental, ya que lo constituye una dentina desmineralizada, con una matriz colágena expuesta y degradada por las proteasas del huésped (metaloproteinasas de la matriz y las cisteínas catepsinas)<sup>6,7</sup>. Además, el deterioro cognitivo, médico y funcional juega un papel importante en el severo deterioro de la higiene bucal y el aumento asociado de caries coronarias y radiculares en estos grupos<sup>8</sup>.

Sobre el basamento de que la caries es un proceso infeccioso resultado de un desbalance entre la ganancia y pérdida de minerales<sup>1</sup>, el enfoque invasivo en el tratamiento de la caries dental ha sido sustituido por un enfoque de manejo de la infección, a través de métodos no invasivos dirigidos a la modificación de los factores etiológicos y de métodos microinvasivos como el sellado o la infiltración de resinas de las lesiones cariosas no cavitadas. El sellado con adhesivos y la infiltración de resinas de baja viscosidad de las lesiones no cavitadas, consiste en detener el proceso carioso activo en su sitio sin ningún procedimiento invasivo, ya que conserva la estructura dentaria, disminuye la adhesión bacteriana y evita la nueva colonización, priva a las bacterias de la superficie de la lesión de los nutrientes de la biopelícula, aumenta la resistencia de la superficie al ataque ácido y por ende puede inhibir la progresión de la caries<sup>9</sup>.

Dentro de las resinas infiltrantes se ha patentado y comercializado una resina de baja viscosidad denominada Icon® (DMG America Company, Englewood, NJ) para el tratamiento microinvasivo de superficies lisas, lesiones de manchas blancas y lesiones proximales de caries. Este producto ha mostrado ser eficaz para detener o inactivar caries interproximales que llegan hasta un código 2 en la clasificación de ICDAS II (dentina superficial)<sup>10-14</sup>. También ha sido probada su penetración en caries de puntos y fisuras<sup>19</sup> y recientemente se ha mostrado su eficacia en la penetración e inhibición de caries radiculares<sup>7</sup>.

La profundidad de penetración de estos materiales ha estado correlacionada con la capacidad de los materiales para obstaculizar la progresión de la lesión cariosa y se ha determinado que las resinas infiltrantes presentan coeficientes de penetración relativamente altos y son capaces de inhibir casi completamente la progresión de las lesiones de caries naturales del esmalte en un

entorno de baja desmineralización<sup>15</sup>. Es por ello que la penetración de estos materiales en las lesiones cariosas ha sido objeto de estudio de varias investigaciones encontrando que las resinas infiltrantes presentan mayor capacidad de penetración que los adhesivos y sellantes de fisuras<sup>7,15-20</sup>. A pesar de estos resultados en cuanto a la penetración de resinas, los adhesivos y sellantes de fisuras en algunas investigaciones han mostrado ser también eficaces para inhibir la progresión de la lesión<sup>21-24</sup>. Incluso cuando han sido comparados con una resina infiltrante, no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en la inhibición de la progresión de la caries tanto en ensayos clínicos aleatorios controlados<sup>10,24</sup> como en estudios *in vitro*<sup>7,15,20,25</sup>.

Debido a la poca evidencia científica de dichos tratamientos no invasivos en caries radicales y debido a la necesidad de preservación de la integridad superficial de las lesiones por la vulnerabilidad de las superficies radicales expuestas, pueden requerirse tratamientos microinvasivos como el sellado o la infiltración de la lesión. Sobre los tratamientos microinvasivos, hasta la fecha se han encontrado pocos estudios que evalúan el efecto del sellado de las caries radicales en la progresión de la lesión<sup>23</sup>, la infiltración de resinas de baja viscosidad (Icon®) en caries radicales o la comparación de ambos en la inhibición de la progresión en lesiones de caries radicales<sup>7</sup> y dichos tratamientos no han sido comparados hasta ahora desde el punto de vista de capacidad de sellado, por lo que no existe suficiente evidencia sobre la aplicación de este tipo de tratamiento de la caries radicular no cavitada.

Dado que la presencia de una barrera de difusión ante los ácidos y nutrientes bacterianos puede ser importante para detener el proceso de caries, resulta interesante evaluar la capacidad de sellado de estos materiales como premisa a la inhibición de la progresión de caries radicular. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad de sellado de un adhesivo (Prime & Bond 2.1® Dentsply) y una resina infiltrante (Icon®) posterior al tratamiento con clorhexidina en caries artificiales sobre superficies radicales.

## Materiales y métodos

Se realizó una investigación de tipo experimental, *Ex Vivo*<sup>27</sup>. Se seleccionaron 10 terceros molares superiores e inferiores permanentes extraídos sanos e intactos, recolectados en diferentes centros de atención odontológica privada, cuyo motivo de extracción fue encontrarse retenidos en los maxilares. Los criterios de exclusión fueron los molares que luego de la extracción presentarían algún tipo de fisura, rotura, desgaste o de daño durante su manipulación.

Los dientes se limpiaron cuidadosamente de tejidos blandos como restos de ligamento periodontal con solución salina y limpiador ultrasónico y se almacenaron en solución de Timol al 0.1% hasta su uso; se sellaron los ápices de los molares con vidrio ionomérico tipo II (Riva®) y se colocaron individual-

mente en cubos de acrílico transparente de 10 mm de ancho por 8 mm de alto aproximadamente para su mejor manipulación. Se elaboraron 4 ventanas por cada molar con cinta pegante de 3 mm de ancho por 4 mm de alto, de los cuales 2 mm abarcaban esmalte y 2 mm abarcaron cemento. Luego se cubrieron con barniz de uñas resistente a ácidos (Santee®) color beach blue (M 068). Al endurecer el barniz de uñas, se retiró la cinta pegante y se descubrieron las ventanas. Se realizó una primera medición con láser de fluorescencia (DIAGNOdent®, KaVo, Biberach, Alemania) en esmalte y dentina previo al procedimiento de desmineralización y tratamiento. Las lecturas de láser de fluorescencia se tomaron con el modelo DIAGNOdent® 2095 utilizando la punta A del instrumento. El instrumento fue calibrado según las instrucciones del fabricante. La punta A se puso ligeramente en contacto con la superficie del esmalte y de la dentina y se movió suavemente. La lectura más alta (lectura máxima del instrumento = 99) se registró para cada área examinada.

Las ventanas de cada molar fueron asignadas con una letra: A, B, C y D, tomando como la letra A la primera ventana ubicada lo más cercana a la cúspide mesiovestibular del molar y de allí en adelante, se asignaron las letras B, C, D al resto de las ventanas ubicadas a la derecha de la ventana A. La ventana A fue cubierta nuevamente con cinta pegante y barniz de uñas.

