

MARC
546

R. 15567



**Universidad
de Valparaíso**
CHILE

T
R741E
2014



EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LAS TINCIONES PROVOCADAS POR DOS MARCAS COMERCIALES DE CLORHEXIDINA ASOCIADAS A TÉ NEGRO

Trabajo de Investigación
Requisito para optar al
Título de Especialista de
Periodoncia e Implantología

Residente: Dra. Carla Rojas González

Directora Del Programa
Prof. Dra. Gianina Canepa Martin
Docente Guía Prof. Dr. Jorge Godoy Olave
Cátedra de Periodoncia

Valparaíso - Chile
2014

ÍNDICE

Introducción	1
Marco Teórico	2
I. Color dentario y su percepción	2
II. Rol de la película adquirida en la tinción dentaria extrínseca	8
III. Elementos que inducen la tinción dentaria extrínseca	9
IV. Métodos de medición del color dentario	17
Objetivos	20
Hipótesis	21
Materiales y Método	21
Resultados	26
Discusión	33
Conclusiones	36
Sugerencias	37
Resumen	38
Bibliografía	39
Anexos	43

INTRODUCCIÓN

Según estudios recientes, Chile es el país con mayor consumo per cápita de té en Latinoamérica, siendo el té negro el tipo de té que más se consume. Asimismo, la clorhexidina es el antiséptico más usado en Periodoncia, debido a sus excelentes propiedades. La clorhexidina es comercializada como colutorio en concentraciones de 0,05% y 0,12%, existiendo diferentes marcas comerciales, pudiéndose también encontrar en dentífricos (0,12%), geles (1%), etc.

Tanto el consumo de té negro como el uso prolongado de clorhexidina causan tinciones extrínsecas en los dientes, por lo cual el uso de estos dos productos puede generar un mayor riesgo de tinción dentaria en nuestros pacientes, ya que la tinción dentaria producida por la clorhexidina puede ser inducida por compuestos cromógenos presentes en la dieta como el té, el café y el vino tinto.

Los cambios en el color del esmalte dentario producido por el uso de clorhexidina en combinación con la ingesta de té negro pueden generar problemas estéticos, que van a ser de gran preocupación para los pacientes y que nosotros como odontólogos tendremos que solucionar, lo que no reviste mayor complejidad, pero involucra tiempo.

Considerando los antecedentes anteriormente descritos, es de gran importancia determinar los cambios de color en el esmalte dentario que producen diferentes marcas comerciales de clorhexidina en combinación con té negro, de manera de poder advertir y/o prevenir posibles efectos adversos de interés para los pacientes.

MARCO TEÓRICO

I. COLOR DENTARIO Y SU PERCEPCIÓN

A. Color dentario

Los dientes presentan variados colores graduados que se extienden desde el margen gingival hasta el borde incisal. El margen gingival, frecuentemente, tiene una apariencia más oscura, debido a la aproximación de la dentina bajo el esmalte. En la mayoría de las personas los caninos son más oscuros que los incisivos centrales y laterales, y las personas más jóvenes se caracterizan por tener los dientes más claros, sobre todo en la dentición temporal. Los dientes se vuelven más oscuros a medida que la edad fisiológica avanza y esto se puede deber, por ejemplo, a la aposición de dentina secundaria, a la incorporación de tinciones extrínsecas y al desgaste gradual del esmalte, permitiendo la influencia en el color en la dentina subyacente. Además, el desgaste dentario y las recesiones gingivales pueden afectar directamente o indirectamente el color dentario (Watts y Addy, 2001).

Tanto para la percepción del color como para su descripción, las condiciones en que se observa son muy importantes y variables, pudiendo afectar el color aparente del diente. Estas condiciones son: la fuente de luz, la hora del día, las condiciones del entorno y el ángulo desde el cual se mira. La luz se compone de distintas longitudes de onda y el mismo diente visto desde diferentes condiciones puede presentar un color diferente, fenómeno conocido como metamerismo (Watts y Addy, 2001).

El color puede ser descrito de acuerdo a las propiedades de Munsell: tonalidad o matiz; valor, brillo o luminosidad y croma (Watts y Addy, 2001; Henostroza y cols., 2006):

✓ Tonalidad o matiz: Corresponde a un intervalo de longitud de onda en que se descompone la luz blanca. Es el término descriptivo, que permite distinguir entre diferentes familias de colores, por ejemplo: rojos, azules o verdes (Watts y Addy, 2001; Henostroza y cols., 2006).

✓ Valor, brillo o luminosidad: Es la propiedad que distingue los colores claros de los oscuros. El blanco es el color de mayor brillo, el negro es el opuesto y entre medio existe una gama de grises cuyo valor dependerá de la proporción de su combinación, es decir, corresponde a la relativa claridad u oscuridad de un color en una escala desde el negro al blanco. Cuanto más gris es un color menor será su valor; por el contrario, cuanto más se aproxime al blanco será más brillante, reflejando más luz, mayor valor (Watts y Addy, 2001; Henostroza y cols., 2006).

✓ Croma: Es el grado de saturación o intensidad del tono, por ejemplo: de rosado a carmesí (tono: rojo). La pureza de un tono expresa la vivacidad o palidez del mismo. También se define por la cantidad de gris que contiene un color. Más gris en su proporción menos saturado es el croma (Henostroza y cols., 2006; Watts y Addy, 2001).



Figura 1. Representación gráfica tridimensional del valor, croma y tono (Henostroza y cols., 2006).

Millar y cols., 1987, sugirieron la adición de una cuarta dimensión para este sistema de color de tres dimensiones, en la forma de opacidad/translucidez (Watts y Addy, 2001).

La percepción del color y sus propiedades se alteran si el objeto se observa a través de un elemento transparente, traslúcido con o sin opalescencia. Las superficies con distinto grado de textura y pulido también producen diferencias en la apreciación del color. En cuanto al esmalte dentario, la luz incidente lo atraviesa como un elemento traslúcido, dispersándose parcialmente en su espesor y reflejando el resto en la dentina que actúa como elemento opaco de reflexión (Henostroza y cols., 2006).

Los dientes, especialmente el esmalte, son elementos fluorescentes que responden adecuadamente a estímulos de las luces con componentes ultravioletas. Cuando la luz atraviesa el esmalte natural y encuentra un obstáculo de menor longitud de onda como los cristales de hidroxiapatita ($16\mu\text{m} \times 0.04\mu\text{m}$) produce tonos azulados similares al ópalo (Henostroza y cols., 2006).

La percepción del color está influenciada por tres factores: la fuente de luz, que puede emitir energía radiante en un rango de longitudes de onda y esta se caracteriza por una cantidad relativa de energía emitida en cada longitud de onda del espectro visible; el objeto que se está viendo, ya que el reflectante espectral de un objeto determina el color característico del diente; y el observador que mira el objeto, puesto que su sistema visual y finalmente el cerebro afecta la percepción del color en su forma integral (Joiner, 2004).

La porción coronal de un diente está compuesta de esmalte, dentina y pulpa. Cualquier cambio de estas estructuras probablemente causará una alteración en la apariencia externa del diente ocasionada por sus propiedades de transmisión y reflejo de luz (Watts y Addy, 2001).

B. Cambios en el color dentario

➤ Clasificación

La decoloración dentaria ha sido clasificada siempre de acuerdo a la localización de la tinción, que puede ser intrínseca o extrínseca. Asimismo, es posible agregar a esta clasificación si la tinción esta internalizada (Watts y Addy, 2001).

i. Tinción intrínseca

Esta tinción sucede luego de un cambio en la composición estructural o grosor de la dentina. El color normal de un diente está determinado por los tintes: azul, verde y rosado del esmalte, que son reforzados por un fondo que va entre el amarillo y el café de la dentina subyacente. Se ha determinado que enfermedades metabólicas y factores sistémicos afectan el desarrollo de la dentición y causan decoloración como consecuencia. Igualmente, factores locales e injurias también pueden provocar este efecto (Watts y Addy, 2001).

La formación de decoloración dentaria intrínseca ocurre durante el desarrollo que resulta en una alteración de las propiedades de transmisión de la luz de la estructura dentaria. Numerosas alteraciones metabólicas pueden afectar la dentición durante su formación, como por ejemplo: alcapnórea, porfiria eritropoyética congénita, hiperbilirrubinemia congénita, amelogénesis imperfecta, dentinogénesis imperfecta, tinción por tetraciclina, fluorosis, hipoplasia de esmalte, productos hemorrágicos pulpaes, reabsorción radicular y envejecimiento (Watts y Addy, 2001).



Figura 2. Amelogenesis imperfecta (Watts y Addy, 2001).

ii. Tinción extrínseca

Este tipo de tinción se debe a sustancias pigmentadas que se pueden depositar sobre la película adquirida sin afectar la composición estructural de el o los dientes afectados. Se ha asociado a la absorción de materiales tales como: té, vino tinto, antisépticos catiónicos (clorhexidina y cloruro de cetilpiridinio) y sales de hierro (Joiner, 2004).

La película adquirida tiene una tendencia a desarrollar tinciones, especialmente en aquellas áreas de la dentición que son inaccesibles para el cepillado y la acción abrasiva de los dentífricos (Forward, 1991; Joiner y cols., 2003).

Las causas de tinción extrínseca pueden ser divididas en dos categorías: directas, producidas por aquellos compuestos que son incorporados en la película adquirida y producen tinción como resultado de su color de base, e indirectas, generadas por aquellos compuestos que producen una tinción provocada por una interacción química en la superficie del diente (Watts y Addy, 2001).

- Tinción dentaria extrínseca directa

Tiene una etiología multifactorial con cromógenos derivados de fuentes dietéticas o habitualmente puestos en boca. Los cromógenos orgánicos son captados por la película adquirida y el color obtenido está determinado por el color natural del cromógeno. Se sabe que fumar y/o mascar tabaco causan tinción, así como bebidas particulares tales como té y café. Se cree que los cambios de color que se observan en los dientes derivan de los compuestos polifenólicos presentes en la dieta (Watts y Addy, 2001).



Figura 3. Tinción dentaria extrínseca directa (consumo de café) (Bonilla y cols., 2007).

- Tinción dentaria extrínseca indirecta

Este tipo de tinción se asocia a cationes antisépticos y sales metálicas. El agente no posee color o posee un color diferente a la tinción que produce sobre la superficie dentaria (Watts y Addy, 2001).



Figura 4. Tinción dentaria extrínseca indirecta (uso de clorhexidina) (Bonilla y cols., 2007).

Watts y Addy (2001) también clasifican las tinciones extrínsecas según su origen en: metálicas y no metálicas.

- Tinciones dentarias extrínsecas metálicas

Este tipo de tinciones dentarias extrínsecas pueden asociarse a ciertas terapias ocupacionales relacionadas con sales metálicas, por ejemplo: trabajadores en fundiciones de hierro presentan regularmente tinciones dentarias negras características. También se pueden asociar a medicamentos que contengan sales metálicas. Algunos metales tienen colores asociados, por ejemplo: el permanganato de potasio produce un color que va del violeta a negro cuando es usado en colutorios; sales de nitrato de plata usada en odontología causan un color gris y el fluoruro de estaño causa una decoloración café/dorada (Watts y Addy, 2001).

- Tinciones dentarias extrínsecas no metálicas

Las tinciones extrínsecas no metálicas son adsorbidas encima de depósitos de la superficie dentaria tales como placa o película adquirida. Los posibles agentes etiológicos incluyen componentes dietéticos y medicamentos. Se ha observado que ciertas tinciones están asociadas con determinados hábitos, por ejemplo: tinciones verde/naranja en niños con higiene oral deficiente y tinciones negro/café en niños con buena higiene oral y baja experiencia de caries. No se ha reportado evidencia conclusiva acerca del mecanismo cromógeno de las bacterias (Watts y Addy, 2001).

Cabe destacar que debido a que las tinciones extrínsecas están en la superficie del diente, éstas pueden ser removidas por la acción abrasiva de pastas profilácticas y controladas por el uso regular de ciertas pastas dentales (Joiner, 2004).

iii. Tinción internalizada

Corresponde a la incorporación de la tinción dentaria extrínseca dentro de la estructura dental, una vez erupcionado el diente. Se produce debido a la presencia de defectos en el esmalte y exposición de la dentina. Los pigmentos pueden llegar a ser internalizados a través de defectos del desarrollo o defectos adquiridos (Watts y Addy, 2001).

- Defectos del desarrollo

Los defectos del desarrollo generan un cambio en el color causado por la influencia en la transmisión de la luz a través de la dentina y el esmalte. Los cambios se producen una vez erupcionado el diente, ya sea por un aumento en la porosidad o por la presencia de defectos del esmalte, por lo tanto las tinciones pueden penetrar dentro de éste. Un ejemplo corresponde a la fluorosis y otras condiciones del esmalte que resultan en una hipoplasia o hipocalcificación. Además, estos defectos pueden exponer dentina tanto en forma directa como tardía causada por la pérdida temprana de esmalte, como por ejemplo en la dentinogénesis imperfecta. Por lo tanto, los cromógenos son capaces de entrar en la dentina directamente o a través de su sistema de túbulos (Watts y Addy, 2001).

