

REG 9488

MARC 60232

+L864a  
1997

UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE ODONTOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA RESTAURADORA  
ASIGNATURA DE OPERATORIA DENTAL

" Análisis de la variación de niveles de S. Mutans en saliva de pacientes libres de caries, comparando la acción de la clorhexidina en Barniz y Colutorios."

Rocío A. López de Maturana Luna

TRABAJO DE INVESTIGACION  
REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE  
CIRUJANO - DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL  
Dr. Felipe Stanke

TUTORES ASOCIADOS  
Dr. Iván Urzúa  
Dr. Cristian Honorato

Santiago - Chile  
1997

A la memoria de Banja.  
Gracias por tu ayuda y compañía eterna.

Agradezco al Dr. Felipe Stanke, por su constante apoyo y dedicación en el desarrollo de este trabajo. Además, por su trato siempre amable y grato.

Al Dr. Iván Urzúa, quién siempre fue una ayuda incondicional para que este trabajo se realizara en forma óptima.

Al Dr. Cristian Honorato, por su gran ayuda y cooperación en el desarrollo teórico y experimental de este trabajo.

Al Dr. Benjamín Martínez, por participar con su importante ayuda en el análisis estadístico de este trabajo.

A mi familia, especialmente a mi madre por su gran cariño y apoyo. Y a mi hermano Pedro, por su preocupación y tiempo regalados.

A mis compañeros y amigos, que participaron activamente en este trabajo.

# INDICE

TEMA	PAG.
1.- INTRODUCCION.....	1 - 2
2.- MARCO TEORICO.....	3 - 41
3.- HIPOTESIS.....	42
4.- OBJETIVO GENERAL.....	43
5.- OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	43
6.- MATERIAL Y METODO.....	44
7.- RESULTADOS.....	48 - 52
8.- DISCUSION.....	53 - 56
9.- CONCLUSIONES.....	57 - 58
10.- SUGERENCIAS.....	59
11.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	60 - 66

## 1. INTRODUCCION

La caries es una enfermedad infecciosa, crónica, transmisible y multifactorial, que afecta los tejidos duros del diente. Producida por bacterias acidógenas y acidúricas que mediante su metabolismo degradan hidratos de carbono y producen acidez; las caries tienen como principal factor de origen el *S. Mutans*.

Esta bacteria coloniza las superficies de los dientes y genera ácidos a una velocidad mayor y más eficiente que otros microorganismos (m.o.), provocando la aparición de un pH menor a 5.5, crítico para la disolución del esmalte.

De esta manera, el *S. Mutans* cumple su función primordial, iniciar las lesiones cariosas. Luego otro m.o., el *Lactobacillus Acidófilus* es el encargado de la progresión de la caries.

Existen diversos elementos que intervienen en el curso natural de la caries que ayudan a controlar y en algunos casos erradicar el factor etiológico que produce tal enfermedad; esto es, la disminución de los niveles de *S. Mutans* en la saliva y/o las superficies dentarias.

Dentro de estos tratamientos preventivos se conjugan variados elementos que apuntan a realizar un diagnóstico y tratamiento del tipo microbiológico.

Así entonces, podemos nombrar por ejemplo, el test Cariescreen, el cual se utiliza en primera instancia para conocer el nivel de riesgo del paciente a desarrollar caries ya que nos indica la cantidad de colonias de *S. Mutans* del paciente antes de instaurar cualquier tratamiento. Posteriormente se realiza periódicamente este test, para constatar variaciones en los niveles de *S. Mutans* derivados de la terapia efectuada. Esto ayuda también a comparar diferentes terapias, en relación con su efectividad antimicrobiana.

Tenemos además, variadas herramientas que pueden ser utilizadas para combatir la caries desde un punto de vista infeccioso. Entre estos se cuentan, por ejemplo, el uso de fármacos que tienen probada acción sobre los m.o. orales, como la clorhexidina ( usada como enjuague, gel o barniz ), de gran importancia como base en la hipótesis de esta investigación, debido a que se verificará si la clorhexidina en barniz es más eficaz en la disminución de los *S. Mutans* que la clorhexidina en colutorios.

Es indispensable, tener en cuenta que lo primordial para la mantención de la salud oral es la higiene prolija y constante del paciente, acompañado de una dieta anticariogénica.

Debemos tener en cuenta entonces, que al realizar este tratamiento a un nivel microbiológico, se está evaluando el "nivel de riesgo" que posee cada persona para desarrollar caries dentarias. Con esto se puede instaurar el tratamiento más efectivo en relación a las condiciones infecciosas de cada persona.

## 2. MARCO TEORICO

### LA CARIES

La caries dental es la patología oral más prevalente en el mundo (21). Está presente en el hombre desde su aparición en el planeta, planteándose su existencia desde la hominización de ciertas formas de homínidos, proceso que abarca desde 5.000.000 de años hasta 500.000 años A. de C., aproximadamente (38). Es una enfermedad específica de naturaleza bacteriana, que destruye los tejidos duros del diente. Desde el punto de vista preventivo, la caries se define como una enfermedad INFECCIOSA, transmisible, multifactorial, progresiva y localizada, que afecta los tejidos duros del diente y, por lo tanto, debiera tratarse en base a esta definición (1).

En los países desarrollados, al final de la década de los 90, la disminución de la caries ha sido bastante exitosa, debido a los programas de salud oral, cambios de hábitos en la dieta, como al uso de sustancias antimicrobianas y fluor. Sin embargo, en el resto del mundo se presenta con una prevalencia relativamente alta (38).

Estudios realizados en Chile han demostrado que existe una alta incidencia de caries en el país (22). El Ministerio de Salud de Chile, en 1993, estimó que más del 90% de la población de nuestro país presenta caries dental, con un promedio de 12 dientes comprometidos por persona (38).

## MICROBIOLOGIA DE LA CARIES

La idea que la caries sería el resultado de la producción colectiva de ácidos por la comunidad de bacterias acidógenas de la placa bacteriana, cuya sustentación científica derivó de la teoría quimioparasitaria de Miller en el siglo XIX, comenzó a ser destruida a partir de la década de los sesenta. La placa bacteriana supragingival es el agente etiológico esencial de la caries dental. Inicialmente la superficie del esmalte es colonizado por el *S. Sanguis*, *S. Oralis* y *S. Mitis*. Luego el *S. Mutans* y el *A. Viscosus* por acción metabólica sobre la sacarosa determinan la producción de glucanos y ácido, los que son fundamentales para la formación de placa cariogénica (21).

En 1960 Fitzgerald y Keyes demostraron que habría m.o. cariogénicos por excelencia que posteriormente fueron identificados como *STREPTOCOCOS MUTANS*. Estos presentan un potencial de producción de caries infinitamente superior al de cualquier m.o. acidogénico de la placa supragingival. Desde entonces hasta nuestros días, una considerable cantidad de investigaciones han valorizado el papel de este grupo de m.o. en la etiología de la caries y demostrado que la placa removida de las áreas enfermas es bacteriológica y bioquímicamente diferente de la placa proveniente de las zonas sanas, revelando la acción de una microbiota más específica en el desarrollo de lesiones cariosas (1-6).

## STREPTOCOCO MUTANS

Clarke, registró el descubrimiento de una pequeña cadena de cocobacilos, obtenidos de una lesión cariosa, al que dió el nombre de Streptococcus Mutans. Este nombre lo recibió debido a que se elongaba al crecer en medios con glucosa (38).

Los miembros del grupo de S. Mutans corresponden a una familia relativamente bien definida de especies. Las cepas de S. Mutans son generalmente similares en base a diversas características fenotípicas usadas para identificar streptococos, pero serológica, genética y metabólicamente son un grupo heterogéneo (39).

Se han identificado 5 grupos genéticos y 8 serotipos designados desde la "a" a la "h." Los antígenos específicos para cada serotipo corresponden a constituyentes de la pared celular que han sido aislados y caracterizados como polisacáridos. El 80% de las cepas aisladas corresponden al grupo genético I serotipo c (21).

De acuerdo a esto se ha verificado que el S. Mutans, como agente causante de caries, cumple con los postulados de Koch, los cuales son:

- 1.- Los m.o. deben estar presentes en la lesión
- 2.- Estos deben poder aislarse y obtenerse en forma pura.
- 3.- Al ser inoculados en forma pura a un animal debe aparecer la enfermedad

4.- Puede ser nuevamente aislado de las lesiones cariosas y vuelto a desarrollar en cultivos puros.

5.- Anticuerpos contra el m.o. están aumentados en pacientes con caries.

El *S. Mutans* es el m.o. cariogénico más eficiente por su facilidad y rapidez para producir caries en animales libres de gérmenes.

Este m.o. es un coco Gram (+), que posee una pared celular y una membrana plasmática que engloba el protoplasma del m.o. La matriz de la pared celular consiste en una cadena entrelazada de péptido glicano compuesta de N - acetilaminoazúcares, ácido N- acetilmurámico y numerosos péptidos . Los antígenos de superficie de la pared celular le confieren la inmunogenicidad al microorganismo (3).

Para crecer y desarrollarse necesita de medios enriquecidos y cierto ambiente de anaerobiosis (1).

Forma parte de la flora microbiana normal de la boca y aparece en ésta junto con la erupción de las primeras piezas dentarias. Se hace patógeno al aumentar su proporción relativa en boca. La cuantía de su colonización es proporcional a la predicción o riesgo de producción de caries dental (42).

Tiene varias características importantes desde el punto de vista odontológico:

- Es acidogénico ( genera ácidos).
- Es acidófilo ( se desarrolla en medio ácido).
- Es acidúrico ( sigue elaborando ácido a pH bajo).
- Utiliza la sacarosa a velocidades más rápidas que cualquier m.o.
- Almacena polisacáridos intracelularmente.
- Sintetiza complejos glucanos y fructanos.

El porqué los S. Mutans poseen cualidades o capacidades extraordinarias para la adherencia radica en que éstos comienzan a sintetizar polisacaridos extracelulares a partir de hidratos de carbono de la dieta, conocidos como glucanos ( dextrán y leván), los cuales actúan como verdaderos adhesivos extracelulares.