Para crear lesiones de caries artificiales en las ventanas B, C y D, los especímenes se almacenaron en una solución desmineralizante constituida por un gel de metilcelulosa al 8% (1500cP, 63 kDa) cubierta con un volumen igual de 0.1 mol/l de ácido láctico y pH de 4.6 ajustado con KOH, durante 3 días a 37 °C en una estufa, según el sistema de gel acidificado descrito por Lynch y Ten Cate<sup>28</sup>.

Luego, se descubrió nuevamente la ventana A y se realizó una segunda medición con DIAGNOdent® en esmalte y dentina posterior al procedimiento de desmineralización.

Cada molar fue ubicado aleatoriamente para construir dos grupos y le fue asignada la denominación numérica del 1 al 10: grupo 1: del molar 1 al molar 5, grupo 2: del molar 6 al molar 10. Con esta denominación numérica y con la identificación en letras de las ventanas de cada molar, se permitió la identificación de cada superficie y del molar al cual perteneció. Luego se realizó la distribución de las ventanas de cada molar según el grupo y el tipo de tratamiento:

- **Grupo 1:** sin pretratamiento de clorhexidina (n = 5).
  - Ventana A: control negativo: sin desmineralizar, sin tratar.
  - Ventana B: control positivo: desmineralizado, sin tratar.
  - Ventana C: sellado con adhesivo.
  - Ventana D: infiltración de resina.
- **Grupo 2:** con pretratamiento de clorhexidina (n = 5).
  - Ventana A: control negativo: sin desmineralizar, sin tratar.
  - Ventana B: control positivo: desmineralizado, sin tratar.

- Ventana C: sellado con adhesivo con pretratamiento de clorhexidina.
- Ventana D: infiltración de resina con pretratamiento de clorhexidina.

Esta distribución de grupos y secciones permitió totalizar 10 muestras de control negativo, 10 muestras de control positivo, 5 muestras de sellado con adhesivo, 5 muestras de infiltración de resina, 5 muestras de sellado con adhesivo con pretratamiento del sustrato con clorhexidina y 5 muestras de infiltración de resina con pretratamiento del sustrato con clorhexidina.

Las ventanas B y C fueron tratadas mediante los siguientes procedimientos:

- **Grupo 1, ventana C: sellado:** Aplicación de un gel de ácido fosfórico al 37% (Secure Etch 37<sup>®</sup>) durante 20 segundos, se lavó con agua durante 30 segundos y se eliminó el exceso de humedad con aire (jeringa triple dental). Luego se aplicó un adhesivo (Prime & Bond 2.1<sup>®</sup> Dentsply) mediante un microaplicador descartable durante 20 segundos, se removió el solvente secando con una jeringa de aire suavemente y se fotocuró (lámpara Coltolux LED<sup>®</sup>) durante 20 segundos.
- **Grupo 1, ventana D: Infiltración de resina:** La superficie se grabó durante 2 minutos con ácido clorhídrico al 15% (Icon<sup>®</sup> Etch, DMG, DMG America Company, Englewood, NJ) por medio de un microaplicador descartable, moviéndolo para permitir la activación del ácido. Luego se succionó y se enjuagó con agua durante 30 segundos para posteriormente secar la superficie con aire durante 30 segundos. Seguidamente se aplicó etanol (Icon<sup>®</sup> Dry, DMG America Company, Englewood, NJ) durante 30 segundos por medio del aplicador provisto por el sistema y luego se secó con aire 30 segundos. A continuación, se aplicó sobre la superficie el infiltrante de resina de baja viscosidad (Icon<sup>®</sup> Infiltrant, DMG America Company, Englewood, NJ) durante 3 minutos por medio de un microaplicador descartable, moviéndolo para permitir su activación y luego se fotocuró (lámpara Coltolux LED<sup>®</sup>) durante 40 segundos. Posteriormente, se repitió la aplicación de la resina infiltrante (Icon<sup>®</sup> Infiltrant, DMG America Company, Englewood, NJ) durante 1 minuto adicional y se fotocuró (lámpara Coltolux LED<sup>®</sup>) durante 40 segundos.
- **Grupo 2, ventana C: sellado + pretratamiento del sustrato:** Aplicación de un gel de ácido fosfórico al 37% (Secure Etch 37<sup>®</sup>) durante 20 segundos, se lavó con agua durante 30 segundos y se eliminó el exceso de humedad (jeringa triple dental). Posteriormente se aplicó una solución de clorhexidina al 2% (Securexidine<sup>®</sup>) durante 1 minuto, que luego se secó con aire durante 30 segundos. Luego se aplicó el adhesivo (Prime & Bond 2.1<sup>®</sup> de Dentsply) mediante un microaplicador descartable durante 20 segundos, se removió el solvente secando con una jeringa de aire suavemente y se fotocuró (lámpara Coltolux LED<sup>®</sup>) durante 20 segundos.



- Grupo 2, ventana D: Infiltración de resina + pretratamiento del sustrato:**  
 La superficie se grabó durante 2 minutos con ácido clorhídrico al 15% (Icon® Etch, DMG, DMG America Company, Englewood, NJ) con un microaplicador descartable, moviéndolo para permitir la activación del ácido. Luego se succionó y se enjuagó con agua durante 30 segundos para posteriormente secar la superficie con aire por otros 30 segundos. Seguidamente se aplicó una solución de clorhexidina al 2% (Securexidine®) durante 1 minuto, que luego se secó con aire durante 30 segundos. Luego se aplicó etanol (Icon® Dry, DMG America Company, Englewood, NJ) durante 30 segundos por medio del aplicador provisto por el sistema y se secó con aire por 30 segundos. A continuación, se aplicó sobre la superficie el infiltrante de resina de baja viscosidad (Icon® Infiltrant, DMG America Company, Englewood, NJ) durante 3 minutos por medio de un microaplicador descartable, moviéndolo para permitir su activación y luego se fotocuró (lámpara Coltolux LED®) durante 40 segundos. Posteriormente, se repitió la aplicación de la resina infiltrante (Icon® Infiltrant, DMG America Company, Englewood, NJ) durante 1 minuto adicional y se fotocuró (lámpara Coltolux LED®) durante 40 segundos.

Material	Composición	Fabricante
Ácido Fosfórico	Ácido Fosfórico al 37%, agua, sílica coloidal y pigmento	Secure etch 37
Adhesivo Prime & Bond 2.1	<ul style="list-style-type: none"> <li>Resinas de Dimetacrilato Elastoméricas</li> <li>PENTA (monofosfato de dipentaeritritol pentacrílico)</li> <li>Fotoiniciadores</li> <li>Estabilizadores</li> <li>Hidrofluoruro de cetilamina</li> <li>Acetona</li> </ul>	Dentsply Sirona
Icon-Etch	Ácido clorhídrico al 15% ácido silícico pirogénico, Agentes tensoactivos	DMG, Hamburg, Alemania
Icon-Dry	99% Etanol	DMG
Icon-Infiltrant	Matriz de resina de metacrilato (TEGDMA), iniciadores y aditivos	DMG
Clorhexidina	Solución de clorhexidina al 2%	Securexidine

Las muestras se sometieron a un proceso de termociclado manual siguiendo el estándar ISO TR 11450 (1994) que comprende un protocolo de 500 ciclos, sumergiendo las muestras de forma alternada en un recipiente con agua a 5 °C y uno conteniendo agua a 55 °C, con un tiempo de permanencia en cada recipiente de 30 segundos. Las muestras fueron sumergidas en una solución de azul de metileno al 2% durante 24 horas, se enjuagaron y se fijaron con fijador de radiografías (Pribanic®) por 24 horas.

