

UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
ESCUELA DE ODONTOLOGÍA
CATEDRA DE ODONTOLOGIA PREVENTIVA



***EFFECTOS DE LOS COLUTORIOS DE CLORHEXIDINA Y
FLUORURO EN EL PH DEL BIOFILM DENTAL
INTERPROXIMAL.***

Trabajo de Investigación
Requisito para optar al
Título de Cirujano Dentista

Alumnos:

Verónica Flores Rojas.
Konrad Fritz León.

Docente guía:

Dr. Santiago Gómez S.

Dedicatoria.

Quiero dedicar esta tesis especialmente a Elizabeth y Sergio mis padres que gracias a su apoyo e infinito cariño pude terminar esta etapa de mi vida, también a Marcela y Francisco, Carolina y Erasmo, por estar junto a mí a pesar de la distancia.

Verónica

Quisiera dedicar éste seminario de tesis, el cual culmina varios años de sacrificado trabajo a mi madre Olga, quién me acompañó y soportó a través de todos estos años de largas noches de estudio. A mi tío Hugo quien me guió y aconsejó durante los extensos años de estudio y, a mi familia por su apoyo para que pudiese cumplir ésta, mi primera meta.

Konrad

Agradecimientos.

Quisiéramos agradecer a las siguientes personas, quienes nos ayudaron en el desarrollo de éste seminario de tesis:

- Al Dr. Santiago Gómez, por guiarnos continua y pacientemente durante éste seminario de tesis.
- Sr. Iván Godoy Böhm, por su siempre buena disposición como panelista.
- Sr. Osvaldo Trujillo, representante de Laboratorios Maver, por su desinteresada donación en productos.
- Dra. María Paz Morán, por su ayuda en la selección de las publicaciones científicas.
- A los compañeros de primer año que participaron en ésta experiencia, gracias a los cuales éste estudio fue posible realizar.

Índice.

	Página
• Introducción.	1
• Marco Teórico.	2
○ Biofilm Dental.	2
○ pH.	6
○ Métodos de Medición de pH.	9
▪ Método de toma de muestra (raspado) y posterior dispersión para estudios in vitro.	10
▪ Método de electrodos de toque / microtoque.	11
▪ Métodos inmersos en un sistema transportador (telemétricos).	14
○ Comparación entre los métodos de medición de pH.	15
○ Clorhexidina	16
▪ Características generales	16
▪ Mecanismos de acción.	18
▪ Presentaciones.	18
○ Fluoruros.	21
▪ Características generales.	21
▪ Mecanismos de acción.	22
▪ Presentaciones.	24
• Fluoruros tópicos.	25
• Objetivos.	27
• Materiales y Métodos.	28
• Resultados.	32
• Discusión.	38
• Conclusiones.	43
• Sugerencias.	44
• Resumen.	45
• Bibliografía.	46
• Anexos.	51

Introducción.

Es de amplio conocimiento por parte de los profesionales odontólogos, que la disminución del pH del Biofilm dental, bajo los niveles críticos de disolución del esmalte, incide de manera directa en la desmineralización de las estructuras duras del diente, provocando la aparición de lesiones cariosas. Esto fue demostrado ya en 1940 por Stephan, quien introduce la medición del pH del Biofilm dentario, dentro del área de la cariología dental (Stephan, 1940).

En la actualidad, el mercado se encuentra invadido de productos para combatir el Biofilm dentario, muchos de ellos, sin una clara explicación de su mecanismo de acción, como agentes quimioprolácticos y su asociación en el desarrollo de lesiones cariosas.

Es importante entender que la reducción o la eliminación de los *Streptococos mutans*, no es sinónimo de disminución de caries. Sin embargo, existen estudios que claramente determinan que el tratamiento con Clorhexidina, y particularmente en conjunto con Fluoruros de alta concentración, pueden ser efectivos en alterar el metabolismo de dichas bacterias, disminuyendo el riesgo de presentar nuevas lesiones.

Es por ello que en éste seminario de tesis, se evaluará el comportamiento de dos elementos de conocida acción anticariogénica, como son el Fluoruro y la Clorhexidina. Para dicha evaluación, se determinará el efecto que dichos productos provocan en la curva de Stephan interproximal.

Se podrá así establecer *in vivo* la veracidad de la acción de los mencionados productos efectuando las mediciones de pH *ex vivo*.

I. Marco Teórico.

1.- Biofilm Dental.

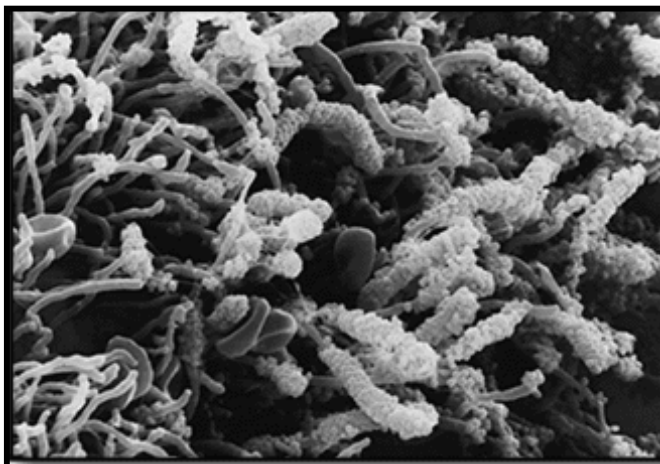
Las enfermedades ocurren cuando un microorganismo específico alcanza un sitio determinado donde se presentan las condiciones necesarias para su crecimiento, hasta un nivel en que pueda generar daño al huésped. En el caso de la cavidad bucal, la caries presenta una etiopatogenia, que fue propuesta por W.D. Miller entre 1882 y 1890 (Miller, 1890), señalando que el factor más importante en la patogénesis de esta enfermedad, es la capacidad de un gran número de bacterias bucales de producir ácidos, a partir de los hidratos de carbono ingeridos en la dieta (Brown y cols., 1991).

En sus estudios, Miller descubrió que las bacterias contenidas en la saliva producían ácidos, desde los carbohidratos agregados a temperatura ambiente y que éstos ácidos eran suficientes para descalcificar los tejidos duros de los dientes. Cuando a la saliva no se le adicionaban carbohidratos, una putrefacción reemplazaba a la fermentación y una alcalinidad aparecía en vez de una acidificación, no observándose una descalcificación (Kleinberg, 2002).

Estos estudios, permitieron que Miller formulara su teoría de la “*descalcificación ácida en la formación de la caries dental*”, la cual involucraba dos pasos: primero, las bacterias residentes en la boca producían ácidos en presencia de carbohidratos fermentables y segundo, los ácidos disolvían los minerales dentarios, iniciando y manteniendo el proceso formador de una cavidad (Kleinberg, 2002).

Esta Placa dental (ver fotografía n°1), está compuesto entre un 60 y 80% por microorganismos. La colonización por parte de las bacterias dentro de la cavidad bucal compromete los tejidos blandos y duros; existiendo diversos ambientes determinados, debido a que las condiciones varían entre las diversas regiones anatómicas de la boca.

La masa bacteriana, muestra una adherencia firme y estructurada y, en función del medio externo, la microflora se diferencia y adquiere una capacidad metabólica específica (Riethe, 1990).



Fotografía n°1 Placa dental humana demostrando formaciones como mazorcas de maíz.

Ya en la década de 1930, se demostró que la fermentación de carbohidratos, en los depósitos microbianos, llevaba a la formación de ácido láctico, el cual está involucrado en la desmineralización de los tejidos duros del diente, pero se ha demostrado que en realidad se producen una variedad de productos finales ácidos y básicos, procesos que incluso ocurren en ausencia del aporte continuo de sustratos desde la dieta (Nyvad y Fejerskov, 1994). La tabla I, muestra la distribución de los ácidos carboxílicos, en una Placa dental interproximal de 7 días, de tres personas que no han comido desde 2 a 3 horas antes de la medición.

TABLA I. Ácidos Carboxílicos (mM) en una Placa bacteriana interproximal de 7 días.
Nyvad y Fejerskov (1994).

	Media	Rango
Fórmico	9.6	1.18 – 109.0
Acético	45.10	12.10 – 81.4
Láctico	18.95	3.46 – 208.0
Propiónico	7.2	0.87 – 15.8
Butírico	3.68	1.49 – 75.5

En el año 1943, Muntz, demostró que el agregar glucosa a una muestra de microorganismos bucales suspendida en agua, causaba la producción de ácidos volátiles, incluyendo ácido acético, propiónico y fórmico, además del ácido láctico; demostrando las complejas fermentaciones que ocurren dentro de la Placa dental. Estas observaciones fueron confirmadas estando bien establecido que ácidos volátiles son producidos durante el proceso de fermentación de la Placa dental, tanto *in vitro* como *in vivo* (Schachtele y Jensen, 1982).

Según la Organización Mundial de la Salud, la Placa Bacteriana, corresponde a: *“Una entidad bacteriana proliferante, enzimáticamente activa, que se adhiere firmemente a la superficie dentaria y que por su actividad bioquímica metabólica, ha sido propuesta como el agente etiológico principal en el desarrollo de Caries y Periodonciopatías”* (Brown y cols., 1991).

Desde los estudios de Miller, ha existido una continua controversia sobre el rol de las bacterias en la causa de la Caries dental, considerando si una especie específica de bacteria o una mezcla de especies, son los agentes responsables y si es una infección bacteriana, en el sentido clásico o un crecimiento ecológico. En los años recientes, Loesche propuso su hipótesis *“específica / no específica para la Caries dental”*, concluyendo que la especificidad e infección clásica, se encontraban en el lado correcto del debate (Kleinberg, 2002).

En su trabajo, Kleinberg concluye que los *Estreptococos Mutans* no pueden, excepto en casos específicos, ser la única causa bacteriana de la Caries dental. Esto simplemente debido a que varios microorganismos no Mutans, son lo suficientemente acidogénicos y, numerosos para producir cantidades suficientes de ácidos (Kleinberg, 2002).

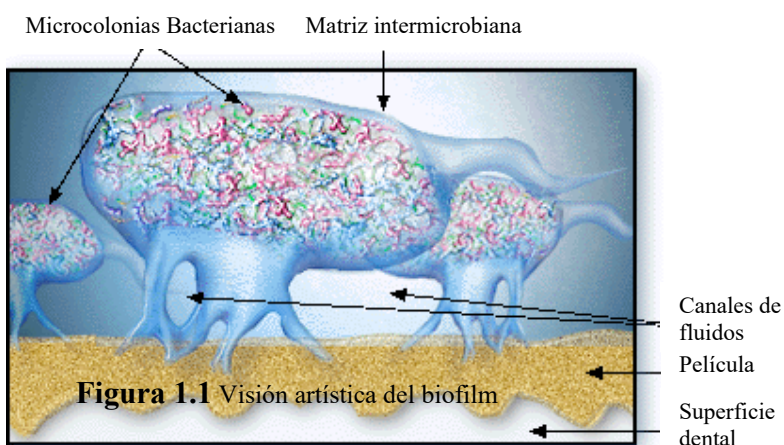
Respecto a la relación Caries / Flora bacteriana, las evidencias indican que una actividad aumentada de caries, está asociada con el enriquecimiento del Biofilm dental con organismos que presentan una relativamente alta capacidad acidogénica. Tales organismos incluyen además de los *Estreptococos mutans*, a los *Lactobacilos* y a las llamadas bacterias de pH bajo “no mutans” (Lingström y cols., 2000).

Pese a todo, los *Lactobacilos* y *Estreptococos*, son el mayor género de la categoría de bacterias, generalmente referidas como las *bacterias de ácido láctico*. Muchos estudios han demostrado una frecuente asociación entre *Lactobacilos* y la prevalencia de caries dental. Otras observaciones, han indicado que los *Lactobacilos* no son esenciales para el desarrollo de la caries dental, esto debido a que las lesiones cariosas pueden desarrollarse en su ausencia y otros miembros acidógenos residentes de la microbiota bucal, pueden proveer del ácido necesario (Kleinberg, 2002).

Respecto a los *Estreptococos*, estudios similares han llevado a descubrir al menos 8 serotipos de *Estreptococos mutans*, agrupados en cuatro especies (*Mutans*, *Sobrinus*, *Cricetus* y *Rattus*), pero se los ha considerado simplemente como otros microorganismos acidógenos dentro de la boca humana (Kleinberg, 2002). Otros estudios señalan que dentro de la familia de los *Estreptococos*, las cadenas de *Sobrinus* son los que producen la mayor cantidad de ácidos, respecto a los otros miembros de la familia como los *Mutans*, *Oralis*, *Sanguis* o *Mitis* (de Soet y cols., 2000).

Es por ello que en la actualidad, a la Placa Bacteriana se le llama **Biofilm dental** (ver figura 1.1). El Biofilm, es una comunidad cooperadora de microorganismos, especialmente organizados en una dimensión estructural tridimensional, dentro de una matriz de material extracelular derivado tanto de las mismas células como del ambiente (Marsh y Nyvad, 2003).

Los Biofilms se encuentran en cualquier parte de la naturaleza, ellos se forman bajo condiciones de fluidos y se estima que un 95% de las bacterias existentes en la naturaleza, se encuentran organizadas como Biofilms (Overman, 2000).



