

Técnicas in vitro de desmineralización, usadas para formar mancha blanca como lesión de caries inicial: revisión sistemática

ACTUALIZACIÓN

In vitro demineralization techniques used to form white spot as an initial caries lesion: a systematic review

Técnicas de desmineralização in vitro utilizadas para formação de mancha branca como lesão inicial de cárie: uma revisão sistemática

Resumen

Objetivo: El objetivo de esta revisión sistémica fue describir y comparar las técnicas in vitro de desmineralización más usada para la formación de mancha blanca como lesión de caries inicial.

Métodos: El presente estudio está enmarcado en la guía actualizada para la publicación de revisiones sistemáticas PRISMA 2020. Se realizó una búsqueda sistemática de la literatura científica para identificar investigaciones originales que cumplieran con los criterios de elegibilidad, usando el modelo PICO para revisiones sistémicas. Las palabras de búsqueda fueron: caries, lesión de mancha blanca, in vitro y desmineralización. Se incluyeron estudios in vitro con metodología clara y replicable, se excluyeron revisiones sistemáticas, estudio in vivo y aquellas sin suficiente detalle metodológico. Se realizó la búsqueda en LILACS, Pubmed y Web of Science, de artículos publicados durante el año 2024.

Resultados: Fueron 29 los artículos completos incluidos para la revisión sistémica que cumplieron con todos los criterios de elegibilidad. La técnica de desmineralización con soluciones ácidas fue utilizada en el 65,52% de los estudios (20 de los 29 artículos), siendo el ácido acético la solución ácida más común con el 44,83%. La técnica de ciclos de pH fue empleada en el 31,03% de los estudios (9 de 29 artículos), con un predominio del ácido acético en el 27,59% de los casos. El uso de las soluciones ácidas permite una condición controlada de desmineralización, el pH varió entre 4,0 y 5,5 de acidez, con una frecuencia mayor de pH de 4,5; el tiempo de exposición osciló desde 36 horas hasta 22 días, siendo más común el rango de 4 días. El uso de los ciclos de pH simulan condiciones dinámicas de desmineralización y remineralización, similares al medio oral, se alternaron soluciones con pH de 4,4 en la desmineralización y pH de 7,0 para la remineralización; los ciclos tuvieron tiempos de exposición variable, 6 horas para la desmineralización y 18 para la remineralización, repetidos durante 5 a 10 días.

Conclusión: la técnica de la desmineralización con soluciones ácidas es la más utilizada debido a su simplicidad y control experimental. La desmineralización mediante los ciclos de pH ofrece mayor similitud con las condiciones clínicas, pero requieren un protocolo más complejo. Ninguna técnica in vitro presenta una formula estándar aceptada para la formación de mancha blanca como lesión de caries inicial, resaltando la necesidad de establecer lineamientos uniformes en futuros estudios.

AUTORÍA

-  Herbert Cosio Dueñas¹
-  Liceth Lazo Otazú²
-  Deyvi Cabrera Arredondo²
-  Romy Angeles Maslucan¹
-  Lidia Yileng Tay Chu Jon¹

¹ Facultad de Estomatología.
Universidad Peruana Cayetano
Heredia

² Facultad de Medicina Humana.
Departamento Académico
de Odontología, Universidad
Nacional de San Antonio Abad
del Cusco

CORRESPONDENCIA:

Herbert Cosio Dueñas.
Facultad de Estomatología. Universidad Peruana
Cayetano Heredia herbert.cosio@unsaac.edu.pe

Recibido: 02/10/2024
Aceptado: 11/08/2025



Palabras clave: caries en esmalte; lesiones de mancha blanca; in vitro; desmineralización, ácido acético (DeCS).

Abstract

Objective: The objective of this systematic review was to describe and compare the most commonly used in vitro demineralization techniques for the formation of white stain as an initial caries lesion.

Methods: The present study is framed in the updated guide for the publication of systematic reviews PRISMA 2020. A systematic search of the scientific literature was carried out to identify original research that met the eligibility criteria, using the PICO model for systemic reviews. The search words were: caries, white spot lesion, in vitro and demineralization. In vitro studies with clear and replicable methodology were included, systematic reviews, in vivo studies and those without sufficient methodological detail were excluded. The search was carried out in LILACS, Pubmed and Web of Science, for articles published during the year 2024.

Results: There were 29 full articles included for the systemic review that met all eligibility criteria. The demineralization technique with acid solutions was used in 65.52% of the studies (20 of the 29 articles), with acetic acid being the most common acid solution with 44.83%. The pH cycling technique was used in 31.03% of the studies (9 of 29 articles), with a predominance of acetic acid in 27.59% of the cases. The use of acidic solutions allows a controlled condition of demineralization, the pH varied between 4.0 and 5.5 of acids, with a higher frequency of pH of 4.5; Exposure time ranged from 36 hours to 22 days, with the range of 4 days being more common. The use of pH cycles simulate dynamic conditions of demineralization and remineralization, similar to the oral medium, solutions with pH of 4.4 were alternated in demineralization and pH of 7.0 for remineralization; The cycles had variable exposure times, 6 hours for demineralization and 18 for remineralization, repeated for 5 to 10 days.

Conclusion: Demineralization with acid solutions is the most widely used technique due to its simplicity and experimental control. Demineralization using pH cycling offers greater similarity to clinical conditions, but requires a more complex protocol. No in vitro technique presents an accepted standard formula for white spot formation as an initial caries lesion, highlighting the need to establish uniform guidelines in future studies.

Keywords: enamel caries; white spot lesions; in vitro; demineralization, acetic acid (MeSH).

Resumo

Objetivo: O objetivo desta revisão sistemática foi descrever e comparar as técnicas de desmineralização in vitro mais comumente utilizadas para a formação de mancha branca como lesão inicial de cárie.

Métodos: O presente estudo está enquadrado no guia atualizado para publicação de revisões sistemáticas PRISMA 2020. Foi realizada uma busca sistemática na literatura científica para identificar pesquisas originais que atendessem aos critérios de elegibilidade, utilizando o modelo PICO para revisões sistemáticas. As palavras de busca foram: cárie, lesão de mancha branca, in vitro e desmineralização. Foram incluídos estudos in vitro com metodologia clara e replicável, foram excluídas revisões sistemáticas, estudos in vivo e aqueles sem detalhamento metodológico suficiente. A busca foi realizada nas bases LILACS, Pubmed e Web of Science, por artigos publicados durante o ano de 2024.

Resultados: Foram incluídos 29 artigos completos para a revisão sistemática que atenderam a todos os critérios de elegibilidade. A técnica de desmineralização com soluções ácidas foi utilizada em 65,52% dos estudos (20 dos 29 artigos), sendo o ácido acético a solução ácida mais comum com 44,83%. A técnica de ciclagem de pH foi utilizada em 31,03% dos estudos (9 de 29 artigos), com predomínio do ácido acético em 27,59% dos casos. A utilização de soluções ácidas permite uma condição controlada de desmineralização, o pH variou entre 4,0 e 5,5 dos ácidos, com maior frequência de pH de 4,5; O tempo de exposição variou de 36 horas a 22 dias, sendo mais comum o intervalo de 4 dias. A utilização de ciclos de pH simula condições dinâmicas de desmineralização e remineralização, semelhantes ao meio oral, soluções com pH 4,4 foram alternadas na desmineralização e pH 7,0 na remineralização; Os ciclos tiveram tempos de exposição variáveis, 6 horas para desmineralização e 18 para remineralização, repetidos por 5 a 10 dias.

Conclusão: A desmineralização com soluções ácidas é a técnica mais amplamente utilizada devido à sua simplicidade e controle experimental. A desmineralização por ciclagem de pH oferece maior similaridade com as condições clínicas, mas requer um protocolo mais complexo. Nenhuma técnica in vitro apresenta uma fórmula padrão aceita para a formação de manchas brancas como lesão inicial de cárie, destacando a necessidade de estabelecer diretrizes uniformes em estudos futuros.

Palavras-chave: cárie do esmalte; lesões de manchas brancas; in vitro; desmineralização, ácido acético (DeCS).