Luego las muestras fijadas se seccionaron longitudinalmente por el centro de cada ventana con un disco de diamante (Best Qual®) de 0.15 x 22 mm y motor eléctrico (NSK® MIO Modelo NE116) a una velocidad de 20.000 min-1 obteniendo 2 hemisecciones de las cuales se seleccionó una para su evaluación. A continuación, las muestras fueron lavadas en un baño ultrasónico con agua destilada durante 3 minutos para eliminar cualquier resto de viruta producida por el corte.

A las muestras se les tomaron fotografías de alta resolución mediante la utilización de una cámara reflex (Nikon® D3400) bajo la siguiente programación: ISO 200 y velocidad de obturación de 1/125. Se utilizó un lente Súper Macro Mitakon Zhongyi® de 20 mm, con magnificación de 4.5 X y diafragma de 16. El Flash fue proporcionado por Speed lite® (YN560 IV), programados en 1-2 y ubicados a cada lado de la muestra a 45°. La capacidad de sellado se evaluó mediante la medición de la penetración del azul de metileno en las imágenes obtenidas con el software Adobe Photoshop® CS 6.0 64 bit, utilizando la herramienta de medición y tomando el valor de A1 con An = 0, en 3 puntos equidistantes entre sí en esmalte y 3 puntos equidistantes entre sí en dentina, partiendo del límite coronal de la ventana de estudio y culminando en el margen más gingival. Estos valores luego se promediaron para obtener un valor por cada tejido (esmalte y dentina) en cada una de las ventanas. Posteriormente se realizó la conversión de los valores de A1 en micrómetros (unidad de medida definitiva) al dividirlos entre 0.1.

El análisis estadístico se inició con la estadística descriptiva, la cual tuvo al promedio como medida de tendencia central y a la desviación estándar como medida de dispersión y se aplicó un ANOVA univariado. Para comparaciones múltiples, se utilizó la prueba Tukey HSD y la prueba de Dunnett para las comparaciones con el grupo control. El nivel de significancia se encontró predeterminado con un valor de  $p=0,05$ . Para las pruebas estadísticas se utilizó el programa SPSS 19.0 (IBM®).

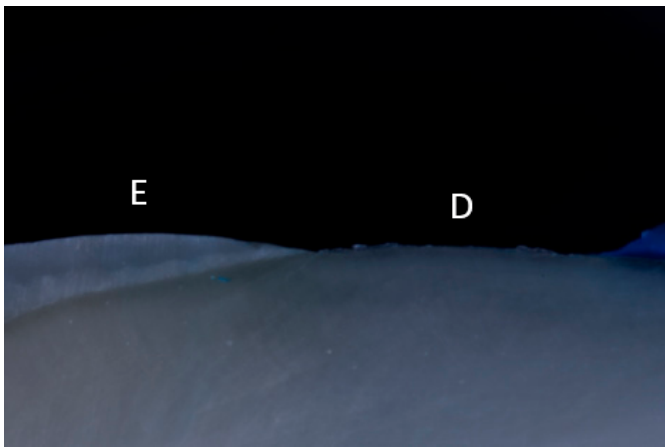
## **Resultados**

Se observaron los promedios de los valores obtenidos por el láser de fluorescencia (DIAGNOdent®, KaVo) y el desvío como medida de dispersión antes y después del proceso de desmineralización de las ventanas tanto en esmalte como en dentina, encontrándose que dichos promedios aumentaron luego de ser sometidos a desmineralización. Estos valores en el día 0 (pre desmineralización) en esmalte pasaron de 9,95 (2,32) a 14,65 (4,24) en el día 3 (post desmineralización) y en dentina pasaron de 13,2 (2,66) a 21,2 (2,70) luego de culminada la desmineralización. Esto indicó que se logró pasar a un punto de mayor desmineralización con el protocolo aplicado.

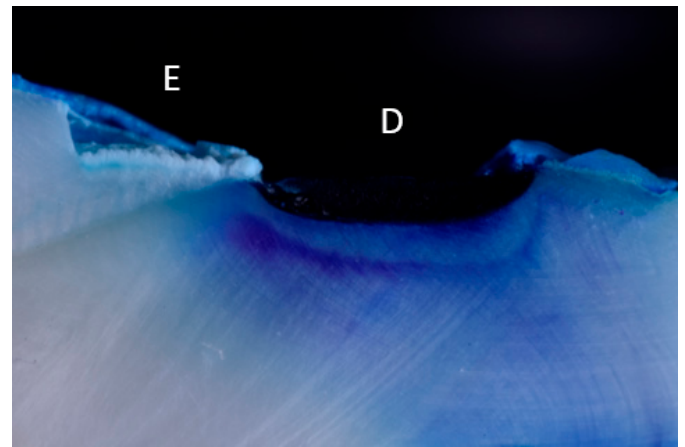


Las imágenes que se presentan son representativas de cada ventana de estudio luego del termociclado y de la tinción con azul de metileno: **1.** No desmineralizada ni tratada. **2.** Lesión de caries artificial en esmalte (E) y dentina (D) sin tratamiento. **3.** Desmineralizada tratada con adhesivo Prime & Bond 2.1, **4.** Desmineralizada tratada con Icon® (FIGURAS 1, 2, 3 y 4).

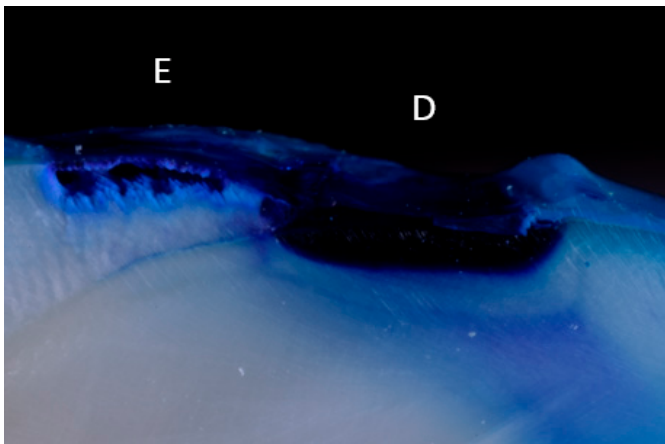
La estadística descriptiva para la variable dependiente microfiltración en esmalte y dentina de las ventanas no desmineralizadas, desmineralizadas sin tratamiento, tratadas con adhesivo y tratadas con Icon® con o sin pretratamiento de clorhexidina, utilizando el promedio como medida de tendencia central y el desvío como medida de dispersión expresados en micrómetros (TABLA 1).