#### ASOCIACION ENTRE S. MUTANS Y CARIES.

Esta asociación está basada en que :

1. Los S. Mutans son rápidamente adquiridos por niños viviendo en sociedades industrializadas, a partir de la erupción de los dientes temporales. El porcentaje de portadores en las sociedades primitivas está entre 0 - 40%, a

diferencia de las ciudades industrializadas que es de 90 - 100% en niños de la misma edad en ambos ejemplos.

2. Los *S. Mutans* necesitan superficies dentales para colonizar, por lo tanto no se encuentran antes de la erupción ni después de las extracciones dentarias totales. Además producen con mayor frecuencia caries en zonas de fosas y fisuras. Las piezas más afectadas, por lo tanto, son los molares, seguido por los premolares y finalmente los incisivos.

Las piezas menos afectadas por caries son los incisivos inferiores. Debido a que poseen un clearance más rápido que en otras zonas de la dentición (32).

3. El desarrollo de caries en superficies que antes estaban sanas es, casi siempre precedido por una elevación de los niveles de *S. Mutans*, existiendo además una correlación entre el porcentaje de molares infectados con estas bacterias y la experiencia de caries en niños, en diferentes comunidades.

4. Placas bacterianas provenientes de áreas con caries, presentan proporciones significativamente mayores de *S. Mutans* que las placas de áreas sin caries (41). Además, en situaciones especiales como son tratamientos de Ortodoncia con aparatología fija, se produce una desmineralización del esmalte por acumulación de placa bacteriana alrededor de las bandas y brackets, debido a un cambio en su microflora oral, como también un bajo pH en su medio ambiente (5-6).

5. Los *S. Mutans* son los principales productores de ácidos in vivo cuando el pH es tamponado a nivel de acidez necesaria para iniciar la desmineralización del esmalte. Esto puede producirse debido a la disminución de secreción salival y/o a la disminución de la capacidad buffer de la saliva (43).
6. Los *S. Mutans* toleran altas concentraciones de sacarosa (20-50%) y, en estas condiciones, producen altos niveles de ácido láctico, ya que la enzima responsable (lactodeshidrogenasa) es activada por el nivel intermediario (fructosa - 1,6 - fosfato), acumulado en la célula.
7. Se cree que el polisacárido intracelular de reserva, tipo amilopectina, es el responsable por la mantención de ácido en las placas cariogénicas, aún cuando no haya consumo de sacarosa (5).

#### MÉTODOS SEMICUANTITATIVOS DE RECuentOS DE *S. MUTANS*.

Método de la espátula de madera (Köhler & Bratthall, 1979).

Es un método simple para evaluar el número de *S. Mutans* en saliva estimulada, utilizándose placas de Petri con el medio MSB. Esta técnica se utiliza especialmente en la evaluación del riesgo de caries en niños, en los cuales no sea posible obtener una muestra de saliva por la técnica utilizada convencionalmente. Una de sus limitaciones más importantes es el plazo de validez después de preparado el medio. La presencia de bacitracina que no es estable, limita el tiempo de uso en una semana (1-7).

### Método de Adherencia al Vidrio

Este método sirve para diferenciar niveles críticos de *S. Mutans* en la saliva, clasificando las muestras de saliva en función de la proporción de estos m.o., que se adhieren a las paredes del tubo de vidrio donde está el medio selectivo en forma líquida. Lo bueno de este método es que la bacitracina no está en el medio de cultivo con lo cual no hay límite de tiempo para su uso. El uso de este test se recomienda en programas comunitarios y estudios epidemiológicos.

Este test junto con el de la espátula de madera se correlacionan bien cuando niños con bajas proporciones de caries presentaban niveles bajos de *S. Mutans* de la saliva en los dos exámenes. Sin embargo, la detección de niveles altos de *S. Mutans* no se correlacionaba correctamente con elevados incrementos de caries, concluyéndose que estos test son más indicados para descubrir pacientes de bajo riesgo que no necesitan medidas preventivas especiales (1-2).

### Método de la Lámina Mojada.

("Dip-Slide Test", Alaluusua y col., 1984)

Este es un método simplificado para el cómputo de *S. Mutans* en saliva. Se coloca saliva estimulada, no diluida, sobre la superficie de una lámina de plástico excavada (2 x 5 cm), conteniendo agar MS (*mitis-salivarius*), con 20%

de sacarosa. Se eliminan los excesos de saliva . La lámina se seca en una estufa durante 10 min. En seguida dos discos de papel absorbente que contienen bacitracina se colocan en la superficie del agar, separados 2 cm uno de otro. La lámina se coloca nuevamente en el tubo plástico protector, y un comprimido productor de CO<sub>2</sub> se coloca dentro del tubo. Se coloca todo en la estufa a 37°C y se lo deja 48 hrs. El crecimiento de los streptococos orales, excepto los S. Mutans, es completamente inhibido por el efecto simultáneo de la sacarosa y de la bacitracina. Por lo tanto la estimación de la densidad de las colonias que crecen dentro del halo de inhibición de la bacitracina permite calcular el nivel de S. Mutans presentes en 1 ml de saliva. La densidad de las colonias es determinado por comparación con el diagrama del fabricante que clasifica las densidades en índices de 0, 1, 2 ó 3.

Clase 0: ausencia de crecimiento y bajo riesgo de caries.

Clase 1: bajo riesgo de caries, menos de 100.000 ufc/ml de saliva.

Clase 2: moderado riesgo de caries, más de 100.000 ufc/ml de saliva, pero menos de 1.000.000 ufc/ml de saliva.

Clase 3: alto riesgo de caries, más de 1.000.000 ufc/ml de saliva.

Este es un método específico, por que además de identificar correctamente altos índices COP y actividad de caries, identifica personas con caries inactivas. El plazo de validez del medio de cultivo es de varios meses, ya que

la bacitracina no es agregada al agar en el momento de su preparación (1-2-7).

### Técnica de Inmersión de la Lámina

("Cariescreen SM", Jordan y col.,1986)

Es un test de diagnóstico microbiológico simple para la detección y cuantificación de S. Mutans en saliva. Este test está basado en el crecimiento de bacterias en el medio específico MSB agar. Este medio es selectivo para S. Mutans porque la presencia de sacarosa y bacitracina a concentraciones críticas, son muy bien toleradas por el S. Mutans, pero no por otros tipos de streptococos (23-37).

Este método permite al odontólogo, en su propia clínica, obtener un recuento de S. Mutans en la saliva.

El kit de Cariescreen está compuesto por:

- Tubo 1 (solución de transporte): agua fosfatada bufferizada.
- Tubo 2 (medio de cultivo): agar MS.
- Pastilla de Bacitracina.
- Pastilla de CO<sub>2</sub>.

- Pastilla de Parafina.

El test Cariescreen consta de los siguientes pasos:

- 1) Marcar datos del paciente en la etiqueta de ambos frascos.
- 2) Se abre el envase que contiene el líquido y se agrega la tableta de bacitracina y se deja disolver completamente en el tubo 1; se tapa mientras dura el proceso (10 minutos). El test debe efectuarse dentro de los treinta minutos de haber puesto la tableta de bacitracina. Creándose de esta forma una solución selectiva sólo para el S. Mutans.
- 3) Se indica al paciente masticar la pastilla de parafina 15 a 20 segundos e ir acumulando la saliva que vaya produciendo.
- 4) El paciente debe botar la saliva acumulada en el tubo 1 hasta el nivel indicado (2 ml).
- 5) El paciente debe botar la pastilla de parafina. Se toma el frasco en posición vertical, se invierte suavemente de arriba hacia abajo una vez para homogenizar la solución con la saliva.
- 6) Luego colocar en el tubo 2 la pastilla de CO<sub>2</sub> con dos gotas de agua y la paleta del mismo tubo con el medio de cultivo sumergirla en el tubo 1, para luego colocarla y cerrarla muy bien en el tubo 2 sin hacer ningún movimiento.

7) Este tubo se llevará a la estufa de cultivo en posición vertical, durante 48 horas a temperatura constante (37°C).

8) Según la tabla de medición semicuantitativa de S. Mutans, se ubica al paciente en el rango que le corresponde.

Las colonias típicas de S. Mutans son granulares en apariencia y crecen en relieve a la superficie del medio (esto se ve poniendo el agar de manera oblicua ). Cuando es visto bajo un lente de magnitud (3X o mayor), muchas colonias de S. Mutans parecen opacas y altamente convexas e irregulares en su forma.

En base a una carta de densidad modelo se compara el crecimiento de las colonias bacterianas en el agar de cada paciente, con esto se clasifica al paciente en :

- Menos de 250.000 colonias por ml de saliva, se considera riesgo bajo de caries.
- Entre 250.000 y 500.000 colonias por ml de saliva, se considera de mediano riesgo.
- Sobre 500.000 deberá considerarse de alto riesgo cariogénico.

Algunos científicos tienen otros criterios de niveles de S. Mutans.

#### LIMITACIONES DE ESTE TEST :

Si el paciente está bajo cualquier tratamiento antimicrobiano ya sea sistémico o local, por ejemplo: antibióticos orales o inyectables, antisépticos de uso oral, etc. Por alguna razón médica, la población de S. Mutans oral puede estar temporalmente suprimida. Por esta razón el test Cariescreen S. Mutans no debe ser usado hasta 7 días después del término de la administración del tratamiento.

#### PRECAUCIONES :

Cariescreen es sólo para uso de diagnóstico in vitro. No se debe realizar trabajo alguno sobre las piezas dentarias ni tener al paciente con un enjuagatorio bucal previo a la obtención de saliva. Esto puede afectar el resultado de test (1).

#### Método semicuantitativo de Linossier y col. ( Slide ).

Basado en el principio Dentocult . Se aplica en clínica para el recuento de S. Mutans en saliva. Consiste en la estimulación del flujo salival, y luego frotar 10 veces consecutivas sobre la lengua un trozo de vidrio esmerilado que contiene agar TYCSB en una de sus superficies (medio selectivo para S. Mutans), esta muestra se instala en un tubo de ensayo estéril y es llevado a

estufa Pasteur a 37°C para ser incubado por 48 horas en condiciones anaeróbicas. La densidad de crecimiento del *S. Mutans* sobre la superficie del agar es corroborada a través de una lupa Spencer, y categorizada como lo recomienda la marca Dentocult. La relación entre ambos métodos según el coeficiente de correlación logarítmica de ufc/ml de saliva corresponde a 98% para Dentocult y 98,03% para Slide.