Introducción

La lesión de mancha blanca como lesión de caries inicial en el esmalte dental, se define como la manifestación inicial de la caries. Cuando aplicamos aire y secamos la superficie del diente, se puede evidenciar como una mancha opaca, señal inequívoca de una lesión activa. El esmalte perdió su brillo, la superficie es porosa y áspera, tomando un aspecto blanco de tiza; dicho aspecto se podría explicar en función a la diferencia del índice de refracción de la hidroxiapatita sana y la afectada.⁽¹⁾

En las superficies lisas del diente se presentan como un cono de base ancha hacia la superficie y un vértice dirigido hacia el límite amelodentinario. A nivel de los puntos y fisuras el inicio es a nivel de las paredes laterales, generando una forma de cono invertido, con la base hacia el límite amelodentinario y el vértice hacia la superficie.⁽²⁾ El esmalte en la superficie presenta mayor composición orgánica, por lo que es más resistente, se estima que es un grosor de 0,1 a 0,2 mm. Por lo que la lesión de mancha blanca como lesión de caries inicial tiene una capa superficial que está relativamente intacta, la desmineralización es incipiente y un volumen poroso mínimo. Es debajo de esta capa superficial que recién se encuentra el cuerpo de la lesión, con un significativo porcentaje de pérdida de mineral y un volumen de poros mayor.⁽³⁾

A nivel bioquímico los microorganismos de la placa microbiana producen ácidos que logran penetrar a través del esmalte, mediante mecanismo de difusión por medio de la matriz porosa. Los ácidos suelen competir con las proteínas y lípidos de la matriz orgánica, generando una disolución de la hidroxiapatita. El ácido más agresivo es el láctico, pero también se producen el fórmico, acético y propiónico, entre otros. Los cuales logran penetrar por los canales de difusión que tiene la matriz orgánica del esmalte. El daño que se produce en los cristales es mediante una disolución selectiva en la superficie de los cristales de hidroxiapatita, generando un ligero grabado superficial por acción de los ácidos, que suelen llegar al pH crítico de 5.5 para la hidroxiapatita.⁽⁴⁾

Para desmineralizar la superficie del esmalte y formar una mancha blanca como lesión de caries inicial in vitro, se utilizan diversas técnicas que simulan las condiciones en la cavidad oral. Estas técnicas se emplean principalmente en investigaciones para estudiar la formación de lesiones de caries en sus estadios iniciales y probar la eficacia de diferentes tratamientos remineralizantes. La técnica más común es el uso de soluciones ácidas, como ácido láctico o ácido acético, para bajar el pH y simular el ambiente ácido que favorece la des-

mineralización del esmalte. Las concentraciones y el tiempo de exposición pueden variar según el protocolo, pero generalmente se utilizan soluciones con pH entre 4.0 y 5.5.^(2,5-7) Otra técnica frecuentemente usada es el ciclo de pH, con esta técnica se simula las fluctuaciones de pH que ocurren en la boca durante el consumo de alimentos y bebidas. Las muestras se sumergen alternativamente en soluciones ácidas y en soluciones neutras o ligeramente alcalinas. Este ciclo de desmineralización y remineralización simula las condiciones de la cavidad oral.⁽⁸⁻¹⁰⁾

Cada una de estas técnicas puede adaptarse y modificarse según los objetivos específicos del estudio, permitiendo investigar diferentes aspectos de la desmineralización y la efectividad de los tratamientos preventivos o terapéuticos. La formación de lesiones de mancha blanca como lesión de caries inicial in vitro es fundamental para simular condiciones reales de caries tempranas y evaluar la efectividad de tratamientos remineralizantes. A pesar de los avances en investigación, no existe una técnica estándar para esta simulación, lo que dificulta la comparación entre estudios y limita la aplicación de los resultados en protocolos clínicos. Por ello, esta revisión sistemática busca analizar las metodologías empleadas, resaltando las más utilizadas y destacando la necesidad de estandarización para garantizar resultados reproducibles y clínicamente relevantes. Por lo que el objetivo de esta revisión sistemática fue describir y comparar la metodología y la técnica de desmineralización con solución ácida y la técnica de ciclo de pH con ácido para la formación de lesiones de mancha blanca como lesión de caries inicial in vitro publicadas durante el año 2024.

Metodología

La búsqueda sistemática de la literatura en el presente trabajo, está de acuerdo con la guía actualizada para la publicación de revisiones sistemáticas y metanálisis PRISMA 2020 (*Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses*), con las pautas se ha permitido identificar, seleccionar, evaluar y sintetizar los estudios incluido en esta publicación.⁽¹¹⁾ Para elaborar la pregunta de investigación: ¿Cuál es la técnica de desmineralización más usada para la formación de mancha blanca in vitro?, se usó el modelo PICO (población, intervención, comparación y resultados) para revisiones sistemáticas.

ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA

Para responder a la pregunta de investigación se realizó la búsqueda en la base de datos LILACS en español y en Pubmed, Web of Science y Scopus en inglés, de artículos publicados de enero del 2024 a Agosto del 2024, periodo corto de búsqueda con la finalidad de asegurar la exhaustividad y permitir un análisis riguroso alineado a la directrices PRISMA. Así mismo, este enfoque de búsqueda tiene el propósito de usar estudios recientes que sean más representativos y útiles para la discusión del estado actual de las metodologías de generación de lesiones de mancha blanca como lesión de caries inicial. Utilizando los términos de búsqueda “caries”, “in vitro” y “desmineralización” (**Tabla 1**).

Tabla 1 Estrategias e Indicadores de búsqueda

Base de datos	Palabras clave:
LILACS	Caries, lesión de mancha blanca, in vitro y desmineralización
PubMed	Caries, white spot lesión, demineralization and in vitro
Web of Science	Caries, white spot lesión, demineralization and in vitro

CRITERIOS DE ELEGIBILIDAD

Todas la publicaciones fueron evaluados por el revisor principal en función a los criterios de inclusión, los cuales fueron: publicaciones que cuente con título, resumen y texto completo, estudios in vitro; artículos originales sobre el uso de soluciones ácidas para la formación de mancha blanca como lesión de caries inicial in vitro, artículos originales sobre técnica de desmineralización mediante ciclos de pH para la formación de mancha blanca como lesión de caries inicial in vitro y principalmente publicaciones de acceso abierto, con el fin de garantizar la transparencia, reproducibilidad y accesibilidad de los datos, lo que facilita su uso por parte de otros investigadores y profesionales sin restricciones económicas o de acceso, promoviendo así una ciencia más inclusiva y colaborativa. Los criterios de exclusión fueron: artículos originales sobre el uso de soluciones de carbohidratos fermentables; artículos originales sobre la exposición prolongada a ácido; artículos originales sobre erosión ácida; artículos originales sobre desmineralización en biofilm; artículos sin texto completo disponibles; cartas al editor y capítulos de libros. Los artículos de revisión sistemática se consideraron exclusivamente para las referencias cruzadas. Los

criterios de elegibilidad fueron elaborados mediante el modelo PICO para revisiones sistémicas (**Tabla 2**).^(12,13)

Tabla 2 Criterios PICO.

P	Población/paciente	Lesiones de mancha blanca como lesión de caries inicial en esmalte dental creadas in vitro.
I	Intervención	Técnicas de desmineralización: uso de soluciones ácidas y ciclos de pH.
C	Comparación	Comparación entre las técnicas de soluciones ácidas y ciclos de pH.
O	Outcome/Resultados	Identificar la composición de las soluciones, los niveles de pH utilizados y el tiempo requerido para generar manchas blancas.

FILTRADO Y SELECCIÓN

Los resultados de la búsqueda se exportaron al programa Zotero y se eliminaron los duplicados. Dos revisores calibrados (CDH y LLO) evaluaron de forma independiente los artículos para identificar los más relevantes. Si los términos de búsqueda aparecían en el título y el resumen del artículo, se seleccionaban para su lectura del texto completo, el cual fue encargado a dos revisores, quienes examinaron en forma independiente los textos completos de los estudios relevantes y seleccionaron los estudios elegibles.

EVALUACIÓN Y VERIFICACIÓN DE LA ELEGIBILIDAD

Los artículos extraídos de todas las bases de datos, que cumplieron con los criterios de elegibilidad se procesaron para la extracción de datos. Los desacuerdos entre los revisores se resolvió mediante discusión, si persistía el desacuerdo se consideraba la participación de un tercer revisor, quien resolvía el conflicto hasta llegar a un consenso.

EXTRACCIÓN DE DATOS

Dos revisores (CDH y LLO) realizaron la extracción de los datos de los artículos completos que reunieron los criterios de elegibilidad, utilizando el programa Excel y los

formularios de extracción de datos previamente diseñados. Se incluyó la metodología usada, la composición de las soluciones usadas en la técnica de desmineralización y la técnica de ciclos de pH, el pH inducido en la técnica de desmineralización y técnica de ciclos de pH y el tipo de ácido usado para la desmineralización.

EVALUACIÓN DE RIESGO DE SESGO

Se utilizó el sistema GRADE (Grading of Recommendation Assessment, Development, and Evaluation)⁽¹⁴⁾ para generar la certeza de la evidencia usada para la desmineralización del esmalte mediante dos técnicas, el uso de diferentes ácidos y los valores de pH crítico. El proceso GRADE para las revisiones sistémicas siguió los siguientes pasos: se formuló la pregunta, se seleccionó los desenlaces, se buscó las evidencias, se elaboraron resúmenes y se evaluó la calidad de la evidencia, mediante una tabla de la evidencia hallada.

Los datos que se usaron para el análisis final fueron: el objetivo de la investigación, muestra, sustancia ácida usada para la técnica de desmineralización o ciclo de pH, el pH crítico usado para la formación de mancha blanca, la temperatura que se usó y el tiempo al que fueron sometidas las muestras para la técnica de desmineralización o ciclos de pH.