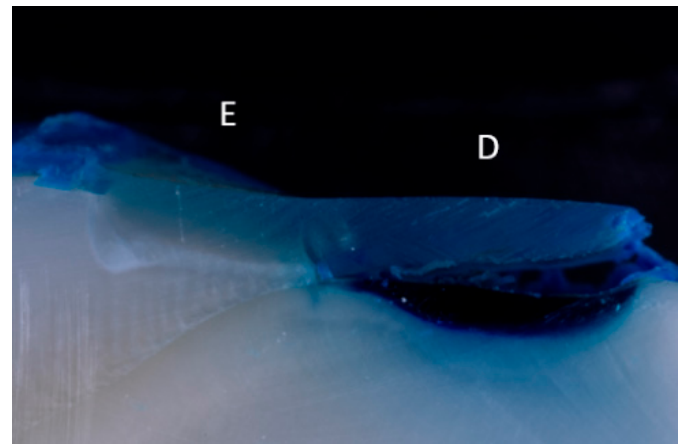
**FIGURA 1.**  
Tejidos no desmineralizados. Esmalte (E) y dentina (D).



**FIGURA 2.**  
Lesión de caries artificial en esmalte (E) y dentina (D).



**FIGURA 3.**  
Ventana tratada con adhesivo Prime & Bond 2.1. Esmalte (E) y dentina (D).



**FIGURA 4.**  
Ventana tratada con la resina infiltrante Icon®. Esmalte (E) y dentina (D).

**TABLA 2.**

Estadística descriptiva para la variable dependiente microfiltración.

Descriptive Statistics					
Dependent Variable:Microfiltracion					
Ventana	Pre_Tratamiento	Sustrato	Mean	Std. Deviation	N
No desmineralizada	Sin Clorhexidina	Esmalte	0,00	0,00	5,00
		Dentina	539,73	1206,88	5,00
		Total	269,87	853,39	10,00
	Con Clorhexidina	Esmalte	0,00	0,00	5,00
		Dentina	0,00	0,00	5,00
		Total	0,00	0,00	10,00
	Total	Esmalte	0,00	0,00	10,00
		Dentina	269,87	853,39	10,00
		Total	134,93	603,44	20,00
	Desmineralizada	Sin Clorhexidina	Esmalte	488,00	690,61
Dentina			3824,00	557,81	5,00
Total			2156,00	1855,16	10,00
Con Clorhexidina		Esmalte	469,33	643,28	5,00
		Dentina	3066,67	716,72	5,00
		Total	1768,00	1512,00	10,00
Total		Esmalte	478,67	629,28	10,00
		Dentina	3445,33	725,20	10,00
		Total	1962,00	1659,15	20,00
Adhesivo_PrimeB 2.1		Sin Clorhexidina	Esmalte	709,33	775,59
	Dentina		2712,00	1173,17	5,00
	Total		1710,67	1411,78	10,00
	Con Clorhexidina	Esmalte	221,33	332,48	5,00
		Dentina	2117,33	1317,69	5,00
		Total	1169,33	1348,84	10,00
	Total	Esmalte	465,33	618,58	10,00
		Dentina	2414,67	1217,22	10,00
		Total	1440,00	1372,24	20,00
	ICON	Sin Clorhexidina	Esmalte	325,33	727,47
Dentina			2744,00	1609,79	5,00
Total			1534,67	1735,49	10,00
Con Clorhexidina		Esmalte	0,00	0,00	5,00
		Dentina	2794,67	653,31	5,00
		Total	1397,33	1535,96	10,00
Total		Esmalte	162,67	514,40	10,00
		Dentina	2769,33	1158,51	10,00
		Total	1466,00	1596,61	20,00
Total		Sin Clorhexidina	Esmalte	380,67	639,42
	Dentina		2454,93	1644,79	20,00
	Total		1417,80	1618,77	40,00
	Con Clorhexidina	Esmalte	172,67	387,13	20,00
		Dentina	1994,67	1444,08	20,00
		Total	1083,67	1392,90	40,00
	Total	Esmalte	276,67	532,25	40,00
		Dentina	2224,80	1545,40	40,00
		Total	1250,73	1509,86	80,00

Para la variable dependiente microfiltración, las ventanas no desmineralizadas tuvieron un valor promedio de 134,9 (603,4)  $\mu\text{m}$  > que las ventanas tratadas con adhesivo 1440 (1372,23)  $\mu\text{m}$  = a las tratadas con Icon® 1466 (1596,61)  $\mu\text{m}$  = que las ventanas desmineralizadas sin tratamiento que tuvieron un valor promedio de 1962 (1659,14)  $\mu\text{m}$ . Respecto al sustrato, el valor promedio de la microfiltración en micrómetros fue de 276,6 (532,25) en esmalte < que en la dentina 2224,8 (1545,39). También pudo observarse que los valores promedio de la microfiltración en las ventanas a las que se les aplicó pretratamiento del sustrato con clorhexidina 1083,6 (1392,89)  $\mu\text{m}$  = que las que no tuvieron pretratamiento con clorhexidina 1417,8 (1618,76)  $\mu\text{m}$ .

Por otra parte, se aplicó un análisis de la varianza (ANOVA) univariado para la variable dependiente microfiltración que permitiera establecer diferencias en 3 niveles: sustrato, ventanas y pretratamiento del sustrato. Dicha prueba pudo mostrar en el nivel sustrato el valor de  $p = .000$  con diferencias estadísticamente significativas, por lo que se rechaza la hipótesis de nulidad. En el nivel ventanas el valor de  $p = .000$  muestra diferencias estadísticamente significativas, por lo que también se rechaza la hipótesis de nulidad. Para el nivel pretratamiento se observó un valor de  $p = .070$ , sin diferencias estadísticamente significativas en la microfiltración entre los grupos en los que no fue aplicado el pretratamiento con clorhexidina y en los que sí fue aplicado, lo que conlleva a aceptar la hipótesis de nulidad.

En relación a la interacción de los tres niveles con un valor de  $p = .708$  no se observan diferencias estadísticamente significativas o influencia entre sí en cuanto a la microfiltración.

Para comparaciones múltiples se utilizaron las pruebas de Tukey HSD y Dunnett. La prueba de Tukey HSD se aplicó para el nivel ventana de manera que permitiera observar de qué forma se agrupaba. La prueba de Dunnett permitió realizar comparaciones en el nivel ventana con la ventana control no desmineralizada ni tratada.