Dentro de las propiedades generales del Biofilm, se pueden mencionar (Marsh y Nyvad, 2003):

- Protección de las defensas del huésped y predadores.
- Protección contra la desecación.
- Aumento de la resistencia y la tolerancia a agentes antimicrobianos debido a:
 - Fenotipos nuevos asociados a la superficie.
 - Tasa de crecimiento lenta.
 - Pobre penetración dentro del Biofilm (limitaciones de reacción y difusión).
 - Nuevas expresiones de genes y fenotipos.
 - Retención y persistencia de microorganismos en sistemas de flujos.
 - Heterogeneidad espacial y medioambiental creando un mosaico de medioambientes, potenciando la diversidad microbiana.
 - Organización espacial entre los microorganismos facilitando intercambios metabólicos.
 - Concentración elevada de nutrientes en las interfaces líquido – superficie.

Durante las pasadas dos ultimas décadas, nuevos métodos científicos han cambiado el punto de vista de la Placa Bacteriana, permitiendo a los profesionales verla ahora como un verdadero Biofilm dental (ver figura 1.2).

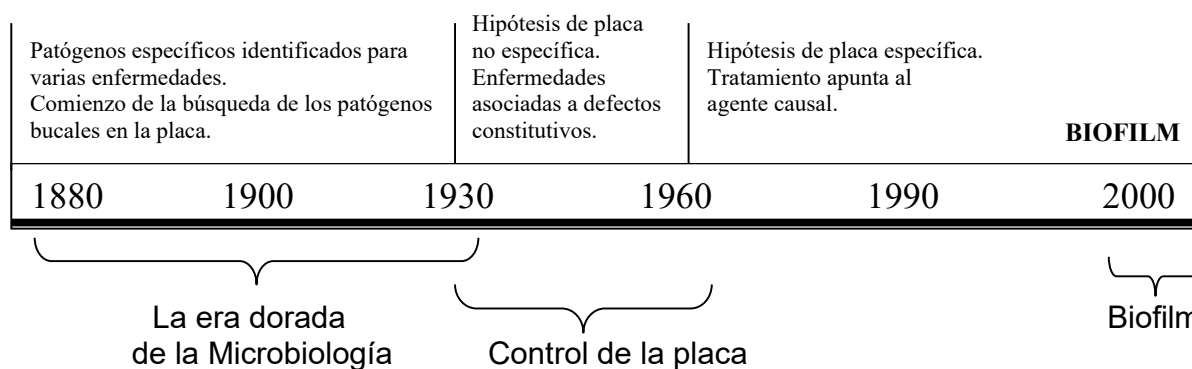


Figura 1.2 Los cambios de visión respecto a la placa bacteriana y la enfermedad periodontal.

Previamente las bacterias habían sido estudiadas, dentro de placas de cultivo en el laboratorio mientras crecían como colonias. Desde 1990, técnicas de microscopía más sofisticadas llamadas “laser scanning”, han permitido examinar los Biofilms en sus estados naturales en estructuras tridimensionales. Los microorganismos dentro del Biofilm, se comportan de manera distinta que las bacterias en un medio de cultivo. Respecto a esto, es posible mencionar las siguientes propiedades básicas del Biofilm (Overman, 2000):

- Comunidad cooperadora de varios microorganismos.
- Los microorganismos se encuentran organizados en microcolonias.
- Las microcolonias se encuentran rodeadas por una matriz protectora y unidas por una red de canales que les permiten disolver los nutrientes y remover los productos de desecho.
- Dentro de las microcolonias, existen diferentes medioambientes.
- Los microorganismos tienen un sistema primitivo de comunicación intercelular (aún en estudio).
- Los microorganismos dentro del Biofilm, son resistentes a antibióticos, antimicrobianos y a la respuesta del huésped.

2.- pH.

El potencial cariogénico del Biofilm, es esencialmente la consecuencia del metabolismo acidógeno de las bacterias que lo forman. Por su parte, la lesión cariosa es el resultado de la desmineralización del esmalte durante la exposición al ácido producido por dichas bacterias (Brown y cols., 1991).

El pH corresponde a un índice, que permite fijar el valor de la concentración de iones hidrógenos contenidos en el líquido considerado (Sopena, 1968), es decir, corresponde a la actividad de dicho ion.

En la década de los 40, Stephan (Stephan, 1944) describió por primera vez los cambios del pH de la Placa Bacteriana (actualmente Biofilm), siendo la respuesta a una exposición al azúcar. Debido a que la solubilidad del esmalte es dependiente de pH, se ha pensado que la producción de ácidos en el Biofilm es teóricamente algo crucial para el desarrollo de las lesiones y, como fue señalado por Stephan, los Biofilms acidogénicos, pueden incluso encontrarse en individuos libres de caries, siendo la caída del pH, después de la ingesta de azúcar, mayor en personas caries activos que en los resistentes a la caries (Dong y cols., 1999).

Los experimentos realizados por Stephan en 1944 (Stephan, 1944), mostraron que el pH, tres horas después de la comida, era mayor en los individuos resistentes a las caries, que en los individuos con caries activas. La magnitud de las respuestas de pH inducido por la glucosa no fue relativamente afectada e incluso, fue menor en los grupos de caries extremos. En los individuos resistentes a las caries, el mayor rango de pH del Biofilm, se debe presumiblemente a respuestas no cariogénicas del pH, pues los valores no fueron suficientemente bajos para afectar a la hidroxapatita por períodos significativos.

En individuos con caries activas, el pH se mantiene bajo el nivel “crítico” de pH de 5.5, por períodos substanciales, en el cual la desmineralización del esmalte se ve favorecida, debido a que la flora de los Biofilms con alta actividad de caries, es más acidogénica que la de los Biofilms dentales no cariogénicos (Sissons y cols., 1998; Van Houte y cols., 1996).

Sin embargo, otros investigadores no han encontrado relación alguna entre el pH del Biofilm dental, después de un enjuague con azúcar y la actividad de caries. Además se demostró *in vitro* que la disminución de pH, era similar en individuos con y sin caries (Dong y cols., 1999).

Esta discrepancia respecto a la acidogenicidad del Biofilm y la caries dental, puede tener varias explicaciones (Dong y cols., 1999):

- El Biofilm estudiado, puede que no sea el principal responsable de la caries en los individuos.
- El potencial cariogénico del Biofilm dental, no está relacionado solamente a la actividad fermentadora, sino que también a otros factores como el contenido iónico de minerales.
- La actividad pasada de caries, puede reflejar o no actividad cuando se realiza la medición de pH.
- La baja de pH, como parámetro único, puede no representar el potencial cariogénico del Biofilm dental.

Se ha establecido, basado en los trabajos de Stephan, un punto crítico de pH para la desmineralización del esmalte, de alrededor de 5.5 – 5.6, o hasta valores inferiores (Larsen y Bruun, 1994), que mantenidos por un período de tiempo, provocarían la descalcificación del esmalte para luego lentamente volver a su nivel inicial. Este fenómeno es conocido como la “*curva de Stephan*” y es repetido siempre después de la aplicación de carbohidratos fermentables sobre el Biofilm dental (Brown y cols., 1991).

El estudio del pH y su evaluación, debe ser llevada a cabo considerando que el Biofilm dental es un sistema abierto donde suceden cambios. El ambiente bucal está en un constante estado de flujo, por ende los cambios pueden deberse a un gran número de factores, los cuales principalmente se han clasificado en tres tipos, señalados en las figuras 2.1, 2.2 y 2.3 (Schachtele y Jensen, 1982).

Figura 2.1. Factores del huésped
(Schachtele y Jensen, 1982).

-
- Capacidad buffer de la saliva, Biofilm y de los iones liberados desde el esmalte.
 - Concentración de Calcio y Fósforo en la saliva (saturación).
 - Flujo y viscosidad de la saliva.
 - Presencia y edad del Biofilm dispuesto en sitios propensos a caries.
 - Componentes de la matriz del Biofilm que afectan la difusión.
 - Anatomía de la dentición.
 - Microestructura del esmalte.
 - Contenido de Fluoruro en el Biofilm y el esmalte.
 - Patrón de masticación, succión, enjuague y tragado.
 - Frecuencia de la ingesta de comidas.
-

Figura 2.2. Factores Microbianos
(Schachtele y Jensen, 1982)

-
- Concentración de bacterias acidógenas en sitios específicos de los dientes.
 - Potencial acidogénico de las bacterias en el Biofilm.
 - Tipos de ácidos producidos por las bacterias.
 - Concentración de bacterias ácido-metabólicas en el Biofilm.
 - Concentración de bacterias base-metabólicas en Biofilm.
 - Estado metabólico de las bacterias en el tiempo de ingesta de los alimentos.
 - Potencial acidogénico de las bacterias en las superficies mucosas y en la saliva.
-

Figura 2.3. Factores del Sustrato
(Schachtele y Jensen, 1982)

-
- Contenido total de carbohidratos fermentables.
 - Concentración y tipos de mono, di, oligo y polisacáridos,
 - Concentración y tipos de proteínas.
 - Concentración y tipos de lípidos.
 - Forma física, incluyendo factores que afectan la retención oral.
 - Presencia de Fluoruros, Calcio, Fosfato y otros elementos.
 - Presencia de fosfatos orgánicos.
 - Capacidad buffer total.
 - Presencia de sialogogos, inhibidores metabólicos y sabores.
 - Acidez de la comida.
 - Secuencia de ingestión relativa a otras comidas.
-

3.- Métodos de medición de pH.

En todo estudio de caries en el cual se realice un modelo experimental, el criterio para la selección de los sujetos de estudio, históricamente ha sido la demostración de su respuesta acidogénica después de un minuto con enjuague de una solución de azúcar (sacarosa), o mediante la utilización del índice COP, como historia pasada respecto a la producción de ácidos (Harper y cols., 1986).

Considerando que el monitoreo de los cambios de pH dentro del Biofilm, idealmente, debe realizarse después de la ingestión del sustrato, los métodos para medir pH en los sujetos seleccionados, pueden ser de tres tipos:

El primer método, corresponde al *Método de raspado / cultivo (toma de muestras)*, donde el Biofilm es recolectado desde las superficies accesibles de los dientes, antes y después de la ingesta del sustrato en prueba, para luego ser estudiado *in vitro*.

El segundo método, consiste en los sistemas de *electrodos / microelectrodos de contacto*, donde un electrodo manual es colocado contra el Biofilm *in situ*, obteniendo información al momento.

El tercer método, consiste en sistemas *telemétricos o electrodos con superficies sensitivas a iones, colocados dentro de un aparato transportador mantenido en boca*, ubicados comúnmente en el espacio interproximal, los cuales permiten acumular Biofilm. Este método fue desarrollado por Graf y Mühlemann, los cuales colocaron un electrodo en un solo sitio altamente cariogénico en individuos que era sabido presentaban disminuciones de pH prolongadas (Edgar y Geddes, 1986; Harper y cols., 1986; Lingström y cols., 1993; Nyvad y Fejerskov, 1994; Schachtele y Jensen, 1982).

Estos tres métodos también tienen la capacidad de proveer evidencia del potencial cariogénico (en humanos), de comidas y bebidas, bajo condiciones normales de uso (Edgar y Geddes, 1986).

Otro valor que presentan los métodos para medir el pH del Biofilm dental, es su habilidad para discriminar entre alimentos que son fermentados rápidamente, llevando a una larga caída del pH, y aquellos fermentados más lentamente (Edgar y Geddes, 1986).

3.1 Método de toma de muestra (raspado) y posterior dispersión para estudios *in vitro*:

Dentro de sus ventajas, podemos incluir un relativo bajo costo y la habilidad de testear a un gran número de sujetos, con o sin pérdida de dientes (Harper y cols., 1986).



El Biofilm dental es permitido que se acumule, mediante una detención de la higiene oral por parte del sujeto de estudio, después de unos días, el Biofilm dental es obtenido desde los sitios accesibles de varios dientes, mediante un raspado con un instrumento adecuado (ver fotografía n°2), para después diluir la muestra en un diluyente (Schachtele y Jensen, 1982).

Fotografía n°2. Toma de muestra

En la figura 3.1, podemos observar otras fortalezas y debilidades de este método.

Figura 3.1. Evaluación del método de toma de muestras para monitorear el pH del Biofilm.

(Schachtele y Jensen, 1982)

Fortalezas	<ul style="list-style-type: none"> • No requiere equipos sofisticados. • Puede ser eficientemente utilizado en un gran número de individuos.
Debilidades	<ul style="list-style-type: none"> • Destruye las características de permeabilidad del Biofilm. • Las muestras del Biofilm pueden ser contaminados con comida. • Sólo mediciones intermitentes pueden realizarse. • No distingue entre ácidos de la dieta y glicolíticos. • La disponibilidad de saliva puede tener un marcado efecto, con dificultad para establecer el clearance oral. • La información representa un valor promedio de varios sitios. • El muestreo debe ser críticamente cronometrado, si es que no se bloquea el metabolismo bacteriano antes de la toma de la muestra. • La disponibilidad de las muestras es sólo de las superficies disponibles. • Las muestras representan el pH del Biofilm del esmalte y, de la interfase Biofilm-saliva.