Resultados

Después del proceso de búsqueda, identificación, filtrado y selección sugerida por las directrices PRISMA (**Figura 1**). Se identificaron 170 publicaciones en las tres bases de datos, de los cuales 27 fueron duplicados, 31 publicaciones marcadas como inelegibles y 37 de acceso restringido. Quedando 50 publicaciones que fueron filtrados por los criterios de elegibilidad en los títulos y los resúmenes. En el proceso de selección se quedó con 33 artículos completos de los cuales 4 fueron artículos completos cuya parte metodológica fue realizada in vivo y 7 publicaciones fueron excluidos porque no pudieron ser recuperados de las bases de datos. Para finalmente quedarnos 29 artículos completos que fueron incluidos en la evaluación y verificación para la revisión sistemática. Hubo consenso entre los revisores para la inclusión final.

La primera distribución de los resultados se organizó en base a las dos técnicas evaluada, la técnica de desmineralización con soluciones ácidas fue utilizada en el 65.52% de los estudios (20 de 29 artículos), siendo el ácido acético el componente más común con el 44.83%, seguido por el ácido láctico con el 20.69% y el fórmico con el 3.45%. La técnica de ciclos de pH fue empleada

en el 31.03% de los estudios (9 de 29 artículos), con predominio del ácido acético en 27.59% de los casos (**Tabla 3**).

Tabla 3 Técnica y ácido usado para la formación de la mancha blanca como lesión de caries inicial in vitro

Técnica	Ácido usado	N	%
Desmineralización con soluciones ácidas	Acético	13	44,83%
	Láctico	6	20,69%
	Fórmico	1	3,45%
	Total	20	65,52%
Ciclos de pH con ácido	Acético	8	27,59%
	Láctico	1	3.45%
	Fórmico	0	0,00%
	Total	9	31,03%
Total		29	100%

Los parámetros experimentales clave en la concentración de la solución desmineralizante de ácido acético variaron entre 0.05 M y 50 mM, dependiendo del diseño y objetivos del estudio. En la mayoría de los casos, la solución desmineralizante fue complementada con sales como cloruro de calcio y fosfato monopotásico para simular el ambiente iónico del esmalte. El rango de pH utilizado osciló entre 4.4 y 5.5, siendo 4.5 el más común. Este rango se considera óptimo para inducir desmineralización en esmalte sin desintegrar completamente su estructura. En todos los estudios, la temperatura fue de 37°C, replicando las condiciones fisiológicas del cuerpo humano. Los tiempos de desmineralización mostraron una alta variabilidad, el período más corto fue de 16 horas y el más largo alcanzó los 22 días, renovando la solución diariamente, en promedio, se emplearon 4 días para generar lesiones visibles y homogéneas (**Tabla 4**).

Los estudios que utilizaron ácido acético con esta técnica se enfocaron en diversos objetivos, entre los que destacan la evaluación de tratamientos remineralizantes: Por ejemplo, se investigó la efectividad de agentes como nanohidroxiapatita, caseína fosfopéptido, y fluoruro en la remineralización del esmalte desmineralizado o el análisis de materiales odontológicos, evaluando el impacto de las resinas infiltrantes en la

microdureza, color y rugosidad del esmalte tratado. Algunos trabajos usaron ácido acético para crear modelos experimentales que replicaran de manera fiel las condiciones de caries tempranas.

Al hacer un análisis de las semejanzas, se pudo observar que la mayoría de los estudios convergieron en mantener un pH cercano a 4.5 y una temperatura constante de 37°C, lo que refuerza la validez de estos parámetros como estándares para esta técnica. Todos los estudios incluyeron calcio y fosfato en sus soluciones,

elementos esenciales para replicar el medio oral y generar lesiones controladas. En cuanto a las diferencias, el tiempo de exposición varió ampliamente, desde horas hasta semanas, lo que refleja la falta de un protocolo estandarizado. Aunque el ácido acético fue el más utilizado, las diferencias en su concentración podrían influir en la reproducibilidad de los resultados.

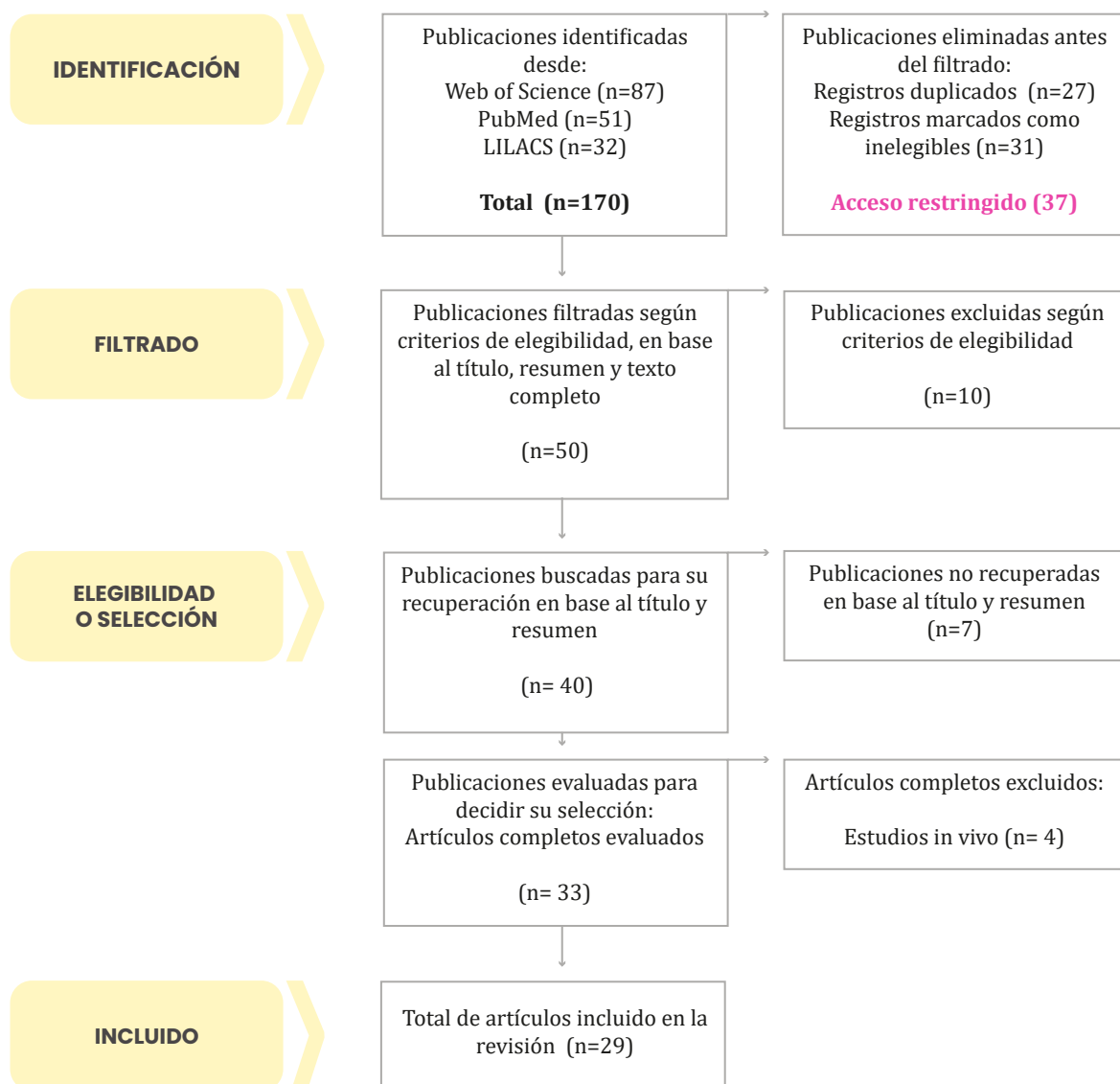


Figura 1 Diagrama de flujo PRISMA, esquematiza el proceso de búsqueda, identificación y selección de las publicaciones a través de las bases de datos y registros, para la revisión sistemática

Tabla 4

Técnica de uso de solución ácida o desmineralización con ácido acético (CH_3COOH) para la formación de mancha blanca como lesión de caries inicial in vitro