La prueba de Tukey HSD agrupó el nivel ventana en dos bloques diferentes estadísticamente significativos en uno de los cuales se ubica las ventanas no desmineralizadas y en el otro las ventanas tratadas con adhesivo, las tratadas con Icon® y las desmineralizadas sin tratamiento. En esta prueba no se observó diferencia estadísticamente significativa entre las ventanas tratadas con adhesivo Prime & Bond 2.1® y las tratadas con Icon®  $p = 1.000$ . Los altos valores de microfiltración en dentina, permitieron que los valores de las tratadas con Icon® no fueran diferentes estadísticamente (TABLA 2).

La prueba de Dunnett mostró una diferencia estadísticamente significativa entre la ventana no desmineralizada control y las ventanas desmineralizadas ( $p = .000$ ), las tratadas con adhesivo Prime & Bond 2.1® ( $p = .000$ ) y las tratadas con Icon® ( $p = .000$ ).

## Discusión

Las lesiones de caries radicales se hacen más susceptibles a dañarse en su capa superficial<sup>6</sup>, por lo que la integridad superficial de estas lesiones no cavitadas debe ser preservada por medio de tratamientos no invasivos o microinvasivos como el sellado con adhesivos o la penetración de resinas infiltrantes<sup>9, 29</sup>. Se puede especular que la eficacia de estos materiales en detener el proceso carioso dependería de que logre crear una barrera de difusión ante los ácidos y nutrientes bacterianos<sup>29</sup>, es decir, dependería de su capacidad de sellado.

Debido a la poca evidencia científica sobre el sellado o infiltración de caries radicales y debido a que dichos tratamientos no han sido comparados hasta ahora desde el punto de vista de capacidad de sellado, el presente estudio *in vitro* evaluó la microfiltración de un adhesivo (Prime & Bond 2.1<sup>®</sup>) y una resina infiltrante (Icon<sup>®</sup>) en caries radicales artificiales, aplicando además el tratamiento con clorhexidina del componente orgánico degradado de la dentina radicular previo al sellado y a la infiltración (pretratamiento del sustrato).

En la creación de las caries artificiales llevadas a cabo en este estudio, se aplicó un protocolo de desmineralización por 3 días y se utilizó el láser de fluorescencia (DIAGNOdent<sup>®</sup>) para corroborar la presencia de caries luego del proceso de desmineralización sin necesidad de deteriorar las muestras para verificación histológica. Este dispositivo, funciona excitando la porfirina, que es el pigmento derivado de la bacteria cariogénica y los valores numéricos en la pantalla del dispositivo indican la intensidad de esta fluorescencia en las lesiones<sup>30</sup>. La evaluación con láser de fluorescencia arrojó valores promedio de 14,65 (4,24) en esmalte y en dentina de 21,2 (2,70), lo cual indica que se logró la desmineralización de las muestras a pesar de tratarse de lesiones de caries artificiales, ya que según la escala de valores publicada por Luissi en el 2000<sup>30</sup> basada en estudios *in vivo*, valores entre 15 y 20 obtenidos en superficies lisas, se corresponden con caries que histológicamente se extienden más allá de la mitad externa del esmalte pero confinadas al mismo y valores superiores a 21 se corresponden con caries histológica en dentina.

Estos resultados difieren de los obtenidos por Markowitz K. y Carey K.<sup>31</sup> quienes realizaron un estudio *in vitro* en el que obtuvieron lecturas con el láser de fluorescencia en estructura dental intacta cercanas a cero. Después de la desmineralización con solución ácida, a pesar de observarse un marcado cambio en la apariencia de la superficie del diente, las mediciones de láser de fluorescencia en las áreas desmineralizadas también estuvieron cerca de cero. Los resultados de este estudio indicaron que el láser de fluorescencia no mide directamente la desmineralización por lo que no apoyan el uso de este dispositivo en estudios de esta naturaleza, posiblemente debido a la falta de la porfirina bacteriana en el esmalte desmineralizado que se ha implicado como responsable de las lecturas del láser de fluorescencia obtenidas de estas lesiones.

Sin embargo, el hecho de que en el presente estudio los valores de láser de fluorescencia se correspondan con la presencia de caries dental, puede indicar la eficacia del protocolo de desmineralización utilizado ya que, a pesar de no tratarse de caries naturales, los valores indicaron la presencia de desmineralización en el esmalte y la dentina.

Por otra parte, la obtención de imágenes para la observación y medición de la microfiltración se ha llevado a cabo mediante diferentes métodos como el uso de estereomicroscopio, microscopia electrónica de barrido <sup>32</sup>, imágenes de micro tomografía <sup>33</sup> y digitalización de imágenes mediante escáner <sup>33-37</sup> para la evaluación de la microfiltración mediante softwares. La evaluación de la medición mediante métodos digitales, ha sido validada por los estudios de De Santi *et al.* en el 2012 <sup>36</sup> y en el 2015 <sup>37</sup> quienes verificaron el nivel de exactitud de la medición con imágenes digitales comparándolas con el método visual mediante uso de estereomicroscopio considerado como criterio de validación. Para ello, prepararon cavidades clase V y las restauraron con una resina compuesta, luego sometieron las muestras a termociclado y las sumergieron en una solución de fucsina básica para posteriormente seccionarlas por el centro de la restauración y evaluar la microfiltración por medio del método visual con estereomicroscopio y por la digitalización de las imágenes con un escáner que permitió realizar la medición de la microfiltración en milímetros en el programa Image Tool Software 3.0<sup>®</sup>. Ellos encontraron que la microfiltración marginal puede ser detectada con la interpretación de imágenes digitales debido a la alta sensibilidad y especificidad de este método <sup>36</sup> y a los altos niveles de reproducibilidad intra e inter examinador <sup>37</sup>.

La utilización del software Adobe Photoshop CS 6.0 64 bit, permitió realizar mediciones de la penetración del pigmento en sentido vertical, cuyos datos numéricos luego fueron convertidos en micrómetros y promediados para obtener un valor cuantitativo en esmalte y uno en dentina en cada imagen, lográndose así una evaluación objetiva de la microfiltración.

En la evaluación visual de las imágenes, se pudo observar que las ventanas desmineralizadas no tratadas mostraron una pérdida de la solidez estructural del esmalte después del corte, inclusive, parte de la lesión se perdió en algunas muestras y otras permanecieron íntegras. Esto pudo evidenciarse debido a la presencia de esmalte remanente no pigmentado (FIGURA 2). También se hizo evidente la diferencia en la microfiltración en esmalte y dentina, lo cual se corresponde con los resultados obtenidos en el análisis estadístico que indican que hubo diferencias significativas, siendo menor la microfiltración en esmalte que en la dentina.

Por otra parte, pudieron observarse en algunas muestras fallas de tipo fractura o delaminado de los materiales utilizados para el sellado o la infiltración. Las fallas de tipo fractura, pudieron detectarse a nivel del límite amelo-

dentinario. Esta pareciera ser la zona por donde penetró el pigmento y esto puede deberse a la diferencia en el coeficiente de dilatación térmica que es menor en esmalte que en la dentina. Este tipo de falla fue la más común y se presentó tanto para las ventanas tratadas con adhesivo como para las tratadas con Icon®.