Estos métodos además, entregan información de cambios de pH, causados en la superficie del Biofilm, pero pueden variar las lecturas dependiendo si los sitios de recolección son interproximales o de caras libres, siendo complicado obtener Biofilm interproximal en ciertos casos (Frostell, 1970). Además, este Biofilm superficial y homogeneizado, entrega valores relativamente pequeños de bajas de pH (Lingström y cols., 1993).

3.2 Método de electrodos de toque / microtoque:



Éstos tipos de aparatos son actualmente utilizados para determinar el pH del Biofilm, incluyen variedades de vidrio, antimonio y de óxidos metálicos. Consisten en el uso de pequeños electrodos para tocar el Biofilm (ver fotografía n°3) y así obtener lecturas directas del pH (Jensen y Schachtele, 1983). En la tabla II es posible observar ciertas características de éstos instrumentos (Harper y cols., 1986).

Fotografía n°3. Uso de microelectrodo.

TABLA II. Electroodos de toque para medir pH
(Harper y cols., 1986)

Electrodo	Diámetro	Tiempo de Respuesta	Durabilidad
Vidrio	1.0 mm	20 – 30 segundos	Alta
Antimonio	0.5 mm	10 – 20 segundos	Baja a mediana
Paladio	0.1 mm	5 – 15 segundos	Baja a mediana
Iridio	0.1 mm	5 – 15 segundos	Mediana a alta

Se ha encontrado que ésta técnica es útil para seleccionar pacientes, los cuales muestran respuestas acidógenas ante carbohidratos fermentables (Schachtele y Jensen, 1982).

Tanto los microelectrodos de vidrio y antimonio, han sido construidos como herramientas para medir el pH intraoral del Biofilm. Las lecturas directas se pueden obtener colocando los electrodos en las superficies de los dientes, para después monitorear el pH luego de la ingesta del sustrato (Schachtele y Jensen, 1982). En la figura 3.2, podemos observar las fortalezas y debilidades de éste método.

Figura 3.2. Evaluación de los electrodos de toque para monitorear el pH del Biofilm.
(Schachtele y Jensen, 1982)

Fortalezas	<ul style="list-style-type: none"> • No requiere equipamiento sofisticado. • Pueden ser utilizados eficientemente en una gran cantidad de sujetos. • Puede monitorear pH en algunas lesiones cariosas. • Numerosos sitios individuales accesibles pueden ser monitoreados.
Debilidades	<ul style="list-style-type: none"> • Mide pH solo en la interfase Biofilm - saliva. • Mide pH solo en sitios accesibles. • Altera las características de permeabilidad del Biofilm. • Sólo se pueden obtener lecturas intermitentes. • No distingue de ácidos de la dieta y glicolíticos. • El clearance oral es difícil de estimar por la actividad buffer y de lavado de la saliva. • El Biofilm se puede deshidratar por mantener la boca abierta. • Algunos tipos de electrodos pueden ser susceptibles a contaminación por proteínas. • Algunos electrodos son frágiles y les falta estabilidad.

Otra de sus ventajas, sobre los métodos de microanálisis, es su habilidad para medir la actividad del Biofilm dental directamente, al contrario de las concentraciones convencionalmente medidas (Vogel y cols., 1987).

Al respecto, se ha demostrado que el pH en descanso y los niveles de pH mínimo son similares utilizando electrodos de vidrio y antimonio, al compararlos simultáneamente con aquellos obtenidos con la técnica de muestras. Éstos resultados enfatizan que bajo condiciones controladas, varios métodos pueden ser utilizados para obtener lecturas de pH del Biofilm reproducibles (Schachtele y Jensen, 1982).

Por su parte, los electrodos de Antimonio, pueden realizar, en una variedad de configuraciones, una escala adecuada para estimar el pH en diferentes niveles del Biofilm. No obstante, los electrodos de Óxido de metal, tienen la ventaja de ser lo suficientemente delgados (0.1 mm), para introducirse por interproximal, además de tener una baja impedancia, lo que les otorga respuestas rápidas, resistentes al ruido y adecuados para ser transportables (Harper y cols., 1986). En sus estudios, Stephan utilizó electrodos de Antimonio con forma de vara (Kleinberg y cols., 1982; Dong y cols., 1999).

Sin embargo, una desventaja de los electrodos de Antimonio, es que no se los puede dejar inmersos en el medio de las células por largos períodos de tiempo, sean mamíferas o bacterianas, pues aunque son insolubles, pueden inhibir el crecimiento de las bacterias. Lo mejor es utilizarlos mediante mediciones intermitentes o continuas, que no ocupen mayor tiempo que algunas horas (Kleinberg y cols., 1982).

Ciertos estudios, que utilizan microelectrodos de toque, a la vez utilizan un electrodo de vidrio como referencia, mediante puentes de sal (ver fotografía n°4). Lo anterior obliga a calibrar el microelectrodo con buffers de pH estándares (pH 4.0 y 7.0), antes y después de cada prueba y tanto como el test lo exija (Sissons y cols., 1998; Lingström y cols., 2000).



En un estudio realizado por Dong y cols. (1999), donde se utilizó un electrodo de Iridio colocado interproximalmente, en una posición apical al punto de contacto, mantuvo su certeza durante los 30 minutos de período experimental, entregando una lectura de pH de 7.05 a la solución buffer de 7.0. Ellos prefirieron utilizar éste tipo de electrodo, debido a su bajo costo, disponibilidad rápida y confiabilidad.

Fotografía n°4. Uso de microelectrodo formando puente de sal.

Otros estudios, señalan que los electrodos de Paladio, son muy confiables para establecer el pH en niños, aun bajo condiciones de campo extremas (Scheie y cols., 1992).

También es necesario constatar que no existan restauraciones metálicas, en las áreas donde se introducirá el electrodo de Paladio (Lingström y cols., 1993)

Los electrodos de toque con cables, pueden medir el pH del Biofilm en áreas accesibles, incluso en interproximal, pero no pueden monitorear el pH del Biofilm de las fisuras y, como al no estar usualmente visible el electrodo, no siempre se puede establecer si se encontraba inserto en el Biofilm. No obstante, los electrodos con cable pueden estimar el Biofilm natural que crece en la superficie del esmalte, al contrario de los métodos telemétricos (*ver más adelante*), que lo realizan sobre Biofilm cultivado sobre una superficie de vidrio u otro sustrato artificial (Dong y cols., 1999).

3.3 Métodos inmersos en un sistema transportador (telemétricos):

Éste tercer tipo, se desarrolló por dos razones principales: la primera, se relaciona con el hecho de que la caries ocurre en sitios de la dentición donde la comida puede ser retenida por mucho tiempo, los cuales podrían ser estudiados con sensores implantados en los dientes. La segunda razón, se relaciona con el hecho de que las mediciones de pH son realizadas continuamente desde dentro de la placa, en condiciones donde ésta no es alterada y el medio ambiente no la disturba dramáticamente (Schachtele y Jensen, 1982).

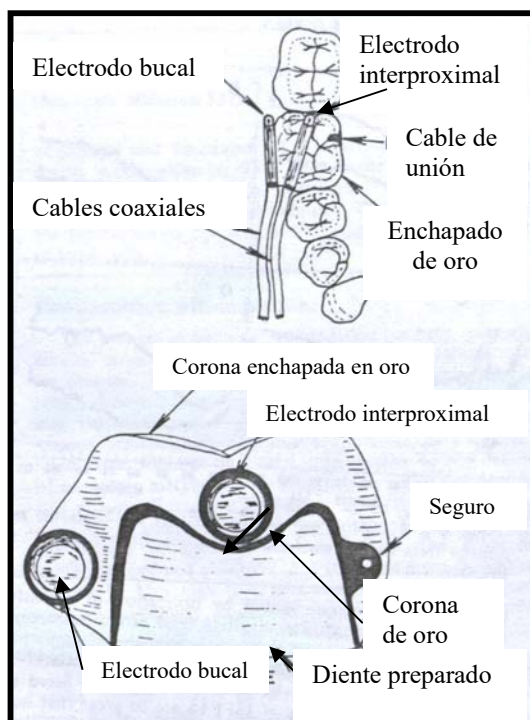


Figura 3.3 Aparato usado para medición telemétrica.

Estos métodos, son tecnológicamente sofisticados y tienen un gran número de ventajas teóricas, considerándoseles como el mejor método para pruebas de pH (Harper y cols., 1986). Ésta técnica también permite señalar que el pH en reposo interproximal

es generalmente 0.7 unidades de pH menor que el pH bucal (Jensen y Schachtele, 1983).

Ésta técnica, permite que el Biofilm se acumule en las superficies de los sensores, para luego mediante cables o señales de radio, obtener la información desde la boca (Figura 3.1) (Schachtele y Jensen, 1982).

Generalmente, los electrodos son de vidrio, con aproximadamente 2 mm de diámetro, montados en coronas o dientes pertenecientes a aparatologías removibles. Los electrodos de referencia pueden ser colocados en un brazo de los voluntarios (Lingström y cols., 1993).

Se ha establecido que el Biofilm acumulado en la superficie del sensor, es metabólicamente equivalente a la depositada en la superficie dental (Schachtele y Jensen, 1982).

También se ha demostrado que los flancos linguales, proveen un excelente sitio para la acumulación de Biofilm demostrándose que no existe diferencia significativa entre el Biofilm en el aparato y el Biofilm en la superficie lingual de los molares inferiores (Hall y cols., 1997).

En la figura 3.4 se pueden observar las fortalezas y debilidades de ésta técnica.

Figura 3.4. Evaluación de los métodos inmersos en transportador para monitorear pH
(Schachtele y Jensen, 1982)

Fortalezas	<ul style="list-style-type: none"> • Características de permeabilidad del Biofilm se mantienen. • Puede utilizarse para distinguir entre ácidos de la dieta y glicolíticos. • Mediciones continuas de pH. • Permite establecer certeramente los ácidos. • Pueden utilizarse electrodos de vidrio. • Permite medir pH en sitios susceptibles de caries. • Permite medir el pH en la sensitiva interfase Biofilm-superficie. • Existe una gran cantidad de información técnica disponible. • Se puede utilizar señales de radio para obtener mediciones continuas por largo tiempo. • Se pueden utilizar cables como conectores para estudio rutinarios. • Permite estudios en Biofilms de largos períodos de tiempo.
Debilidades	<ul style="list-style-type: none"> • Demandan más técnica que otros métodos. • El contenido microbiano del Biofilm en las superficies sensoras puede no ser normal. • Sitios limitados en número pueden ser monitoreados cuando se utilizan electrodos de vidrio. • Limitada selección del paciente por necesitarse espacios apropiados en la dentición.

4.- Comparación entre los métodos de medición de pH.

Los métodos de muestras de Biofilm dental y electrodos de toque, pueden ser utilizados en forma consistente y certera, para monitorear las respuestas en las superficies accesibles. No obstante, al utilizarse alimentos sólidos, es más difícil interpretar los resultados (Schachtele y Jensen, 1982).

En estudios que buscan clasificar alimentos según su acidogenicidad, es decir, la capacidad de provocar la caída del pH, Wei y cols. en 1981, mostraron que la técnica de raspado y la de electrodos de toque, ordenaban los alimentos de referencia de la misma forma. De la misma manera, Jensen y cols. en 1982, reportaron que la técnica de raspado y la telemétrica, reportaban similares resultados, después de un enjuague con azúcar. No obstante, los inconvenientes de la técnica de muestreo, como por ejemplo trabajo extra y limitado número de determinaciones posibles, la hacen menos deseable respecto al método de electrodos de toque para monitorear la acidez del Biofilm dental.

También se ha detectado que el método de muestreo, no detecta caídas de pH por debajo de 5.7, al contrario de las técnicas de microtoque y telemétricas (Lingström y cols., 1993).

Pese a que el método telemétrico fue desarrollado para no alterar la estructura y difusión del Biofilm, presenta un importante problema relacionado con su complejidad de utilizarlos en niños, aun mas, es una técnica inapropiada para toma de medidas de pH en campo a grandes escalas (Scheie y cols., 1992).

Otros autores, al comparar la técnica de toma de muestras de Biofilm en conjunto con un electrodo de vidrio *in vitro*, versus un electrodo de Antimonio, llegaron a la conclusión que la primera técnica, produce resultados similares a los obtenidos *in vivo* con el electrodo de Antimonio (Kleinberg y cols., 1982).

Estudios realizados para comparar los tres métodos de determinación de pH, mostraron que el telemétrico dio la baja de pH más pronunciada y el de muestra de Biofilm, la menos pronunciada; obteniéndose con el método de microtoque valores intermedios. Todos ellos están en concordancia con los reportados por otros autores (Lingström y cols., 1993).

Se cree que los valores más bajos de pH obtenidos con el método telemétrico, se deben al hecho de que capas más profundas de Biofilm son medidas con éste método.

Las variaciones de medición con el método de microtoque, se deben quizás a la dificultad de recolocar los electrodos de manera reproducible.

En conclusión, los tres métodos identifican satisfactoriamente las variaciones de pH, pero el método microtoque y el telemétrico, parecen ser más sensitivos, respecto del método de muestra (Lingström y cols., 1993).

No obstante la disponibilidad de la mejor metodología para medir pH existente en el mundo, ésta no se encuentra disponible en nuestro país con una experta asesoría técnica. Sin embargo, a pesar de intentarse utilizar ésta tecnología, se optó por el método de muestreo ya que nos permite una aproximación real a los valores obtenidos por otros autores.