#### Método de recuento de Lactobacilos

("Dip-Slide Test LB, Larmas, 1975).

Método Dentocult-LB. Este Dip-Slide Test (test de lámina mojada), fue el primero de esta categoría desarrollado para uso en consultorio, ya que no necesita equipos especiales para su ejecución.

El kit presenta láminas especiales excavadas y contenido de agar Rogosa (1951), un medio selectivo para lactobacilos orales y fecales. La saliva estimulada, es colocada sobre la superficie de la lámina plástica conteniendo el método selectivo. El exceso de saliva es eliminado, manteniendo la lámina en posición vertical e inclinado por algún tiempo. Después la lámina inoculada se coloca en el tubo de plástico de protección y se lo incuba a 34°C por 4 días en aerobiosis. El resultado se obtiene por comparación de la densidad de colonias presentes en la lámina con un patrón suministrado por el fabricante.

Valores mayores de 100.000 lactobacilos/ml de saliva indican que el ambiente oral es favorable para la progresión de caries incipiente o para la aparición de nuevas lesiones de caries. Los resultados de este test no siempre se correlacionan con el recuento convencional de Lactobacilos en placa.

Esta técnica no mide riesgo cariogénico, si no más bién la cantidad de azúcar ingerida, la progresión de la caries y zonas retentivas en boca.

#### FINALIDAD DE LOS METODOS DIAGNOSTICOS.

- Control de la actividad de Caries.

Las lesiones de caries son fácilmente detectadas por medio del examen clínico, junto con radiografías interproximales. No obstante, el exámen clínico no predice la actividad de caries ni indica la susceptibilidad de un paciente a la misma. Entonces, un sencillo test de laboratorio que pueda hacerlo, facilita nuestro diagnóstico y manejo clínico de los pacientes, por las siguientes razones :

- Determina la necesidad de medidas preventivas personalizadas (7).
- Sirve como un índice de éxito de las medidas terapéuticas (7).
- Motiva y controla la eficacia de los programas educativos relacionados con procedimientos dietéticos y de higiene bucal (7).

- Identifica los grupos e individuos de alto riesgo (7).
  - Determina la etiología de la enfermedad y su extensión en pacientes sospechosos (2).
  - Permite la elección de un tratamiento alternativo que ofrezca un pronóstico mejor (2).
  - Vigila el curso de la enfermedad y evalúa la efectividad del tratamiento (2).
  - Determina la presencia de factores que puedan favorecer el establecimiento de caries en progresión (2).
- Los test de máxima aplicación clínica deberían cumplir los siguientes criterios :
- Máxima correlación entre predicción y la realidad en el desarrollo de la caries.
  - Confiabilidad y validez : el test debe ser consistentemente exacto y reproducible.
  - Sencillez en los procedimientos técnicos y en la habilidad requerida.
  - Resultados rápidos, en horas o pocos días.
  - Medición de los mecanismos involucrados en el proceso de caries (7).

Los métodos diagnósticos se usan también para clasificar los pacientes con la enfermedad en distintas poblaciones y evaluar la efectividad de las medidas.

#### VALOR DE LA INFORMACION DIAGNOSTICA.

La principal finalidad de la acumulación de información diagnóstica es influir en la salud de un paciente. De ahí que una precondition necesaria para que un método diagnóstico tenga valor, es que las decisiones subsiguientes puedan efectuarse.

Debería ser evidente también que el valor de la información diagnóstica sobrepase el riesgo asociado al uso del método diagnóstico.

Otros factores como el costo y la conformidad del paciente, se deben tener en cuenta cuando se proponga el examen diagnóstico (2).

#### NUMERO DE S. MUTANS.

Después de que haya llegado al laboratorio una muestra de saliva o de placa dental para microbiología oral, las diluciones apropiadas a menudo son transferidas a medios selectivos (7).

Un tipo común de placa de agar selectivo para el S. Mutans es el MSB-agar, Mitis Salivarius Bacitracina. Con la excepción de raros serotipos, todos los de

S. Mutans crecen en este medio. La bacitracina es el ingrediente selectivo principal. Esta se ha usado de distintas formas, según el método diagnóstico del cual se trate, por ejemplo: discos de bacitracina adheridos sobre el agar, incluido como componente del agar y como pastillas que se disuelven dentro de medios acuosos (23-37-40).

Para la demostración de S. Mutans en localizaciones específicas, se describió hace algunos años una técnica simple, en la cual se insertan palillos de madera en los espacios proximales. Son apretados contra la placa de agar MSB y éstas se incuban en bolsas de plástico selladas que se encuentran en anaerobiosis (8).

Una muestra de saliva para el S. Mutans refleja el número de localizaciones colonizadas (9).

Dentro de los métodos diagnósticos, también se ha usado microscopía electrónica de transferencia. Con respecto a esto, hay un estudio en el cual se usó enjuague de digluconato de clorhexidina para ver su acción sobre el desarrollo de la placa bacteriana. Las muestras de placa bacteriana se obtuvieron de la superficie lingual de los incisivos mandibulares. Estas muestras fueron procesadas y vistas a microscopía electrónica.

Como resultado la clorhexidina tuvo efecto inhibitorio sobre el desarrollo de la placa bacteriana ( 31).

## MECANISMOS DE INTERRUPCION DE LA ACCION CARIOGENICA

### 1. Evitar la transmisión del agente infeccioso.

Se ha verificado por medio de variados estudios que la madre transmite el *S. Mutans* al hijo a través de acciones tales como alimentación, traspaso de saliva por besos, limpiado del chupete en la boca de la madre; esto ocurre en un período denominado "Ventana de Infectividad", que va desde la erupción del primer molar temporal hasta la erupción de la última pieza temporal (esto es desde los 12-16 a 30 meses). Es indispensable que la madre en este período esté bajo tratamiento para retardar la aparición de *S. Mutans* en el niño y para que se instale una placa menos agresiva (1).

Existe un estudio que se realizó con mujeres de alto riesgo de caries, ellas tenían hijos entre 3 a 8 meses. Se realizó un programa profiláctico a las madres para reducir los *S. Mutans* orales. Este programa fue repetido cada 2 a 4 meses, hasta que los niños llegaron a tener 3 años de edad. El resultado fue que el 70% de los niños del grupo control tenían altos niveles de *S. Mutans*, en cambio, sólo un 41% de los niños del grupo experimental presentaron estos niveles de *S. Mutans* (24).

## 2. Eliminar o disminuir el agente infeccioso.

a) POR METODO MECANICO : higiene y cepillado.

b) CONTROL DE DIETA : La dieta tiene un papel crucial en el desarrollo de la caries dental. En humanos, el consumo frecuente de hidratos de carbono aumentan la actividad cariogénica. Los efectos locales de la dieta sobre el metabolismo de la placa y especialmente en la producción de ácidos se consideran más importantes para la caries que los efectos generales, sobre el desarrollo del diente y la composición de la saliva. Sin embargo, ambos efectos, local y sistémico, tienen que tomarse en cuenta, debido a esta relación íntima entre dieta y caries.

Pocos estudios clínicos experimentales en seres humanos se han realizado por problemas éticos y prácticos (2).

Los más conocidos son los de Vipeholm, en cuyo estudio participaron adultos retrasados mentales (19).

Todos los azúcares de la dieta difunden dentro de la placa rápidamente y son fermentados a ácido láctico y otros, o pueden ser almacenados como polisacáridos intracelulares por las bacterias. La sacarosa, sin embargo, es única, por que es el sustrato para la producción de polisacáridos extracelulares almacenables (fructano y glucano) y polisacáridos insolubles de la matriz. Así, la sacarosa favorece la colonización de *S. Mutans* y el

aumento del grosor de la placa, permitiendo la adherencia en más grandes cantidades sobre los dientes.

#### b1) COMPONENTES PROTECTORES DE LOS ALIMENTOS :

El efecto inductor de caries de los hidratos de carbono es modificado de varias maneras por otros componentes de la alimentación. Los factores inhibidores de la caries llamados cariostáticos, son protectores.

Se ha centrado mucho interés en el posible efecto cariostático de diferentes fosfatos, que se encuentran en forma natural en muchos alimentos, como por ejemplo: cereales no refinados.

Sin embargo, ensayos clínicos con fosfatos añadidos a productos de azúcar y cereales, no han demostrado ningún efecto reductor de la caries en seres humanos (2).

La dieta es muy importante de controlar en pacientes de alto riesgo. Se debe explicar al paciente la relación que existe entre la continuidad en el consumo de azúcares que mantiene un ambiente ácido que permite aumentar el número de *S. Mutans* y *Lactobacilos* y la caries. Para esto, se deben poner en práctica las encuestas de alimentación para disminuir los momentos de acidez a no más de 2 ó 3 en el día, así como cambiar los hábitos de alimentación (1).

### c) METODOS QUIMICOS :

#### CLORHEXIDINA

Es una bis-biguanida con propiedades catiónicas, es decir, cargada positivamente siendo afín a las cargas negativas de los polisacáridos extracelulares de la película dentaria, de la mucina salival, de la mucosa oral y los tejidos dentarios donde gracias a su propiedad de sustantividad se libera en forma gradual hasta 6 - 8 horas después de su aplicación (1).

Su molécula es simétrica con dos anillos de 4 clorofenil y dos bisguanidinas conectadas por una cadena central de hexametileno. Su actividad radica en la presencia de cloros libres en sus extremos. La presentación más común es el digluconato de clorhexidina, debido a su alta solubilidad en agua (21).

Tiene un alto nivel de actividad antimicrobiana, se une fuertemente a la piel y tiene baja toxicidad, sin embargo, su principal uso está dirigido a ser desinfectante de piel, membranas mucosas y tejidos dañados, debido a que no se le ha encontrado otra utilidad.