- Defectos adquiridos

Con el transcurso de los años, el uso, desgaste y lesiones de los dientes y tejido periodontal, pueden provocar directa o indirectamente tinción dentaria. Además las restauraciones, desgaste dentario, recesiones gingivales, caries, amalgamas, etc., pueden influenciar el color dentario (Watts y Addy, 2001).



Figura 5. Recesión gingival con decoloración de la dentina (Watts y Addy, 2001).

II. ROL DE LA PELÍCULA ADQUIRIDA EN LA TINCIÓN DENTARIA EXTRÍNSECA

La película adquirida salival corresponde a una biopelícula, libre de bacterias, que cubre los tejidos bucales blandos y duros. Sus componentes más abundantes son: proteínas, glicoproteínas, enzimas (amilasa, lisozima, anhidrasa carbónica, glucosiltransferasa y fructosiltransferasa) y mucinas o sus derivados. Teóricamente, todas las enzimas presentes en la cavidad oral podrían ser incorporadas en la biopelícula, pero al parecer el proceso de adsorción de las enzimas es selectivo. Dentro de las funciones de la película adquirida se encuentran:

- Lubricar las superficies dentarias para prevenir el desgaste.
- Formar una barrera anti-erosiva y buffer.
- Servir como reservorio de electrolitos para la remineralización
- Presentar propiedades antimicrobianas.
- Jugar un rol en la colonización bacteriana de las superficies dentarias, mediante la adherencia

La película adquirida es una unidad ecológica vital, siempre cambiante y dinámica, en la que se aprecia una constante absorción y desorción de biomoléculas (Hannig y cols., 2005; Hannig y Hannig, 2009).

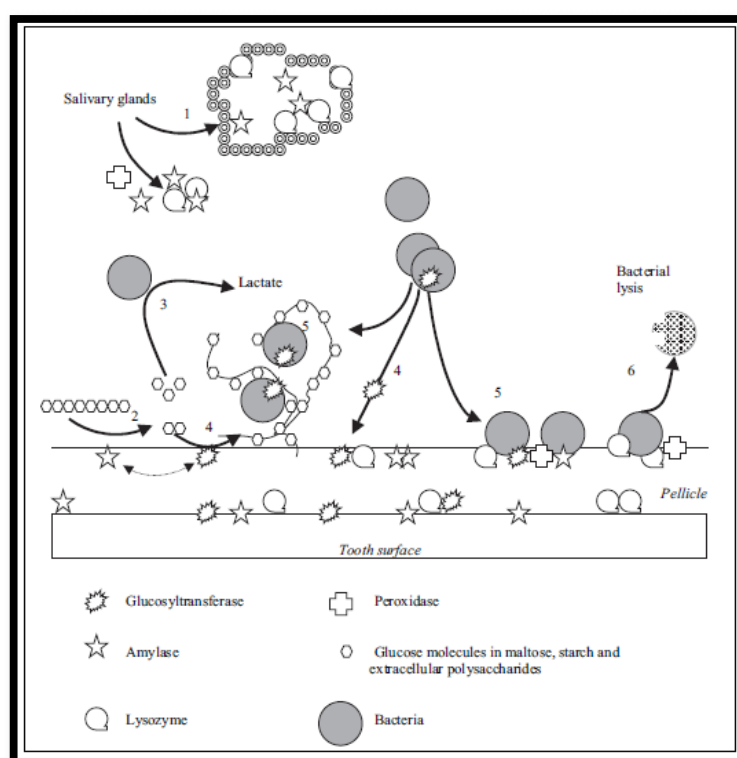


Figura 6. Esquema de la película adquirida (Hannig y cols., 2005).

El proceso de tinción dentaria puede estar influenciado por ciertos tipos de proteínas salivales que constituyen la película adquirida: proteínas ricas en prolina ácidas, estaterinas, histatinas y cistatinas (Jensen y cols., 1992; Carpenter y cols., 2005; Proctor y cols., 2005).

La saliva contiene elevadas proporciones (más de un 70%) de proteínas ricas en prolina. Las proteínas ricas en prolina ácidas, junto con las estaterinas y las histatinas, tienen una alta afinidad por la hidroxiapatita y son importantes componentes de la película adquirida. A su vez, las proteínas ricas en prolina básicas y las histatinas tienen una alta afinidad por los polifenoles de la dieta. (Hagerman y Butler, 1981; Bennik y Yan, 1995; Lamkin y cols., 1996; Proctor y cols., 2005).

Las proteínas salivales específicas se unen a la hidroxiapatita, el mayor componente mineral del esmalte. No obstante, si los polifenoles que se unen a las proteínas, también se unen al diente, generando un potencial para que se produzca tinción. Se ha determinado *in vitro* que la hidroxiapatita se une específicamente con estaterinas, proteínas ricas en prolina y algunas histatinas, por lo cual se puede deducir que algunas proteínas salivales, incluyendo las proteínas ricas en prolina, pueden mediar un incremento en la tinción del esmalte por polifenoles (Proctor y cols., 2005). Los polifenoles son metabolitos secundarios de las plantas, que se combinan rápidamente con proteínas y pueden inactivar enzimas (Bennick, 2002; Carpenter y cols., 2005).

En resumen, se puede establecer que la película adquirida jugaría un rol importante en el desarrollo de las tinciones dentarias extrínsecas por polifenoles.

III. ELEMENTOS QUE INDUCEN LA TINCIÓN DENTARIA EXTRÍNSECA

Generalmente, las tinciones extrínsecas son producidas por:

- ✓ Ingesta dietética de comidas ricas en taninos (té, vino tinto, café, algunas frutas, etc).
- ✓ Uso de ciertos agentes catiónicos (clorhexidina, cloruro de cetilpiridinio)
- ✓ Otros (fumar tabaco, higiene oral deficiente) (Addy y Moran, 1995; Watts y Addy, 2001; Joiner y cols., 2003; Joiner, 2004).

A. Efectos de la dieta en la tinción dentaria

Se ha determinado que algunos individuos son más susceptibles a las tinciones que otros, sin embargo, el porqué de esta situación no está claro (Watts y Addy, 2001).

La dieta tiene un papel fundamental en el proceso de tinción dentaria y se sabe que alimentos como el té, el café y el vino tinto, ricos en polifenoles, son responsables de tinciones dentarias presentes en algunos individuos (Addy y Moran, 1995; Proctor y cols., 2005).

Los polifenoles son un diverso grupo de sustancias comúnmente encontrado en plantas, varían desde pequeños flavonoides, tales como las catequinas de té verde y antocianinas de la cáscara de uva, a estructuras altamente polimerizadas que contienen más de 50 moléculas de flavonol, tales como las teaflavinas (1 kDa) y tearubiginas (> 1 kDa) (Bennick, 2002; Proctor y cols., 2005).

Dentro de los elementos presentes en la dieta se destaca el té como una bebida que posee un elevado potencial de tinción dentaria. Se ha determinado que en la composición del té negro se encuentra uno de los mayores grupos de polifenoles - teaflavinas (amarillo) y tearubiginas (café), las cuales le otorgan su olor y sabor característico (Addy y Moran, 1995; Carpenter y cols., 2005). Las teaflavinas forman una pequeña fracción (2%) del peso en seco del té y son estructuras muy pequeñas (300 a 500 MW), mientras que las tearubiginas forman entre el 10 – 15% del peso en seco del té y su estructura es muy variable y generalmente mucho más larga (aproximadamente 3000 MW) (Haslam, 2003; Carpenter y cols., 2005).

El té es capaz de interactuar con muchas proteínas salivales, principalmente con proteínas ricas en prolina e histatinas (Carpenter y cols., 2005).

B. Té

El té se obtiene de una laurácea, taxonómicamente clasificada como *Camellia sinensis*, un árbol que puede alcanzar varios metros de altura de la familia *camelliae*, del género *Thea*, que se produce en zonas de humedad alta y de temperaturas no extremas, pero independientemente de la altura a nivel del mar. Es originario del sudeste asiático: India, sur de China, Birmania, Vietnam, Tailandia. Se introdujo en Ceilán a fines del siglo XIX, hacia 1900 en Rusia (Cáucaso), África tropical (Kenia) y a mediados del siglo XX en Medio Oriente (Pradeau, 1998; Schmidt-Hebbel, 1990, Valenzuela, 2004). Dentro de sus variedades las más importantes son el té negro y el té verde (Schmidt-Hebbel, 1990).

El té negro experimenta fenómenos de oxidación enzimática y su preparación consta de varias etapas (Schmidt-Hebbel, 1990):

i. Marchitamiento: Las hojas son dejadas al aire durante un período de tiempo de entre 12 a 24 horas, a no más de 30°C, para volverlas blandas y flexibles. Hay pérdida de humedad, glúcidos, y a la vez hay liberación de aminoácidos.

ii. Arrollamiento: Se realiza en máquinas giratorias durante media a una hora. En esta etapa se destruyen las células, se mezclan sus componentes y se produce el contacto de la polifenoloxidasas con sus substratos. Una vez que las hojas se han secado al tacto, éstas se someten a la fermentación.

iii. Fermentación: A una temperatura de entre 25-40°C, en cámaras cerradas. Parte de los componentes astringentes se vuelve hidrosoluble, eliminándose su sabor acre y liberándose la esencia. El proceso dura entre 2 y 3 horas, hasta que las hojas toman un color rojo cúprico, pues los componentes polifenólicos como los ácidos clorogénico y gálico y sus ésteres, especialmente el galato de galacatequina, son transformados primeramente en quinonas de este color por acción de las polifenolixidas. Pero las quinonas son inestables y generan con el O₂ del aire productos condensados de oxidación, de color negruzco, de propiedades semejantes a los taninos y de carácter polifenólico, con alto peso molecular, formándose así un complejo sistema redox. A la vez se forman, por nuevas oxidaciones, otros pigmentos como la teaflavina.

iv. Deseccación: Se realiza a una temperatura de 95°C, con aire caliente hasta que las hojas negras ya no se doblan sino que se quiebran. Así la fermentación es detenida, y en cierto modo, fijada la composición química.

v. Selección: Por tamices o grosor. Las hojas se aromatizan dejándolas 24 horas en recipientes cerrados, en capas superpuestas, con flores partidas de gardenia, jazmín, rosa, magnolia. Después se separan por tamización.

Finalmente se obtiene una infusión rojo castaño, olor aromático y sabor astringente (Schmidt-Hebbel, 1990).

En la composición química del té, el constituyente activo es la cafeína, que se encuentra en un 1.5 a 4%, pero comparado con el café, la acción fisiológica de este último es mayor, debido a su tostado y también a que el estado de combinación de la cafeína es distinto. En el té casi la totalidad de la cafeína se encuentra combinada con polifenoles y tanatos insolubles en los ácidos diluidos y sólo solubles en aclálsis; de tal modo que al ingerirse el infuso de té, en el estómago no es absorbido por haber reacción ácida, haciéndolo únicamente en el intestino (Schmidt-Hebbel, 1990).

El extracto etéreo está constituido por cera vegetal, resina, clorofila y aceites esenciales con más de 20 componentes aromáticos, como diversos alcoholes y aldehídos, además de: proteína vegetal, pequeña cantidad de azúcares reductores, celulosa y sustancias pécticas. Las cenizas son ricas en potasio y manganeso, por lo cual son frecuentemente de color verdoso (Schmidt-Hebbel, 1990).

Investigaciones han establecido que el té negro produce tinción dentaria extrínseca. Un estudio *in vivo* determinó que la cantidad de tinción extrínseca formada en un período de más de 6 semanas con un cepillado normal, se correlacionaba con la cantidad de consumo de té, entregando evidencia de que componentes del té están involucrados en la formación de tinciones extrínsecas (MacPherson y cols., 2000).

Joiner y cols. (2003) determinaron que deposiciones de los componentes del té negro se adsorben en la película adquirida y que ésta produce un incremento en la tinción dentaria. En este mismo estudio se determinó que componentes del té negro producen un profundo efecto en la maduración de la película adquirida *in vitro*, provocando la acumulación de capas de materiales de tinción de mayor espesor, la cual no se remueve rápidamente.

➤ Consumo de té en Chile

El té es la bebida caliente más consumida en Chile, 13.352 toneladas en el 2013 duplicando el consumo de café, y es el país con el consumo per cápita más alto en Latinoamérica (0,76 kilos por persona). El té tiene una penetración de mercado de casi el 100% con diferentes variedades de té, aunque el más consumido es el té negro (Euromonitor International, 2013).

C. Clorhexidina

La clorhexidina es el antimicrobiano más estudiado y más eficaz para la inhibición de la placa. La inhibición de la placa dental por la clorhexidina fue investigada por primera vez por Schroeder y luego por Løe y Schiott (Serrano y cols., 2006).