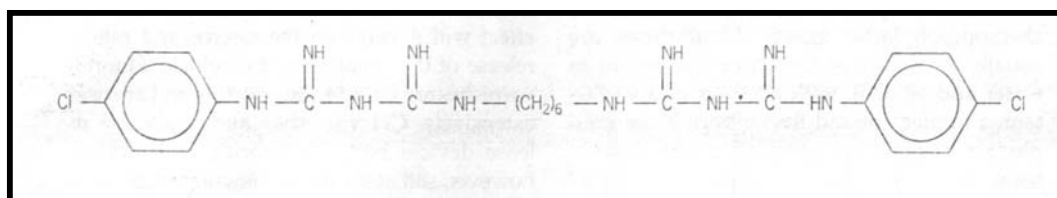
5.- Clorhexidina.

5.1.- Características Generales.

La Clorhexidina (CHX), ha sido utilizado como un agente antibiofilm en Europa, por más de 25 años y ha sido introducida con los mismos propósitos en el mercado de EE.UU. La CHX es a la fecha, uno de los mas potentes agentes quimioprofilácticos estudiado por su habilidad especifica para combatir Gram Positivos (Estreptococos mutans) y para inhibir la caries dental (Twetman y Petersson, 1998). Es altamente efectiva y es comúnmente utilizada como estándar, para medir la eficacia de otros agentes. Además, la CHX, efectivamente desinfecta la mucosa oral y ha sido usado como un antiséptico tópico en membranas de las mucosas y de la piel (Scheie, 1994).

La CHX es una bisguanidina, consistente en dos anillos 4-clorofenil y dos grupos bisguanidínicos, que están simétricamente conectados a una cadena hexametileno. Esto provee a la molécula de propiedades hidrofílicas e hidrofóbicas (Figura 5.1).

Figura 5.1
Estructura molecular de la CHX (Scheie, 1994).



El efecto antimicrobiano *in vitro* de la CHX no es sobresaliente, pero el espectro de acción es amplio. La CHX es generalmente más efectiva contra bacterias Gram positivas que contra Gram negativas. Los *Estreptococos mutans* son particularmente sensibles a la CHX, mientras que los *Estreptococos sanguis* exhiben una gran variación en la susceptibilidad (Schaeken y cols., 1986; Scheie, 1994).

Si bien los tratamientos con Clorhexidina pueden reducir significativamente el número de microorganismos, estos recolonizan la cavidad oral después de un periodo de tiempo. El tiempo de recuperación de los *Estreptococos mutans* es variable, probablemente dependa de varios factores, incluyendo la exclusión por parte de otros microorganismos del Biofilm, recuperándose los mutans después del tratamiento con CHX rápidamente. Esto significa que más de un tratamiento puede ser necesario para mantener la reducción de *Estreptococos mutans* por largos periodos de tiempo (Bowden, 1996).

Del mismo modo, en el trabajo de Kashani y cols. (1998), donde se probó el efecto del NaF^- , SnF_2 y la CHX, impregnando mondadientes para observar el efecto sobre el pH y los *Estreptococos mutans* del Biofilm, encontraron que el efecto inhibitorio de la CHX, era momentáneo y la recolonización era un poco más lenta, al igual que con el SnF_2 , teniendo un efecto residual visible después de 3 semanas. Posteriormente se producía la recolonización y, aunque ellos tendían a disminuir después del tratamiento, la reducción no era significativa. Esto coincide con otros estudios que usaron métodos de higiene mecánicos, como seda y limpieza profesional. Es por esto que la reducción puede considerarse más bien a un efecto mecánico que químico. Por lo tanto, la CHX produciría sólo disminuciones transitorias de los *Estreptococos mutans* (Kashani y cols., 1998).

5.2.- Mecanismos de acción.

La CHX, se une rápidamente a las células de la pared bacteriana cargadas negativamente. La integridad de la membrana puede subsecuentemente ser desestabilizada por interacciones con la porción hidrofóbica de la molécula, causando disturbios en la función de la membrana. A altas concentraciones, la CHX es bactericida, causando filtración de constituyentes de la célula de bajo peso molecular y precipitación de los contenidos de la célula. Estas formas de daño son irreversibles. El efecto es bacteriostático a bajas concentraciones, causando interferencia con las funciones normales de la membrana o filtración de los constituyentes de la célula. Este es un efecto antimicrobiano inmediato después de un enjuague con CHX. La flora bacteriana del Biofilm dental y la saliva son reducidas en un 80-95%, por un solo enjuague con 0.2% de CHX. La CHX también ha demostrado inhibir la acumulación bacteriana en las superficies dentales (Scheie, 1994).

El efecto clínico antibiofilm de la CHX, es mejor que otros agentes con similar o mejor eficacia antimicrobiana *in vitro*. Este efecto superior ha sido atribuido a las propiedades substantivas de la CHX y al hecho a que retiene su efecto antimicrobiano, aun cuando se encuentra absorbido en la superficie dentaria. Se ha pensado que la molécula de CHX, cargada positivamente, se une mediante fuerzas electroestáticas, por ejemplo los fosfatos, grupos carboxilo o sulfatos en la mucosa oral, bacteria y en la película. La persistencia de actividad biológica de estos sitios de unión, asegura actividad antimicrobiana en el sitio de acción por varias horas (Scheie, 1994).

5.3.- Presentaciones.

Aunque el efecto antimicrobiano es generalmente indiscutido y conocido, el modo de tratamiento y sistema de liberación para máxima efectividad no está del todo claro. En diversos estudios clínicos el tratamiento con CHX a sido desarrollado con soluciones para enjuagues, dentífricos para cepillado, geles usados en cubetas individuales o geles aplicados en jeringas y seda dental como vehículo (Twetman y cols., 1998).

Las presentaciones comerciales están disponibles en rangos desde 0.05 a 0.20% en enjuagues, 0.5 a 1.2 % en geles para el lavado de dientes o su uso en cubetas y de 10 a 50 % en barnices (Bowden, 1996).

La CHX ha sido principalmente evaluada por su prevención en la formación del Biofilm y desarrollo de gingivitis. Numerosos estudios han confirmado la eficacia clínica de la CHX. Enjuagues dos veces al día, con CHX de 0.2%, inhiben la formación del Biofilm casi completamente. Aparte del efecto antimicrobiano directo, la CHX reduce la actividad metabólica del Biofilm dental. Esto se ha demostrado mediante una baja del pH en el Biofilm dental después de un enjuague con azúcar. Oppermann encontró formación ácida disminuida en el Biofilm dental hasta 24 hrs. después del enjuague con 0.2% de CHX (Thylstrup y Fejerskov, 1994).

El efecto en la formación del Biofilm dental y su actividad metabólica, obviamente, afecta el desarrollo de caries. Estudios en animales han demostrado el potencial de la CHX y otros agentes antimicrobianos en la reducción del desarrollo de la lesión cariosa. Løe y sus colaboradores (citados por Emilson, 1977) encontraron reducción en lesiones blancas experimentalmente inducidas mediante dos enjuagues diarios de CHX por 21 días. Ningún o menor efecto cariostático han sido encontrados en otros estudios en humanos, donde el tratamiento con CHX, fue llevado a cabo a la par con los cuidados caseros del individuo, en conjunto con cepillado u otros enjuagatorios (Emilson, 1977). Por otra parte, la aplicación profesional de CHX, en combinación con un riguroso régimen de profilaxis, incluyendo instrucción de higiene oral, profilaxis dental profesional, consejos dietéticos y aplicación tópica de barnices de fluoruro, redujo el desarrollo de lesiones cariosas en niños durante un estudio de 3 años. El régimen fue el tratar a los niños del grupo de estudio, los cuales presentaban mas de 2.5×10^5 Estreptococos mutans por mL de saliva, una vez al día, por 14 días, con 1% de gel de CHX. Cuando la cantidad de Estreptococos mutans fueron reducidos, todas las fisuras de molares y premolares sin obturar, fueron selladas.

Cada vez que la cantidad de Estreptococos mutans salivales aumentaron, los niños fueron retratados con gel de CHX: Como se ha mencionado, los Estreptococos mutans son particularmente sensibles a la CHX. En la premisa de que los Estreptococos mutans son importantes agentes etiológicos en el proceso de la caries, una indicación sugerida de quimioprofilaxis con CHX está indicada en individuos que albergan altos números de ellos, considerándoseles además de alto riesgo cariogénico. La idea es inhibir el desarrollo de la lesión cariosa a través de la reducción de la población de Estreptococos mutans (Thylstrup y Fejerskov, 1994).

Corroborando lo anterior, en un estudio de 2 años en niños, el gel de CHX aplicado profesionalmente, mostró un mejor comportamiento que dos diferentes barnices de fluoruros y mejor que un gel placebo, cuando se aplicaban en superficies proximales (Gisselsson y cols., 1988).

Más recientemente, otros resultados han mostrado reducciones pasajeras en la colonización de Estreptococos mutans después de la aplicación de gel de CHX, mediante el uso de seda dental en el espacio interproximal, cubetas diseñadas individualmente y una mezcla de cepillado y seda dental, siendo las dos últimas más efectivas en reducir las poblaciones de Estreptococos mutans (Emilson y cols., 1999). Sin embargo, se ha visto que los tratamientos con gel de CHX en cubetas, presentan resultados superiores al cepillado de los dientes con gel (Bondestam y cols., 1996).

La introducción de los barnices de Clorhexidina, ha traído un nuevo concepto para la odontología preventiva. Se sugiere que el realce del efecto antimicrobiano con este producto se debe probablemente al prolongado contacto del barniz sobre y alrededor del diente y a su sostenida liberación de CHX por un extendido período de tiempo (Twetman y Petersson, 1998). Barnices que contienen 40% de CHX o Fluoruro (Duraphat®), aplicados cada 3 meses, durante un año, fueron evaluados para su habilidad de inhibir la progresión de lesiones de caries radiculares ya existentes. Ambos, Fluoruro y CHX, disminuyeron la progresión de la lesión, en comparación con el control. El 8% y 5% de la lesiones en el grupo Fluoruro y CHX respectivamente permanecieron activas u obturadas, versus un 20% en el grupo Control. Por otra parte, el 3, 11 y 15% de las lesiones se remineralizaron en el grupo Control, Fluoruro y CHX, respectivamente.

Lo anterior sugiere que la quimioterapia con barnices de fluoruro y CHX, puede utilizarse como medio simple y no invasivo, para tratar lesiones tempranas de caries. Una quimioprofilaxis intensiva con CHX y fluoruro en combinación, puede ser indicada por cortos periodos en individuos con alta actividad de caries, debido, por ejemplo, a hiposalivación después de un tratamiento por radioterapia, en las regiones de la cabeza y cuello (Gisselsson y cols., 1988). También existe evidencia del sinergismo entre la CHX y el ion Zinc, mostrando propiedades de inhibición mejoradas al estar en conjunto, que al ser comparadas de manera individual (Giertsen y cols., 1988).

Los barnices de Clorhexidina son efectivos reductores del número de *Streptococcus mutans*, algunas veces por largos períodos de tiempo (meses). Sin embargo, pequeño es el conocimiento acerca del efecto de los barnices de Clorhexidina en el tratamiento de caries, aunque un estudio fue capaz de reportar una reducción en las caries de las superficies radiculares (Banting y cols., 2000).

Otra investigación demostró que el uso de barnices de Clorhexidina al 10%, tiene una incidencia menor en la reducción de las caries coronales, respecto de la reducción de las caries radiculares, pero se considera aditivo de los efectos benéficos del cepillado con dentífricos fluorurados y al consumo de agua fluorurada (Banting y cols.; 2000).

Sin embargo, un reciente estudio longitudinal, doble ciego, al azar y controlado demostró una reducción temporal de los *Streptococcus mutans*, pero ninguna diferencia significativa en el incremento de caries en tres años, al comparar un barniz de CHX con uno placebo (Forgie y cols., 2000).

A pesar del amplio uso clínico de la CHX, los reportes adversos son pocos. Efectos generales y sistémicos son raros y la degradación de la molécula de CHX para formar metabolitos potencialmente peligrosos, parece rara. Por otro lado, efectos adversos locales, como decoloración de los dientes, lengua, restauraciones y dentaduras, descamación y dolencias de la mucosa oral, alteración del gusto y sabor amargo, son frecuentemente reportados. Los efectos locales adversos, son aliviados reduciendo la concentración de CHX.

En conclusión, el efecto positivo de la CHX en reducir y alterar el metabolismo del *Estreptococo mutans*, es relativamente independiente al tipo de preparación y al régimen de aplicación (Twetman y Petersson, 1998).

6.- Fluoruros.

6.1 Características Generales.

El uso de los fluoruros en el tratamiento de la caries dental, se ha expandido desde el momento en que ésta enfermedad fue reconocida como un problema de salud pública. El ion fluoruro ocupa el trigésimo lugar como elemento químico de mayor abundancia en la corteza terrestre, es muy electronegativo, por lo cual es difícil encontrarlo en su estado libre o elemental. Normalmente se encuentra combinado como sales de fluoruros (Gómez, 2001).