Es una base fuerte virtualmente insoluble en agua, reacciona con ácidos para formar sales. La clorhexidina es moderadamente activa en superficie y forma micelas en solución; la concentración micelar crítica del acetato es 0.01%. Las soluciones acuosas son más estables a pH 5 a 8. La actividad de la clorhexidina es pH dependiente, el rango óptimo va desde 5.5 a 7.0, correspondiente al pH de la superficie corporal y de tejidos. Dentro del rango

5 a 8, sin embargo, la actividad antibacteriana varía con el organismo y el tipo de buffer usado, por ejemplo, la actividad contra el *S. Aureus* y el *E. Coli* crece con el incremento del pH (13).

#### MECANISMO DE ACCION ANTIBACTERIANA

La clorhexidina es bactericida a concentraciones cercanas a 100 ug/ml. Tiene actividad bacteriostática a 1 ug/ml o aún más bajos. La clorhexidina se adsorbe a la pared celular de las bacterias, alterando su permeabilidad. Así cambia la estructura superficial del m.o. y se altera su equilibrio osmótico, de este modo se destruye la membrana citoplasmática, se forman vesículas y precipita el citoplasma celular. Este es el efecto bactericida de la clorhexidina. El efecto bacteriostático actúa mediante el mismo mecanismo, pero alterando en menor cuantía la permeabilidad de la bacteria, saliendo desde el citoplasma moléculas de bajo peso molecular, tales como potasio y fósforo. Dejando así, al m.o. en un estado de bacteriostásis (13, 21).

Tiene acción de amplio espectro, sobre Gram (+) y (-), facultativos, aerobios y algunos anaerobios. El *S. Mutans* y el *Actinomyces* son muy sensibles, no así el *Lactobacilo*. Es activa contra algunos virus y algunos hongos, no así con las esporas (1, 12).

Un estudio que comparó la acción de la clorhexidina y del fluoruro de sodio demostró que la clorhexidina fue más eficaz en la disminución del número de colonias bacterianas en el tiempo (21).

La clorhexidina ha sido usada por más de 20 años en una gran variedad de situaciones clínicas. Durante este período los informes de reacciones adversas han sido pocos.

Se han realizado extensos estudios en animales y humanos voluntarios, para determinar una natural probabilidad de reacciones adversas que pueden ser asociadas con las variadas aplicaciones de la clorhexidina en los tejidos vivos. Este rango de desinfección va desde piel intacta a membranas mucosas delicadas, como por ejemplo: ojo y heridas quirúrgicas o traumáticas.

Han sido investigadas las vías sistémica y local de administración por corto y largo plazo con respecto a los efectos adversos, los cuales se han relacionado sólo con ingestiones accidentales y a altas dosis.

No se ha obtenido evidencia de carcinogenicidad. Además la incidencia de irritación de la piel es baja.

## APLICACION CLINICA Y SU EFECTIVIDAD

La clorhexidina se usa como una preparación de lavado o como una solución alcohólica para una desinfección rápida de manos, sitios de operación y sitios infectados; actuando inmediatamente y excediendo la acción de preparaciones similares que contienen povidona yodada o hexaclorofeno. Además, tiene acción persistente o residual correspondiente a un efecto acumulativo derivado de su uso regular, a diferencia de los otros compuestos.

La formulación detergente de clorhexidina puede ser usada para procedimientos preoperatorios en pabellón, como única aplicación en sitios operatorios, en repetidas aplicaciones recomendadas en procedimientos quirúrgicos ortopédicos o como limpieza de cuerpo, sano o intacto.

Cuando se evalúa un antiséptico en piel, para usarlo en manos, sitios operatorios y de inyección, deben ser consideradas diferentes propiedades del producto:

- Rapidez de acción bactericida contra los componentes residentes y transitorios de la flora de la piel.
- Efecto inmediato de aplicación única y el efecto acumulativo del uso regular.
- Persistencia de la acción antimicrobiana.

- Influencia de la formulación base, acuosa o alcohólica.
- Actividad sobre la piel en presencia de sangre.
- Aceptabilidad de usos.

### RAPIDEZ DE ACCION

Las preparaciones dérmicas, particularmente las usadas para inyección, requieren de una rápida acción; esto es válido igualmente para la desinfección de manos en pabellón. En fin, todos aquellos procedimientos clínicos y/o quirúrgicos que necesitan desinfección inmediata.

Un estudio realizado por Rosemberg et al. (1976), midió la rapidez de acción, dentro de 15 segundos, de la clorhexidina contra contaminación transitoria aplicada artificialmente sobre la piel. En estos test se usó S. Dorado, P. Aeruginosa y E. Coli. La rapidez de acción de la clorhexidina se midió en relación a los tres m.o. y los resultados fueron los siguientes:

	Clorhexidina 4% para lavado de piel(dil 1:10)	Clorhexidina Acuosa (0.1%)
S. Dorado	15 seg	15 seg
P. Aeruginosa	15 seg	15 seg
E. Coli	30 seg	15 seg

\* Dentro de estos tiempos de acción medidos, la clorhexidina mostró un 99.99% de reducción de las colonias bacterianas.

\* Estos autores encontraron además que la povidona yodada fue igualmente activa, pero el hexaclorofeno requirió más o menos 24 horas para reducir los m.o. Gram (-) (13).

Maki y col (1979), evaluaron diferentes agentes lavadores de piel antibacterianos, usando 15 segundos de contacto en el lavado de manos. La clorhexidina limpiadora de piel fue el agente más efectivo y que probó adecuada protección antes de 15 seg (13).

#### PERSISTENCIA DE ACCION

Uno de los atributos más importantes de la clorhexidina es la fuerte afinidad por la piel. La mayor parte de la clorhexidina aplicada sobre la piel se adhiere a la superficie. Esta no se absorbe, pero sí se retiene y permanece sobre la piel por varias horas.

Esto ha sido demostrado claramente por el uso de una formulación que contiene clorhexidina marcada radiactivamente. Este trabajo mostró que más del 90% de la clorhexidina queda remanente sobre la piel después de 5 horas, incluso en 26% fue encontrado después de 29 horas (13).

La persistencia de la acción antibacteriana puede ser demostrada también, por la aplicación de bacterias sobre la piel después de ser tratada con detergente o alcohol de clorhexidina.

Moderados volúmenes (0.05 ml) de suspensión de *S. Aureus* y *E. Coli* en solución Ringer fueron extendidas sobre la palma de la mano seca de voluntarios, previo lavado de manos con solución desinfectante de clorhexidina, 1 hora antes.

Los resultados arrojaron que la clorhexidina conserva su efecto contra la aplicación de contaminantes, por algún tiempo después de ésta (13).

Se ha estudiado también, la recolonización bacteriana (*S. Mutans*), posterior al uso de clorhexidina. Específicamente, se realizó un estudio en el cual se usó gel de clorhexidina al 1%. Posterior a esto fue reducido el número de *S. Mutans* en placa y saliva.

Se estudió la recolonización bacteriana después de 26 semanas de aplicado el tratamiento. La reaparición de los *S. Mutans* fue lenta y estos m.o. fueron encontrados en mayor cantidad en molares, después en premolares y finalmente en los incisivos (31).

## INCOMPATIBILIDADES DE LA CLORHEXIDINA

La clorhexidina es incompatible con jabones y otros materiales aniónicos. El acetato de clorhexidina es incompatible con potasio yodado. En concentraciones de 0.5% de clorhexidina, ésta es incompatible con boratos, bicarbonatos, carbonatos, citratos, fosfatos y sulfatos, formando sales de baja solubilidad, con lo cual la solución puede precipitar después de 24 horas de formada (12).

## REACCIONES ADVERSAS Y TRATAMIENTO

Hay informes que demuestran que la clorhexidina puede producir ocasionalmente sensibilidad dérmica. Las soluciones muy concentradas pueden producir irritación de la conjuntiva y de otros tejidos sensibles.

El uso de gel dental y colutorio de clorhexidina han sido asociadas con decoloración reversible de lengua, dientes y restauraciones estéticas de resina (14).

Disturbios transitorios del gusto y sensación urente de la lengua ocurren con el uso en sus estadios iniciales. Si ocurre descamación, puede diluirse en un 50% con agua para disminuir su vigor, pudiendo seguir su uso según se requiera.

La clorhexidina es pobremente absorbida en el tracto gastrointestinal. Los efectos tóxicos debidos a la ingestión de clorhexidina pueden ser tratados mediante un lavado gástrico (12).

Una severa reacción alérgica, con marcada hipotensión, rash generalizado y pulso periférico impalpable ocurrió en un hombre de 67 años de edad, al cual se le hizo un apósito de acetato de clorhexidina al 0.5% en el sitio de punción (20).

Un paciente, que intentó suicidarse tomando 150 ml de solución de gluconato de clorhexidina, correspondiente a 30 gramos de la sustancia pura, presentó edema faríngeo y lesiones necróticas esofágicas; los niveles de aminotransferasas se encontraron muy elevadas, llegando a más de 30 veces sobre el valor normal 5 días después de la ingestión y 8 veces sobre lo normal después de una semana. Seis meses después de la ingestión, los niveles de aminotransferasas llegaron a sus niveles de normalidad.

La biópsia hepática mostró degeneración grasa difusa y hepatitis lobular, sugiriendo con esto que la clorhexidina fue absorbida por el tracto gastrointestinal en alta concentración, lo que provocó necrosis hepática (12).

#### ACTIVIDAD EN PRESENCIA DE SANGRE

Existe un estudio que determina el efecto de la clorhexidina en presencia de sangre. Se tomó un grupo de personas, a las cuales se les contaminó las

manos con sangre después de dos minutos de lavado con antiséptico de clorhexidina. Posteriormente, se pusieron guantes , los cuales fueron usados durante 1 hora. Terminado este período, el cálculo de la acción de la clorhexidina se redujo a un 90.4% comparado con el control de prelavado.

Con esto los investigadores concluyeron que la sangre no interfiere con la actividad persistente de la clorhexidina .En cambio, la actividad del hexaclorofeno y povidona yodada fue significativamente reducida por la presencia de sangre, en el mismo experimento (13).