La fórmula química de la clorhexidina es $C_{22} H_{30} Cl_2 N_{10}$, pertenece al grupo de antisépticos bisbiguanídicos, de molécula simétrica, compuesta de dos anillos clorofenólicos y dos grupos de biguanida conectados por un puente central de hexametileno. Es una base fuerte y dicatiónica a niveles de $pH > 3.5$, con dos cargas más a cada extremo (Serrano y cols., 2006; Addy y Moran, 2009). A pH fisiológico es una larga molécula dicatiónica con la carga positiva distribuida sobre los átomos de nitrógeno en cualquiera de los dos lados del puente de hexametileno, por lo que tiene la capacidad de adsorberse sobre superficies cargadas negativamente en la cavidad bucal tales como: saliva, mucosa, película adquirida, superficies de paredes bacterianas y dientes para luego ser liberada lentamente, de modo que se mantiene en la saliva en niveles de efectividad por a lo menos 8 horas (Jones, 1997). Dada su naturaleza dicatiónica, a través de una de sus cargas terminales interactúa con la superficie dentaria y la otra remanente queda disponible para interactuar con la membrana celular bacteriana y alterarla (Jones, 1997). El efecto antiséptico de la clorhexidina es de amplio espectro e incluye: bacterias gram positivo y negativo, hongos y levaduras (Emilson, 1997) e inactiva algunos virus lipofílicos, por ejemplo: virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) (Harbison y Hammer, 1989).

La clorhexidina, un catión, es químicamente incompatible con jabones y otros materiales aniónicos. Es sabido que al interactuar con aniones forma sales de baja solubilidad (Barkvoll y cols., 1988; Kirkegaard y cols., 1974), por lo tanto la interacción entre la CHX y materiales aniónicos presentes en dentífricos tales como monofluorofosfato sódico (Na_2FPO_3)(MFP) y lauril sulfato de sodio ($C_{12}H_{25}NaO_4S$ - SLS, detergente sintético) podrían producir inactivación o reducción de su efecto antibacteriano, aparentemente debido a atracciones iónicas de aniones y cationes (Kolahi y Soolari, 2006).

La clorhexidina ha demostrado ser eficaz como agente antimicrobiano a distintos niveles:

- i. Acción antimicrobiana: A bajas concentraciones produce un aumento de la permeabilidad de la membrana plasmática, desarrollando un efecto bacteriostático. A concentraciones más altas produce la precipitación del citoplasma y muerte celular, produciendo un efecto bactericida. El biofilm dental presenta una mayor resistencia frente a los distintos antimicrobianos, por lo que éstos deben evidenciar su capacidad para actuar sobre el biofilm. La clorhexidina ha demostrado en distintos estudios su capacidad para penetrar y actuar sobre el biofilm, desarrollando un efecto bactericida en el mismo o alterando su formación (Serrano y cols., 2006).
- ii. Acción inhibidora de la placa: La molécula de clorhexidina se unirá por un catión a la superficie del diente, dejando los otros libres para interactuar con las bacterias que intentan colonizar la superficie del diente, interfiriendo así con la adhesión bacteriana. También se unirá a

las glicoproteínas salivares, reduciendo la formación de la biopelícula sobre el diente (Serrano y cols., 2006).

Dada su función y mecanismos de acción, dentro de sus indicaciones se encuentran (Addy y Moran, 1997; Bascones y Morante, 2006):

- Auxiliar de la higiene bucal y de la profilaxis profesional: En la preparación prequirúrgica de los pacientes periodontales.
- Después de la cirugía bucal, incluida la cirugía periodontal, y la terapia periodontal: Previene la formación de placa en los momentos en que la higiene puede ser más dificultosa.
- En pacientes con fijación de mandíbula.
- En discapacitados físicos y psíquicos.
- En pacientes médicamente predisuestos a las infecciones bucales: transplantados de médula, radiados, leucémicos, VIH., etc.
- En pacientes con alto riesgo de caries, ya que la clorhexidina reduce considerablemente el número de *S. Mutans* en las personas propensas a la caries.
- Úlceras bucales recurrentes: Reduce la incidencia, duración y gravedad de las úlceras aftosas recurrentes.
- En pacientes portadores de aparatos ortodóncicos donde el control de placa en las primeras semanas es complicado.

La utilización prolongada de clorhexidina no está asociada a cambios en la flora oral o a la aparición de cepas resistentes. Se han descrito los siguientes efectos secundarios tras la utilización de la clorhexidina (Serrano y cols., 2006):

- Reacciones de hipersensibilidad.
- Sordera neurosensorial (si se introduce clorhexidina en el oído medio).
- Gusto amargo y alteraciones en el gusto: Las sensaciones del gusto más afectadas serían “lo salado” y “lo amargo”. La alteración del sentido del gusto es reversible y desaparece poco tiempo después de suspender el uso del producto.
- Tumefacción parotídea uni o bilateral.
- Pigmentación de los dientes, de algunos materiales de restauración y del dorso de la lengua.
- Erosión de la mucosa.
- Alteraciones en la cicatrización: Algunos estudios *in vitro* han demostrado cierta acción de la clorhexidina en la inhibición de la proliferación de cultivos de fibroblastos. Sin embargo, no se ha encontrado en estudios *in vivo* que la utilización de clorhexidina a las concentraciones habituales, tras la realización de procedimientos de cirugía periodontal, produzca alteraciones en la cicatrización, si no que por el contrario se encontró una más rápida remisión de los síntomas inflamatorios.
- Su uso parece favorecer la formación de cálculo supragingival.

En estudios *in vitro* se ha sugerido que a nivel celular la CHX puede tener efectos adversos en el tejido oral, en concentraciones usadas clínicamente. Se ha reportado que:

- Posee actividad citotóxica en cultivos de células de hueso alveolar (Cabral y Fernández, 2007), osteoblastos, células endoteliales y fibroblastos gingivales (Gianelli y cols., 2008).

- Induce una reducción dosis dependiente de la proliferación de fibroblastos gingivales humanos y de la síntesis de proteínas tanto colágenas como no colágenas en concentraciones que tienen poco efecto en la proliferación celular (Pucher y Daniel, 1992; Mariotti y Rumpf, 1999).
- Previene la adherencia de fibroblastos a las superficies radiculares e interfiere con la regeneración periodontal (Alleyn y cols., 1991).
- Es capaz de inducir daño al DNA en leucocitos y células de la mucosa oral de ratas tratadas diariamente con el compuesto (Ribeiro y cols., 2004).
- Exhibe efectos genotóxicos en células epiteliales y sanguíneas cuando es usado como colutorio bucal en pruebas clínicas (Eren y cols., 2002).

No obstante, en modelo de ratón posee un marcado efecto antiinflamatorio (Hourihaddad y cols., 2008).

En odontología, la clorhexidina se suele usar en forma de digluconato en solución alcohólica o acuosa. Es soluble en agua a pH fisiológico (7,4 +/- 0,2) y se disocia rápidamente liberando su carga positiva. De aplicación tópica se utiliza como agente activo en colutorios en concentraciones al 0.05% y 0.12%. También se utiliza en endodoncia como solución para irrigación intraconductos al 2% y en cirugía para la formulación de jabones de mano para lavados quirúrgicos al 4% (Addy y Moran, 2009).

De los distintos efectos secundarios, la pigmentación de los dientes, materiales de restauración y el dorso de la lengua, es el que se presenta en la mayoría de los pacientes. Se han barajado distintos mecanismos posibles productores de la pigmentación, algunos de ellos discutibles (Serrano y cols., 2006; Addy y Moran, 2009):

✓ *Degradación de la molécula de clorhexidina a paracloranolina*

La clorhexidina cuando está almacenada no parece degradarse para liberar paracloranolina, ni tampoco en los procesos metabólicos. También se ha visto que otras bisbiguanidas que carecen de grupos paracloranolínicos causan pigmentaciones parecidas a las de la clorhexidina.

✓ *Catálisis de la reacción de Maillard*

La reacción entre un azúcar y una proteína es conocida como reacción de Maillard o “browning” no enzimático (Watts y Addy, 2001). Las reacciones no enzimáticas de pigmentación parda (reacción de Maillard) producidas por la clorhexidina serían una posibilidad teórica. Sin embargo, la evidencia es indirecta y poco concluyente. La teoría no considera el hecho de que otros antisépticos y metales como el estaño, el hierro y el cobre también producen manchas en los dientes.

✓ *Desnaturalización proteínica con formulación sulfurosa metálica*

La desnaturalización proteínica producida por la clorhexidina con la interacción entre los radicales sulfuro expuestos y los iones metálicos también es una posibilidad teórica, pero no existen evidencias directas y no se ha podido reproducir este proceso en estudios *in vitro*. Tampoco se toma en cuenta las tinciones similares producidas por otros iones metálicos y antisépticos.

✓ *Precipitación de cromógenos dietéticos aniónicos*

La mayor parte de los estudios *in vitro* y clínicos apoyan la teoría de la precipitación de los cromógenos aniónicos presentes en la dieta por los antisépticos catiónicos. Los antisépticos o iones metálicos unidos a la mucosa o a los dientes pueden reaccionar con polifenoles en componentes de la dieta para producir pigmentaciones. Las bebidas como el té, café y vino tinto son particularmente cromógenas.

La intensidad de la coloración parece tener relación con la frecuencia de consumo de alimentos con sustancias colorantes, como café, té, vino, tabaco, etc. y con la concentración del producto activo en los distintos preparados comerciales. El mecanismo responsable de la coloración es indicativo también del poder en la acción antibacteriana. Así, distintos estudios han encontrado que aquellos preparados que producen menores tinciones, también muestran menor capacidad antibacteriana (Addy y cols., 1979; Claydon y cols., 2001).

Las tinciones producidas por la clorhexidina se pueden clasificar como tinciones indirectas, ya que no es el producto en sí el que provoca la tinción, sino una reacción química de la molécula de clorhexidina al contacto con productos ricos en taninos (café, té o vino tinto) o la reacción entre las proteínas desnaturalizadas del biofilm y la clorhexidina, formándose compuestos pigmentados (Nathoo, 1997).

➤ *Efecto provocado por el uso combinado del té negro con la clorhexidina en la tinción dentaria extrínseca*

Se ha demostrado *in vitro* que muchos de los componentes de la dieta, entre los cuales se incluye el té, producen una tinción más rápida y marcada sobre bloques acrílicos (perspex) bañados previamente con clorhexidina, que los que solo fueron bañados con el antiséptico (control) (Addy y cols., 1979).

Otro estudio *in vitro* demostró que el té y la clorhexidina por separado se unen en pequeñas cantidades a la hidroxiapatita. Sin embargo, cuando fueron testeadas en forma combinada, la captación de ambos a la hidroxiapatita fue mayor. Por otra parte, la película adquirida redujo la captación de té en combinación con clorhexidina a la hidroxiapatita, pero por el contrario, incrementó la captación de tanto el té como la clorhexidina en forma aislada. Se concluyó que las proteínas salivales juegan un rol importante en el proceso de tinción dentaria y la combinación de té con clorhexidina aparentemente es un factor muy potente de tinción (Carpenter y cols., 2005).

D. Cloruro de Cetilpiridinio

El cloruro de cetilpiridinio es un compuesto monocatiónico. Corresponde a un compuesto cuaternario del nitrógeno cloruro de 1- hexa-decil piridinio con actividad antimicrobiana frente a muchos microorganismos, incluidos virus. Sus propiedades físicas y químicas están bien descritas. Está clasificado como un agente catiónico y contiene un radical cetil substituido por un átomo de hidrógeno en posición 1. En ácido clorhídrico forma una sal clorada. El radical cetilo proporciona una zona lipofílica a la molécula, contribuyendo al balance hidrofílico/lipofílico, que es necesario para su actividad antimicrobiana. La actividad antimicrobiana depende de la

posición de la carga molecular respecto de las bacterias que tienen una carga negativa. Esta colocación permite a la porción hidrofílica del cloruro de cetilpiridinio interactuar con la membrana de la célula, resultando en una pérdida de componentes celulares, una disrupción del metabolismo celular, una inhibición del crecimiento celular, y muerte de la célula. Debido a que la región hidrofílica cargada positivamente es crítica en su actividad antimicrobiana, cualquier formulación que disminuye la actividad del grupo catiónico o que compromete a este grupo puede inactivar el producto. Así, es esencial establecer qué productos con cloruro de cetilpiridinio son suficientemente activos biológicamente para justificar su efecto inhibitorio de la placa (Serrano y cols., 2006; Sreenivasan y cols., 2013).