N	Motivo u objetivo de la investigación	Muestra	Insumos desmineralización	pH	Temperatura	Tiempo
1	Evaluar los cambios de las lesiones de manchas blancas tratadas con infiltración de resina. ⁽⁶⁾	56	• 2,2 mM de Cloruro de calcio • 2,2 mM de fosfato monopotásico • 0,05 M de ácido acético	4,4	37°C	4 días
2	Comparar la composición del esmalte a nivel de fosfato de calcio amorfo con fluoruro y nanohidroxiapatita biomimética para la remineralización del esmalte. ⁽¹⁵⁾	96	• 2,2 mM/L cloruro de calcio • 2,2 mM/L de fosfato monosódico • 50 mM/L ácido acético	4,5	No menciona	4 días, renovado todos los días
3	Evaluar in vitro el efecto de protocolos y agentes anticaries que contienen caseína fluoruro de calcio amorfo fosfopéptido-fosfato, trimetafosfato de sodio y fluoruro, en la remineralización de las lesiones de caries. ⁽¹⁶⁾	60	• 1,3 mM de cloruro de calcio • 0,78 mM fosfato monopotásico • 50 mM de Ácido acético	5,0	37	16 horas
4	Determinar la efectividad de la resina infiltrada o infiltrante sobre la rugosidad y la dureza. ⁽²⁾	80	• 2,2 mmol/L de Nitrato de calcio • 2,2 mmol/L de Fosfato monopotásico • 50 mmol ácido acético	4,5	37 °C	72 horas renovado 24 horas
5	Evaluar la remineralización biomimética del esmalte que utilizan un análogo biomimético para interactuar y absorber iones de calcio y fosfato biodisponibles e inducir la nucleación de cristales en el esmalte desmineralizado. ⁽¹⁷⁾	45	• 50 mM ácido acético • 2,2 mM de Nitrato de calcio • 2,2 mM de fosfato monopotásico • 5,0 mM Azida de sodio • 0,5 ppm de Fluoruro de sodio	4,5	37°C	3 días
6	Evaluar el efecto del blanqueamiento después de la infiltración de resina con respecto a la rugosidad de la superficie. ⁽⁵⁾	25	• 0,3 g/L de Cloruro de calcio • 0,4 g/L de dihidrogenofosfato de potasio • 2 ml/L Ácido metilendifosfónico • 3 ml/L Ácido acético • 5 ml/L Hidróxido de potasio	4,95	37°C	5 días

7	Evaluar la idoneidad de la espectrometría de masas de iones secundarios de tiempo de vuelo de alta resolución para visualizar los cambios transversales en la microestructura y la composición química del esmalte humano durante el tratamiento y el ciclo de remineralización de lesiones de caries. ⁽¹⁸⁾	50	• 2 mM Fosfato monosódico monohidrato • 2 mM Cloruro de calcio dihidratado • 75 mM Ácido acético glacial • Carbopol 907	4,3	37°C	36 horas
8	Evaluar la liberación de iones de flúor, calcio y fosfato del composite Predicta® Bioactive Bulk-fill en comparación con EQUIA Forte® y Filtek™ Z350. ⁽¹⁹⁾	39	• 2,0 mmol/L de Nitrato de calcio dihidratado • 2,0 mmol/L de fosfato monopotásico • 75 mmol de ácido acético	4,4	37	48 horas
9	Comparar el potencial remineralizante del extracto de Moringa Oleifera, cáscara de huevo y barniz de fluoruro de sodio sobre la microdureza del esmalte desmineralizado artificialmente. ⁽²⁰⁾	44	• 50 mM de ácido acético • 2,2 mM de Nitrato de calcio dihidratado • 2,2 mM de fosfato monopotásico • 0,1 ppm de fluoruro de sodio	4,8	37°C	96 horas
10	Evaluar el potencial de diferentes barnices fluorados para inhibir la progresión de lesiones de caries incipientes después del desafío cariogénico. ⁽²¹⁾	75	• 0,05 M Ácido acético • 1,28 mM Nitrato de calcio • 0,74 mM Fosfato monopotásico • 0,03 mM de Fluoruro de sodio	5,0	37°C	48 horas
11	Evaluar y comparar la eficacia de la remineralización con pasta de linaza y pasta de cáscara de huevo de gallina con la de la pasta dental con flúor estándar en dientes primarios. ⁽²²⁾	40	• 0,4723 g de nitrato de calcio, • 0,2722 g de dihidrogenofosfato de potasio • 4,5083 g de ácido acético	4 y 4,5	37°C	96 horas
12	Evaluar el efecto de la infiltración de lesiones artificiales del esmalte con un Coarcervados de calcio y sus componentes individuales, incluido el ácido poliacrílico. ⁽²³⁾	90	• 50 mM de ácido acético, • 3 mM de cloruro de calcio dihidratado • 3 mM de fosfato monopotásico • 6 µL de metil-hidroxi-difosfonato	4,95	37°C	22 días
13	Evaluar el efecto sinérgico de la nanohidroxiapatita derivada de la cáscara de huevo y el carboximetil-quitosano en la remineralización. ⁽²⁴⁾	64	• 2mM de cloruro de calcio dihidrato. • 0,0476 mM de fluoruro de sodio. • 2,2 mM de dihidrógenofosfato de potasio. • 50 mM de ácido acético. • 10 mM de hidróxido de potasio	5,5	No menciona	72 horas

La técnica de ciclos de pH con ácido acético para generar manchas blancas in vitro, alternar entre fases de desmineralización y remineralización, busca imitar las condiciones dinámicas de la cavidad oral, permitiendo una evaluación más realista de los efectos de los tratamientos remineralizantes. De los 9 estudios que emplearon ciclos de pH, 8 utilizaron ácido acético, lo que representa el 27.59% de los estudios totales revisados (Tabla 5). La composición de las soluciones en la fase de desmineralización, en todos los estudios se utilizó una solución con ácido acético en combinación con sales de calcio y fosfato (cloruro de calcio y fosfato monopotásico) para simular el ambiente iónico del esmalte dental. La concentración típica del ácido fue de 0.05 M. La fase de remineralización, incluyó soluciones con pH neutro o ligeramente alcalino (pH 7.0), compuestas por cloruro de potasio, calcio y fosfato sódico, elementos clave para favorecer la remineralización del esmalte. El pH desmineralizante fue consistentemente de 4.4, adecuado para inducir pérdida mineral en la hidroxiapatita, el pH remineralizante fue de 7.0, simulando un entorno oral neutro.

Cada ciclo consistió en dos fases, la primera de desmineralización, con una duración de 6 a 8 horas, representando episodios de exposición a ácidos en la cavidad oral y la segunda de remineralización con una duración de 16 a 20 horas, simulando la acción de la saliva y el

tiempo entre comidas. La duración total de los experimentos osciló entre 5 y 10 días, con ciclos repetitivos. La temperatura se mantuvo constante en 37°C para replicar las condiciones fisiológicas del medio oral.

Los estudios que utilizaron ciclos de pH con ácido acético tuvieron objetivos diversos, incluyendo la evaluación de dentífricos y barnices, para analizar el efecto de agentes remineralizantes como pastas dentales con fosfato tricálcico funcionalizado y barnices de ácido gálico. También en estudios de color y rugosidad, algunos trabajos se enfocaron en cómo los ciclos de pH afectan las propiedades estéticas y físicas del esmalte tratado. Todos los estudios usaron un rango de pH consistente para desmineralización (4.4) y remineralización (7.0). Las soluciones remineralizantes incluyeron componentes similares, como calcio, potasio y fosfato, asegurando cierta uniformidad experimental. Se mantuvo una temperatura estándar de 37°C en todos los casos. Algunos estudios realizaron ciclos durante 5 días, mientras que otros extendieron el período hasta 10 días, dependiendo de los objetivos de investigación. Aunque el ácido acético fue consistente, la variación en las concentraciones de sales minerales en las soluciones remineralizantes pudo influir en los resultados.

Tabla 5

Técnica de ciclos de pH con ácido acético (CH_3COOH) para la formación de mancha blanca como lesión de caries inicial in vitro

N	Motivo u objetivo de la investigación	Muestra	Insumos desmineralización	Insumos remineralización	pH	Tempe	Tiempo
1	Evaluar el potencial de remineralización de los dentífricos de fosfosilicato de sodio y calcio y fosfato tricálcico funcionalizado. ⁽⁸⁾	32	2,2 mM de cloruro de calcio 2,2 mM de Fosfato monopotásico 0,05 M de ácido acético	1,5 mM de cloruro de calcio 0,9 mM de fosfato sódico 0,15 M de cloruro de potasio	4,4 / 7,0	37 °C	10 días 2 h desmineralización 20 h remineralización
2	Comparar la eficacia del pretratamiento con nanopartículas de quitosano con cuatro agentes remineralizantes diferentes en lesiones de manchas blancas artificiales. ⁽²⁵⁾	100	2,2 mM fosfato de potasio. 2,2 mM cloruro de calcio. 0,05 M ácido acético.	0,9 mM fosfato de sodio. 1,5 mM cloruro de calcio. 0,15 M cloruro de potasio.	4,4 / 7,0	No menciona	96 horas