#### VARIABILIDAD DE USOS

La clorhexidina en sus distintas presentaciones, como por ejemplo, enjuagatorios, geles y barnices, han demostrado tener fuerte acción en la reducción de estomatitis y aftas ulcerosas, inhibición de formación de placa bacteriana y control de la gingivitis.

Enjuagues al 0.2% de clorhexidina acuosa previenen la formación de placa supra gingival, pudiendo ser también efectiva en geles y/o dentífricos.

Estudios de unión y efectos de inhibición de formación de placa bacteriana, demostraron que alrededor de 1/3 de la administración es retenida después del lavado de dientes con clorhexidina. La cuantía de retención depende de algunos factores tales como:

- Tiempo: La cuantía de retención se mantiene en valores similares entre los primeros 15 seg. hasta los 60 seg posteriores.
- pH: Al mismo tiempo en que se reduce el pH, se va reduciendo la capacidad de retención de la clorhexidina.
- Iones Fuertes del enjuague: Gran cantidad de iones fuertes incrementan la liberación de clorhexidina.
- Detergentes: Estos reducen la retención de la clorhexidina y la inhibición de la placa bacteriana.

Hoy en día la clorhexidina es el agente de opción en el control químico de la placa dental supragingival. Sin embargo, debido a algunos efectos secundarios, es la más usada, pero por períodos cortos de tiempo (13).

Estudios comparativos entre clorhexidina y compuesto de amonio cuaternario demostraron que los compuestos de amonio cuaternario fueron retenidos más que la clorhexidina, pero su concentración en saliva disminuyó más rápidamente.

Un enjuague de clorhexidina (0.2%), ha mostrado una reducción significativa de incidencia, duración y severidad de úlceras aftosas.

Cuando se usa como desinfectante dentario, la clorhexidina se hace muy útil para pacientes que son susceptibles al desarrollo de candidiasis diseminada o sistémica.

Diferentes grupos de pacientes han usado clorhexidina diariamente por largos períodos de tiempo (2 años ) y no se han informado efectos serios.

Un estudio relacionado con desinfección preoperatoria, comparó 2 enjuagues bucales; povidona yodada al 1% y gluconato de clorhexidina al 0.2%.

La clorhexidina redujo el valor del recuento bacteriano, 1 logaritmo más que la povidona yodada. Ambos agentes actuaron rápidamente, pero después de dos horas, el efecto de la povidona yodada decrece, en cambio el efecto de la clorhexidina permaneció casi constante por el período medido de dos horas (13).

#### BARNICES DE CLORHEXIDINA

Los barnices de clorhexidina contienen acetato de clorhexidina junto con una resina para retenerlo sobre el diente. Se encuentra en diversas presentaciones : al 1%, 10%, 20% y 40% (1).

Se aplica una capa de barniz de clorhexidina e inmediatamente después se cubre esta capa con otra de barniz de poliuretano, con la que se obtiene mayor efectividad de acción. Esto permite usar barnices con concentraciones menores de clorhexidina y también evita que el paciente quede con un sabor desagradable en la boca (1-27).

Los barnices de clorhexidina reducen los niveles de S. Mutans a valores de bajo riesgo de producción de caries (1-17-18).

Los resultados de la aplicación de barnices han variado desde una fuerte disminución a niveles indetectables hasta por tres años (34).

En algunos pacientes los tratamientos de barnices de clorhexidina no dan buenos resultados. Esto puede deberse a varios factores, uno de ellos es que las personas con un gran número de restauraciones son más difíciles de tratar, siendo recolonizadas con la bacteria después del tratamiento, más rápidamente que aquellas con pocas obturaciones (2).

Investigaciones realizadas, sugieren que una sola aplicación de barniz al 10% parece ser suficiente para reducir el número de S. Mutans bajo el nivel de 250.000 ufc/ml de saliva (1). Es preciso sí, definir el tiempo por el cual será efectiva esta reducción a niveles de bajo riesgo. Se ha visto que concentraciones superiores al 10% no serían significativamente más eficaces en reducir el número de S. Mutans, pero la aplicación repetida o mayor frecuencia de aplicación de barniz al 10% tendría más efectividad que la aplicación de un barniz de mayor concentración (18). Por otra parte, hay estudios que dicen que la extensión del tiempo de supresión depende de la concentración de la clorhexidina en el barniz, por ejemplo, barnices de clorhexidina al 40% dieron una gran supresión de S. Mutans por un tiempo más prolongado que los barnices de concentraciones menores (45).

Sin embargo, a pesar de su efectividad, esta terapia es incapaz de erradicar completamente los *S. Mutans* de la boca. Pueden ocurrir resurgimientos de la infección aún después de prolongadas ausencias de niveles detectables de estos m.o. Evidencias genéticas de DNA 35 han demostrado que la recolonización se debió a una de las cepas que estaban en la boca previo al período de indetectibilidad. Aparentemente la cepa había sido protegida de los efectos del barniz por su ubicación en un sitio retentivo, donde fue capaz de permanecer por un largo período de tiempo en un estado relativamente latente (inactiva), multiplicándose muy lentamente como para ser detectada en la saliva. Más adelante, la bacteria recoloniza lentamente la boca desde este foco de infección, que generalmente suelen ser los espacios interdentarios (1-44).

Varios agentes antimicrobianos y métodos probados que disminuyen fuertemente los niveles de *S. Mutans* en saliva han sido superados por los barnices de clorhexidina, seguido por geles y luego por enjuagatorios (35).

Fue investigado el efecto de un barniz en los niveles de *S. Mutans* en saliva y en los espacios interdentarios. Los resultados indicaron una inmediata reducción del número de *S. Mutans* interdental y una recolonización más lenta en este lugar. Los niveles de *S. Mutans* en saliva fueron reducidos significativamente 1 a 3 meses después del tratamiento con barniz (1-44-45).

El barniz de clorhexidina al 10% se usa para pacientes con alto riesgo de caries, que no han tenido contacto con fluor, o con alteraciones sistémicas, o con amelogénesis imperfecta, o portadores de brackets de ortodoncia. Sería efectivo por períodos entre tres meses y dos años. Se aplica con aislación relativa, realizando previamente una profilaxis, sobre todas las superficies dentarias; protegiéndolo luego con el barniz de poliuretano, el cual es el protector del barniz de clorhexidina. Se indica no cepillarse durante 48 horas y el cambio del cepillo de dientes para evitar la reinfección.

Esto mantendría el nivel de *S. Mutans* bajo por tres meses (1-2). Pueden producirse algunos efectos secundarios como leve coloración café en los dientes si no se realiza previamente una profilaxis y sabor desagradable por el contacto del barniz con la mucosa oral. Precipitado blanco, enrojecimiento o sensación de ardor al margen de la zona gingival o en los dientes, por contacto del barniz con humedad. Aspereza excesiva de la capa de la solución a la lengua. Todos estos efectos son temporales; el ardor dura tan sólo unos minutos y los demás efectos duran menos de un día (51).

Hay un estudio que habla del efecto de la aplicación única o repetitiva de barnices con clorhexidina sobre el *S. Mutans* de placa bacteriana en fisuras de molares y premolares. La finalidad de este estudio fue determinar los efectos de una y dos aplicaciones de barniz de clorhexidina al 40% sobre ejemplares de *S. Mutans*. Participaron 29 sujetos en el estudio. En cada sujeto se seleccionaron 2 fisuras con altos niveles de *S. Mutans*. Las fisuras en el grupo 1 fueron tratadas con placebo, las del grupo 2 con una aplicación única de

barniz y las del grupo tres con una aplicación extra 1 semana después de la primera aplicación. La muestra fue tomada previa aplicación del barniz y luego a los 1, 2 y 4 meses. Comparado con las fisuras del grupo control, la eliminación del *S. Mutans* fue significativa en placas del grupo 2 sobre 2 meses y del grupo 3 sobre 4 meses después de la aplicación. El *S. Mutans* fue más fuertemente suprimido en los premolares que en los molares y en fisuras de premolares con doble tratamiento que en fisuras con tratamiento único (33).

El barniz de clorhexidina necesita un período corto de tiempo de aplicación para reducir los niveles de *S. Mutans* por períodos largos de tiempo (45-50).

Otro estudio, comparó la acción del barniz de clorhexidina, cubriendo totalmente las superficies dentarias con el sellante de poliuretano con otro grupo al cual se cubrió solamente las superficies oclusal e interproximal con sellante de poliuretano, posterior a la aplicación del barniz de clorhexidina en todas las superficies dentarias. Esto arrojó como resultado, que el primer grupo redujo en un 99% los niveles de *S. Mutans* en saliva, a diferencia del otro grupo, que redujo los niveles de *S. Mutans* a un 33% en saliva (27).

Se han hecho observaciones microbiológicas posteriores al tratamiento con barniz de clorhexidina, éstas mostraron que la disminución prolongada de *S. Mutans* en placa dental fue causada por interferencias bacterianas. Las investigaciones relacionadas con la fisiología de estos m.o. llegaron a la

conclusión que otras especies de estreptococos compiten con el *S. Mutans* en el ecosistema. Todo esto se vió analizando la población estreptocócica de la superficie de los dientes, antes y después del tratamiento con barniz de clorhexidina.

Análisis secuenciales de muestras de placa confirmaron que el *S. Oralis* (del grupo estreptococo), retorna a niveles basales rápidamente después del tratamiento con barniz de clorhexidina. Mientras tanto, la población de *actinomyces Naeslundii* pre-estudio muestra altos niveles varios días después del tratamiento. El *S. Mutans*, sin embargo, presenta niveles muy bajos en placa a los 14 días después del tratamiento.

Estudios relacionados con el patrón de recolonización por especies individuales de estreptococos, posterior a la aplicación de barniz de clorhexidina han demostrado que *S. Oralis* y *S. Sanguis*, son los primeros recolonizadores de la placa oral (46). Estas recolonizaciones son a partir de cepas paternas, idénticas a las reaparecidas después del tratamiento (49).

Se concluye entonces, que después de un tratamiento intensivo con barniz de clorhexidina, el reestablecimiento de la microflora oral normal se caracteriza por una baja proporción de *S. Mutans* (46).