Hay suficiente evidencia para aseverar la seguridad del cloruro de cetilpiridinio como agente antimicrobiano para uso tópico en la cavidad oral cuando se usa en dosis entre 0.045 % a 0.1 %. Los datos sobre la seguridad de colutorios de cloruro de cetilpiridinio se basan en los resultados obtenidos en estudios en animales y farmacocinéticos, y la posible aparición de efectos adversos en ensayos clínicos controlados por placebo, así como posibles efectos adversos espontáneos, tras su comercialización, comunicados por el fabricante (Serrano y cols., 2006).

El cloruro de cetilpiridinio presenta menor incidencia de efectos secundarios que la clorhexidina. Los efectos adversos observados son (Serrano y cols., 2006):

- Coloración en los dientes y la lengua.
- Ligera irritación transitoria en la encía.
- Aparición de úlceras aftosas en algunos individuos.

El cloruro de cetilpiridinio se adsorbe en la boca por un tiempo mayor que la clorhexidina. Posee una sustentividad de alrededor de tres horas, debido a la pérdida de actividad una vez adsorbido o a su rápida desorción. Estos menores efectos pueden deberse a su menor retención una vez adsorbido y a su neutralización en el medio bucal. Se ha demostrado que tiene un perfil antimicrobiano similar a la clorhexidina *in vitro* y posee cierta actividad inhibitoria de la placa (Moran y cols., 2000).

Diversos estudios clínicos muestran que el cloruro de cetilpiridinio es efectivo en dosis entre 0.045 % a 0.1 %. Estos estudios muestran una reducción de entre un 15 % y un 27 % en los índices de placa y una reducción de entre 15.7 % y 41 % en los índices gingivales (Serrano y cols., 2006).

El cloruro de cetilpiridinio formulado al 0.05 % junto a clorhexidina al 0.05 % (Perio-Aid Mantenimiento) ha demostrado en estudios *in vivo* a corto plazo poseer cierta actividad inhibitoria de la placa (Santos y cols., 2004). Otros estudios no han demostrado reducciones en los índices gingivales. La diferencia en los resultados de los distintos estudios puede deberse a las distintas formulaciones empleadas. Los datos sugieren que la efectividad biológica y la disponibilidad química del cloruro de cetilpiridinio en los diferentes colutorios dependen en gran medida de la formulación de los mismos (Serrano y cols., 2006).

IV. MÉTODOS DE MEDICIÓN DE MEDICIÓN DEL COLOR DENTARIO

El color dentario puede ser medido tanto en forma subjetiva como con la ayuda de instrumentos digitales.

A. Instrumentos digitales

Existen instrumentos digitales de última generación que permiten tomar el color con independencia de las variables de la fuente de luz y la subjetividad del observador en su interpretación. Estos instrumentos se basan también en los parámetros: claridad, tono e intensidad, a los cuales les asigna valores numéricos. De esta forma se puede registrar el color dentario en forma total o por sectores. El principio de funcionamiento, consiste en tratar el color como una función de tres variables independientes y su modelación espacial. La Comisión Internationale d'Eclairage (CIE) es una organización internacional para normas en el ámbito de la medición y de la evaluación de colores. Esta propone un espacio cromático formado por un eje vertical y dos horizontales conocida con la abreviatura de CIE $L^* a^* b^*$ (Henostroza y cols., 2006).

En el espacio cromático el eje vertical (L^*) que representa el valor o claridad, tiene en su extremo inferior el valor de 0, equivalente al negro y su extremo superior el valor de 100, equivalente al blanco; entre ambos existe toda una diversidad continua de tonalidades de grises. Los ejes del plano horizontal representan al color rojo/verde (a^*) acotados entre $-a$ $+a$ y en el amarillo/azul (b^*) acotado entre $+b$ $-b$. Una vez obtenidos los valores para los tres ejes se puede obtener un punto en el espacio cromático (Henostroza y cols., 2006).

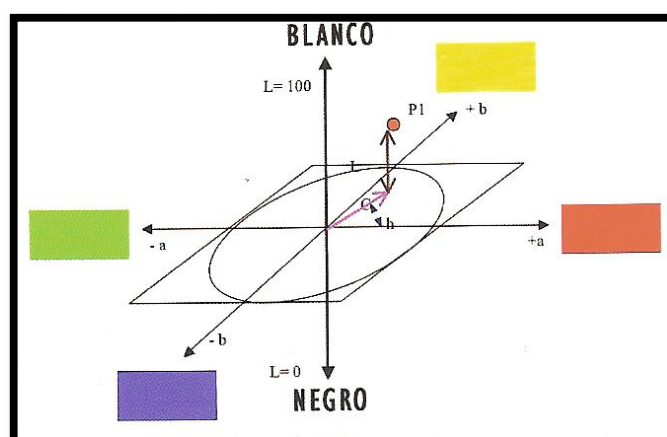


Figura 7. Esquema del espacio cromático CIE Lab. formado por 3 ejes: uno vertical (L^*) que representa el valor y dos horizontales, uno representan al color rojo/verde (a^*) y otro al amarillo/azul (b^*). Los valores en conjunto de los tres ejes determinan un punto que señala la ubicación de un color en el espacio cromático (Henostroza y cols., 2006).

La diferencia entre 2 colores en el espacio cromático CIE Lab, se determina como la distancia entre 2 puntos del espacio euclidiano en una terna ortonormal, a la que se designa como delta E (ΔE). Con la letra Δ se indica que se trata de una diferencia y con E la inicial de Empfindung (percepción en alemán) (Henostroza y cols., 2006).

Se obtiene entonces que:

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

Por la forma de cálculo de ΔE , este será siempre un valor positivo que corresponde al módulo definido por el vector P1P2 (ver figura 8) y por tanto no arroja información sobre la dirección y sentido de la variación buscada. En otras palabras no se puede determinar si la variación está en el valor, croma o tonalidad. La diferencia con un ΔE inferior a 2 es difícilmente apreciable por el ojo humano (Henostroza y cols., 2006).

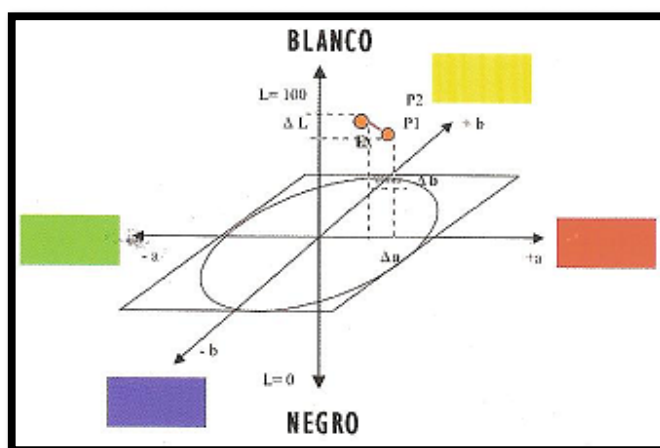


Figura 8. Esquema del espacio cromático CIE Lab. Se aprecian dos puntos que señalan la ubicación de dos colores diferentes en el espacio cromático. La distancia entre los puntos se denomina Delta E (Henostroza y cols., 2006).

Los espectrofotómetros digitales como el Easyshade de la casa VITA Zahnfabrik, miden el ΔE con un grado de exactitud elevado. Permiten la determinación cuantitativa del color. Es un instrumento para la medición de los componentes de reflexión espectrales de un color y su conversión a un valor numérico internacionalmente reconocido (Henostroza y cols., 2006). Ha demostrado una alta precisión y reproductibilidad similar a la del colorímetro, y un mejor desempeño que la medición con guías de color (Lee y cols., 2008; Paul y cols., 2002). La mayor desventaja es que el espectrofotómetro es relativamente caro.



Figura 9. Espectrofotómetro digital Easyshade Compact de la casa VITA Zahnfabrik.

OBJETIVO GENERAL

Comparar *in vitro* el cambio de color en el esmalte dentario que producen dos marcas comerciales de clorhexidina al 0,12%, de las cuales sólo una presenta cloruro de cetilpiridinio al 0,05% y colorante FD&C azul N°1, en combinación con saliva humana y una preparación de té negro.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Establecer *in vitro* los cambios en el color del esmalte dentario que origina una preparación comercial de clorhexidina al 0,12% (Oralgene, Maver), comparado con un control, al ser testeada con saliva humana y una preparación de té negro (Lipton Yellow Label), durante 1,5; 3 y 4,5 horas sucesivamente, medido con un espectrofotómetro, usando valores del espacio cromático CIE Lab.
2. Establecer *in vitro* los cambios en el color del esmalte dentario que origina una preparación comercial de clorhexidina al 0,12% más cloruro de cetilpiridinio al 0,05% y colorante FD&C azul N°1 (PerioAid Tratamiento, Dentaïd), comparado a un control, al ser testeada con saliva humana y una preparación de té negro (Lipton Yellow Label), durante 1,5; 3 y 4,5 horas sucesivamente, medido con un espectrofotómetro, usando valores del espacio cromático CIE Lab.
3. Contrastar *in vitro* los cambios en el color del esmalte dentario que genera una preparación comercial de clorhexidina al 0,12% (Oralgene, Maver) y una preparación comercial de clorhexidina al 0,12% más cloruro de cetilpiridinio al 0,05% y colorante FD&C azul N°1 (PerioAid Tratamiento, Dentaïd), comparado a un control, al ser testeadas con saliva humana y una preparación de té negro (Lipton Yellow Label), durante 1,5; 3 y 4,5 horas sucesivamente, medido con un espectrofotómetro, empleando valores del espacio cromático CIE Lab.
4. Determinar en qué momento (si a las 1,5; 3 o 4,5 horas) acontece el mayor grado de cambio de color en el esmalte dentario que genera una preparación comercial de clorhexidina al 0,12% (Oralgene, Maver) y una preparación comercial de clorhexidina al 0,12% más cloruro de cetilpiridinio al 0,05% y colorante FD&C azul N°1 (PerioAid Tratamiento, Dentaïd), comparado a un control, al ser testeada con saliva humana y una preparación de té negro (Lipton Yellow Label), medido con un espectrofotómetro, utilizando valores del espacio cromático CIE Lab.
5. Comparar *in vitro* los cambios en el color del esmalte dentario que origina una preparación de agua destilada (Control), al ser testeada con saliva humana y una preparación de té negro, a las 1,5; 3 y 4,5 horas sucesivamente, medido con un espectrofotómetro, usando valores del espacio cromático CIE Lab.
6. Contrastar *in vitro* los cambios en el color del esmalte dentario que origina una preparación comercial de clorhexidina al 0,12% (Oralgene, Maver), al ser testeada con saliva humana y una preparación de té negro, a las 1,5; 3 y 4,5 horas sucesivamente, medido con un espectrofotómetro, usando valores del espacio cromático CIE Lab.

7. Comparar *in vitro* los cambios en el color del esmalte dentario que origina una preparación comercial de clorhexidina al 0,12% más cloruro de cetilpiridinio al 0,05% y colorante FD&C azul N°1 (PerioAid Tratamiento, Dentaïd), al ser testeada con saliva humana y una preparación de té negro, a las 1,5; 3 y 4,5 horas sucesivamente, medido con un espectrofotómetro, usando valores del espacio cromático CIE Lab.

HIPÓTESIS: Dado que uno de los colutorios contiene cloruro de cetilpiridinio al 0,05% y colorante FD&C azul N°1 (PerioAid Tratamiento, Dentaïd) en su composición, puede ser que éstos interactúen con la preparación de té negro (Lipton Yellow Label), al ser testeado junto a saliva humana, influyendo de manera relevante en la tinción dentaria, de un color similar a la preparación de té, y que guarda relación con el tiempo de exposición.

MATERIALES Y MÉTODO

Tipo de estudio

El presente estudio es de tipo experimental *in vitro*, ciego simple, con distribución aleatorizada en tres grupos.

Universo y Muestra

Universo: Dientes humanos, incisivos, caninos, premolares y molares superiores e inferiores, extraídos en consultorios de la comuna de Valparaíso durante los años 2012 y 2013.

Muestra: 60 dientes extraídos por indicación de ortodoncia y/o indicación periodontal, cuyos remanentes de tejidos orgánicos fueron removidos con ultrasonido y/o gasa humedecida con agua, en forma previa a ser almacenados en una solución alcohólica refrigerada que contenía timol al 0,2% para inhibir el crecimiento microbiano hasta el momento de su utilización.

Determinación del tamaño de la muestra: Se calculó la diferencia máxima entre dos tratamientos cualquiera para un tamaño de muestra fijo utilizando el método análisis de varianza a un factor fijo determinando como variable dependiente el cambio entre la observación inicial y final (ΔE entre las 0 y 4,5 hrs.), para esto se considera la probabilidad de error tipo II que es:

$$\beta = 1 - P(\text{Rechazar } H_0 / H_0 \text{ es falsa})$$

Donde H_0 es la hipótesis nula de igualdad entre todos los tratamientos medios a nivel poblacional.