3	Evaluar el efecto de la técnica de infiltración de resina y remineralización de caries de esmalte inducidas con solución de flúor sobre el enmascaramiento del color de las lesiones de manchas blancas y la rugosidad de la superficie. ⁽²⁶⁾	90	• 2,2 mM de cloruro de calcio, • 2,2 mM de fosfato monosódico • 0,05 M de ácido acético	• 1,5 mM de cloruro de calcio • 0,9 mM de fosfato monosódico • 0,15 M de cloruro de potasio.	4,4 / 7,0	No menciona	7 días
4	Evaluar la eficacia remineralizante del extracto de coco liofilizado y de la leche de coco elaborada a partir de coco recién rallado. ⁽²⁷⁾	35	• Cloruro de calcio. • Ácido acético. • Fosfato monobásico de potasio.	• Ortofosfato de dipotasio hidrogenado • Cloruro de potasio • Cloruro de calcio	4,4 / 7,0	No menciona	72 horas desmineralización y 14 días de remineralización.
5	Evaluar la eficacia de un barniz de ácido gálico remineralizante formulado para tratar lesiones de caries en esmalte artificial. ⁽²⁸⁾	55	• 2,2 mmol/L de cloruro de calcio • 2,2 mmol/L de fosfato sódico • 50 mmol/L de ácido acético • 0,2 mmol/L de benzoato de sodio	• 1 mmol/L de cloruro de calcio • 3 mmol/L fosfato sódico , • 100 mmol/L de cloruro de sodio • 0,1 ppm de fluoruro de sodio • 0,2% de benzoato de sodio	4,5 / 6,5	No menciona	6 días 6 h desmineralización 18 h remineralización
6	Evaluar la influencia de diferentes protocolos de pretratamiento con fluoruro de plata de lesiones cariosas artificiales en la interfaz adhesiva de restauraciones de resina compuesta. ⁽⁹⁾	64	• 2,2 mm cloruro de calcio , • 2,2 mm hipofosfito de sodio NaH₂PO₂ , • 50 mm ácido acético	• 1,5 mm cloruro de calcio , • 0,9 mm fosfato sódico • 0,15 mm Kcal	4,8 / 7,0	No menciona	14 días 8 h desmineralización 16 h remineralización
7	Establecer el desarrollo de biomiméticos de remineralización utilizando moléculas de péptidos orgánicos se asemeje al proceso de mineralización de la hidroxiapatita (HA) en el esmalte dental. ⁽²⁹⁾	50	• 2 mM cloruro de calcio dihidratado, • 2 mM fosfato monopotásico • 50 mM acetato de sodio y • 0,879 mL de ácido acético	• 1,2 mM cloruro de calcio dihidratado • 0,72 mM fosfato dipotásico, • 16 mM cloruro de potasio, • 0,2 mM cloruro de magnesio hexahidratado • 50 mM HEPES • 4,5 mM cloruro de amonio	4,6 / 7,2	37 °C	7 días 3 h desmineralización 20 h remineralización
8	Evaluar in vitro los efectos de la combinación de FT y MW, suplementados con trimetafosfato de sodio (TMP) o no, sobre la desmineralización del esmalte dental. ⁽¹⁰⁾	50	• 2,0 mmol L fosfato de calcio • 0,075 mol L ácido acético • 0,04 µg fluor	• 1,5 mmol L cloruro de calcio • 0,9 mmol L fosfato dipotásico • 0,15 mol L cloruro de potasio • 0,02 mol L cacodilato de sodio - 1 , • 0,05 µg/mL de fluor F	4,7 / 7,0	37°C	5 días 6 h desmineralización 18 h de remineralización

Los estudios que emplearon ácido láctico como agente desmineralizante para generar manchas blancas en esmalte dental in vitro. Esta técnica, aunque menos frecuente que el uso de ácido acético, destaca por su capacidad de simular entornos ácidos presentes en la cavidad oral, como los generados por bacterias cariogénicas. De los estudios incluidos en la revisión sistemática, 6 emplearon ácido láctico como solución desmineralizante, lo que representa el 20.69% de los estudios que usaron desmineralización con soluciones ácidas y el 20.69% de los estudios totales revisados (**Tabla 6**). Este porcentaje lo posiciona como el segundo ácido más utilizado en esta técnica, detrás del ácido acético, debido a su naturaleza biológica y capacidad para inducir desmineralización de manera controlada.

El ácido láctico se usó en concentraciones entre 0.05 M y 0.1 M, a menudo combinado con otras sustancias como cloruro de calcio, fosfato monopotásico o agentes espesantes como hidroxietilcelulosa. El pH de las soluciones de ácido láctico osciló entre 4.5 y 5.0, niveles que son óptimos para inducir desmineralización sin causar un daño irreversible en la estructura del esmalte. Este rango está cercano al pH crítico para la hidroxiapatita, lo que asegura la efectividad del proceso de desmineralización. Los períodos de desmineralización variaron considerablemente, desde 33 horas hasta 28 días, dependiendo de los objetivos del estudio. Los tiempos de exposición más comunes fueron de 10 días, con reno-

vaciones periódicas de la solución desmineralizante. En todos los estudios, la temperatura fue de 37°C, lo que asegura condiciones similares a las del cuerpo humano.

Todos los estudios utilizaron pH entre 4.5 y 5.0, garantizando que el esmalte alcanzara niveles óptimos de desmineralización. Los experimentos mantuvieron uniformemente la temperatura de 37°C, un estándar común en estudios in vitro. La inclusión de cloruro de calcio y fosfato en las soluciones desmineralizantes replicó el ambiente mineralizado del esmalte. Algunos estudios utilizaron tiempos cortos (33 horas), mientras que otros extendieron el proceso hasta 28 días, mostrando variabilidad en los protocolos según los objetivos. Aunque el ácido láctico fue consistente, la variabilidad en sus concentraciones refleja una falta de estandarización en su aplicación.

El ácido láctico es producido naturalmente por bacterias cariogénicas, lo que lo convierte en un agente desmineralizante más representativo de las condiciones clínicas reales. Las soluciones de ácido láctico permiten formar lesiones uniformes, facilitando la evaluación de tratamientos. Su capacidad para mantener un pH estable facilita el control experimental y la repetibilidad de los resultados. Los tiempos y concentraciones de ácido varían ampliamente entre estudios, dificultando la comparación directa de resultados. Aunque es biológicamente relevante, el ácido láctico es menos utilizado, limitando la cantidad de datos disponibles para análisis.

Tabla 6

Técnica de uso de solución ácida o desmineralización con ácido láctico para la formación de mancha blanca como lesión de caries inicial in vitro

N	Motivo u objetivo de la investigación	Muestra	Insumos desmineralización	pH	Temp	Tiempo
1	Evaluar la microdureza y la rugosidad superficial de la superficie del esmalte humano tratada con infiltración de resina. ⁽⁷⁾	80	5 % de metilcelulosa 0,1 M ácido láctico.	4,6	37°C	10 días
2	Determinar la efectividad de la resina adhesiva universal enriquecida con nanohidroxiapatita sobre el color y la dureza. ⁽³⁰⁾	80	6% de gel de hidroxietilcelulosa. 0,05 M Ácido láctico.	4,95 / 5,0	37 °C	10 días con 3 renovaciones
3	Evaluar el impacto del tratamiento de infiltración de resina sobre la estabilidad del color del esmalte y la rugosidad de la superficie. ⁽³¹⁾	47	35 g/250 ml. de gel de hidroxietilcelulosa 0,1 M Ácido láctico	4,5	Ambiente	9 días
4	Evaluar el efecto combinado de la pasta de dientes Biomin F y el láser de diodo en la remineralización de las lesiones de manchas blancas. ⁽³²⁾	30	2,2 mM de Cloruro de calcio. 2,2 mM de Fosfato de sodio monobásico. 0,05 M de ácido láctico. 0,2 ppm de flúor.	4,5	37°C	96 horas

5	Evaluar el rendimiento de un nuevo dentífrico con flúor que contiene celulosa microfibrilada y sílice atrapada. ⁽³³⁾	118	• 0,1 M de ácido láctico • 0,2 % de Carbopol C907 • 50 % de hidroxiapatita	5,0	No menciona	33 horas
6	Desarrollar un nuevo modelo in vitro para la formación de lesiones cariosas no cavitadas que reflejan la actividad de la lesión cariosa. ⁽³⁴⁾	44	• 0,1 M de ácido láctico • 1 % de Carbopol • 50 % de hidroxiapatita	4,8	37°C	28 días reemplazo de cada 4 días

Se presentó un artículo que se basa en ciclos de pH utilizando ácido láctico, con el propósito de simular la formación de lesiones iniciales de caries de una manera más cercana a las condiciones reales de la cavidad bucal (**Tabla 7**).

Tabla 7

Técnica de ciclos de pH con ácido láctico para la formación de mancha blanca como lesión de caries inicial in vitro

N	Motivo u objetivo de la investigación	Muestra	Insumos desmineralización	Insumos remineralización	pH	Temp	Tiempo
1	Evaluar la profundidad de penetración del infiltrado de resina Icon, mediante análisis de microscopio láser de barrido. ⁽³⁵⁾	22	12 mM de cloruro de calcio 10 mM de fosfato monopotásico 100 mM de cloruro de sodio 50 mM de ácido láctico	1,5 mM de cloruro de calcio 5 mM de fosfato monopotásico) 100 mM de cloruro de sodio	4,5 / 6,5	37 °C	14 días 6 h desmineralización 18 h remineralización

Por otro lado, en un artículo se describe una técnica más agresiva y directa, mediante la utilización de ácido fórmico al 5%. El proceso consiste en una desmineralización continua y sostenida (**Tabla 8**).