La inhibición del metabolismo de los carbohidratos por el fluoruro, fue descubierto por primera vez en los estudios realizados por Lohmann y Meyerhof en 1934, en células de mamíferos, ellos observaron a la enzima sensible llamada "*enolasa*", la cual participa en la vía glicolítica de los hidratos de carbono. Después, en 1937, Stone y Werkman, demostraron el mismo efecto inhibitorio en las bacterias (Hamilton, 1990).

Ya en 1940 se demostró que el metabolismo de los carbohidratos, en cultivos puros de *Estreptococos* y *Lactobacilos* orales, también era inhibido por los fluoruros (Van Loveren, 2001).

Estudios *in vitro*, han mostrado que el fluoruro inhibe la glicólisis en las bacterias orales, saliva, sedimentos salivales y suspensiones del Biofilm dental. Ésta interferencia, también se ha observado en los Biofilms de bocas expuestas a agua potable con fluoruro, aplicaciones tópicas de soluciones de fluoruro, enjuagues con fluoruros (Bibby y Fu, 1986).

Como pudiese pensarse erróneamente, el esmalte no es la fuente de fluoruros para el Biofilm, sino que es la dieta y la saliva. Además, si la superficie del esmalte esta regularmente cubierta con componentes lábiles de fluoruros, como es el fluoruro de calcio, fuente tópicas como dentífricos con flúor, pueden contribuir al fluoruro del Biofilm (Tatevossian, 1990).

6.2.- Mecanismos de acción.

Por varios años, la aplicación práctica de fluoruros, fue basada en la presunción de que la incorporación de fluoruros en la apatita del esmalte, le confería resistencia a la disolución ácida. Además, como una alta ingesta de fluoruros durante la formación de los dientes resulta en una dentición rica en fluoruro, se asumió que le otorgaría una resistencia por mayor tiempo a la caries (Koch y cols., 1994).

Uno de los factores cruciales, involucrado en los efectos inhibitorios del fluoruro en el Biofilm y sus efectos en la caries dental, se relaciona con la acumulación y distribución del fluoruro en el Biofilm. Dependiendo del pH del Biofilm, el fluoruro puede existir como F^- , HF y HF^{-2} . Los movimientos transmembranas del fluoruro, dependen de la disponibilidad de la forma de ácido débil (HF) (Hamilton, 1990).

El fluoruro puede estar presente en la matriz del Biofilm, como fluoruro de calcio, aunque los estudios sugieren que su efecto anti - caries es mínimo. No obstante en la actualidad, los reportes indican que los complejos fluoruro de calcio estables, pueden formarse especialmente a altas concentraciones de fluoruro, característico en las aplicaciones tópicas de fluoruro. Los efectos biológicos de los fluoruros, pueden observarse en la figura 6.1.

Figura 6.1. Algunos efectos biológicos de los fluoruros en las bacterias
(Hamilton, 1990; modificado por Van Loveren, 2001).

Parámetro	Efecto específico	
	Directo	Indirecto
<i>a) A nivel celular.</i>		
Síntesis macromolecular	Ácido lipoteicoico. Peptidoglicano.	Glicógeno.
Glicólisis	Enolasa (reducción después de su adaptación al Fluoruro).	Sistema de la Fosfotransferasa; formación intracelular de polisacáridos (metabolismo energético y crecimiento).
Gradientes de membrana	ATPasa Transportadora de protones. Disipa gradientes de protones.	Disipa gradientes de protones. Acidificación del citoplasma.
	Flujo de K ⁺ y Pi.	Disipa gradientes de protones.
<i>b) En niveles celulares y en el Biofilm (placa bacteriana).</i>		
Algunas enzimas	Fosfatasa ácida. Pirofosfatasa. Pirofosforilasa. Peroxidasa. Catalasa.	
<i>c) En el Biofilm (Placa bacteriana).</i>		
Competencia Bacteriana	Tóxico para ciertos tipos de bacterias; reducen la caída del pH.	Protección en contra del pH; diferenciación del Biofilm
Colonización	Adherencia a la apatita	
Transporte de Ca ⁺²	Reduce la afinidad por el calcio	Promueve la remineralización

Los estudios, muestran la acumulación de fluoruros por las bacterias bucales cuando crecen en presencia de fluoruro. La cantidad tomada por las células, es proporcional a los niveles de fluoruro, en la fase fluida externa y llega a niveles mayores que aquellos en medios de cultivos, donde los niveles externos de fluoruro son inferiores. La acumulación de fluoruros aumenta mientras el pH externo disminuye, concluyéndose que el fluoruro es llevado dentro de la célula como HF (Hamilton, 1990).

Para eliminar una población, el fluoruro debe actuar matando o inhibiendo completamente a las poblaciones específicas. La habilidad del fluoruro por si solo para eliminar a la población bacteriana, depende de su concentración. El fluoruro puede matar a los Estreptococos bucales en concentraciones *in vitro* entre 0.16 a 0.31 mol/L. En relativas altas concentraciones, puede reducir la población de organismos como Estreptococos mutans, sanguis y Actinomyces viscosus/naeslundii, en Biofilms *in vivo* (Bowden, 1990).

El principal blanco para el fluoruro en la pared bacteriana, es la metaloenzima *enolasa* (mencionada anteriormente), la cual convierte la 2-fosfoglicerato en fosfoenolpiruvato, lo que se traduce a la larga en una producción de ácido láctico. También se ha demostrado que el primer intermediario de la vía glicolítica, la glucosa 6-fosfato, es inmediata y rápidamente inhibida por el fluoruro, indicando un efecto en el sistema de transporte de glucosa (Hamilton, 1990).

Estudios desarrollados en Biofilms *in vivo*, mostraron que las concentraciones inhibitorias de fluoruros para Biofilm natural eran de 5 ppm. Igualmente, en placa interproximal de monos era de 30 ppm, lo que en humanos corresponde a 1000 ppm (Bibby y Fu, 1986).

En sistemas *in vitro*, 10 ppm de fluoruro, sea éste Fluoruro de Sodio o Monofluorofosfato, causan una reducción de la producción de ácidos en el Biofilm, ya que en éstas existen cantidades suficientes de enzimas (fosfatasas), que producen una rápida conversión de Monofluorofosfato en fluoruro, pues la forma iónica del fluoruro es la necesaria para inhibir la glicólisis (Bibby y Fu, 1986).

Algunos autores, demostraron *in vitro*, que aproximadamente 9500 ppm de F⁻ en solución, es la cantidad necesaria para inhibir la adsorción de las bacterias a la hidroxiapatita (Van Loveren, 2001). También se ha señalado en ciertos Biofilms, una reducción en la caída del pH de hasta 0.2 unidades después de estar sometidos a azúcar, en individuos que usan agua fluorurada y en personas que se enjuagan diariamente con aproximadamente 912 ppm F⁻ de solución (Van Loveren, 2001).

Es decir, el fluoruro estabiliza el hábitat de las comunidades bacterianas (esmalte y dentina), volviéndolos más resistentes a los ácidos y más accesibles a la remineralización. Además, el fluoruro en altas concentraciones, reduce la patogenicidad de las bacterias, al reducir las poblaciones potencialmente patógenas. A la vez, se ha visto que el fluoruro puede reducir, pero no eliminar, la producción de ácidos desde la comunidad *in vivo* (Bowden, 1990).

6.3.- Presentaciones.

A grandes rasgos, las presentaciones de fluoruros pueden clasificarse de acuerdo a su método de aplicación (Gómez, 2001):

- Sistémicos:
 - En el agua potable.
 - Fármacos fluorurados (gotas, comprimidos y vitaminas).
 - Alimentos (sal, leche).

- Tópicos:
 - Soluciones.
 - Barnices.
 - Geles.
 - Colutorios o enjuagatorios.
 - Pastas para profilaxis.
 - Dentífricos.

6.3.1 Fluoruros Tópicos.

Ya en 1940, era utilizado el pincelado de los dientes con soluciones de fluoruros, como una medida de prevención de caries. La solución más común de fluoruro fue inicialmente el fluoruro de Sodio al 2%, el cual era aplicado sobre el diente por 3 a 4 minutos después de una profilaxis. Este procedimiento era repetido en ciertos periodos durante la erupción dentaria. Las aplicaciones eran recomendadas a los 3, 7, 10 y 13 años de edad (Thylstrup y Fejerskov, 1994).

Con el tiempo, otras soluciones de fluoruros fueron utilizadas, como fluoruro estañoso, fluoruro fosfato acidulado, amino fluoruro, etc. Para alcanzar un buen efecto, las aplicaciones debían repetirse y, normalmente, una aplicación debidamente efectuada, precedida de una profilaxis, consumían a lo menos 15 a 20 minutos. Como un resultado esperado, 20 – 40% de reducción de caries se logró, observándose que la pincelación, no era efectiva costo – beneficio para uso general. No obstante, aún es reservada para individuos con elevada actividad de caries o riesgo cariogénico. Las mismas condiciones también conciernen al uso de geles y barnices.

En la figura 6.2, es posible observar diferentes métodos y usos de la aplicación tópica de fluoruros.

Figura 6.2. Diferentes métodos y usos de la aplicación tópica de fluoruros
(Thylstrup y Fejerskov, 1994).

Métodos	Aplicación profesional	Uso en programas preventivos escolares	Aplicación domiciliaria	Comentarios
Fluoruros Tópicos				
Soluciones	X	X		Consumen tiempo; solamente para individuos con alta actividad cariogénica.
Cepillado con Gel			X	
Gel en cubetas	X		X	Ver soluciones.
Barnices	X	X		Ver soluciones.
Enjuagatorios		X	X	En programas escolares; diariamente en casa.
Dentífricos				
Otros				
Tabletas			X	Alta actividad cariogénica.
Chicles			X	Baja salivación.
Pastas de pulido	X			
Materiales restauradores de liberación lenta	X			Libera fluoruros directo al medio circundante.

Estudios realizados en personas sanas, sometidos a un reto acidogénico y que se cepillaban los dientes dos veces al día, no demostraron desmineralización alguna, esto debido a la actividad del ion fluoruro en el ambiente bucal, especialmente en la interfase Biofilm/saliva/esmalte, es vital para limitar la desmineralización y favorecer la remineralización y por ende proteger contra la caries. Además *in vitro* se ha demostrado que concentraciones menores a 0.01 mg/L son efectivas en prevenir la disolución del esmalte (Duggal y cols., 2001).

Objetivos.

Objetivo General.

Consignar las variaciones del pH interproximal (curva de Stephan), y sus modificaciones al usar dos de los principales agentes cariostáticos, los Fluoruros y la Clorhexidina.

Objetivos específicos.

1. Determinar *ex vivo* el pH del Biofilm dental interproximal en reposo.
2. Determinar *ex vivo* los cambios de pH del Biofilm dental interproximal en actividad.
3. Comprobar por el método *ex vivo* las modificaciones del pH del Biofilm interproximal al usar *in vivo* Clorhexidina al 1% en colutorio.
4. Comprobar por el método *ex vivo* las modificaciones del pH del Biofilm interproximal al usar *in vivo* Fluoruro al 0.25% (2500 ppm) en colutorio.
5. Establecer y comparar la eficacia de los mencionados agentes cariostáticos, en evitar o disminuir la baja del pH del Biofilm interproximal.

Materiales y Métodos.

a. *Diseño del estudio:*

Se realizó un estudio experimental *ex vivo*, eligiendo 12 sujetos por conveniencia pero distribuidos al azar en dos grupos. Un tercer grupo control se obtuvo mediante una elección al azar de sujetos de ambos grupos.

b. *Sujetos de estudio:*

Doce voluntarios sanos serán escogidos por conveniencia para participar en este estudio, desde la carrera de Odontología de la Universidad de Valparaíso, utilizando como criterios de inclusión los siguientes parámetros:

- No estar bajo tratamiento antibiótico por razones médicas u odontológicas.
- Formar niveles similares de Biofilm dental, medidos a través del Índice de Higiene Oral Green Vermillion simplificado, utilizando tabletas reveladoras Oral B.
- Baja o ninguna experiencia de caries, medidos a través del Índice COP (superficie), mediante examen clínico y radiografías Bite wing estandarizadas bilaterales.

Previo al inicio del estudio, los participantes deberán firmar un consentimiento informado del protocolo de estudio, aceptado por el comité científico de la facultad.

c. *Productos de prueba:*

Dos productos serán testeados para medir su efecto en el Biofilm dental a saber: un colutorio de digluconato de Clorhexidina al 1 %, y un colutorio de Fluoruro de Sodio al 0.25% (2.500 ppm), elaborados vía recetario magistral en Farmacias Ahumada.

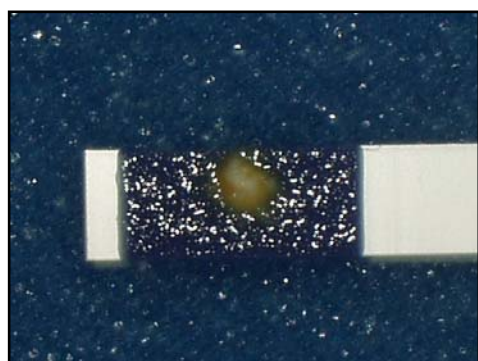
d. **Métodos de medición de pH:**

El pH del Biofilm interproximal se medirá por el método de toma de muestras (*ex vivo*), para lo cual se recolectarán muestras de Biofilm dental desde el espacio interproximal de los dientes posteriores superiores e inferiores, mediante un explorador de caries.