Para evaluar la probabilidad descrita anteriormente se utilizan las curvas características de operación que se presentan en el anexo de análisis estadístico. En estas curvas se grafica la probabilidad de la ecuación (1.1) contra un parámetro Φ , donde:

$$\Phi^2 = \frac{n \cdot D^2}{a \cdot \sigma^2}$$

σ : Es la varianza de la variable ΔE entre las 0 y 4,5 hrs a nivel poblacional.

a = Es el número de grupos a comparar (3 grupos o tratamientos).

n = Es el tamaño de la muestra por grupo.

D = Es la diferencia máxima entre dos tratamientos cualesquiera.

Puesto que se tiene el valor de la varianza poblacional como referencia (Niccoli y cols., 2011), cuyo valor obtenido fue de 58,869 unidades, determinándose así la diferencia máxima de detección según un tamaño de muestra fijo ($n=20$) y una potencia del test del 85%, la diferencia máxima obtenida fue de 8,2352 unidades.

Criterios de exclusión

1. Presencia de caries.
2. Presencia de restauraciones.
3. Alteraciones del desarrollo dentario que resulten en modificaciones notorias del color dentario.
4. Defectos en el esmalte dentario producidos a partir del procedimiento quirúrgico de exodoncia.
5. Dientes con tratamiento de endodoncia.

Aleatorización de la muestra: Para el proceso de aleatorización de tratamientos (grupos) se utilizó metodología de muestreo aleatorio simple sin reposición, es decir, se enumeraron todos los dientes de la muestra y se hicieron papeles con el número de cada diente, los cuales fueron depositados en una bolsa. Posteriormente, por sorteo, se sacó uno a uno los papeles, los primeros 20 papeles representaban al grupo control, los siguientes 20 papeles al grupo PerioAid y los últimos 20 papeles al grupo Oralgene.

Los grupos de tratamiento fueron:

- Control ($n=20$). Tratados con saliva humana, una preparación de té negro (Lipton Yellow Label) y agua destilada.
- PerioAid (CHX + CCP; $n=20$). Tratados con saliva humana, una preparación de té negro y una preparación comercial de clorhexidina al 0,12% más cloruro de cetilpiridinio al 0,05% y colorante FD&C azul N°1 (PerioAid Tratamiento, Dentaaid).
- Oralgene (CHX; $n=20$). Tratados con saliva humana, una preparación de té negro y una preparación comercial de clorhexidina al 0,12% (Oralgene, Maver).

Materiales

- Muestra de saliva humana.
- Preparación de té negro (Lipton Yellow Label).

- Dos preparaciones comerciales de clorhexidina:

- ✓ Oralgene, Maver: Clorhexidina gluconato al 0,12%. Excipientes: Mentol, propilenglicol, sacarina sódica, esencia de menta, esencia de eugenol, poloxamer 407, sucralosa, agua purificada.
- ✓ PerioAid Tratamiento, Dentaïd: Digluconato de clorhexidina al 0,12%, cloruro de cetilpiridinio al 0,05%. Excipientes: Glicerol, propilenglicol, xilitol, aceite de ricino hidrogenado y etoxilado, acesulfamo de potasio, neohesperidina DC, sacarina sódica, colorante FD&C azul n°1, esencias, agua purificada.

Variables

Cambio de color en el esmalte dentario: “Delta E” (ΔE)

Tipo de variable: Cuantitativa de razón continua.

Definición conceptual. Determinación de los cambios de color en la superficie del esmalte, en dientes tratados con: té negro, saliva humana y una preparación comercial de clorhexidina al 0,12% (Oralgene, Maver o Perio-Aid Tratamiento, Dentaïd), comparados a un control, a diferentes intervalos de tiempo, utilizando valores de los parámetros que conforman del espacio cromático CIE Lab, estos son:

- Eje vertical que expresa la claridad u oscuridad relativa (cuantitativa, continua – intervalar)
- Eje horizontal que refleja los componentes rojo/verde (cuantitativa, continua – intervalar)
- Eje horizontal que refleja los componentes amarillo/azul (cuantitativa, continua – intervalar)

Definición operacional. Determinación de un punto que señala la posición del color dentario en el espacio cromático CIE Lab, utilizando los valores obtenidos a partir de los tres ejes que componen el sistema, medidos con un espectrofotómetro. Estas mediciones se realizaron en los dientes de estudio, tanto en la medición basal como a las 1,5; 3 y 4,5 horas transcurridas, obteniéndose un punto para cada medición. La distancia entre los dos puntos se denomina “Delta E” (ΔE) y determina el cambio del color dentario.

Se calcula:

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

Nombre de la Variable	Valores	Tipo	Escala de Medición
Cambio de color (ΔE)	Desde > o hasta ∞	Cuantitativa, continua	Escala de razón
Parámetros de la Variable	Valores	Tipo	Escala de Medición

Componente claridad/oscuridad	Desde 0= negro hasta 100= blanco.	Cuantitativa, continua	Intercalar
Componente Rojo/Verde	Rojo ($a > 0$) o Verde ($a < 0$).	Cuantitativa, continua	Intercalar
Componente Amarillo/Azul	Amarillo ($b > 0$) o Azul ($b < 0$).	Cuantitativa, continua	Intercalar

Tabla I. Clasificación de variable “cambio de color el en esmalte dentario, “Delta E” (ΔE)”.

Grupos de estudio

Tipo de Variable: Cualitativa nominal.

Definición Conceptual: Diferentes grupos experimentales según el tratamiento, generalmente se uno de los grupos de estudio es un grupo control. Estos grupos deben ser equilibrados (asignación al azar).

Definición Operacional: Nombre de los 3 grupos de tratamiento:

- Control
- CHX + CCP
- CHX

Tiempo

Tipo de Variable: Cuantitativa de razón continua.

Definición Conceptual: Magnitud física con la que medimos la duración o separación de acontecimientos, sujetos a cambio, de los sistemas sujetos a observación, es decir, el período que transcurre entre el estado del sistema cuando presentaba un estado X y el instante en el que X registra una variación perceptible para un observador o aparato de medición.

Definición Operacional: Unidad de tiempo (hora) en la cual fueron medidos los cambios en el color del esmalte dentario: 1,5 horas, 3 horas y 4,5 horas.

Obtención de la muestra de saliva. La muestra de saliva será obtenida a partir de un sujeto de 28 años de edad, mujer, aparentemente sana, que consume anticonceptivos orales y que no presentaba signos clínicos de enfermedades orales. La saliva obtenida, sin el empleo de un agente estimulante, será colectada en un recipiente de vidrio. El primer turno de este procedimiento se llevará a cabo el día previo al experimento, con una duración aproximada de una hora. Se repetirá el proceso 3 veces. No se permitirá la ingesta de comida ni bebidas dos horas antes de la colección. La muestra de saliva será mantenida refrigerada en forma previa a su utilización, sin que a ésta se le realizara ningún tipo de tratamiento.

Preparación del té. Se hará una preparación de té negro. Ésta se realizará sumergiendo cinco bolsas de té en 1 litro de agua destilada, a 25°C durante 5 minutos.

Procedimiento de tinción dentaria. Los forámenes apicales de los dientes seleccionados serán grabados con ácido ortofosfórico al 36% y posteriormente sellados con un primer adhesivo (Prime&bond, Dentsply) de acuerdo a las instrucciones del fabricante, de modo de impedir que las soluciones utilizadas en el estudio ingresen tanto a los conductos radiculares como a la cámara pulpar. A continuación los dientes serán empapados en saliva humana durante 20 segundos y posteriormente sumergidos en clorhexidina al 0,12% (Oralgene, Maver), clorhexidina al 0,12% más cloruro de cetilpiridinio al 0,05% (Perio-Aid Tratamiento, Dentaïd) o agua destilada durante 30 segundos, dependiendo del grupo de estudio. Luego serán expuestos al medio ambiente hasta que las muestras se sequen. A continuación serán sumergidos en la preparación de té negro (Lipton Yellow Label) durante 1,5 horas, al cabo de lo cual serán expuestos nuevamente al medio ambiente para que se sequen. Este proceso se repetirá a las 3 y 4,5 horas a partir del inicio del experimento.

Medición del cambio de color en el esmalte dentario. Se realizarán tanto en el examen basal como a las 1,5; 3 y 4,5 horas transcurridas. La medición del color del esmalte dentario se realizará en el noveno medio de las caras vestibulares con un espectrofotómetro (VITA Easyshade® Compact), de acuerdo a las instrucciones del fabricante, utilizando los valores del espacio cromático CIE Lab. Estas serán realizadas en un cuarto iluminado con dos ampollas (Eco home, luz clara/fría Phillips), impidiéndose que algún otro tipo de luz incida sobre las muestras.

Recolección de datos. La recolección de datos se realizará en Microsoft Excel 2010, en donde se registrarán en forma individual los valores de los tres ejes del espacio cromático CIE Lab. La recolección de datos se realizará en la medición basal y a las 1,5; 3 y 4,5 horas transcurridas.

Análisis estadístico. Para determinar cambios en el color del esmalte dentario, utilizando los valores del espacio cromático CIE Lab, se determinará el cambio ΔE entre: 0-1,5 horas, 0-3 horas y 0-4,5 horas. De esta manera se compararan los diferentes grupos entre sí en un tiempo específico y entre el mismo grupo a diferentes tiempos. Para cuantificar diferencias significativas se utilizará un modelo lineal mixto o ANOVA para medidas repetidas y se realizaran comparaciones múltiples a través del test de Dunnet y Bonferroni, con un nivel de significancia del 5%. Para realizar comparaciones entre dos ΔE de un mismo grupo a diferentes intervalos de tiempo y entre dos ΔE de diferentes grupos a un mismo intervalo de tiempo se utilizará el test t para muestras pareadas con un nivel de significancia del 5%. Los programas computacionales utilizados para el análisis estadístico de los datos serán: Microsoft Excel 2010 y Minitab 15 (Addlink Software Científico).

RESULTADOS

Análisis descriptivo del cambio de color en el esmalte dentario

Los dientes del grupo control presentaron cambios de color en el esmalte dentario, en las mediciones realizadas tanto al inicio como a las 1,5, 3 y 4,5 horas transcurridas (ver figura 10).



Figura 10. Dientes del grupo control tratados con saliva humana, agua destilada y té negro, a diferentes intervalos de tiempo (0, 1,5, 3 y 4,5 horas). Se pudo apreciar que el esmalte dentario varió en su color a través del tiempo.

Los dientes del grupo CHX + CCP también presentaron cambios de color en la superficie del esmalte dentario. A las 1,5 horas se observó un tenue cambio homogéneo en toda su superficie, de color café/rojizo. Además se pudo apreciar en la totalidad de los dientes, pequeñas tinciones de mayor intensidad, dispersas. Estas se correspondían generalmente con defectos sutiles del esmalte. A las 3 y 4,5 horas transcurridas, se observó un aumento tanto en la intensidad de la tinción homogénea que cubría toda la superficie del esmalte como en la cantidad y dispersión de las tinciones de mayor intensidad (ver figura 11).



Figura 11. Dientes del grupo CHX + CCP tratados con saliva humana, PerioAid Tratamiento y té negro, a diferentes intervalos de tiempo (0, 1,5, 3 y 4,5 horas).

Los dientes del grupo CHX igualmente presentaron cambios de color en la superficie del esmalte, pero más tenues que en los dientes del grupo CHX + CCP. Además se pudo apreciar en la mayoría de los dientes, de un modo similar a lo observado en el grupo anterior, pequeñas tinciones de mayor intensidad, dispersas (ver figura 12).



Figura 12. Dientes del grupo CHX tratados con saliva humana, Oralgene y té negro, a diferentes intervalos de tiempo (0, 1,5, 3 y 4,5 horas).

Medidas descriptivas de los valores CIE Lab

a.- Claridad/Oscuridad (eje L*): En el tiempo 0 se puede observar que los valores promedio CIE para el eje L son similares en los diferentes grupos observados. Mientras que en la segunda medición (1,5 horas), los valores decayeron de manera similar, a diferencia del grupo control. Esto se repite en las siguientes mediciones, destacando que los dientes tratados con saliva humana, PerioAid Tratamiento (CHX + CCP) y té negro se “oscurecieron” más que el resto. También, se puede observar que los dientes tratados con saliva humana, Oralgene (CHX) y té negro entre las 3 y 4.5 horas no mostraron una diferencia evidente (ver tabla II).