El delaminado fue la falla que le siguió a la fractura del material. El adhesivo presentó en pocas muestras delaminado, el cual pudo deberse a una ruptura en el momento del corte. Se observó que en general el adhesivo se integra en la zona desmineralizada (FIGURA 3) y parece tener la rigidez suficiente para proteger la lesión, lo cual puede deberse a la presencia de relleno en su composición. La resina infiltrante por su parte presentó un delaminado a nivel de la dentina en la mayoría de las muestras, posiblemente por la falta de relleno en su composición, lo que aumenta el coeficiente de dilatación térmica ocasionando la falla. Además, posiblemente el Icon® no penetra en la dentina ya que no se integra al colágeno, así como también lo encuentran Zhou *et al.*<sup>7</sup> en su estudio en caries radiculares.

En búsqueda de la solución a la falta de integración a la dentina, se realizó el pretratamiento del sustrato con solución de clorhexidina al 2%, con miras a inhibir las metaloproteinasas presentes en el colágeno desnaturalizado de la caries en dentina. Sin embargo, dicho pretratamiento no presentó influencia en la integración de la resina infiltrante. En contraste a este hallazgo, se evidenció la penetración completa de Icon® en el esmalte, integrándose al cuerpo de la lesión (FIGURA 4), que es para lo cual este material fue diseñado. Esto es debido a que en esmalte los poros de la lesión se encuentran en un tejido inorgánico, sin la presencia de un componente orgánico degradado como es el caso de la dentina, además la acción del ácido clorhídrico elimina la capa superficial de la lesión permitiendo la penetración de la resina de baja viscosidad<sup>38, 39</sup>.

Esto coincide con los resultados de varios estudios que han investigado la penetración de este tipo de material infiltrante en las lesiones cariosas de esmalte, encontrando que las resinas infiltrantes presentan mayor capacidad de penetración que los adhesivos y sellantes de fisuras<sup>7,15-20</sup>. Una de estas investigaciones es la de Paris S. y Meyer-Lueckel H.<sup>19</sup> en la cual probaron resinas experimentales en lesiones de caries naturales proximales en esmalte evaluando las habilidades de penetración de un infiltrante en comparación con las de un adhesivo. Para ello, grabaron las muestras con ácido clorhídrico experimental al 15% y les aplicaron un adhesivo (Excite®, Ivoclar Vivadent) o la resina infiltrante experimental. Realizaron observaciones mediante micro radiografías para analizar el contenido de minerales y mediante microscopio confocal láser de barrido en modo dual fluorescente. Los resultados de este estudio mostraron que la media de las penetraciones máximas y el porcen-



taje de penetración del infiltrante fueron significativamente mayores que las del adhesivo.

Los hallazgos de este estudio en la penetración de Icon® en esmalte también están en concordancia con los resultados de la investigación de Yonghon L., *et al.*<sup>20</sup> quienes compararon las capacidades de penetración de la infiltración de resina con las de un adhesivo en lesiones de caries iniciales naturales de mancha blanca *in vitro*. Para ello, grabaron durante 2 min con gel de ácido clorhídrico al 15% y trataron posteriormente con un adhesivo o con infiltración de resina. Observaron con microscopía de barrido confocal láser en modo de fluorescencia dual y calcularon los porcentajes de penetración. Los resultados expresaron que la penetración de las lesiones de caries de esmalte se observa tanto en el adhesivo como en la infiltración de resina, pero la máxima profundidad de penetración media y porcentaje de penetración de la infiltración de la resina fueron significativamente mayores que las del adhesivo.

Por otra parte, los resultados de este estudio indican diferencias significativas entre las ventanas. Era lógico pensar que las ventanas presentaran diferencias, ya que dos de las cuatro ventanas presentes en cada muestra constituían controles (negativo y positivo) y no fueron tratadas. Sin embargo, cuando fueron comparadas las ventanas que recibieron tratamiento, los resultados mostraron que no hubo diferencias entre las ventanas tratadas con adhesivo Prime & Bond 2.1® y las tratadas con Icon®. A pesar de que hasta la fecha no se encuentran en la literatura investigaciones que comparen la capacidad de sellado de los adhesivos y de la resina infiltrante Icon® en caries radiculares, algunos estudios han obtenido resultados que se corresponden con los hallazgos de nuestra investigación, aun cuando el objetivo a evaluar ha sido la inhibición de la progresión de la caries y no la microfiltración. Es el caso de los estudios de Martignon *et al.*, Zhou *et al.* y Paris, S.; Meyer-Lueckel, H.<sup>21</sup> quienes encontraron que las resinas infiltrantes presentan mayores coeficientes de penetración y que no presentan diferencias significativas en la inhibición de la progresión de la caries cuando son comparadas con los adhesivos.

Particularmente la investigación *in vitro* de Zhou Y *et al.*<sup>7</sup>, evaluó el efecto de la infiltración de resina en la caries radicular inducida por biopelícula de *Streptococcus mutans*. Para ello, distribuyeron 5 grupos de estudio: control negativo, Clearfil SE Bond (SEB), ácido clorhídrico al 15% por 120 s + resina infiltrante Icon® (HA120), ácido clorhídrico al 15% por 10 s + Icon® (HA10) y ácido fosfórico al 40% por 10 s + Icon® (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 10s). Luego, la desmineralización inducida por biopelícula se llevó a cabo nuevamente y los especímenes se observaron mediante tomografía de coherencia óptica de barrido y microscopio confocal de barrido láser para analizar la profundidad máxima de penetración de la resina y el aumento de la profundidad de lesión. Los resultados

arrojaron que la penetración máxima del tratamiento con ácido clorhídrico al 15% por 120s + Icon® fue significativamente mayor que con ácido fosfórico al 40% por 10s + Icon® y Clearfil SEB. Además, el infiltrante de resina formó capas de penetración no homogéneas en la dentina desmineralizada, mientras que SE Bond formó capas de revestimiento homogéneas que se mantuvieron estables incluso después de la segunda desmineralización, muy similar a lo que pudimos observar en las imágenes del presente estudio, en las que se encontró el delaminado de Icon® en dentina y en general una integración del adhesivo tanto en esmalte como en dentina después del termociclado. Los autores concluyeron que la infiltración de resina tiene un efecto preventivo sobre la caries radicular similar al de SEB, lo cual se corresponde con los resultados del presente estudio en los que no se observaron diferencias entre el adhesivo y la resina infiltrante en cuanto a la microfiltración.