Fotografía n°5 Varillas indicadoras de pH.



Estas serán dispersadas sobre varillas indicadoras de pH (ver fotografía n°5 y 6), con un rango entre 4.0 – 7.0 (Merck KGaA, Alemania), manteniéndose hidratadas, para posteriormente observar la variación de tonalidad y establecer así el valor de pH al compararlas con la cartilla indicadora suministrada por el fabricante, dentro de un período de 20 minutos mediante una lupa estereoscópica (ver fotografía n°7) (Olympus S2PT, Japon), la cual tiene adosada una cámara fotografica (Olympus C35DA – 2) y un controlador de disparo fotográfico (Olympus PM 10 AK), los cuales se utilizarán para registrar ciertos valores de medición.



Fotografía n°6 Muestra de Biofilm sobre varilla.

Los registros obtenidos por cada examinador (n=2), serán tabulados y posteriormente promediados, obteniendo así un valor promedio del pH para cada tiempo de medición.

Fotografía n°7 Lupa estereoscópica



e. **Diseño experimental:**

De los sujetos de estudio (n=12) se seleccionarán seis para formar el grupo Control. Posteriormente serán distribuidos en dos grupos al azar de seis integrantes cada uno, el primero correspondiente al grupo Clorhexidina (CHX) y el segundo correspondiente a Fluoruro. A los participantes se les indicará que no efectúen ninguna técnica de higiene por tres días consecutivos antes de la prueba debiendo asistir al cuarto día (medición), sin haber ingerido o bebido alimento alguno, excepto agua.

El experimento se iniciará para los tres grupos, tomando una muestra de Biofilm en reposo (tiempo 0), la que será sometida a mediciones de pH a través de las varillas indicadoras de pH (Merck KGaA, Alemania), obteniendo así los valores iniciales de pH, dichas mediciones se efectuarán dispersando la muestra sobre la varilla y posicionándola en la lupa estereoscópica (Olympus S2PT, Japón), la muestra se mantendrá humectada con agua potable (de pH 7 comprobado) y los registros se efectuarán a diferentes tiempos, a saber 5 y 10 minutos, cuyos resultados serán registrados en forma separada por cada evaluador.

Luego de obtener la primera muestra se les suministrará a los sujetos de estudio inmediatamente una solución neutra de sacarosa al 10%, para que realicen enjuagatorios por dos minutos. Posteriormente se esperará por 20 minutos, permitiendo que la solución active el Biofilm del participante, obteniendo una nueva muestra (tiempo 20), que será sometida a mediciones a los 25, 30, 35 y 40 minutos del enjuague con sacarosa, manteniendo la humectación de la muestra con la solución de sacarosa al 10%.

En el grupo Control posteriormente se tomaron tres muestras, la tercera muestra (tiempo 50), a los 50 minutos después del enjuague con sacarosa al 10%, la cual fue registrada a los 55, 60, 65 y 70 minutos. La cuarta muestra (tiempo 80), se tomó a los 80 minutos y se registró a los 85, 90, 95 y 100 minutos. Finalmente la quinta muestra (tiempo 110), fue recolectada a los 110 minutos y medida a los 115, 120, 125 y 130 minutos. Cada muestra se mantuvo humectada con la solución de sacarosa al 10% mientras eran realizados los registros.

En el grupo CHX se suministró a los sujetos un colutorio de CHX al 1% y en el caso del grupo Fluoruro un colutorio de Fluoruro de Sodio al 0,25% (2500 ppm). Se les solicitó a los sujetos de ambos grupos que se enjuagara con el colutorio asignado durante 2 minutos, para luego proceder a tomar la tercera, cuarta y quinta muestra de acuerdo a los tiempos del grupo Control y bajo las mismas condiciones experimentales.

f. Calibración:

Los examinadores se sometieron a un proceso de calibración previo a la realización de la experiencia, esta consistió en registrar las muestras observadas y comparadas con la cartilla de pH suministrada por el fabricante de las varillas indicadoras, a través de la lupa estereoscópica, de seis distintas soluciones por cada examinador y su posterior comparación, estableciendo la pauta de registro a seguir para las muestras del proyecto de tesis.

g. Análisis Estadístico:

Para la tabulación y análisis de la información se utilizó el software estadístico SPSS 10 (SPSS, 2001). Los datos fueron agrupados según la variable "*grupo*", a saber Control, Clorhexidina y Fluoruro, además de la variable pH, según los distintos intervalos de tiempo.

Para el análisis de las diferencias entre grupos, se utilizó el análisis de ANOVA (de medidas repetidas) y para la determinación de el o los grupos que diferían de manera significativa, se utilizó el análisis post hoc de Tukey. Al momento de comparar los grupos Clorhexidina y Fluoruro, contra el grupo Control, se utilizó el análisis de Dunnett para establecer los valores de significancia. El nivel de significancia fue fijado en $p < 0,05$.

Resultados.

De los doce voluntarios participantes, 8 de ellos correspondieron a mujeres (66.6%) y solamente 4 (33.4%) fueron hombres. El promedio de edad general fue de 19.6 años. El índice de Green Vermillion promedio de los participantes fue de un 54% y su índice COPs promedio fue de 5 (ver tabla IX).

A. pH del Biofilm dental interproximal en reposo.

Los resultados obtenidos de las muestras de Biofilm dental interproximal en reposo, sin la intervención de sacarosa ni de los productos terapéuticos testeados, se resumen en la *tabla III*. El promedio de pH mayor se obtuvo en el grupo Clorhexidina y Fluoruro a los 5 min., con un promedio de pH de 6.6. A los 10 minutos se obtuvo un promedio de pH de 6.5. El grupo Control mostró un promedio de pH de 6.4 a los 5 min. y el menor promedio de pH se encontró en este mismo grupo a los 10 min., con un promedio de pH de 6.2. Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos ($p > 0.05$).

TABLA III. pH ex vivo del Biofilm dental interproximal en reposo.

	Control (n=6)		Clorhexidina (n=6)		Fluoruro (n=6)	
	5 min.	10 min.	5 min.	10 min.	5 min.	10 min.
Promedio	6.4	6.2	6.6	6.5	6.6	6.5
SD	± 0.76	± 0.97	± 0.58	± 0.66	± 0.34	± 0.44
p (*)	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

(*): ANOVA

B. pH del Biofilm dental interproximal en actividad.

En la *tabla IV* se resumen los pH medidos *ex vivo* del Biofilm dental interproximal activado con una solución de sacarosa al 10% y sin la intervención de los productos terapéuticos testeados. Se observa que el grupo Fluoruro presenta los mayores valores de pH a los 25, 30, 35 y 40 minutos después del enjuague con sacarosa, seguido por el grupo Clorhexidina para los mismos tiempos. El grupo Control presentó los menores valores de pH para los tiempos en que se realizaron las mediciones, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre cada grupo ($p > 0.05$).

TABLA IV. pH ex vivo del Biofilm dental interproximal en actividad.

	Control (n=6)				Clorhexidina (n=6)				Fluoruro (n=6)			
	25 min.	30 min.	35 min.	40 min.	25 min.	30 min.	35 min.	40 min.	25 min.	30 min.	35 min.	40 min.
Promedio	5.18	4.92	4.74	4.65	5.30	5.00	4.76	4.69	5.31	5.17	4.87	4.80
SD	±0.28	±0.32	±0.37	±0.39	±0.43	±0.45	±0.42	±0.40	±0.24	±0.30	±0.19	±0.22
p (*)	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

(*): ANOVA

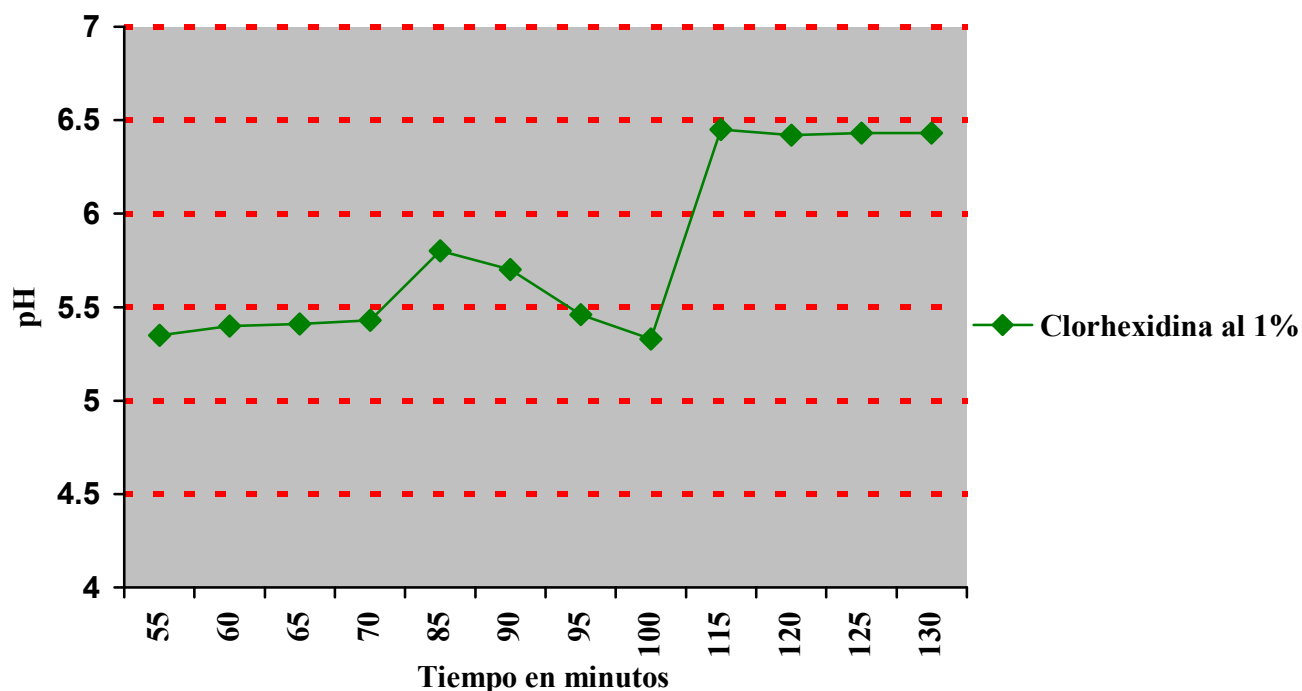
C. pH Biofilm dental interproximal con Clorhexidina al 1%.

Luego del enjuague con Clorhexidina por dos minutos, se verificaron variaciones de pH desde los 55 a los 100 minutos posteriores al enjuague con sacarosa, dentro de un rango que varió desde un pH 5.35 (a los 55 min.) y de 5.33 (a los 100 min.), presentando el valor de pH promedio mas alto a los 85 minutos, con un valor de pH 5.80. De esta forma se pudo establecer valores estables dentro de un periodo de 45 minutos, para luego a los 115 minutos experimentar un aumento de estos valores hasta los 130 minutos, registrándose un pH entre 6.42 y 6.45. Por lo tanto se observan dos momentos, un primer periodo donde se mantiene el pH estable durante 45 minutos bajo el valor de pH 6.00, para luego a partir de los 115 minutos aumentar sobre 6.00 durante 20 minutos (ver tabla V y gráfico n°1).

TABLA V. pH ex vivo del Biofilm dental con Clorhexidina al 1% en colutorio.

	Clorhexidina al 1% (n=6)											
	55 min.	60 min.	65 min.	70 min.	85 min.	90 min.	95 min.	100 min.	115 min.	120 min.	125 min.	130 min.
Promedio	5.35	5.40	5.41	5.43	5.80	5.70	5.46	5.33	6.45	6.42	6.43	6.43
SD	±0.58	±0.76	±0.68	±0.75	±0.53	±0.55	±0.63	±0.65	±0.51	±0.51	±0.56	±0.56

Gráfico n°1: pH ex vivo Biofilm dental interproximal con Clorhexidina al 1%



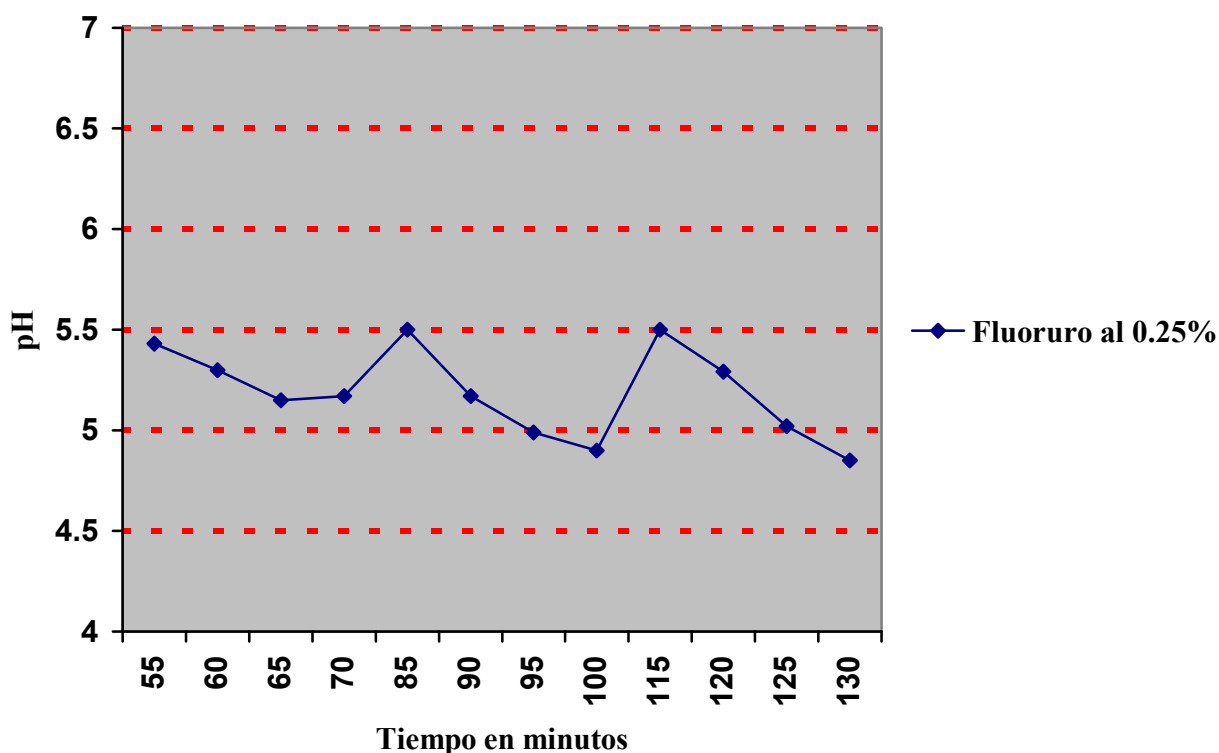
D. pH Biofilm dental interproximal con Fluoruro al 0.25%.