Tabla 8

Técnica de uso de solución ácida o desmineralización con ácido fórmico para la formación de mancha blanca como lesión de caries inicial in vitro

N	Motivo u objetivo de la investigación	Muestra	Insumos desmineralización	pH	Temp	Tiempo
1	Evaluar el diagnóstico de lesiones cariosas proximales a través de diferentes parámetros de ejecución y visualización de las imágenes. ⁽³⁶⁾	52	Ácido fórmico al 5%	No menciona	37 °C	10 h 20 h 30 h

Discusión

El presente trabajo de revisión sistemática hace una evaluación y comparación de las técnicas de desmineralización ácida y ciclos de pH, con diferentes ácidos. La selección de las técnicas de desmineralización con soluciones ácidas y ciclos de pH como únicas metodologías para la formación de manchas blancas *in vitro* responde a razones científicas, metodológicas y prácticas, que las posicionan como las más relevantes para cumplir con los objetivos de esta revisión.

Ambas técnicas se utilizan ampliamente porque permiten reproducir de manera controlada las condiciones que inducen la desmineralización del esmalte, un proceso clave en la formación de lesiones de mancha blanca como lesión de caries inicial. La técnica de soluciones ácidas simula el daño provocado por un ambiente ácido constante, mientras que los ciclos de pH representan de forma más dinámica los cambios en el entorno oral, incluyendo episodios de desmineralización y remineralización. Así mismo, estas técnicas son las más frecuentemente empleadas y documentadas en la literatura científica, estudios previos han demostrado que tanto las soluciones ácidas como los ciclos de pH son altamente efectivas para generar lesiones reproducibles y uniformes, lo que permite evaluar diferentes tratamientos remineralizantes de manera consistente. De los 20 estudios que utilizaron la técnica de desmineralización con soluciones ácidas, 13 emplearon ácido acético, lo que representa el 44.83% de los artículos revisados. Este resultado posiciona al ácido acético como el compuesto más utilizado en esta técnica debido a su capacidad para generar un pH crítico para la hidroxiapatita, su facilidad de manejo, estabilidad química y reproducibilidad experimental.^(6,15,16,17)

Se describió y comparó metodologías utilizadas para la formación de manchas blancas *in vitro*, centrándose en técnicas ampliamente reconocidas y prácticas. La exclusión de otras técnicas menos comunes, se justifica porque no están orientadas específicamente a la formación de manchas blancas o presentan mayor complejidad y variabilidad. La desmineralización con soluciones ácidas permite evaluar la respuesta del esmalte a ambientes ácidos prolongados, como los asociados con una dieta rica en azúcares. Los ciclos de pH replican las fluctuaciones fisiológicas en el medio oral, lo que las hace útiles para investigar la efectividad de terapias preventivas y remineralizantes en condiciones cercanas a las reales.

Ambas técnicas son metodológicamente claras, reproducibles y más accesibles en comparación con otras técnicas, lo que facilita su implementación y la comparación de resultados entre diferentes investigaciones.

Además, la simplicidad en el diseño experimental permite un mayor control de variables, reduciendo el riesgo de sesgos y mejorando la validez interna de los estudios. Estas técnicas son utilizadas con frecuencia en investigaciones, pero aún carecen de un protocolo uniforme. Incluir ambas en la revisión permite resaltar las similitudes y diferencias entre ellas, subrayando la necesidad de estandarización para optimizar su uso en investigaciones futuras.

En cuanto al uso de la técnica de la solución ácida o desmineralización con ácido acético, fueron diferentes los motivos por los cuales se generó la lesión de mancha blanca como lesión de caries inicial *in vitro*, siendo el motivo principal la efectividad de la resina infiltrada en el tratamiento de la lesión de mancha blanca.^(2,5,6,23) El pH de la solución desmineralizante tuvo valores desde 4,4 y valores máximos de 5,5 de acidez, el valor más frecuente fue el de 4,5. Casi todos los procesos de desmineralización se hicieron a una temperatura de 37°C. Con respecto al tiempo hubo procedimientos que sometieron las muestras 36 horas, la mayoría usó 4 días de descalcificación y un estudio utilizó 22 días de desmineralización (**Tabla 4**).

Se podría plantear que el uso del ácido acético tiene la ventaja de permitir la formación de lesiones de mancha blanca como lesión de caries inicial, las cuales son reproducibles y uniformes, ideales para evaluar tratamientos. El protocolo es sencillo y requiere menos recursos en comparación con técnicas más dinámicas como los ciclos de pH. Una limitación apreciada con el uso del ácido acético es la falta de dinamismo, es decir no reproduce las fluctuaciones de pH presentes en la cavidad oral, limitando la aplicabilidad clínica directa de los resultados.^(17,19,21)

El uso de ácido acético para formar manchas blancas *in vitro* ha sido ampliamente validado como un modelo experimental efectivo. Sin embargo, los resultados subrayan la necesidad de estandarización de protocolos, es decir unificar los parámetros de pH, tiempo y composición para mejorar la comparabilidad entre estudios. Este análisis muestra cómo los estudios que emplearon ácido acético lograron avances significativos en la comprensión de la desmineralización dental. Sin embargo, destaca la necesidad de mejorar la consistencia metodológica para maximizar la utilidad de esta técnica en la investigación odontológica.^(6,16,19,21)

La técnica de ciclos de pH con ácido acético se realizó en la mayoría de los casos con la finalidad de observar el proceso de remineralización de la superficie usando pastas dentales con diferentes principios activos, evaluado el color, la dureza y la rugosidad de la superficie, después de la generación de la lesión de mancha blanca.^(8,25) El proceso se realizó sometiendo a las muestras

un ciclo de desmineralización durante 2 a 8 horas, en la mayoría de los preparados se usó un pH de 4,4 para luego aplicar la solución remineralizante durante 20 a 16 horas con un pH de 7,0, casi todas las metodologías usaron temperatura de 37°C durante 5 o 10 días (**Tabla 5**).

Se presume que las ventajas de los ciclos de pH, le dan realismo clínico, tratando de simular las condiciones dinámicas de la cavidad oral, proporcionando un modelo más representativo del comportamiento del esmalte frente a fluctuaciones de pH. Así mismo, se permite analizar tanto la desmineralización como la remineralización, lo que es esencial para evaluar la efectividad de tratamientos preventivos y terapéuticos. Una limitación del uso de los ciclos de pH es la complejidad experimental, que requiere un diseño y manejo más detallado, lo que aumenta el riesgo de variabilidad entre experimentos. Así mismo, la variabilidad en los tiempos y composición de las soluciones dificulta la comparación directa entre estudios. Los ciclos de pH son ideales para evaluar terapias remineralizantes bajo condiciones que imitan las fluctuaciones de pH en la boca, como las causadas por comidas y bebidas. Esto los convierte en una herramienta valiosa para desarrollar productos como pastas dentales, barnices y tratamientos preventivos. La técnica proporciona datos robustos y clínicamente relevantes, pero su implementación requiere esfuerzos de estandarización para mejorar la reproducibilidad y facilitar su adopción en estudios futuros. ^(8,25,26,28)

Se subraya la importancia de definir parámetros uniformes para la duración de los ciclos, composición de las soluciones y criterios de evaluación, lo que permitiría comparar resultados entre estudios y optimizar su aplicabilidad en el desarrollo de tratamientos. Este análisis muestra cómo los ciclos de pH con ácido acético ofrecen una metodología avanzada y representativa, aunque más compleja, para estudiar la dinámica de la desmineralización y remineralización del esmalte. ^(8,10,26,28)

La técnica de desmineralización con ácido láctico uso diferentes concentraciones con niveles de pH de 4,5 hasta 5,0 en la mayoría de los casos a temperatura de 37°C durante un tiempo que tuvo valores mínimos de 33 horas, hasta 28 días de desmineralización para la creación de la lesión de mancha blanca como lesión de caries inicial in vitro (**Tabla 6**). El objetivo de investigación más frecuente fue el evaluar el tratamiento con infiltración de resinas de lesiones de mancha blanca. ^(7,30,31)

El ácido láctico ofrece un modelo experimental relevante para analizar el desarrollo de lesiones cariosas iniciales y la efectividad de tratamientos remineralizantes. Este enfoque podría ser particularmente útil para investigar materiales biomiméticos diseñados para interactuar con condiciones cariogénicas reales. Aunque

menos utilizado que el ácido acético, el ácido láctico proporciona un enfoque complementario que mejora la comprensión de los procesos de desmineralización y sus interacciones con tratamientos terapéuticos. Sin embargo, su implementación requiere una mayor estandarización para facilitar la reproducibilidad y comparación entre estudios. ^(7,30,31)