También se ha medido la vitalidad microbiana a través de fluorescencia vital, la cual ha dado resultados que demuestran que de 48 a 72 horas después de aplicado el barniz de clorhexidina, el número de *S. Mutans* se ve

significativamente reducido, llegando aproximadamente a las 12 semanas al valor que presentaba anterior al tratamiento (47).

Está clínicamente probado, que en pacientes con tratamiento de Ortodoncia con aparatología fija, se produce una desmineralización del esmalte por acumulación de placa bacteriana alrededor de las bandas y brackets, debido a un cambio en su microflora oral, como también un bajo pH en su medio ambiente, producto de un aumento de retención de placa por la aparatología fija, lo que hace aumentar los niveles de *S. Mutans*. Con respecto a esto, se ha podido comprobar, que el aumento promedio de UFC por ml de saliva de *S. Mutans* corresponde a un 375%, en un período de 56 días en tratamiento ortodóncico. Lo anterior, clasifica automáticamente a los pacientes con aparatos fijos en un nivel de alto riesgo cariogénico (6-16). Es dable preguntarse que pasará con ellos después de 2 ó 3 años en semejantes condiciones, si no se aplican medidas protectoras específicas.

Consecuente con lo anterior, se recomienda que a los pacientes que se encuentran en tratamiento activo ortodóncico, se les debiera realizar un recuento microbiológico cada 6 meses, para controlar sus niveles de *S. Mutans* y aplicar técnicas preventivas adecuadas, como la terapia con barniz de clorhexidina (6).

Ya que los barnices de clorhexidina son una fuerte opción para prevenir las caries dentarias, esto debe ser aprovechado en programas de prevención individuales y masivas (17).

### 3. HIPOTESIS

La aplicación de barniz de clorhexidina al 10% sobre las superficies dentarias, disminuye los *S. Mutans* a un nivel de bajo riesgo de producción de caries, por un período largo de tiempo y con mayor eficacia que los colutorios de clorhexidina.

#### 4. OBJETIVO GENERAL

Determinar la capacidad del barniz de clorhexidina de disminuir los S. Mutans a niveles de bajo riesgo de producción de caries, en pacientes libres de caries, por un período de dos meses.

#### 5. OBJETIVOS ESPECIFICOS

I. Determinar la eficacia del barniz de clorhexidina en la disminución de niveles de S. Mutans por un período largo de tiempo, en relación al uso de colutorios de clorhexidina.

II. Comparar los niveles de S. Mutans resultantes, posterior al tratamiento de los dos colutorios de clorhexidina utilizados.

III. Comprobar si la clorhexidina utilizada en las dos presentaciones, disminuye los S. Mutans en comparación con el grupo control.

## 6. MATERIAL Y METODO

### A.- *Características de la muestra :*

- 1) Se incluyeron pacientes de distintas edades, de ambos sexos.
- 2) El tamaño de la muestra fue de 48 pacientes sanos, libres de caries, dados de alta del tratamiento restaurador convencional.

La muestra se dividió en cuatro grupos de 12 personas:

1. GRUPO CONTROL.
  2. GRUPO TRATADO CON BARNIZ DE CLORHEXIDINA AL 10%. (CHLORZOIN)
  3. GRUPO TRATADO CON COLUTORIO DE CLORHEXIDINA AL 0.12%. (PERIO-AID)
  4. GRUPO TRATADO CON COLUTORIO DE CLORHEXIDINA AL 0.1%. (ORALGENE)
- 3) Los pacientes correspondieron al Centro Médico-Dental de Isapre Consalud, Conchalí, Santiago.

### B.- *Exámen clínico:*

Se comprobó la ausencia de caries y el estado de las restauraciones mediante exámen clínico y radiográfico. (Rx Bite Wing Bilateral).

Se dieron idénticas indicaciones de higiene oral a todos los pacientes.

### C.- Método

Se cuantificaron los niveles de S. Mutans en cada uno de los pacientes, a través de la aplicación del test microbiológico Cariescreen, antes y después de realizar el tratamiento experimental en los grupos de pacientes.

A todos los pacientes se les entregó un cepillo de dientes nuevo.

La aplicación de barniz se hizo inmediatamente después de tomado el primer test Cariescreen.

#### PROCEDIMIENTO DE APLICACION DEL CHLORZOIN:

- 1) Asegurarse que el paciente no presente caries sin tratar o restauraciones con márgenes imperfectos, de lo contrario el paciente no será apto para la aplicación de este producto.
- 2) Efectuar profilaxis usando piedra pómez y agua. (no usar pasta profiláctica).
- 3) Enjuagar profundamente y pasar hilo dental, sin cera ni fármacos en su composición, en la dentadura del paciente para remover cualquier residuo. Asegurar la limpieza de la superficie distal del último diente de cada arco por medio de una pinza con algodón.
- 4) Aislar un cuadrante de la dentadura con rollos de algodón y eyector de saliva.

- 5) Secar todos los dientes del cuadrante con una jeringa de aire.
- 6) Usando un pincel fino , especial para áreas interproximales, aplicar Chlorzoin Etapa 1 a las áreas interproximales de todos los dientes del cuadrante e inmediatamente usar hilo dental entre los puntos de contacto del diente.
- 7) nuevamente secar las superficies de los dientes del cuadrante con la jeringa de aire y continuar aplicando Chlorzoin Etapa 1 en todo el resto de la superficie de los dientes. Secar con la jeringa de aire.
- 8) Aplicar Chlorzoin Etapa 2 sobre el Chlorzoin Etapa 1 con un segundo pincel. Secar con la jeringa de aire.
- 9) Repetir el mismo procedimiento en todos los cuadrantes.
- 10) Advertir al paciente que:
  - a) El tratamiento permanecerá en los dientes por varios días.
  - b) Debe evitar cepillarse los dientes por 24 horas. Al reanudarlo, cambiar el cepillo.
  - c) No usar hilo dental por tres días.

Los colutorios de Clorhexidina al 0.1% y 0.12% se indicaron durante 20 días, efectuando dos enjuagues al día, uno en la mañana y otro en la noche

después del cepillado, con la solución antiséptica sin diluir. Esto se realizó un día después de tomado el primer test Cariescreen.

El segundo test Cariescreen, posterior a los tratamientos realizados, se efectuó después de transcurridos dos meses del primer test.

Finalmente, se comparó los niveles de S. Mutans obtenidos antes y después de la aplicación de los tratamientos en cada grupo y el resultado de la diferencia entre todos los grupos estudiados.

## 7. Resultados

TABLAS DE RECUESTO BACTERIANO PREVIO Y POSTERIOR A LA APLICACION DE  
LOS TRATAMIENTOS

TABLA 1 : GRUPO CONTROL

N° Paciente	1er Test	2do Test
	UFC/ml	UFC/ml
1	100,000	50,000
2	250,000	100,000
3	100,000	50,000
4	500,000	250,000
5	375,000	250,000
6	100,000	100,000
7	100,000	50,000
8	1,000,000	500,000
9	50,000	50,000
10	375,000	100,000
11	250,000	500,000
<b>Promedio</b>	<b>290,909</b>	<b>181,818</b>

TABLA 2 : GRUPO BARNIZ

N° Paciente	1er Test	2do Test
	UFC/ml	UFC/ml
1	1,000,000	100,000
2	10,000	10,000
3	375,000	50,000
4	250,000	100,000
5	250,000	50,000
6	1,000,000	500,000
7	1,000,000	100,000
8	50,000	100,000
9	500,000	500,000
10	1,000,000	250,000
<b>Promedio</b>	<b>543,500</b>	<b>176,000</b>

TABLA 3 : GRUPO COLUTORIO A

N° Paciente	1er Test	2do Test
	UFC/ml	UFC/ml
1	375,000	100,000
2	1,000,000	100,000
3	1,000,000	1,000,000
4	100,000	100,000
5	375,000	375,000
6	1,000,000	500,000
7	1,000,000	500,000
8	10,000	50,000
9	50,000	100,000
10	1,000,000	100,000
<b>Promedio</b>	<b>591,000</b>	<b>292,500</b>

TABLA 4 : GRUPO COLUTORIO B

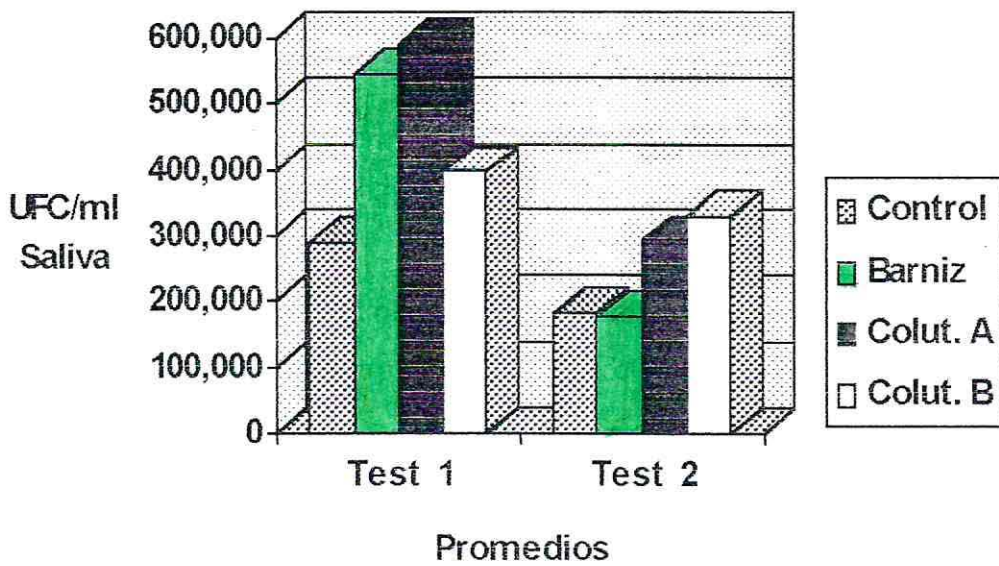
N° Paciente	1er Test	2do Test
	UFC/ml	UFC/ml
1	375,000	100,000
2	100,000	100,000
3	1,000,000	1,000,000
4	100,000	50,000
5	500,000	1,000,000
6	50,000	100,000
7	250,000	100,000
8	250,000	250,000
9	375,000	100,000
10	250,000	100,000
11	1,000,000	1,000,000
12	500,000	50,000
<b>Promedio</b>	<b>395,833</b>	<b>329,167</b>

El recuento bacteriano fue tomado a través del test microbiológico Cariescreen, el cual entrega los valores en unidades formadoras de colonias por ml de saliva (UFC/ml saliva).