En la *tabla VI* se puede apreciar que los valores de pH encontrados en el grupo Fluoruro, durante los últimos 65 minutos del experimento, es decir desde los 55 minutos después del enjuague con sacarosa, registraron un pH entre 4.85 y 5.50. El valor mas bajo correspondió aquel registrado a los 130 minutos y corresponde a un pH de 4.85 y, el mayor se registro a los 85 y 115 minutos siendo de 5.50. La escasa diferencia entre ambos valores, indica que los registros fueron similares entre si, manteniéndose un pH algo estable. El *gráfico n°2* expresa el perfil de dichos valores.

TABLA VI. pH ex vivo Biofilm dental con Fluoruro al 0.25% (2500 ppm) en colutorio.

	Fluoruro al 0.25% (n=6)											
	55 min.	60 min.	65 min.	70 min.	85 min.	90 min.	95 min.	100 min.	115 min.	120 min.	125 min.	130 min.
Promedio	5.43	5.30	5.15	5.17	5.50	5.17	4.99	4.90	5.50	5.29	5.02	4.85
SD	±0.14	±0.27	±0.23	±0.26	±0.32	±0.14	±0.26	±0.24	±0.0	±0.19	±0.19	±0.31

Gráfico n°2: pH ex vivo Biofilm dental con Fluoruro al 0.25%.



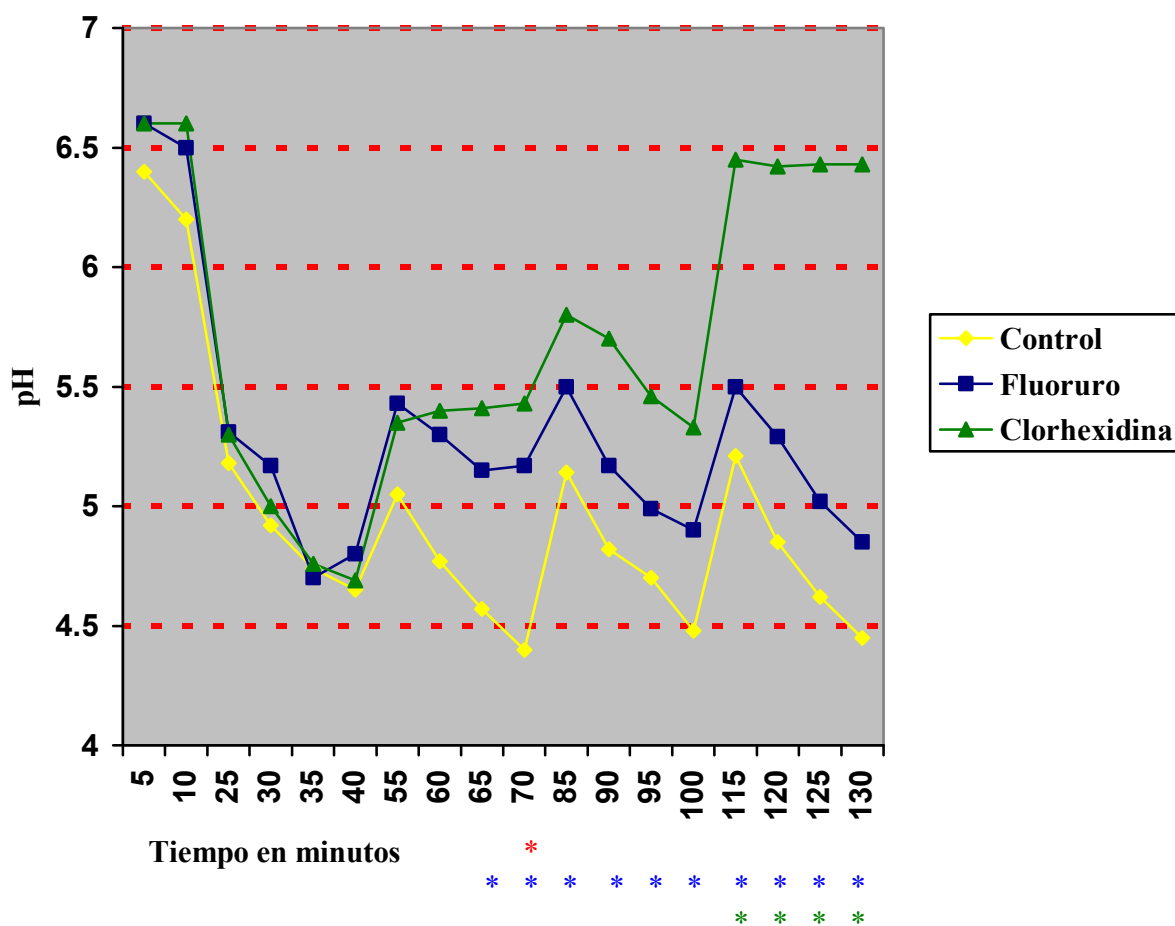
E. Eficacia de la Clorhexidina y Fluoruro en evitar o disminuir baja del pH Biofilm dental interproximal.

TABLA VII. Promedios muestras pH ex vivo Biofilm dental Clorhexidina al 1% y Fluoruro al 0.25% en colutorios versus Control.

	55 min.	60 min.	65 min.	70 min.	85 min.	90 min.	95 min.	100 min.	115 min.	120 min.	125 min.	130 min.
Control	5.05 ±0.12	4.77 ±0.18	4.57 ±0.24	4.40 ±0.33	5.14 ±0.25	4.82 ±0.27	4.70 ±0.25	4.48 ±0.33	5.21 ±0.22	4.85 ±0.25	4.62 ±0.26	4.45 ±0.12
Clorhexidina al 1%	5.35 ±0.58	5.40 ±0.76	5.41 ±0.68	5.43 ±0.75	5.80 ±0.53	5.70 ±0.55	5.46 ±0.63	5.33 ±0.65	6.45 ±0.51	6.42 ±0.51	6.43 ±0.56	6.43 ±0.56
Fluoruro al 0.25% (2500 ppm)	5.43 ±0.14	5.30 ±0.27	5.15 ±0.23	5.17 ±0.26	5.50 ±0.32	5.17 ±0.14	4.99 ±0.26	4.90 ±0.24	5.50 ±0.0	5.29 ±0.19	5.02 ±0.19	4.85 ±0.31
p<0.05			*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

(*): Valores estadísticamente significativos con test de DUNNET.

Gráfico n°3: Resumen eficacia de Clorhexidina y Fluoruro respecto a Control.



Fluoruro versus Control (*)

Clorhexidina versus Control (*)

Clorhexidina versus Fluoruro (*)

(*), (*), (*): $p < 0.05$

De acuerdo a lo que se observa en la *tabla VII* y en el grafico n°3, los valores obtenidos en los grupos Clorhexidina y Fluoruro entre los 55 minutos, momento en el que se establece el efecto del producto y, los 65 minutos, no presentan significancia estadística al ser comparados con los valores de grupo Control, al utilizarse el test de Dunnet. A partir de los 65 minutos se establecen diferencias significativas entre la Clorhexidina y el grupo Control ($p < 0.05$). Referente al Fluoruro, solamente a los 70 minutos este agente es significativo respecto al Control.

Al comparar los grupos Clorhexidina y el Fluoruro, solamente a partir de los 115 minutos se observaron diferencias significativas entre ellos ($p < 0.05$), al utilizarse el test de Tukey (*tabla VIII*).

TABLA VIII. Diferencias entre Clorhexidina al 1% y Fluoruro al 0.25%

	115 min.	120 min.	125 min.	130 min.
Promedio Clorhexidina	6.45 ± 0.51	6.42 ± 0.51	6.43 ± 0.56	6.43 ± 0.56
Promedio Fluoruro	5.50 ± 0.0	5.29 ± 0.19	5.02 ± 0.19	4.85 ± 0.31
Diferencia	0.95	1.13	1.41	1.58
p(*)	0.00	0.00	0.00	0.00

(*): TUKEY.

Discusión.

En este estudio, se observó el pH del Biofilm dental interproximal en reposo para determinar así el valor de acidez que presentaban los sujetos en estudio sin la intervención de producto alguno. Según los resultados obtenidos, fue posible determinar que los participantes presentaron niveles basales de pH en reposo similares entre sí, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre ellos ($p > 0.05$). Es decir, todos iniciaron la experiencia con valores similares de pH en reposo (entre 6.2 y 6.6). Estos resultados permitieron trabajar con un grupo homogéneo, permitiendo establecer -con mayor propiedad- que los resultados obtenidos durante la experiencia serían consecuencia de la acción de las variables independientes (fármacos) y no de características individuales de cada participante.

La medición se registró de forma individual por cada uno de los investigadores, lo que permitió que los resultados no fueran influenciados entre sí. El método utilizado para la determinación del pH del Biofilm en reposo fue el descrito como *toma de muestra (raspado)* lo que permitió verificar sus ventajas tal como se describen en la literatura. Es así como se constató su bajo costo y la posibilidad de ser aplicado a varios individuos durante un corto periodo de tiempo, siendo técnicamente fácil de realizar y sin la necesidad de instrumentos sofisticados. Además el uso de la lupa estereoscópica facilitó el registro de los datos al contar con una imagen ampliada de la muestra. Con respecto a las desventajas de esta experiencia, indicadas en el trabajo de Schachtele y Jensen (1982), para evitar la intervención de la saliva se aisló y secó las zonas interproximales en cada una de las mediciones y además se pidió a cada participante que no ingiriera ningún tipo de alimento en las horas previas a realizar cada experiencia, para que las muestras presentaran la mínima contaminación, tanto por la presencia de residuos como ácidos de la dieta, los que podrían haber actuado como variables confundentes.

En cuanto al método de electrodo de toque / microtoque indicado como el método más idóneo para estas experiencias, éste resultó no ser posible de realizar por problemas de falta asesoría técnica especializada en el país, no coincidiendo con la literatura respecto de sus ventajas (Schachtele y Jensen, 1982), pues requiere aparatos sofisticados no disponibles en nuestra realidad nacional y exigiendo además un grado de entrenamiento previo para realizar un correcto posicionamiento del microelectrodo en el sitio interproximal para evitar mediciones erróneas. Por otra parte, era necesario que los sujetos acumularan una gran cantidad de Biofilm, para asegurar que el electrodo penetrara completamente en la matriz de éste. Además, el tiempo total para la medición es relativo, ya que se requiere de mediciones sucesivas y calibración constante para asegurar que los resultados a obtener sean confiables. Por ello no permite trabajar con un gran número de sujetos de estudio.

Con respecto a los resultados obtenidos luego de la activación del pH con una solución de sacarosa al 10% y un tiempo de espera de 20 minutos, se observó la caída del pH (en reposo) desde promedios de no cariogénicos hasta valores que se encuentran en un rango de 4.69 a 5.31, que son considerados como críticos para provocar la disolución del esmalte. De ésta manera fue posible reproducir la caída de pH descrita ya en los años 40 por Stephan (1944). Todos los grupos experimentaron una baja de pH, sin encontrarse diferencias estadísticas significativas entre ellos, lo que permitió establecer que todos los sujetos se encontraban en las mismas condiciones para producir ácidos desencadenados por un sustrato fermentable, a partir de valores similares de pH en reposo.

De entre los agentes quimioterapéuticos disponibles en la actualidad, varias sustancias han sido evaluadas pero ningún agente antimicrobiano, a excepción del Fluoruro, ha recibido tanta atención experimental como la Clorhexidina, siendo la sustancia más efectiva y el agente mejor documentado hasta la fecha.