Variable	Tiempo	Grupo	Promedio	Desv Est	Mín	Máx
Claridad/Oscuridad	0	Control	81,835	7,0396826	66,4	92,3
		CHX + CCP	83,31	5,507115	73,4	92
		CHX	81,24	8,1836422	63,5	90,8
	1.5	Control	78,93	4,7310953	67	86,5
		CHX + CCP	74,615	4,9536032	61,3	82,3
		CHX	75,985	5,7168518	60,8	82,9
	3	Control	75,07	4,3797501	65,2	83,1
		CHX + CCP	71,175	4,7389622	58,5	78,4
		CHX	71,585	6,0892723	59,9	80
	4.5	Control	73,455	4,655215	64,6	81,3
		CHX + CCP	70,085	4,9844257	58	77,6
		CHX	71,655	6,4680165	55,7	79,5

Tabla II. Tabla de valores CIE promedio para el eje L* (Claridad/Oscuridad), a diferentes intervalos de tiempo (0; 1,5; 3 y 4,5 horas).

b.- Rojo/Verde (eje a*): Se puede observar que tal como en el eje L*, en el a* en tiempo 0, los valores CIE promedio son similares en los distintos grupos de estudio. En las observaciones posteriores, se puede notar que los dientes del grupo control, y los tratados con CHX van incrementando su valor, volviéndose más rojizos, de manera paulatina al mismo tiempo, a diferencia de los dientes tratados con CHX + CCP, que su incremento de valor es más abrupto. (ver tabla III).

Variable	Tiempo	Grupo	Promedio	Desv Est	Mín	Máx
Rojo/Verde	0	Control	-0,08	0,9082082	-1,4	2,1
		CHX + CCP	-0,335	0,9143735	-2,4	1,3
		CHX	-0,35	0,6786209	-1,8	0,7
	1.5	Control	1,86	1,6674595	0,1	5,3
		CHX + CCP	4,43	2,4268455	1	12,3
		CHX	2,675	1,4610288	0,3	5,9
	3	Control	2,35	1,8977826	0,3	6,4
		CHX + CCP	5,475	2,4226725	3	13

	4.5	CHX	4,21	1,7990933	1,8	9,9
		Control	3,075	2,2719977	0,9	10
		CHX + CCP	5,79	2,4891131	3,8	13,7
		CHX	3,97	2,1482184	0,9	10,7

Tabla III. Tabla de valores CIE promedio para el eje a* (Rojo/Verde), a diferentes intervalos de tiempo (0; 1,5; 3 y 4,5 horas).

c.- Amarillo/Azul (eje b*): En la siguiente tabla se puede notar que al igual que en el eje a*, en el eje b* los valores promedio son similares entre los diferentes grupos en el tiempo 0. Sin embargo, al pasar el tiempo son los dientes tratados con CHX + CCP los que aumentan en mayor magnitud, es decir, se vuelven más amarillos en relación a los otros dos grupos observados (ver tabla IV).

Variable	Tiempo	Grupo	Promedio	Desv Est	Mín	Máx
Amarillo/Azul	0	Control	4,485	4,8257287	0,5	18,8
		CHX + CCP	5,155	3,7151858	0,8	14,8
		CHX	5,535	3,5217034	0,8	12,6
	1.5	Control	9,4	7,0120948	1,1	25,3
		CHX + CCP	15,86	5,845232	3,1	27,1
		CHX	11,62	4,4787921	3,8	22,4
	3	Control	10,86	7,2565324	3,6	31,4
		CHX + CCP	17,36	6,0084502	3,7	27,7
		CHX	14,255	5,3040675	4,1	26,9
	4.5	Control	12,38	7,0995626	4,1	32,8
		CHX + CCP	17,765	6,0162302	4,8	27,7
		CHX	12,99	5,4225552	5,7	25

Tabla IV. Tabla de valores CIE promedio para el eje b* (Amarillo/Azul), a diferentes intervalos de tiempo (0; 1,5; 3 y 4,5 horas).

Análisis cuantitativo de cambios en el color del esmalte dentario entre los diferentes grupos

La diferencia entre los distintos tonos se determinó como la distancia entre dos puntos del espacio euclideo, en un vector ortonormal de 3 dimensiones, denominado “Delta E” (ΔE).

En primera instancia se analizó la distribución que poseen los ΔE para efectos de realizar análisis paramétricos, resultando estos provenientes de distribuciones normales.

De manera preliminar se desea saber si existen diferencias significativas en la magnitud del cambio de color a través del tiempo, determinándose que los valores medios de ΔE son diferentes en los distintos tiempos de observación (ANOVA ΔE v/s tiempo, p -valor = 0,001). Además, se verificó un efecto de interacción significativo entre los diferentes grupos de estudios y el tiempo, es decir, la dientes de los diferentes grupos se comportaron de manera similar a

través del tiempo (p -valor = 0,611). Conjuntamente, se pudo observar que existen diferencias significativas en el valor medio de ΔE en los grupos de observación (p -valor = 0,000).

a.- Grupo Control *versus* Grupo CHX: Se puede ver que en la primera observación, no existe evidencia estadísticamente significativa para decir que las medias de ΔE son diferentes. Sin embargo, claramente al momento de la segunda medición, a las 3 horas, hay diferencias estadísticamente significativas en el valor medio de ΔE de ambos grupos. Es interesante destacar que al pasar al tercer momento de observación de las muestras, nuevamente se evidencia que las medias de ΔE son diferentes en ambos grupos, pero esta diferencia no es estadísticamente significativa (ver tabla V).

	Tiempo		
Grupos	0-1,5	0-3	0-4,5
Control / CHX	0,091	0,003	0,41

Tabla V. Resumen de p -valores obtenidos en pruebas t, al comparar los dientes del grupo control con los dientes tratados con CHX, a diferentes intervalos de tiempo (0-1,5; 0-3 y 0-4,5 horas).

b.- Grupo Control *versus* Grupo CHX + CCP: En la siguiente tabla se puede observar que en los tres tiempos de observación de los dientes, existen diferencias estadísticamente significativas del valor medio de ΔE , para los dos grupos contrastados (ver tabla VI).

	Tiempo		
Grupos	0-1,5	0-3	0-4,5
Control / CHX + CCP	0,000	0,000	0,000

Tabla VI. Resumen de p -valores obtenidos en pruebas t, al comparar el grupo control con los dientes tratados con CHX + CCP, en los distintos tiempos observados (0-1,5; 0-3 y 0-4,5 horas).

c.- Grupo CHX *versus* Grupo CHX + CCP: Se puede notar que solamente en el segundo periodo de observación no existen diferencias estadísticamente significativas en los valores medios de ΔE para ambos grupos de tratamientos aplicados a los dientes (ver tabla VII).

	Tiempo		
Grupos	0-1,5	0-3	0-4,5
CHX / CHX + CCP	0,003	0,081	0,008

Tabla VII. Resumen de p -valores obtenidos en pruebas t, al comparar los dientes del grupo CHX con los dientes tratados con CHX + CCP, en los distintos tiempos observados (0-1,5; 0-3 y 0-4,5 horas).

En el siguiente gráfico se puede observar con mayor claridad visual lo presentado en las tablas anteriores, en las cuales se contrastan las medias de ΔE de los grupos en los distintos tiempos.

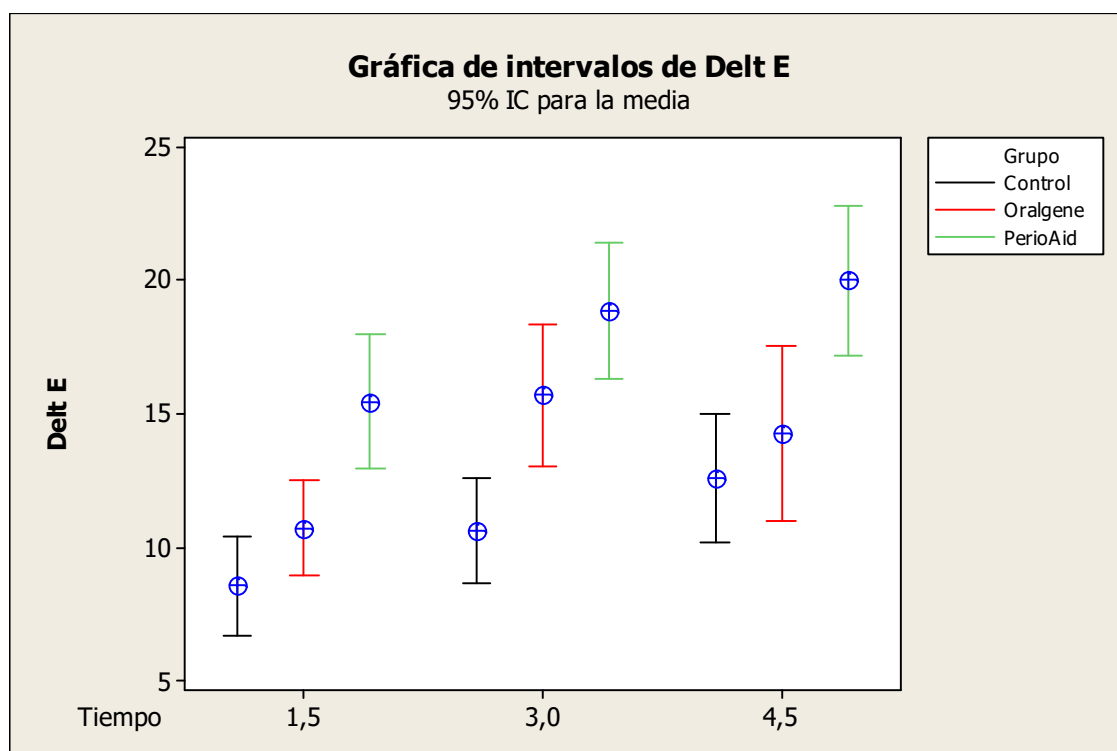


Gráfico 1. Intervalos de confianza para ΔE , según tiempo y grupo de observación (Control, Oralgene (CHX), PerioAid Tratamiento (CHX + CCP)).

Análisis cuantitativo del cambio de color del esmalte dentario para los diferentes grupos

Del siguiente gráfico se puede observar que en todos los grupos aumenta la magnitud de ΔE a medida que transcurren las observaciones (ver gráfico 2).

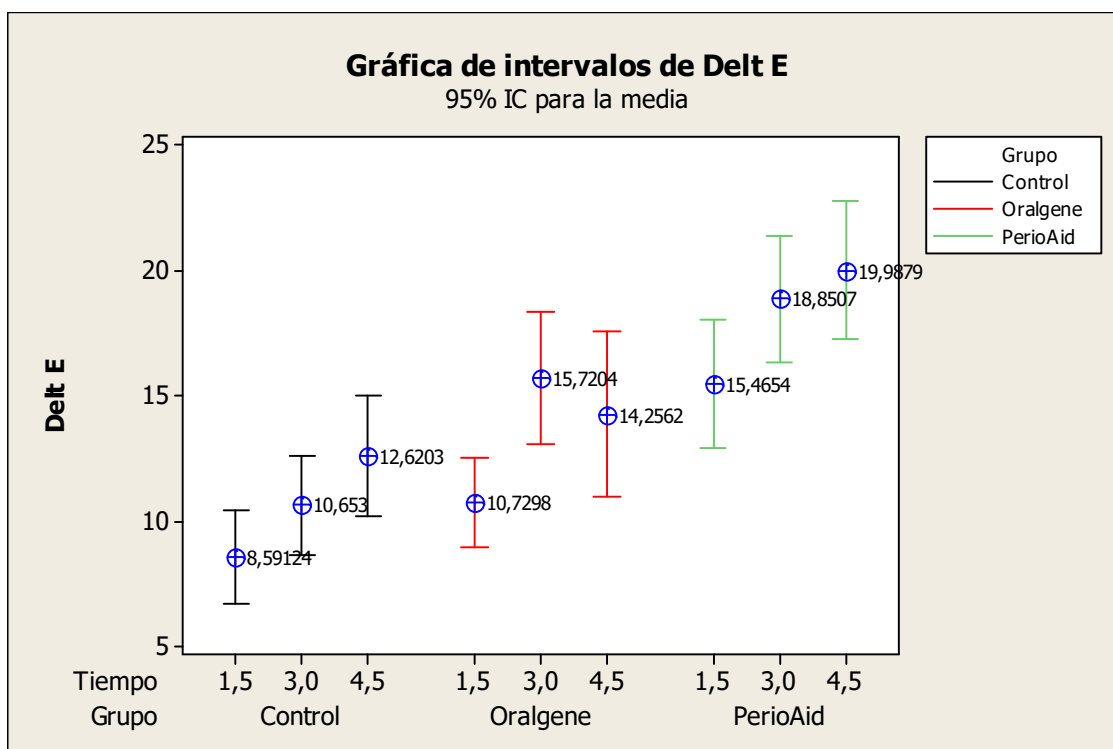


Gráfico 2. Intervalos de confianza para ΔE , según grupo de observación (Control, Oralgene (CHX), PerioAid (CHX + CCP)).

a. Grupo Control: Se puede observar que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores medios de ΔE en el grupo control entre el tiempo 1,5 y 3 horas, y entre el tiempo 3 y 4,5 horas. Sin embargo, entre el tiempo 1,5 y 4,5 horas las diferencias son estadísticamente significativas (ver tabla VIII).