En este sentido, se puede inferir que tanto el adhesivo como la resina infiltrante tuvieron una microfiltración similar. Sin embargo, pareciera haber mejor integración del adhesivo con la lesión, aunque no penetre ni se una al cuerpo de la lesión estructuralmente, parece ser que refuerza la parte superficial de la misma. Esto, desde el punto de vista biológico, puede tener repercusiones en la capacidad de sellado y, por ende, en la inhibición de la progresión de la caries.

En concordancia con esto, el estudio realizado por Schmidlin P *et al.*<sup>21</sup> que comparó el potencial protector de un adhesivo convencional sin relleno (Heliobond®), un infiltrante de caries (Icon®) y una combinación de ambos contra el reto ácido durante 21 días *in vitro*, encontró que el infiltrante de caries, el adhesivo y la combinación de ambos fueron capaces de disminuir la disolución del esmalte, pero el adhesivo y la combinación de adhesivo e infiltrante fueron más efectivos que el infiltrante por sí solo para proteger la disolución del esmalte.

Se puede especular que, en el caso de las caries radiculares, parece ser preferible sellar con un adhesivo y garantizar la solidez estructural de la lesión.

Por otra parte, como se ha mencionado anteriormente, en la presente investigación se realizó el pretratamiento del sustrato con clorhexidina, con miras a inhibir las metaloproteinasas presentes en el colágeno desnaturado de la caries en dentina y así solucionar la falta de integración del infiltrante a la dentina encontrada por Zhou *et al.*<sup>7</sup> El protocolo utilizado para el pretratamiento con clorhexidina al 2%, se basó en lo recomendado por Saffarpour A. *et al.*<sup>40</sup> y Breschi L.<sup>41</sup> que consiste en la aplicación de la solución de clorhexidina al 2% después del grabado ácido sin enjuagar.

A pesar de que algunas investigaciones como la de García *et al.*<sup>42</sup> han encontrado una reducción de la actividad proteolítica en muestras de caries coronal y de dentina radicular con la acción del digluconato de clorhexidina al

0,12% y esto podría traducirse en un mejor sellado, los resultados de nuestro estudio mostraron que no hubo diferencias significativas en la aplicación o no de un pretratamiento del sustrato con clorhexidina al 2%. Según la experiencia del presente trabajo, se puede especular que la aplicación de clorhexidina como pretratamiento del sustrato no parece influir en el sellado de un adhesivo o en la infiltración de resina y esto puede deberse a que, al tratarse de caries artificiales creadas a partir de una solución ácida sin la presencia de bacterias cariogénicas y con un corto tiempo de desmineralización, es posible que no haya ocurrido una activación importante de las metaloproteinasas de la matriz.

Los resultados aquí obtenidos concuerdan con los de Hameed H. *et al.*<sup>43</sup> quienes evaluaron la influencia del gluconato de clorhexidina al 2% y Clearfil Protect Bond (CPB) (que contiene el monómero antibacteriano 12-MDPB) en la microfiltración de restauraciones Clase V con resina compuesta Filtek Z350 (3M). Luego de tratar las muestras, someterlas a termociclado, y evaluarlas con estereomicroscopio, estos autores encontraron que ninguno de los materiales probados eliminó completamente la microfiltración en el esmalte y en el margen gingival. La microfiltración fue mayor en el margen gingival en comparación con el margen del esmalte, sin diferencia significativa entre los grupos de tratamiento, tal como ocurrió en el presente estudio.

Asimismo, los resultados también se corresponden con los de Pinheiro, S. *et al.*<sup>44</sup> quienes encontraron que luego de 6 meses de la sumersión de las muestras en una infusión de cerebro corazón en ambiente anaeróbico a 37°C, no hubo diferencias significativas entre los sistemas adhesivos empleados (sistema adhesivo de una botella y autograbador) y el uso o no de clorhexidina al 2% en la dentina cariada.

## Conclusiones

- No se observó diferencia significativa en la microfiltración entre el tratamiento con adhesivo Prime & Bond 2.1 y la resina infiltrante Icon® en caries radiculares artificiales.
- En el caso de las caries radiculares, parece ser preferible sellar con un adhesivo que se integre tanto en esmalte como en dentina y que proteja la lesión.
- La microfiltración es menor en esmalte que en dentina tanto con el tratamiento con el adhesivo como con la resina infiltrante.
- La resina infiltrante Icon® penetra completamente el cuerpo de la lesión en esmalte más no se une a la dentina.
- El pretratamiento con clorhexidina al 2% no influye en la capacidad de sellado del adhesivo Prime & Bond 2.1 o en el de la resina infiltrante Icon®.

## Referencias

1. L. Calatrava L. Orientaciones sobre un nuevo paradigma en la detección, diagnóstico y tratamiento de la caries dental. *Odous Científica*, 2007; 8(2): 33-38.
2. López R, Smith P, Göstemeyer G, Schwendicke F. Ageing, dental caries and periodontal diseases. *Journal of Clinical Periodontology*, 2007; 44(18):145- 152.
3. Carvalho T, Lussi A. Age-related morphological, histological and functional changes in teeth. 10.1007/978-3-030-41468-9\_2, (17-48), <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/joor.12474>
4. de Amorim R, Ferreira J, Sousa M, Peres M, Frazão P. Root caries prevalence and severity in Brazilian adults and older people. *Rev Saúde Pública*, 2013; 47(3): 1-9.
5. Gobierno de Chile. Ministerio de Salud. Subsecretaría de Salud Pública. División de Prevención y Control de Enfermedades. Departamento de Salud Bucal, «Guía Clínica AUGÉ. Salud oral integral para adultos de 60 años: prevención y tratamiento de caries radiculares», 2015.
6. Takahashi N, Nyvad B. Ecological Hypothesis of Dentin and Root Caries. *Caries Research*, 2016; 50: 422-431.
7. Zhou Y, Matin K, Shimada Y, Sumi Y, Tagami J. Evaluation of resin infiltration on demineralized root surface: An in vitro study. *Dental Materials Journal*, 2017; 1-10.
8. Bustillos L, Arellano L, Zambrano R, Manoochehri A. Prevalencia de caries y lesiones bucales en adultos mayores institucionalizados en Mérida – Venezuela, *Revista Odontológica de Los Andes*, 2015; 10(2): 19-24.
9. B. E. G. A. F. L. Lasfargues J. Minimal intervention dentistry: part 6. Caries inhibition by resin infiltration. *British Dental Journal*, 2013; 214(2): 53-59.
10. Martignon S, Ekstrand K, Gomez J, Lara J, Cortes A. Infiltrating/Sealing Proximal Caries Lesions: A 3-Year Randomized Clinical Trial. *Journal of Dental Research*, 2012: 1-5.
11. Meyer-Lueckel H, Bitter K, Paris S. Randomized Controlled Clinical Trial on Proximal Caries Infiltration: Three-Year Follow-Up. *Caries Research*, 2012; 46: 544- 548.
12. Caglar E, Kuscu O, Hysi D. Four Year Evaluation of Proximal Resin Infiltration in Adolescents. *Acta stomatologica Croatica*, 2015; 49(4): 304-308.
13. Altarabulsi M, Alkilzy M, Petrou M, Splieth C. Clinical safety, quality and effect of resin infiltration for proximal caries. *European Journal of Paediatric Dentistry*, 2014; 15(1): 39-44.
14. Peters M, Hopkins A, Yu Q. Resin infiltration: An effective adjunct strategy for managing high caries risk —A within-person randomized controlled clinical trial. Accepted Manuscript. *J Dent*. 2018; 79: 24-30. doi:10.1016/j.jdent.2018.09.005 2018.
15. Paris S, Meyer-Lueckel H. Infiltrants Inhibit Progression of Natural Caries Lesions in vitro. *Journal of Dental Research*, 2010; 89(11): 1276-1280.
16. Paris S, Lausch J, Selje T, Dörfer C, Meyer-Lueckel H. Comparison of sealant and infiltrant penetration into pit and fissure caries lesions in vitro. *Journal of Dentistry*, 2014; 42: 432-438.
17. Meyer-Lueckel H, Paris S. Progression of artificial enamel caries lesions after infiltration with experimental light curing resins. *Caries Research*, 2008; 42: 117-124.
18. Paris S, Meyer-Lueckel H, Cölfen H, Kielbassa A. Resin infiltration of artificial enamel caries lesions with experimental light curing resins. *Journal of Dental Materials*, 2007; 26(4): 583-588.
19. Meyer-Lueckel H, Paris S. Improved Resin Infiltration of Natural Caries Lesions. *Journal of Dental Research*, 2008; 87(12): 1112-1116.
20. Yonghon L, Lihon G, Huizhen C, Xueqian C. A study on the penetration abilities of natural initial caries lesions with resin infiltration. *West China Journal of Stomatology*, 2012; 30(5): 483-486.
21. Schmidlin P, Sener B, Attin T, Wiegand A. Protection of sound enamel and artificial enamel lesions against demineralisation: Caries infiltrant versus adhesive. *Journal of Dentistry*, 2012; 40: 851-856.
22. Mueller J, Meyer-Lueckel H, Paris S, Hopfenmuller W, Kielbassa A. Inhibition of Lesion Progression by the Penetration of Resins In Vitro: Influence of the Application Procedure- Operative Dentistry, 2006; 31(3): 338-345.