Se enfatiza la importancia de definir parámetros uniformes para concentraciones, pH y tiempos de exposición, con el fin de optimizar su uso en la investigación odontológica y garantizar la validez de los resultados. La técnica de desmineralización con ácido láctico es un método biológicamente relevante y efectivo para formar manchas blancas in vitro, aunque menos utilizado que el ácido acético. A pesar de su potencial, la alta variabilidad metodológica y la falta de estandarización limitan su comparabilidad y aplicabilidad general. Este análisis resalta la importancia de incluir esta técnica en futuros estudios, especialmente para evaluar tratamientos bajo condiciones cariogénicas realistas. ^(7,30,32,34)

La técnica de ciclos de pH con ácido láctico se encontró un solo artículo con la finalidad de evaluar la capacidad de infiltración de una resina para el tratamiento de lesiones de mancha blanca. El pH desmineralizante fue de 4,5 aplicado durante 6 horas y el pH remineralizante fue de 6,5 aplicado por 18 horas, ciclos repetidos durante 14 días (**Tabla 7**). ⁽³⁵⁾ Se encontró un solo artículo donde se usó la técnica de desmineralización con el ácido fórmico con la finalidad de evaluar lesiones cariosas por visualización de imágenes. El pH de este ácido es de 3,75 y fue usado a diferentes tiempos (**Tabla 8**). ⁽³⁶⁾

Las limitaciones más importantes de este trabajo de revisión sistemática fue la diversidad de usos metodológicos que tuvo la creación de lesiones de mancha blanca como lesión de caries inicial in vitro, haciendo difícil una estandarización de la metodología usada según cada tipo de técnica.

La formación de manchas blancas como principio de caries in vitro es una herramienta crucial para estudiar las etapas tempranas de la caries dental y evaluar la eficacia de tratamientos remineralizantes. Los resultados de esta revisión subrayan la necesidad de avanzar hacia protocolos unificados que garanticen la comparabilidad entre estudios y, a la vez, brinden resultados relevantes para la práctica clínica. La estandarización permitiría identificar con mayor precisión qué tratamientos son más efectivos y en qué condiciones específicas deberían ser aplicados. A partir de esta revisión, se sugiere desarrollar lineamientos internacionales para la simulación in vitro de manchas blancas. Estos lineamientos podrían incluir: composición uniforme de las soluciones desmineralizantes y remineralizantes, niveles de pH predefinidos para cada técnica (por ejemplo, pH crítico

de 4.5 para desmineralización y pH 7.0 para remineralización en ciclos de pH), tiempos de exposición estándar (por ejemplo, ciclos de 6 horas de desmineralización y 18 horas de remineralización para técnicas dinámicas), temperaturas controladas (37°C como estándar para simular condiciones bucales), criterios claros para evaluar el éxito de la simulación, como cambios en microdureza, rugosidad superficial o color del esmalte.

Es imprescindible realizar investigaciones que comparen de manera directa estas técnicas bajo condiciones controladas, evaluando su reproducibilidad y aplicabilidad clínica. Además, se recomienda explorar la integración de nuevas tecnologías, como análisis por

espectrometría de masas y microscopía avanzada, para mejorar la caracterización de las lesiones de mancha blanca como lesión de caries inicial y los efectos de los tratamientos.

En general, esta revisión sistemática destaca la falta de estandarización en los métodos actuales y la necesidad urgente de protocolos unificados para la formación de manchas blancas in vitro. Esta estandarización no solo optimizará la investigación académica, sino que también mejorará el desarrollo y validación de tratamientos preventivos y terapéuticos para las caries dentales.

Conclusiones

La técnica de desmineralización con soluciones ácidas, particularmente con ácido acético, se identificó como la más utilizada para la formación de manchas blancas in vitro. Sin embargo, existe una notable falta de uniformidad en la composición de las soluciones, niveles de pH y tiempos de exposición, lo que refleja la carencia de un protocolo estandarizado. Esta variabilidad metodológica puede comprometer la reproducibilidad de los resultados y su extrapolación al contexto clínico.

La técnica de ciclos de pH, destaca por su capacidad para simular condiciones dinámicas de desmineralización y remineralización, representando un modelo más cercano a las fluctuaciones del medio oral real. Este enfoque es especialmente útil para evaluar la efectividad de agentes remineralizantes y terapias preventivas. Sin embargo, su implementación es más compleja y también carece de estandarización en cuanto a tiempos de inmersión, pH y composición de las soluciones.

No se encontró una fórmula estándar para las soluciones desmineralizantes ni remineralizantes, y los tiempos de exposición variaron ampliamente, desde horas hasta semanas. Estas inconsistencias dificultan establecer protocolos de referencia que puedan ser utilizados de manera uniforme en estudios futuros.

Finalmente, el análisis identificó que tanto las técnicas de desmineralización con soluciones ácidas como los ciclos de pH presentan limitaciones significativas en términos de estandarización, lo que dificulta la comparación entre estudios.

REFERENCIAS

1. Mohammad AA, Naif AA, Khalid AA, Naif MA, Yazeed JA. Effect of topical fluoride application and diode laser-irradiation on white spot lesions of human enamel. *Saudi Dental Journal*. 2021;33:937-43. DOI: 10.1016/j.sdentj.2021.08.007
2. Meng Q, Wang Y, He J, Chen L, Meng J, Lyons K, et al. El efecto del uso combinado de infiltración de resina con diferentes enfoques basados en fosfato de calcio bioactivo sobre las lesiones de mancha blanca del esmalte: *un in vitro* estudio. *Journal of Dentistry*. 2024;143:104909. DOI: 10.1016/j.jdent.2024.104909
3. Granda WO, Quezada M del C. Evaluación de la microdureza del esmalte afectado por caries incipiente y tratados por dos tipos de barnices fluorados: Estudio in vitro. *Odontología (Ecuador)*. 2017;19(2):40-52. DOI: <http://fi-admin.bvsalud.org/document/view/g7kjq>
4. Ali A, Ismail H, Amin K. Effect of nanosilver mouthwash on prevention of white spot lesions in patients undergoing fixed orthodontic treatment - a randomized double-blind clinical trial. *Journal of Dental Sciences*. 1 de enero de 2022;17(1):249-55. DOI: 10.1016/j.jds.2021.03.016
5. Sinanovic AL, Messer-Hannemann P, Samadi M, Schwendicke F, Effenberger S. Effect of Bleaching on Resin-Infiltration-Masked Artificial White Spots In Vitro. *J Funct Biomater*. 13 de mayo de 2024;15(5):125. DOI: 10.3390/jfb15050125
6. Predapramote V, Tantilertanant Y, Srisawasdi S. Evaluation of resin infiltration for inhibiting initial caries progression: An in vitro study using Micro-Computed Tomographic analysis. *Saudi Dent J*. 2024;36(5):745-50. DOI: 10.1016/j.sdentj.2024.03.003
7. Alsafi AM, Taher NM. Microhardness and surface roughness of resin infiltrated bleached enamel surface using atomic force microscopy: An in vitro study. *Saudi Dent J*. 2023;35(6):692-8. DOI: 10.1016/j.sdentj.2023.07.001
8. Aziz S, Loch C, Li KC, Anthonappa R, Meldrum A, Ekambaram M. Remineralization potential of dentifrices with calcium sodium phosphosilicate and functionalized tri-calcium phosphate in the deeper incipient carious lesions: An in vitro study. *Clin Exp Dent Res*. 2024;10(2):e876. DOI: 10.1002/cre2.876
9. da Luz NC, Monteiro V, de França Lopes CMC, Millan Cardenas AF, Chibinski ACR. Influence of silver fluoride plus potassium iodine on adhesive properties of primary carious dentin-resin interface: An in vitro study. *Saudi Dent J*. 2024;36(3):471-9. DOI: 10.1016/j.sdentj.2023.12.008
10. Gruba AS, Nunes GP, Danelon M, Gonçalves FMC, de Toledo PTA, Ferreira MF, et al. The use of mouthwash containing trimetaphosphate as an adjunct therapy to fluoridated toothpaste reduces enamel demineralization. *Journal of Dentistry*. 2024;145:104966. DOI: 10.1016/j.jdent.2024.104966
11. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. Declaración PRISMA 2020: una guía actualizada para la publicación de revisiones sistemáticas. *Rev Esp Cardiol*. 2021;74(9):790-9. DOI: 10.1016/j.recsp.2021.06.016
12. Jha AK, Mahuli AV, Verma SK, Kumar S, Prakash O, Ekram S, et al. Effectiveness of fluoride mouthrinse in prevention of demineralization during fixed orthodontic treatment: A systematic review and meta-analysis. *J Orthod Sci*. 2024;13:22. DOI: 10.4103/jos.jos_116_23
13. Inchingolo AM, Malcangi G, Ferrante L, Del Vecchio G, Viapiano F, Mancini A, et al. Damage from Carbonated Soft Drinks on Enamel: A Systematic Review. *Nutrients*. 2023;15(7):1785. DOI: 10.3390/nu15071785