Se tomaron dos test separados por un lapso de dos meses, antes y después de los tratamientos aplicados.

## GRAFICO I

COMPARACION DE LOS PROMEDIOS DE UFC/ml DE SALIVA DE LOS TEST APLICADOS ANTES Y DESPUES DE LOS TRATAMIENTOS.



## ANALISIS ESTADISTICO

Para realizar el análisis estadístico de este trabajo se utilizó el Test ANOVA, de medidas repetidas y el Test t-Pareado, indicados para evaluar comparativamente los resultados, antes y después de aplicado un tratamiento en los diferentes grupos.

Antes de aplicar los test estadísticos se transformó los valores, que estaban expresados en UFC/ml de saliva, a logaritmos en base 10, debido al crecimiento exponencial de las colonias bacterianas obtenidas en los test Cariescreen.

El análisis de varianza reveló diferencias significativas entre los valores de los 4 grupos en estudio ( $P=0.0065$ ).

Al comparar los distintos grupos mediante el test Tukey se demostró diferencias significativas entre el grupo Control y grupo Barniz y entre Control y Colutorio A. (Tabla 5)

TABLA 5. Promedios y Desviaciones Estándares en Test inicial y final (Cariescreen) para los grupos en estudio. (Valores expresados en logaritmo base 10).

Grupos	Test 1		Test 2	
	n	$\bar{x} \pm ds$	n	$\bar{x} \pm ds$
Control	11	$5.30 \pm 0.39$	11	$5.09 \pm 0.40$
Barniz	10	$5.48 \pm 0.66$	10	$5.02 \pm 0.51$
Colut. A	11	$5.48 \pm 0.70$	11	$5.27 \pm 0.43$
Colut. B	10	$5.44 \pm 0.42$	10	$5.25 \pm 0.51$

La Tabla 5 muestra que el grupo tratado con Barniz de Clorhexidina bajó en mayor proporción la cantidad de colonias bacterianas ( *S. Mutans* ) respecto a los demás grupos. Al comparar entre el Test 1 y Test 2 se observó mediante el Test t-Pareado diferencias significativas en el grupo Control y el tratado con Barniz.

## 8. DISCUSION

En estudios contemporáneos efectuados por ejemplo, por Sandham HJ y col, (1992), Ie-YL y Schacken MJ, (1993), Emilson C G, (1994), han demostrado que al aplicar barnices de clorhexidina se reduce significativamente la incidencia de caries, comparado con grupos abandonados solamente a su propia iniciativa. Esto lo apoya esta investigación, ya que el barniz de clorhexidina al 10% utilizado, redujo los niveles de S. Mutans a valores de baja probabilidad de producción de caries, comparado con los colutorios de clorhexidina al 0.1% y 0.12%.

En estudios efectuados por Bratthall D, et al (1995), Bánóczy J, et al (1995) demostraron igualmente que los barnices de clorhexidina reducen los niveles de S. Mutans a valores de bajo riesgo de producción de caries. Y aún más, Sandham HJ, et al, (1992), dijo, basado en sus trabajos, que los resultados de la aplicación de barnices de clorhexidina han variado desde una fuerte disminución, a niveles indetectables hasta por tres años.

Sin embargo, estudios hechos por Sandham J, (1993), comprueban que los barnices de clorhexidina no dan tan buenos resultados en pacientes con gran número de restauraciones. Además dice que estos paciente son más difíciles de tratar, además los sitios retentivos producto de restauraciones mal realizadas condicionan el atrapamiento de colonias que vuelven a resurgir. Sin embargo, Gomez S, (1996), y Twetman S, (1995), quienes probaron clínicamente que en pacientes con tratamiento de ortodoncia, con

aparatoología fija, bajan sus altos niveles de S. Mutans generados por acumulación de placa bacteriana alrededor de bandas y brackets durante su tratamiento, a niveles de bajo riesgo de producción de caries, al usar barnices de clorhexidina como tratamiento preventivo, lo que se demuestra también, en nuestro estudio.

Hay estudios, hechos por Schaeken MJ, et al (1991), donde comprobaron que la extensión del tiempo de supresión de crecimiento bacteriano, depende de la concentración de la clorhexidina; por ejemplo, que un barniz de clorhexidina al 40% es más efectivo que barnices de concentraciones menores. Sin embargo, Sandham J, (1993), sugiere que una sola aplicación de barniz de clorhexidina al 10% es suficiente para reducir el número de S. Mutans bajo el nivel de 250.000 ufc/ ml de saliva, o sea, bajo riesgo de producción de caries.

En todo caso, estudios hechos por Ie-YL y Schaeken, (1991), demostraron que dos aplicaciones de barniz de clorhexidina en fisuras de molares y premolares, con una semana de intervalo entre cada aplicación, fue más efectiva que un tratamiento único.

Otros autores como Petron L , et al. (1991), dicen que la terapia con barniz de clorhexidina es incapaz de erradicar completamente los S. Mutans de la boca; basándose en que siempre persiste la bacteria en focos de infección, que generalmente son los espacios interdentarios, desde los cuales las bacterias recolonizan lentamente el resto de la boca. Este pensamiento lo

apoya Kozai K, (1991), quién asegura que las recolonizaciones bacterianas son a partir de cepas paternas idénticas a las reaparecidas. Igualmente, en este trabajo, no hubo ningún caso en que se disminuyeran los niveles de S. Mutans a cero o cercano a este valor.

En cuanto a las cualidades del barniz de clorhexidina, Emilson CG, (1994), demostró que éste disminuye los niveles de S. Mutans en la saliva , más efectivamente y por más tiempo que otras preparaciones de clorhexidina, como geles y enjuagatorios. En el presente trabajo, los colutorios de clorhexidina no igualaron la eficacia del barniz de clorhexidina en reducir los niveles de S. Mutans a niveles de bajo riesgo de producción de caries.

Un aspecto interesante que surgió en este trabajo, fue que el grupo control redujo los S. Mutans a niveles más bajos que el grupo tratado con colutorio B, esto pudo deberse a un mal manejo del tratamiento por parte de los pacientes del grupo tratado con colutorio B, o simplemente que no siguieron el tratamiento indicado.

Por otra parte, está el grupo control, compuesto en su mayoría por personas que estaban ligadas al desarrollo de este trabajo. Esto pudo haberlos motivado a mejorar su higiene oral, a pesar de las indicaciones dadas.

A pesar de las virtudes del barniz de clorhexidina, KNOWELL THERAPEUTIC TECHNOLOGIES INC. , aclara que el barniz de clorhexidina puede producir efectos secundarios como : coloración café en los dientes, si no se realiza profilaxis previa, sabor desagradable, precipitado blanco y enrojecimiento o

sensación de ardor en el margen gingival. Esto ocurrió en sólo dos casos de este estudio, los cuales manifestaron presentar tinciones café en las piezas dentarias y restauraciones de composite.

Por último , es importante destacar también, que el tratamiento con barnices de clorhexidina es mucho más cómodo para los pacientes, los cuales no necesitan preocuparse de utilizar sustancias en el hogar para disminuir el riesgo de producción de caries.

## 9. CONCLUSIONES

Los pacientes libres de caries, y/o que han terminado su tratamiento restaurador habitual, mantienen sus niveles de S. Mutans en un rango de mediano a alto riesgo de producción de caries. Esto derivado de los valores de ufc/ml de saliva previos al tratamiento con clorhexidina en barniz y colutorios.

Esto indica que el tratamiento restaurador no basta para reducir los S. Mutans a niveles incompatibles con la producción de caries dental.

En base a los resultados, se ha podido comprobar, que el BARNIZ de clorhexidina es más eficaz que los enjuagatorios de clorhexidina para disminuir los S. Mutans de niveles de alto riesgo : 543 mil ufc/ ml de saliva en promedio, a niveles de bajo riesgo : 176 mil ufc/ ml de saliva en promedio del grupo que fue tratado con barniz. Esto dió un 68% de reducción de los niveles de S. Mutans comparando el resultado del cariescreen previo y posterior al tratamiento con barniz de clorhexidina.

En cuanto a los enjuagatorios, COLUTORIO A (al 0.12%), redujo los niveles de S. Mutans de un alto riesgo : 591 mil ufc/ ml de saliva en promedio del grupo tratado, a niveles de mediano riesgo : 293 mil ufc/ ml de saliva. Esto dió un 50% de reducción de los niveles de S. Mutans comparando el resultado del cariescreen previo y posterior al tratamiento con el colutorio COLUTORIO A.

El COLUTORIO B (al 0.1%), mantuvo los niveles de S. Mutans en el grupo de mediano riesgo con valores de 396 mil ufc/ ml de saliva a 329 mil ufc/ ml de saliva, comparando los resultados del cariescreen previo y posterior al tratamiento con COLUTORIO B, respectivamente. Esto da un 17% de reducción de los niveles de S. Mutans.

Por lo tanto, el tratamiento con barniz de clorhexidina fue el más efectivo en la disminución de los niveles de S. Mutans, ya que su grupo bajó de un alto recuento de S. Mutans, a un bajo recuento de S. Mutans, por un período de tiempo de dos meses. Todo esto se traduce en un cambio de un alto riesgo a un bajo riesgo cariogénico, sin olvidar los demás factores que intervienen en la producción de la caries.

Este suceso no ocurrió en ninguno de los demás grupos. Así entonces, se corrobora la hipótesis de este trabajo.

## 10. SUGERENCIAS

Todo lo anterior, dirige inmediatamente nuestro pensamiento a la implementación de programas preventivos específicos de caries dental, para grandes y pequeños grupos de pacientes que se encuentren en alto riesgo de adquirir esta enfermedad infecciosa. La cual por ende, debe ser controlada microbiológicamente para la elección de tratamientos masivos adecuados.