23. Gernhardt C, Bekes K, Schaller. Influence of three different sealants on root dentin demineralization in situ. *Am J Dent*, 2007; 20: 390-393.
24. Anauate-Netto C, Borelli Neto L, Amore R, Di Hipólito V, D'Alpino P. Caries progression in noncavitated fissures after infiltrant application: a 3-year follow-up of a randomized controlled clinical trial. *Journal of Applied Oral Science*, 2017; 25(4): 442-454.
25. Paris S, Meyer-Lueckel H. Inhibition of Caries Progression by Resin Infiltration in situ. *Caries Research*, 2010; 44: 47-54.
26. Donis J. Tipos de diseños de los estudios clínicos y epidemiológicos. *Avances en Biomedicina*, 2013; 2(2): 76-99.
27. Hurtado J. Metodología de la Investigación Holística, 3era ed., Caracas: Fundación Sypal, 2000, p. 613.
28. Lynch R, Ten Cate T. The effect of lesion characteristics at baseline on subsequent de- and remineralisation behavior. *Caries Research*, 2006; 40(86): 530-535.
29. Dorri M, Dunne S, Walsh T, Schwendicke F. Micro-invasive interventions for managing proximal dental decay in primary and permanent teeth (Review)- Cochrane Database of Systematic Reviews. 2015;(11): CD010431. Published 2015 Nov 5. doi:10.1002/14651858.CD010431.pub
30. Lussi A. Clinical Performance of the Laser Fluorescence System DIAGNOdent for Detection of Occlusal Caries- *Acta Med Dent Helv*, 2000; 5:15-19.
31. Markowitz K, Carey K. Assessing the Appearance and Fluorescence of Resin-Infiltrated White Spot Lesions with Caries Detection Devices. *Operative Dentistry*, 2018; 43(1): 10-18.
32. Heintze S. Clinical relevance of tests on bond strength, microleakage and marginal adaptation. *Dental Materials*, 2013; 29: 59-84.
33. Swain M, Xue J. State of the art of micro-CT applications in dental research. *Int J Oral Sci*, 2009; 1: 177-188.
34. Ramírez R, Setién V, Orellana N, García C. Microfiltración en cavidades clase II restauradas con resinas compuestas de baja contracción. *Acta Odontológica Venezolana*, 2009; 47(1): 131-139 .
35. Ramírez R, Setién V. Flexión cuspídea y sellado marginal usando bases de bajo módulo elástico en cavidades MOD. *Acta odontológica venezolana*, 2006; 44 (1): 51-57.
36. Santi Alvarenga F de, Ferrarezi M, Pinelli C, Souza A, Victorino K, Castro L de. Accuracy of digital images in the detection of marginal microleakage: an in vitro study. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 2012; 14: 335- 338.
37. Santi Alvarenga F de, Pinelli C, Souza A, Castro L de. Reliability of marginal microleakage assessment by visual and digital methods. *European Journal of Dentistry*, 2015; 9: 1-5.
38. Paris S, Meyer-Lueckel H, Kielbassa A. Resin Infiltration of Natural Caries Lesions. *Journal of Dental Research*, 2007; 86(7): 662-666.
39. Meyer-Lueckel H, Paris S, Kielbassa A. Surface Layer Erosion of Natural Caries Lesions with Phosphoric and Hydrochloric Acid Gels in Preparation for Resin Infiltration. *Caries Research*, 2007; 41: 223-230.
40. Saffarpour A, Kharazifard R A. Effect of Chlorhexidine Application Protocol on Durability of Marginal Seal of Class V Restorations. *Journal of Dentistry*, 2016; 138 (49): 231-237.
41. Breschi L. Chlorhexidine application to stabilize the adhesive interface: Why and How? *The Journal of Adhesive Dentistry*, p. 492.
42. Garcia M, Carrilho M, Nör J, Anauate-Netto C, Anido-Anido A, Amore R, Tjäderhane L, Bretz W. Chlorhexidine Inhibits the Proteolytic Activity of Root and Coronal Carious Dentin in vitro. *Caries Research*, 2009; 43: 92-96.
43. Hameed H, Babu B, Mohammed V, Chiriyath K, Mathias J, Shaji A. Microleakage in Resin Composite Restoration following Antimicrobial Pre-treatments with 2% Chlorhexidine and Clearfil Protect Bond. *Journal of International Oral Health*, 2015; 7(7): 71-76.
44. Pinheiro S, Pereira D, De Milito F, Villalpando K. Influence of metalloproteinases on dentin hybridization of one-bottle or self-etch dental bonding systems. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 2014; 15(6): 705-711.