Grupo Control	Tiempo		
	1,5	3	4,5
1,5	-	0,121	0,009
3	-	-	0,194
4,5	-	-	-

Tabla VIII. Resumen de *p*-valores obtenidos en pruebas t, al comparar grupo control en los distintos tiempos de medición (0-1,5; 0-3 y 0-4,5 horas).

b. Grupo CHX: Si se compara el grupo CHX en los diferentes tiempos de medición se puede observar que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores medios de ΔE entre el tiempo 1,5 y 4,5 horas y entre el tiempo 3 y 4,5 horas. No obstante, entre el tiempo 1,5 y 3 horas las diferencias son estadísticamente significativas (ver tabla IX).

	Tiempo		
Grupo CHX	1,5	3	4,5
1,5	-	0,003	0,058
3	-	-	0,472
4,5	-	-	-

Tabla IX. Resumen de *p-valores* obtenidos en pruebas t, al comparar grupo CHX en los distintos tiempos de medición (0-1,5; 0-3 y 0-4,5 horas).

c. Grupo CHX + CCP: Al comparar el grupo CHX + CCP en los distintos tiempos de medición se puede notar que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores medios de ΔE entre el tiempo 1,5 y 3 horas y entre el tiempo 3 y 4,5 horas. Mientras que entre el tiempo 1,5 y 4,5 horas las diferencias son estadísticamente significativas (ver tabla X).

	Tiempo		
Grupo CHX + CCP	1,5	3	4,5
1,5	-	0,055	0,016
3	-	-	0,529
4,5	-	-	-

Tabla X. Resumen de *p-valores* obtenidos en pruebas t, al comparar grupo CHX + CCP en los distintos tiempos de medición (0-1,5; 0-3 y 0-4,5 horas).

En resumen, se puede observar que en todos los grupos a medida que pasa el tiempo existe un aumento en la magnitud del ΔE . Cabe destacar que el grupo CHX + CCP siempre presentó una mayor magnitud de cambio, a excepción de la comparación del cambio a las 3 horas con el grupo CHX, en el cual no existen diferencias estadísticamente significativas.

DISCUSIÓN

En los tres grupos de estudio, control, CHX + CCP y CHX, se observaron cambios en el color del esmalte dentario. Esto se debe, principalmente, a que los tres grupos fueron tratados con té negro (Lipton Yellow Label), el cual según el estudio de Niccoli y cols. (2011) es el tipo de té que provoca el mayor grado de cambio de color en el esmalte dentario.

Como es bien sabido, uno de los principales efectos adversos de la clorhexidina es la tinción dentaria (Addy y cols., 1982; Flotra, 1973). Asimismo, el cloruro de cetilpiridinio también produce coloración en los dientes (Lobene y cols., 1979; Serrano y cols., 2006). Por este motivo, el grupo CHX + CCP, el cual dentro de su composición presentaba además el colorante FD&C azul n°1, fue el que mayor magnitud de cambio en el color del esmalte dentario mostró. Aunque, los grupos Control y CHX también presentaron cambios en el color del esmalte dentario. En los tres grupos de estudio la magnitud de los cambios en el color del esmalte dentario fue aumentando con el paso del tiempo.

Por lo tanto, estos cambios en el color del esmalte dentario se deben al té negro, a la clorhexidina, al cloruro de cetilpiridinio y al colorante FD&C azul n°1 y la magnitud de cambio va a depender del tiempo y a cuál de estos componentes fueron sometidos los diferentes grupos de estudio. El grupo CHX + CCP fue el que presentó una mayor magnitud de cambio en el color del esmalte dentario, ya que fue sometido a los cuatro componentes, seguido por el grupo CHX, que fue expuesto a dos de los componentes (clorhexidina y té negro) y el que presentó una menor magnitud de cambio fue el grupo Control, el cual sólo fue sometido a té negro.

Uno de los principales mecanismos para explicar la pigmentación dentaria por clorhexidina es la precipitación de cromógenos aniónicos de los alimentos por antisépticos catiónicos (clorhexidina y cloruro de cetilpiridinio), lo cual ha sido estudiado y reportado por varias investigaciones. Por lo tanto, los antisépticos o los iones metálicos unidos localmente a los dientes pueden reaccionar con polifenoles en componentes de la dieta para producir tinciones. Las bebidas como el té son altamente cromógenas (Addy y Moran, 1995; Watts y Addy, 2001). Esto explicaría el cambio en el color del esmalte dentario que fue observado en los tres grupos de estudio.

El cambio de color del esmalte dentario determinado en los tres grupos de estudio fue parecido al color del té utilizado, por lo cual se puede hablar de que son tinciones extrínsecas directas (Watts y Addy, 2001). Se ha demostrado tanto *in vivo* (Prayitno y cols., 1979) como *in vitro* (Addy y cols., 1979) que la clorhexidina combinada con té poseen la capacidad de provocar cambios en el color dentario y que su efecto tiene un potencial de decoloración dentaria mayor que el de la clorhexidina por sí sola (Addy y Moran, 1984). Con los resultados de este estudio, se puede concluir, a la vez, que la clorhexidina, el cloruro de cetilpiridinio y el té tienen la capacidad de producir cambios en el color del esmalte dentario y que su efecto tiene un potencial superior al que presenta la clorhexidina por sí sola o la combinación de clorhexidina y té.

Una superficie irregular puede generar un mayor grado de retención de saliva y por consiguiente precipitación de antisépticos catiónicos y componentes cromógenos derivados del

té, como se puede observar en las figuras 10, 11 y 12 provocando así un cambio de color más evidente. Se ha determinado *in vitro* que ciertos componentes del té negro rápidamente se adsorben al tomar contacto con la película adquirida y/o saliva (Joiner y cols., 2003) e *in vivo* que la película adquirida tiene una tendencia a desarrollar tinciones, particularmente en aquellas áreas de la dentición que son inaccesibles para el cepillado y la acción abrasiva de los dentífricos (Forward, 1991; Watts y Addy, 2001).

La magnitud de los cambios de color del esmalte dentario en los tres grupos de estudios fue en aumento a medida que pasaba el tiempo, es decir, tuvo una relación con el tiempo de exposición al té negro. Esto puede deberse a que a un mayor tiempo de exposición, mayor es la cantidad de compuestos cromógenos que precipitan sobre el esmalte dentario, produciendo una mayor magnitud de cambio de color de éste. Addy y Moran (1984) establecieron *in vitro* que el tiempo de exposición de la clorhexidina combinada con té es un factor importante en el cambio de color del esmalte dentario.

En el análisis descriptivo de los valores CIE Lab se determinó que los dientes de los tres grupos de estudio se volvieron más oscuros, pero que los dientes del grupo CHX + CCP fueron los que más oscurecieron y los del grupo Control los que menos oscurecieron y el cambio fue menos abrupto. Asimismo, se observó que los dientes del grupo Control y del grupo CHX se volvieron más rojizos de forma paulatina, lo que no ocurrió con los dientes del grupo CHX + CCP que tuvieron un cambio más notorio desde el primer tiempo de medición. Los dientes del grupo CHX + CCP también se volvieron más amarillos con el paso del tiempo y este cambio es más notorio en comparación con los otros dos grupos de estudio. Por lo tanto, se puede concluir que los dientes de los tres grupos se volvieron más oscuros, más rojos y más amarillos, pero que en los dientes del grupo CHX + CCP este cambio fue más notorio y abrupto (ver tablas II, III, IV).

En un estudio de Lee y cols. (2008) publicaron que una preparación de té negro produjo tanto un oscurecimiento como un aumento en la cantidad de rojo, pero en cuanto a la variación de colores amarillo/azul los resultados fueron dispares. Esto concuerda parcialmente con esta investigación, ya que se determinó que los dientes de los tres grupos se volvieron más oscuros, más rojos y más amarillos.

Al comparar la variación de color (ΔE) entre los tres grupos de estudio, a un mismo intervalo de tiempo, se encontraron diferencias estadísticamente significativas a las 1,5 horas entre el grupo Control y el grupo CHX + CCP y entre el grupo CHX y el grupo CHX + CCP. Cabe destacar, que el grupo CHX + CCP fue el que presentó cambios más notorios en todos los tiempos de medición. Por este motivo, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en todos los tiempos de medición cuando se comparó el grupo Control con el grupo CHX + CPP y cuando se comparó el grupo CHX y CHX + CPP sólo no hubo diferencias estadísticamente significativas durante el segundo tiempo de medición (3 horas). Mientras que cuando se comparó el grupo Control con el grupo CHX sólo hubo diferencias estadísticamente significativas a las 3 horas (ver gráfico 1). Estos resultados se pueden deber a que los dientes del grupo CHX + CCP fueron sometidos a cuatro componentes que producen cambios de color en el esmalte dentario (Flotra, 1973; Lobene y cols., 1979; Addy y cols., 1982; Serrano y cols., 2006; Niccoli y cols.,

2011), por lo cual los cambios que mostraron fueron más evidentes y las diferencias que se establecieron con los dientes de los otros dos grupos fueron estadísticamente significativas.

Al realizar la comparación de la variación del color (ΔE) para cada grupo de estudio a diferentes intervalos de tiempo (0-1,5; 0-3 y 0-4,5 horas), se estableció que en el grupo Control hubo diferencias estadísticamente significativas entre el tiempo 1,5 y 4,5 horas, mientras que entre el tiempo 1,5 y 3 horas, y entre el tiempo 3 y 4,5 existieron similitudes entre los valores medios de ΔE . En el grupo CHX sólo hubo diferencias estadísticamente significativas entre el tiempo 1,5-3 horas, y por último, en el grupo CHX + CCP hubo diferencias estadísticamente significativas entre el tiempo 1,5 y 4,5 horas (ver tablas VIII, IX y X). Se puede decir que las diferencias estadísticamente significativas se produjeron cuando el tiempo de exposición fue mayor, es decir, entre 1,5-3 horas y 1,5-4,5 horas. Esto se puede deber a que a mayor tiempo de exposición, mayor es la cantidad de cromógenos que precipitan sobre el esmalte dentario y la exposición a los antisépticos catiónicos y al té aumenta, lo cual es un factor relevante en el cambio de color del esmalte dentario (Addy Moran, 1984; Addy y Moran, 1995; Watts y Addy, 2001). Lamentablemente, no existen estudios similares que permita la comparación de estos resultados.

CONCLUSIONES

1. Una preparación comercial de clorhexidina al 0,12% (Oralgene, Maver) al ser testeada *in vitro* junto con saliva humana y una preparación té negro, y comparada con un control, produce que el color del esmalte dentario se vuelva, de forma paulatina, más oscuro, más rojo y más amarillo, a diferentes intervalos de tiempo (1,5; 3 y 4,5 horas), siendo estas diferencias estadísticamente significativas sólo entre el tiempo 0-4,5 horas, cuando la medición se realiza con un espectrofotómetro.
2. Una preparación comercial de clorhexidina al 0,12% más cloruro de cetilpiridinio al 0,05% y colorante FD&C azul N°1 (PerioAid Tratamiento, Dentaïd) al ser testeada *in vitro* junto con saliva humana y una preparación té negro, y comparada con un control, produce que el color del esmalte dentario se vuelva, de forma abrupta, más oscuro, más rojo y más amarillo, a diferentes intervalos de tiempo (1,5; 3 y 4,5 horas), siendo estas diferencias estadísticamente significativas para todos los tiempos de medición, cuando la medición se realiza con un espectrofotómetro.
3. Una preparación comercial de clorhexidina al 0,12% más cloruro de cetilpiridinio al 0,05% y colorante FD&C azul N°1 (PerioAid Tratamiento, Dentaïd) junto con saliva humana y una preparación de té negro al ser contrastada *in vitro* con una preparación comercial de clorhexidina al 0,12% (Oralgene, Maver) junto a saliva humana y una preparación de té negro produce cambios en el color del esmalte dentario, que son estadísticamente significativos, a diferentes intervalos de tiempo (1,5 y 4,5 horas), cuando la medición se realiza con un espectrofotómetro.
4. El mayor grado de cambio de color en esmalte dentario se produce a las 4,5 horas en los dientes tratados con una preparación comercial de clorhexidina al 0,12% más cloruro de cetilpiridinio al 0,05% y colorante FD&C azul N°1 (PerioAid Tratamiento, Dentaïd) junto con saliva humana y una preparación de té negro, cuando la medición se realiza con un espectrofotómetro.
5. Una preparación de agua destilada (Control), al ser testeada *in vitro* con saliva humana y una preparación de té negro, produce cambios en el color del esmalte dentario, que son estadísticamente significativos, entre los tiempos 1,5-4,5 horas, cuando la medición se realiza con un espectrofotómetro.
6. Una preparación comercial de clorhexidina al 0,12% (Oralgene, Maver), al ser testeada *in vitro* con saliva humana y una preparación de té negro, origina cambios en el color del esmalte dentario, que son estadísticamente significativos, entre los tiempos 1,5-3 horas, cuando la medición se realiza con un espectrofotómetro.
7. Una preparación comercial de clorhexidina al 0,12% más cloruro de cetilpiridinio al 0,05% y colorante FD&C azul N°1 (PerioAid Tratamiento, Dentaïd), al ser testeada *in vitro* con saliva humana y una preparación de té negro, origina cambios en el color del esmalte dentario, que son estadísticamente significativos, entre los tiempos 1,5-4,5 horas, cuando la medición se realiza con un espectrofotómetro.