14. Neumann I, Pantoja T, Peñaloza B, Cifuentes L, Rada G. El sistema GRADE: un cambio en la forma de evaluar la calidad de la evidencia y la fuerza de recomendaciones. *Revista médica de Chile*. 2014;142(5):630-5. DOI: 10.4067/S0034-98872014000500012
15. Hamed S, Abd El Latief MH, El-Wassefy NA, Montasser MA. Fluoride-amorphous calcium phosphate and biomimetic nano-hydroxyapatite for enamel remineralization: An in-vitro study of surface microhardness and composition. *International Orthodontics*. 2024;22(2):100865. DOI: 10.1016/j.ortho.2024.100865
16. Oliveira MAF de, Gonçalves FMC, Delbem ACB, Fernandes GLP, Cannon ML, Danelon M. Effect of treatment with phosphate, casein phosphopeptide and fluoride on the remineralization: *in vitro* study. *Braz oral res*. 2024;38:e036. DOI: 10.1590/1807-3107bor-2024.vol38.0036
17. Sakr AH, Nassif MS, El-Korashy DI. Amelogenin-inspired peptide, calcium phosphate solution, fluoride and their synergistic effect on enamel biomimetic remineralization: an in vitro pH-cycling model. *BMC Oral Health*. 2024;24:279. DOI: 10.1186/s12903-024-04008-z
18. Kiesow A, Morawietz M, Gruner J, Gierth S, Berthold L, Schneiderman E, et al. High-Resolution Characterization of Enamel Remineralization Using Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry and Electron Microscopy. *Caries Research*. 2024;58(4):407-20. DOI: 10.1159/000535979
19. Phyo WM, Saket D, da Fonseca MA, Auychai P, Sriarj W. In vitro remineralization of adjacent interproximal enamel carious lesions in primary molars using a bioactive bulk-fill composite. *BMC Oral Health*. 2024;24:37. DOI: 10.1186/s12903-023-03814-1
20. Eliwa ME, Mohamed Y, Hossam E. Enamel remineralisation prospect of Moringa Oleifera hydrogel, eggshell hydrogel versus sodium fluoride varnish on artificially demineralised primary teeth: in vitro study. *Acta Odontol Scand*. 2024;83:40623. DOI: 10.2340/aos.v83.40623
21. Mainente MP, Naves PA, de Campos PH, Rodrigues MC, Diniz MB, Zaroni WC de S, et al. Inhibition of incipient caries lesion progression by different fluoridated varnishes. *Braz Dent J*. 2024;35:e24-5616. DOI: 10.1590/0103-6440202405616
22. Shehani A F, Ramar K. Comparative Evaluation of the Remineralizing Potential of Flaxseed Paste, Chicken Eggshell Paste, and Fluoride Toothpaste on the Enamel of Primary Teeth Using Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive X-ray Analysis: An In-Vitro Study. *Cureus*. 2024;16(5):e60040. DOI: 10.7759/cureus.60040
23. Kharbot B, Askar H, Gruber D, Paris S. Biomimetic Remineralization of Artificial Caries Lesions with a Calcium Coacervate, Its Components and Self-Assembling Peptide P11-4 In Vitro. *Bioengineering (Basel)*. 2024;11(5):465. DOI:10.3390/bioengineering11050465
24. Saravana B, Mahalaxmi S. Remineralización de dentina biomimética utilizando nanohidroxiapatita derivada de cáscara de huevo con y sin carboximetilquitosano: un estudio *in vitro*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024;270:132359. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.132359
25. Nandhini G, Sasidharan Nair R, Mano Christiane Angelo JB, Sreeram R, V N, Swathi V. Comparative Analysis of the Effectiveness of Four Distinct Remineralizing Agents in Artificial White Spot Lesions Following Chitosan Nanoparticle Pretreatment: An In Vitro Study. *Cureus*. 2024;16(5):e59924. DOI: 10.7759/cureus.59924
26. Obead N, Bubteina N, Salem KA, Peeran SW, Karobari MI, Basheer SN. The Effect of Non-Invasive Treatment Techniques on the Color Masking Ability and Surface Roughness of Induced Enamel Lesions (An in vitro Study). *J Pharm Bioallied Sci*. 2024;16(Suppl 2):S1566-73. DOI: 10.4103/jpbs.jpbs_973_23

27. Balakrishnan N, Subramanian AK, Eeswaramoorthy R, Kandasamy D. Enamel Remineralization Efficacy of Coconut Milk and Lyophilized Coconut Extract in Different Concentrations on Demineralized Enamel Surfaces: An In-Vitro Study. *Cureus*. 2023;15(9):e44712. DOI: 10.7759/cureus.44712
28. Parisay I, Boskabady M, Bagheri H, Babazadeh S, Hoseinzadeh M, Esmaeilzadeh F. Investigating the efficacy of a varnish containing gallic acid on remineralization of enamel lesions: an in vitro study. *BMC Oral Health*. 2024;24:175. DOI: 10.1186/s12903-024-03921-7
29. Agusmawanti P, Ratih DN, Purwanti N, Raharjo TJ. The Potential of QP3VH-Chitosan Peptide as Biomimetic Remineralization in Early Dental Caries Treatment: An In Vitro Study. *European Journal of Dentistry*. 2024;18(4):1149-56. DOI: 10.1055/s-0044-1782189
30. Aref NS, Alsdarani RM. Surface topography and spectrophotometric assessment of white spot lesions restored with nano-hydroxyapatite-containing universal adhesive resin: an in-vitro study. *BMC Oral Health*. 2023;23:911. DOI: 10.1186/s12903-023-03642-3
31. Sabti MY, Alfarhan IY, Akbar AA, Qudeimat MA. Evaluating color stability and enamel surface roughness following resin infiltration treatment. *Clin Exp Dent Res*. 2024;10(1):e2834. DOI: 10.1002/cre2.834
32. Eldeeb AI, Tamish NO, Madian AM. Effect of Biomin F toothpaste and Diode laser on remineralization of white spot lesions (in vitro study). *BMC Oral Health*. 2024;24:866. DOI: 10.1186/s12903-024-04589-9
33. Labib ME, Perazzo A, Manganaro JL, Tabani Y, Durham CJ, Schemehorn BR, et al. Propiedades de eliminación de manchas, abrasión y anticaries de un nuevo dentífrico de baja abrasión que contiene celulosa microfibrilada: *in vitro* Evaluaciones. *Journal of Dentistry*. 2024;146:105038. DOI: 10.1016/j.jdent.2024.105038
34. Kim HE. Desarrollo de una novela *in vitro* Modelo para la formación de lesiones cariosas no cavitadas que reflejan la actividad de las lesiones cariosas. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 2024;46:104037. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2024.104037
35. Srikumar GPV, Ghosh M, Kumar AA, Bardia S, Wasule A, Beautlin JS. An in vitro evaluation of Icon resin infiltrant penetration into demineralized enamel lesions using an indirect staining technique with confocal laser scanning microscope analysis in dual fluorescence mode. *J Conserv Dent Endod*. 2024;27(4):366-72. DOI: 10.4103/JCDE.JCDE_3_24
36. Ribeiro PFA, Hashizume LN, Arriola-Guillén LE, Madeira K, Vizzotto MB, da Silveira HLD. The interference of digital radiographic image acquisition and processing protocols in the diagnosis of incipient enamel carious lesions. *J Clin Exp Dent*. 2024;16(2):e96-103. DOI: 10.4317/jced.60990

Disponibilidad de datos

“Todo el conjunto de datos que apoya los resultados de este estudio fue publicado en el propio artículo.”

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Fuente de Financiamiento

Esta investigación no recibió ninguna subvención específica de agencias de financiación en los sectores público, comercial o sin fines de lucro.

Contribución de autoría

NOMBRE Y APELLIDO	COLABORACIÓN ACADÉMICA													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Herbert Cosio Dueñas	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X		X
Liceth Lazo Otazú	X	X	X			X	X		X	X			X	X
Deyvi Cabrera Arredondo			X		X				X		X		X	X
Romy Angeles Maslucan			X			X				X		X	X	X
Lidia Yileng Tay Chu Jon				X		X		X				X	X	X

- | | |
|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 1. Administración del proyecto | 8. Metodología |
| 2. Adquisición de fondos | 9. Recursos |
| 3. Análisis formal | 10. Redacción - borrador original |
| 4. Conceptualización | 11. Software |
| 5. Curaduría de datos | 12. Supervisión |
| 6. Escritura - revisión y edición | 13. Validación |
| 7. Investigación | 14. Visualización |

Nota de aceptación:

Este artículo fue aprobado por la editora de la revista MSc. Dra. Natalia Tancredi.