Dentro de esta reflexión, encontramos que el tratamiento con barnices de clorhexidina sería una muy buena medida preventiva en nuestro país. Esta medida debe realizarse asociada al tratamiento restaurador cuando los pacientes así lo requieran.

Para posteriores trabajos de esta índole, sugerimos utilizar un test microbiológico de diagnóstico de mayor especificidad que el test Cariescreen, utilizado en este trabajo.

## 11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- (1) Mariné A, Stanke F, Urzúa I. "Caries : Tratamiento de una enfermedad infectocontagiosa", Asignatura de Operatoria Dental. Facultad de Odontología. Universidad de Chile. 1997.
- (2) Anders, Thylstrup, Feijerskov. "CARIES". Edición original, Munksgaard, Copenhague - Dinamarca. 1986. 214 - 218.
- (3) Brown P, Nicolini S, Oneto JE. " CARIES ". Facultad de Odontología, Universidad de Valparaiso. Edición de la Universidad de Viña de Mar. 1991. 15 - 22.
- (4) Stanke F, Urzúa I, Riquelme A, Mariné A. "Tratamiento de la caries como enfermedad infectocontagiosa : Estudio preliminar". Cátedra de Operatoria, Departamento de Odontología Restauradora, Facultad de Odontología, Universidad de Chile. 1995.
- (5) Baratieri L. "Procedimientos preventivos restauradores". Quinta Essence, Brasil, 1992, p: 1-42.
- (6) Gomez S, Lizama G. " Riesgo Cariogénico en Pacientes Ortodonicos Portadores de Aparatología Fija." Facultad de Odontología, Universidad de Valparaiso. 1996.
- (7) Nikiforus G. " Caries Dental " Aspectos Básicos y Clínicos. Buenos Aires - Argentina. Editorial Mundi. 1986. p.529 - 36, 561 - 62.

- (8) Kristofferson K, Axelsson P, Bratthall D. "The effect of a professional tooth cleaning program on interdentially localized *S. Mutans*." *Caries Res.* 1984. 18:385 - 390.
- (9) Togelim J, et al. "S. Mutans in saliva : Intraindividual variations and relations to the number of colonized sites." *Acta Odont Scand.* 1984. 27:861 - 8.
- (10) Köhler B, Bratthall D. "Practical Method to facilitate estimation of *S. Mutans* levels in saliva." *J Clin Microbiol.* 1979. 9:584 - 8.
- (11) Zickert I, et al. "Effect of caries preventive measures in children highly infected with the bacterium *S. Mutans*." *Arch Oral Biol.* 1982. 27:861 - 8.
- (12) Reynolds J. MARTINDALE. "The Extra Pharmacopeia." The Pharmaceutical Press. London. 1989.
- (13) Gardner J F, Phil D. "CHLORHEXIDINE." *Antiseptics and Desinfectants.* 12:251 - 269.
- (14) Harald Løe C, et al. "Two years oral use of chlorhexidine in man." General Design and Clinical Effects. The Royal Dental College, Aarhus, Denmark. *J Periodontal Res.* 1976. 11:135 - 144.
- (15) Pienihakkinen K, et al. "Comparison of the efficacy of 40 % Chlorhexidine varnish and 1 % Chlorhexidine - Fluoride gel in decreasing the level of salivary *Mutans Streptococci*." Department of Cariology, University of Turku, Finland. *Caries Res.* 1995. 29:62 - 7.

- (16) Twetman S, Hallgren A. "Effect of an antibacterial varnish on mutans streptococci in plaque from enamel adjacent to orthodontic appliances." Department of Periodontics, Medical and Dental Centre, Halmstad, Sweden. *Caries Res.* 29:3. 1995. 188-91.
- (17) Bratthall D, et al. "A study into the prevention of fissure caries using an antimicrobial varnish." Lund University, Malmö, Sweden. *Int Dent J.* 45:4. 1995. 245-54.
- (18) Bánóczy J, et al. "Effect of an antibacterial varnish and amine fluoride / stannous fluoride (AmF/SnF<sub>2</sub>) toothpaste on streptococcus mutans counts in saliva and dental plaque of children." Budapest, Hungary. *J Clin Dent.* 6:2. 1995. 131-4.
- (19) Vipeholm. Dental Caries Study. "The effect of carbohydrate intake on caries activity in 436 individuals observed for five years." Sweden. *Acta Odont. Scand.* 1954.
- (20) Cheung J and O'Leary. "Anaesth & intensive Care." 1985. 13:429.
- (21) Rojo M, Salinas R, Silva M. "Eficacia de microterapéuticos In Vivo en la reducción del número de S. Mutans en saliva : NaF 0.05% y Gluconato de Clorhexidina 0.12%." Trabajo de Investigación para optar al título de Cirujano - Dentista. U de Chile. 1995.
- (22) Simposium : "Fluoración del agua potable para prevención de la caries dental." Santiago. 1995.
- (23) Jordan H, et al. "Simplified Diagnostic System for Cultural Detection and Enumeration of Streptococcus Mutans." *J Dent Res.* 1987. 66 (1):57-61

- (24) Köhler B, et al. "The effects of caries - preventive measures in mothers on dental caries and the oral presence of the bacteria *S. Mutans* and *Lactobacilli* in their children." *Arch Oral Biol.* 1984. 11:879-883.
- (25) Sandham HJ. "Criteria for the Assessment of Adverse Effects of Chemotherapy on the Oral Microflora." *J Dent Res.* 1994. 73:692-4.
- (26) Schaeken MJ M, et al. "Effect of chlorhexidine varnish on streptococci in Dental Plaque from Occlusal Fisures." *Caries Res.* 1994. 28:262-6.
- (27) Sandham HJ, et al. "Clinical trial in adults of an antimicrobial varnish for reducing mutans streptococci." *J Dent Res.* 1991. 70:1401-1408.
- (28) Alaluusua S. et al. "Streptococcus mutans, not detected." *Oral Microbiol Immunol.* 1989. 4:176-7.
- (29) Sovari R, et al. "Efficacy of chlorhexidine solution with fluoride varnishing in preventing enamel softening by *S. Mutans* in an artificial mouth." *Scand J Dent Res.* 1994. 102:206-209.
- (30) Zickert I, et al. "Effect of caries preventive measures in children highly infected with the bacterium *S. Mutans*." *Arch Oral Biol.* 1982. 27:861-8.
- (31) Yamaguchi H, et al. "The inhibitory effect of Chlorhexidine Digluconate on dental plaque formation." *Cent. Res Lab.* 1996. vol:52, n° 10.

- (32) Wennerholm K, et al. " Sucrose retention and colonization by Mutans streptococci at diferent sites of the dentition." Caries Res. 1995. 29:396 - 401.
- (33) Ie YL, et al. " Effect of single and repeated application of chlorhexidine varnish on mutans streptococci in plaque from fissures of premolar and molar teeth." Caries Res. 1993. 27:303 - 306.
- (34) Sandham HJ, et al. " The effect of chlorhexidine varnih treatment on salivary mutans streptococcal levels in child orthodontic patients." J Dent Res. 1992. 71:32 - 5.
- (35) Emilson CG. " Potential efficacy of chlorhexidine against mutans streptococci and human dental caries." J Dent Res. 1994. 73:682-91.
- (36) Mariño R, y col. " Caries experience in urban and rural Chilean 3 years olds." Community Dent Oral Epidemiol. 1995. 23:60 - 1.
- (37) Kimel L, et al. " A modified mitis salivarius medium for a caries diagnostic test." Oral Microbiol Immunol. 1991. 6:275 - 9.
- (38) Linossier A, y col. " Primer Simposium Taller de Caries y su Investigación en Chile." Odontología Chilena. 1994. 42:113 - 9.
- (39) Emilson CG. " Prevalence of Streptococcus mutans with different colonial morphologie in human plaque and saliva." Scand J Dent Res 1983. 91:26 - 32.

- (40) Alaluusua S, et al. "Slide-scoring method for estimation Of S. Mutans levels in saliva." Scand J Dent Res. 1984. 92 : 127 - 133.
- (41) Köhler B, et al. "Comparion between a micromethod and a conventional method for estimation of salivary streptococcus mutans." Scand J Dent Res. 1987. 95 : 132 - 5.
- (42) El- Nadeef MAI, et al. " Intraindividual variations in counts of mutans streptococci measured by Strip mutans method." Scand J Dent Res. 1991. 99 : 8 - 12.
- (43) Klock B & Krasse B. " A comparison between diferent methods for prediction of caries activity." Scand J Dent Res. 1979. 87 : 129 - 139.
- (44) Peterson LG, et al. " Mutans streptococci in saliva and interdental spaces after topical applications of an antibacterial varnish in school children." Oral Microbiol Immunol. 1991. 6 : 284 - 7.
- (45) Schaeken MJ, et al. " Influence of contact time and concentration of chlorhexidine varnish on mutans streptococci in interproximal dental plaque." Carie Res. 1991. 25 : 292 - 5.
- (46) Schaeken MJ, et al. " Effect of chlorhexidine varnish on streptococci in dental plaque from oclusal fissures." Caries Res. 1994. 28 : 262 - 6.
- (47) Weiger R, et al. " Effect of Chlorhexidine - containing varnish (Cervitec) on microbial vitality and accumulation of supragingival dental plaque in human." Caries Res. 1994. 28 : 267 - 71.
- (48) Lewis DW. "Another update for Canadian dentist regarding chlorhexidine varnish therapy for the prevention of dental caries." J Can Dent Asoc. 1994. 60 : 717 - 720.

- (49) Kozai K, et al. "Changes in strains of mutans streptococci induced by treatment with chlorhexidine varnish." J Dent Re. 1991. 70 : 1252 - 7.
- (50) Luoma H. "Chlorhexidine solutions, gels and varnish in caries prevention." Proc Finn Dent Soc. 1992. 88 : 3 - 4, 147 - 53.
- (51) Knowell Therapeutic Technologies, Inc. "CHLORZOIN : Tratamiento tópico para la infección del S. M." Toronto. Canadá.