SUGERENCIAS

1. En el mercado existen varias marcas comerciales de clorhexidina, por lo cual se sugiere realizar un estudio que incorpore todas las marcas comercializadas en nuestro país.
2. En Chile se comercializa una gran gama de marcas de té negro, que podrían ser incluidas en un estudio futuro.
3. Se sugiere realizar estudios *in vivo* para confirmar los efectos obtenidos.

RESUMEN

Introducción. El té negro es el tipo de té más consumido en Chile, a su vez la clorhexidina es el antiséptico más usado en Periodoncia. Tanto el consumo de té negro como el uso prolongado de clorhexidina causan tinciones extrínsecas en los dientes, por lo cual el uso de estos dos productos puede generar un mayor riesgo de tinción dentaria. Es importante conocer el potencial de decoloración dentaria que causa el uso combinado de diferentes marcas de clorhexidina y la ingesta de té negro. **Materiales y método.** Este estudio es de tipo experimental *in vitro*. Se usaron dientes distribuidos en tres grupos: *Control* (saliva, agua destilada y té negro), *CHX + CCP* (saliva, PerioAid Tratamiento y té negro), *CHX* (saliva, Oralgene y té negro), para determinar, por medio del uso de un espectrofotómetro, diferencias en el cambio de color del esmalte dentario. **Resultados.** En los tres grupos de estudio, se observaron cambios en el color del esmalte dentario, debido principalmente al uso de té negro. La magnitud del cambio en el color del esmalte dentario dependió del tiempo de exposición y a cuál de los productos fueron sometidos los diferentes grupos de estudio. **Discusión.** El mecanismo de tinción más probable involucra la precipitación de componentes cromógenos (té negro) sobre la clorhexidina previamente adsorbida en la superficie del esmalte. A mayor tiempo de exposición mayor es la cantidad de componentes cromógenos precipitados. **Conclusiones.** El uso de clorhexidina sumado a la ingesta de té negro posee un elevado potencial de producir cambios en el color del esmalte dentario.

BIBLIOGRAFÍA

Addy M., Prayitno S., Taylor L., Cadogan S. (1979): An in vitro study of the role of dietary factors in the aetiology of tooth staining associated with the use of chlorhexidine. *J Periodontal Res*, 14:403-410.

Addy M., Moran J., Davies RM., Beak A., Lewis A. (1982): The effect of single morning and evening rinses of chlorhexidine on the development of tooth staining and plaque accumulation. A blind cross-over trial. *J Clin Periodontol*, 9:134-140.

Addy M., Moran J. (1984): The formation of stain on acrylic surfaces by the interaction of cationic antiseptic mouthwashes and tea. *J Biomed Mater Res*, 18:631-641.

Addy M., Moran J. (1995): Mechanisms of stain formation on teeth, in particular associated with metal ions and antiseptics. *Adv Dent Res*, 9:450-456.

Addy M., Moran J. (1997): Clinical indication for the use of chemical adjuncts to plaque control: Chlorhexidine formulations. *Periodontol*, 2000 15:52-53.

Addy M., Moran J. (2009): Control químico de la placa supragingival. En: *Periodontología clínica e Implantología Odontológica*. Editores: Lindhe, J., Lang, N., Karring, T. Editorial Médica Panamericana, Quinta Edición, Buenos Aires - Argentina, pp:734-765.

Alleyn C.D., O'Neal R.B., Strong S.L., Scheidt M.J., Van Dyke T.E., McPherson J.C. (1991): The effect of chlorhexidine treatment of root surfaces on the attachment of human gingival fibroblast in vitro. *J periodontol*, 62:434-438.

Barkvoll P., Rolla G., Bellagamba S. (1988): Interaction between chlorhexidine gluconate and sodium monofluorophosphate in vitro. *Scan J Dent Res*, 96:30-33.

Bascones A., Morante S. (2006): Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual. *Av Periodon Implantol*. 18, 1:31-59.

Bennick A., Yan Q. (1995): Identification of histatins as tannin-binding proteins in human saliva. *J biochem*, 311:341-347.

Bennick A. (2002): Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Crit Rev Oral Biol Med*, 13:184-196.

Bonilla V., Mantín J., Jiménez A., Llamas R. (2007): Alteraciones del color de los dientes. *Revista Europea de Estomatología*. Disponible en: <<http://www.redoe.com/ver.php?id=51>>

Cabral C.T., Fernandes M.H. (2007): In Vitro comparison of chlorhexidine and povidone-iodine on the long-term proliferation and functional activity of human alveolar bone cells. *Clin Oral Investig*, 11:155-164.

Carpenter G.H., Pramanik R., Proctor G.B. (2005): An in vitro model of chlorhexidine-induced tooth staining. *J Periodontol Res*, 40:225-230.

Claydon N., Addy M., Jackson R., Smith, S., y Newcombe, R. (2001): Studies on the effect of polyvinyl pyrrolidone on the activity of chlorhexidine mouthrinses: plaque and stain. *J Clin Periodontol*, 28(6):558-564.

Emilson C.G. (1997): Susceptibility of various microorganisms to chlorhexidine. *Scand J Dent Res*, 85:255-265.

Eren K., Ozmeric N., Sardas S. (2002): Monitoring of bucal epithelial cells by alkaline comet assay (single cell gel electrophoresis technique) in cytogenetic evaluation of chlorhexidine. *Clin Oral Investig*, 6:150-154.

Euromonitor International (2013): Las cinco principales tendencias en bebidas por país en Norte y Sudamérica. Disponible en: < <http://go.euromonitor.com/las-cinco-principales-tendencias-en-bebidas-por-pais-en-norte-y-sudamerica.html>>

Flotra L. (1973): Different modes of chlorhexidine application and related local side effects, *J Periodontal Res Suppl*, 12:41-44.

Forward G. (1991): Role of toothpastes in the cleaning of teeth. *Int Dent J*, 41:164-170.

Giannelli M., Chellini F., Margheri M., Tonelli P., Tani A. (2008): Effect of chlorhexidine digluconate on different cell types: A molecular and ultrastructural investigation. *Toxicol In Vitro*, 22:308-317.

Hagerman A.E., Butler L.G. (1981): The specificity of proanthocyanidin-protein interactions. *J Biol Chem*, 256:4494-4497.

Hannig C., Hannig M., Attin T. (2005): Enzymes in the acquired enamel pellicle, *Eur J Oral Sci*. 113:2-13.

Hannig C., Hannig M. (2009): The oral cavity-a key system to understand substratum-dependent bioadhesion on solid surfaces in man. *Clin Oral Invest*, 13:123-139.

Harbison M.A., Hammer S.M. (1989): Inactivation of human immunodeficiency virus by Betadine products and chlorhexidine. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2:16-20

Haslam E. (2003): Thoughts on thearubigins. *Phytochemistry*. 64:61-73.

Henostroza G., Dell'Acqua A., Espinoza R., Fernández E., Henao D., Kohen S., Mondelli J., Navarro M.F., Porto C.L., Rodríguez E., Tumenas I., Urzúa I., Vargas M.A., Vélez C.E. (2006): Luz, color y su percepción. En: *Estética en Odontología Restauradora*. Editor: Henostroza G. Primera edición, Editorial Ripano, Madrid - España. pp:53-75.

Houri-Haddad Y., Halabi A., Soskolne W.A. (2008): Inflammatory response to chlorhexidine, minocycline HCl and doxycycline HCl in an *in vivo* mouse model. *J Clin Periodontol*, 35:783-788.

Jensen J.L., Lamkin M.S., Oppenheim F.G. (1992): Adsorption of human salivary proteins to hydroxyapatite: a comparison between whole saliva and glandular salivary secretion. *J Dent Res*, 71:1569-1576.

Joiner A., Muller D., Elofsson U., Malmsten M., Arnebrant T. (2003): Adsorption from black tea and red wine onto *in vitro* salivary pellicles studied by ellipsometry. *Eur j oral sci*, 111:417-422.

Joiner A. (2004): Tooth colour: a review of the literature, *J Dent*. 32:3-12.

Jones C.G. (1997): Chlorhexidine: is it still the gold standard?. *Periodontol*. 2000, 15:55-62.

Kirkegaard E., Von der Fehr F., Rolla G. (1974): Influence of chlorhexidine on *in vitro* uptake of fluoride in dental enamel. *Scan J Dent Res*, 82:566-569.

Kolahi J., Soolari A. (2006): Rinsing with chlorhexidine gluconate solution after brushing and flossing teeth: a systematic review of effectiveness. *Quintessence Int*, 37(8):605-612.

Lamkin M.S., Arancillo A.A., Oppenheim F.G. (1996): Temporal and compositional characteristics of salivary protein adsorption to hydroxyapatite. *J Dent Res*, 75:803-808.

Lee B., Huang S., Chiang Y., Chien Y., Mou C., Lin C. (2008): Development of *in vitro* tooth staining model and usage of catalysts to elevate the effectiveness of tooth bleaching. *Den Mater*, 24(1):57-66.

Lobene R., Kashket S., y Soparkar P. (1979). The Effect of Cetylpyridinium Chloride on Human Plaque Bacteria and Gingivitis. *Pharmacol Ther Dent*, 4(1):33-47.

MacPherson L., Stephen K., Joiner A., Schafer F., Huntington E. (2000): Comparison of a conventional and modified tooth stain index. *J Clin Periodontol*, 27:854-859.

Mariotti A.J., Rumpf D.A. (1999): Chlorhexidine-induced changes to human gingival fibroblast collagen and non collagen protein production. *J Periodontol*, 70:1443-1448.

Moran J., Addy M., Jackson R., y Newcombe RG. (2000). Comparative effects of quaternary ammonium mouthrinses on 4-day plaque regrowth. *J Clin Periodontol*, 27(1):37-40.

Nathoo S.A. (1997): The chemistry and mechanisms of extrinsic and intrinsic discoloration. *J Am Dent Assoc*, 128:6S-10S.

Niccoli E., Godoy J., Caneppa G. (2011): Evaluación *in vitro* de las tinciones provocadas por dos marcas comerciales de té asociadas a clorhexidina. Tesis Especialidad Periodoncia e

Implantología. Escuela de Graduados, Facultad de Odontología, Universidad de Valparaíso, Chile.

Paul S., Meter A., Pietroban N., Hammerle C. (2002): Visual and spectrophotometric shade analysis of human teeth. *J Dent Res*, 81:578-582.

Pradeau D. (1998): Tisanas. En: Análisis químicos farmacéuticos de medicamentos. Noriega Editores. Editorial Limusa S.A., Primera Edición, México DF - México, pp:1046-1047.

Prayitno S., Taylor L., Cadogan S., Addy M. (1979): An *in vivo* study of dietary factors in the aetiology of tooth staining associated with the use of chlorhexidine. *J Periodontal Res*, 14:411-4177.

Proctor G.B., Pramanik R., Carpenter G.H., Rees G.D. (2005): Salivary Proteins interact with dietary constituents to modulate tooth staining, *J Dent Res*. 84:73-78.

Pucher J.J., Daniel J.C. (1992): The effect of chlorhexidine digluconate on human fibroblast *in vitro*. *J Periodontol*, 63:526-532.

Ribeiro D.A., Bazo A.P., da Silva Franchi C.A., Marquez M.E.A., Salvatori D.M.F. (2004): Chlorhexidine induces DNA damage in rat Peripherals leukocytes and oral mucosal cells. *J Periodontal Res*, 39:358-361.

Schmidt-Hebbel H. (1990): Excitantes nerviosos y digestivos. En: Aditivos alimentarios y la reglamentación de los alimentos: Aplicaciones y comentarios de orden químico y tecnológico. Editado por Fundación Chile. Editorial Universitaria, Primera edición, Santiago - Chile, pp:144-146.

Serrano J., Sanz M., Herrera D. (2006): Efectos de un colutorio con clorhexidina al 0,05% y cloruro de cetilpiridinio al 0,05% en pacientes en mantenimiento periodontal. Tesis Doctoral. Departamento de Medicina y Cirugía Bucofacial, Universidad Complutense de Madrid, España.

Sreenivasan P., Haraszthy V., Zambon J. (2013): Antimicrobial efficacy of 0,05% cetylpyridinium chloride mouthrinses. *Lett Appl Microbiol*, 56(1):14-20.

Watts A., Addy M. (2001): Tooth discolouration and staining: a review of the literature. *Br Dent J*, 190:309-316.

Valenzuela A. (2004): El consumo de té y la salud: Características y propiedades benéficas de esta bebida milenaria. *Rev Chil Nutr*, 31(2).