Como se mencionó con anterioridad, el mecanismo de acción de la Clorhexidina se centra a nivel de la membrana bacteriana y dependiendo de la concentración de ella, será bactericida o bacteriostática. Este mecanismo de acción sobre el Biofilm se ve reflejado en la alteración de su capacidad para producir ácidos cuando se le suministra sacarosa, lo cual es posible establecer mediante las mediciones de pH hechas en muestras de Biofilm dental.

De acuerdo con la literatura, los mejores resultados anticariogénicos son obtenidos utilizando barnices, seguidos por los geles y finalmente enjuagatorios. Estudios realizados en humanos con geles de Clorhexidina, han demostrado poder reducir los *Streptococos Mutans* a niveles bajos en la saliva y en el Biofilm dental, especialmente las aplicaciones con una concentración de un 1% (Emilson, 1994). En el presente estudio se decidió experimentar con un vehículo de uso más masivo, como son los enjuagatorios, manteniendo la misma concentración del agente que ha demostrado tener efectos positivos, es decir al 1% de Clorhexidina. Otras experiencias, donde se ha experimentado con enjuagues de Clorhexidina de más baja concentración, han resultado en una pequeña o moderada reducción de las colonias bacterianas (Schaeken y cols., 1986).

Es importante señalar que los estudios de caries disponibles en la actualidad relacionados con la Clorhexidina, se encuentran enfocados principalmente en su acción bactericida o bacteriostática evitando así la aparición de la caries. No obstante, no señalan el efecto del agente quimioterapéutico en la producción de ácidos a partir de dichas bacterias en Biofilms ya establecidos (objetivo de esta investigación) y por ende, su posible participación en evitar la aparición de lesiones cariosas.

Otros estudios, que han experimentado otras vías de aplicación de la Clorhexidina, se han acercado a nuestra interrogante. Es así como Kashani y cols. (1998), midieron el pH del Biofilm dental interproximal previo y posterior a la aplicación de palillos interdetales impregnados con Clorhexidina al 2%, después de 10 minutos de realizado un enjuague con sacarosa. Ellos no encontraron diferencias significativas en la respuesta del pH a la sacarosa. En cambio el presente estudio, se aplicó un colutorio de Clorhexidina al 1%, posterior a enjuague con sacarosa al 10%. En las tres muestras recolectadas a distintos tiempos y sometidas al desafío acidogénico, se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) respecto al grupo Control, donde los valores del pH se mantuvieron estables sobre 5.33 por 45 minutos, en un rango ascendente de 5.80 a 6.00, desde el enjuague con sacarosa.

Respecto al Fluoruro, los estudios realizados señalan que en el Biofilm interproximal *in vivo*, el efecto inhibitorio se consigue con una concentración de 1000 ppm, esto debido a las características de difusión limitada de los espacios interproximales, especialmente cuando presentan grandes cantidades de Biofilm (Bibby y Fu, 1986).

Sin embargo, otros estudios indican que aplicaciones de soluciones de Fluoruro al 2% (aproximadamente 9000 ppm), o de geles al 1% (aproximadamente 4500 ppm), reducen la producción de ácidos por parte de las bacterias, pero dichas aplicaciones no son convenientes o recomendadas para el cuidado bucal rutinario (Van Loveren, 2001). Para el presente estudio se optó por un enjuagatorio de Fluoruro al 0.25% (2500 ppm), por ser esta alta concentración la utilizada como elección en personas con un gran riesgo o alta actividad cariogénica, que concuerda además con el concepto del mecanismo de acción del Fluoruro sobre la *enolasa* (enzima de la vía glicolítica), donde altas concentraciones afectarían a las poblaciones bacterianas, reduciéndolas *in vivo* (Bowden, 1990).

Las investigaciones mencionan que el mecanismo de acción del Fluoruro en el Biofilm se encuentra más enfocado a una reducción en la formación de ácidos, debido a una adaptación de dicho Biofilm al agente, pues la adición de altos niveles de Fluoruro no logra una eliminación de las cepas bacterianas, sino la mencionada disminución de la actividad acidogénica (Bowden, 1990; Hamilton, 1990).

En estudios realizados en animales, el Biofilm adaptado al Fluoruro mostró una menor producción de ácidos al estar en contacto con sacarosa respecto al grupo Control sin Fluoruro (Hamilton, 1990).

En estudios similares, la reducción en la formación de ácidos se logró a los 15 minutos, respecto al tiempo base (tiempo 0) en ausencia de Fluoruro. Pero esta disminución no es pronunciada. Esta adaptación de las bacterias al Fluoruro, entregado en niveles preventivos en humanos es difícil de detectar. Pero hay que recalcar que el mayor efecto del Fluoruro en las bacterias bucales es reducir la habilidad del Biofilm de producir ácidos *in vivo* y disminuir el metabolismo de los Hidratos de Carbono *in vitro* (Bowden, 1990).

En la presente experiencia, los resultados de pH obtenidos en el grupo Fluoruro, respecto al grupo Control, concuerdan con lo señalado anteriormente por Hamilton, pues las diferencias entre ambos no fueron marcadas ni significativas ($p > 0.05$), excepto en el registro realizado a los 70 minutos, el cual fue el único en presentar una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre ambos grupos, por lo que inferimos que el pH mantuvo diferencias estables.

También nuestros resultados concuerdan con aquellos señalados en el trabajo de Tatevossian (1990), quién menciona las experiencias realizadas por Jenkins y Edgar entre 1969 y 1977, donde compararon muestras de Biofilm de personas sometidas a Fluoruro y otras sin contacto alguno con el agente. Al ser sometidas a sacarosa, las personas del grupo Fluoruro entregaron valores de pH ligeramente mayores, respecto a las del grupo Control.

Se puede señalar que la meta en la investigación del Fluoruro respecto a la producción de ácidos, debe dirigirse a investigar el efecto de los actuales productos de cuidado bucal en la acidogenicidad y el pH del Biofilm, pues la literatura que relaciona al Fluoruro con la producción acidogénica es escasa. Dichos estudios deben realizarse *in vivo*, tanto como la tecnología lo permita, sin interrumpir la fisiología del Biofilm.

Al revisar la bibliografía es posible encontrar que principalmente los trabajos de investigación que comparan a la Clorhexidina con el Fluoruro, se basan principalmente en la utilización del Fluoruro Estañoso (SnF_2), señalándose que ambos agentes presentan efectividad en la supresión de los Estreptococos mutans. En el caso del Fluoruro se debería a la presencia del componente metálico (Schaeken y cols., 1986). Si el medio de aplicación para los agentes anteriormente señalados es variado, su actividad no se ve alterada. Es así que al utilizarse palillos interdentes impregnados en los agentes, presentaban efectos sobre los Estreptococos mutans además de un declinar en el pH del Biofilm pero este último, de manera pequeña y por poco tiempo. Esto quizás, debido a la vía de aplicación (Kashani y cols.; 1998).

Debido a lo anteriormente señalado, no es posible establecer comparaciones acertadas con la presente experiencia, pues en nuestro caso se utilizó Fluoruro de Sodio (NaF) como agente. No obstante, al comparar éste y la Clorhexidina frente a un grupo Control, ambos agentes entre los 55 y 65 minutos de la experiencia, no mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$) en su accionar. Sólo, a partir de los 65 minutos, la Clorhexidina comienza un aumento en el pH, respecto al Control, siendo todos los valores obtenidos estadísticamente significativos ($p < 0.05$). Por su parte, el Fluoruro, como se mencionó previamente, sólo presentó un valor significativo a los 70 minutos, manteniendo diferencias bajas a moderadas respecto al Control y sin diferencias estadísticas significativas.

Si comparamos ambos agentes, queda claramente demostrado que la Clorhexidina es más efectiva que el NaF a partir de los 100 minutos ($p < 0.05$), quedando de manifiesto eso sí, la necesidad de un período de tiempo de alrededor de 2 horas para que la Clorhexidina manifieste su efectividad.

Quizás en futuras experiencias sería interesante comparar con similar procedimiento experimental, a la Clorhexidina con el SnF_2 , o experimentar de manera semejante al estudio de caries realizado por Øgaard y cols. (2001), con una combinación de ambos agentes, donde se obtuvo una reducción más efectiva de nuevas lesiones cariosas. Podría también ser interesante, realizar la misma metodología del presente seminario de tesis, pero aplicando el agente terapéutico en forma previa al enjuague con sacarosa, para comprobar si los valores obtenidos en esta investigación son acertados.

Finalmente, deben mencionarse ciertas limitaciones de esta investigación, dentro de las cuales está el no haber podido aplicar un diseño doble ciego. No obstante, debe señalarse que la determinación del pH observado por los examinadores se hizo objetivamente, utilizando una escala segmentada de colores para tonos de pH adjunta por el fabricante. Otra limitación se refiere a que los datos podrían carecer de validez externa al no ser extrapolables al universo, ya que los sujetos de este estudio fueron seleccionados por conveniencia según criterios de exclusión.

Conclusiones.

Del presente Seminario de tesis es posible concluir que:

1. El método de Toma de Muestras *ex vivo* (raspado/cultivo) más las varillas de pH utilizadas en esta experiencia, es un método eficaz para la determinación del pH del Biofilm dental interproximal en reposo.
2. Cuando el Biofilm dental interproximal es activado *in vivo* con sacarosa al 10%, se observa una disminución de pH considerada crítica para la disolución del esmalte, en un rango de 4.69 y 5.31, luego de 20 minutos de espera.
3. Al ser utilizado un colutorio de CXH al 1% sobre un Biofilm previamente activado con sacarosa, se logró una recuperación desde valores de pH inferiores a 5.3 hasta valores sobre 6.0 después de 80 minutos de acción del agente terapéutico, no siendo posible establecer si estas modificaciones se deberían a una disminución en el número de bacterias presentes en las muestra o a una disminución en la actividad acidogénica de ellas.
4. Las variaciones de pH sobre el Biofilm dental activado con sacarosa al 10% expuesto a un colutorio de Fluoruro al 0.25% (2.500ppm), son moderados frente a un Biofilm sin agente terapéutico, con valores de pH entre 4.85 y 5.5.
5. De los dos agentes quimioterapéuticos testeados, el colutorio de CHX al 1% resultó ser el más eficiente en impedir bajas de pH del Biofilm dental interproximal cuando es sometido a un reto acidogénico. Sin embargo no es posible asegurar si dichas modificaciones son pasajeras o se mantienen en el tiempo.

Sugerencias.

Debido a la falta de estudios similares enfocados al efecto sobre el pH, en vez de a la reducción de los Estreptococos Mutans o al efecto anticaries a largo plazo, se sugiere la continuación de ésta línea de estudio realizando comparaciones entre distintos vehículos con la misma concentración de agente sobre el pH del Biofilm interproximal, pues hay estudios que señalan que a este nivel, los efectos son relativamente independientes del tipo de vehículo o del régimen de aplicación (Twetman y Petersson, 1998).

Igualmente se sugiere realizar la misma experiencia adicionando la variable de una solución de Clorhexidina con Fluoruro, pues de acuerdo a experiencias previas, su accionar sería sinérgico, logrando una mayor eficiencia que la Clorhexidina en forma individual (Emilson, 1994).

También sería interesante evaluar en un período de tiempo mayor si verdaderamente esta modificación en el pH, tendrían un efecto reductor en la aparición de lesiones cariosas o son efectos pasajeros.

Por último y como fue señalado previamente, sería interesante el evaluar la efectividad del Fluoruro Estañoso (SnF_2), comparándolo con otras presentaciones de fluoruro, para establecer así cual es la más eficiente.

Resumen.

El efecto *in vivo* sobre el pH del Biofilm dental interproximal de colutorios de, Clorhexidina al 1% y Fluoruro de Sodio al 0.25% (2500 ppm), fue estudiado y comparado por mediciones *ex vivo*. 12 voluntarios fueron seleccionados y distribuidos al azar en tres grupos: a) Control, b) Clorhexidina y c) Fluoruro. Las muestras fueron recolectadas de zonas interproximales de dientes posteriores y dispersadas sobre varillas indicadoras de pH. El registro se obtuvo observando las muestras bajo magnificación estereoscópica.

Con posterioridad al registro del pH en reposo, los grupos se enjuagaron con una solución de sacarosa al 10% por dos minutos, obteniéndose un segundo registro a los 20 minutos.

En todos los grupos se realizaron tres muestras sucesivas a los 50, 80 y 110 minutos, siendo observadas y registradas por cada examinador. Posteriormente, los grupos b) y c) se enjuagaron con sus respectivos agentes terapéuticos, para recolectar las tres muestras correspondientes, siendo mantenidas ellas bajo desafío acidogénico.

Los resultados mostraron que los valores del pH en reposo y en actividad entre los tres grupos no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$).

En el grupo Clorhexidina, los valores fueron significativos respecto al Control desde los 65 minutos ($p < 0.05$). En el grupo Fluoruro, sólo a los 70 minutos presentó diferencia significativa al ser comparado con el Control ($p < 0.05$).

Es posible concluir que el mejor efecto en impedir la baja de pH en un Biofilm se logra con un enjuagatorio de Clorhexidina al 1%, obteniéndose valores de pH sobre 6.0 luego de 80 minutos de aplicado el colutorio.

Bibliografía.

1. Banting D.W.; Papas A.; Clark D.C.; Proskin H.M.; Schultz M.; Perry R. (2000): "The effectiveness of 10% chlorhexidine varnish treatment on dental caries incidence in adults with dry mouth"; *Gerodontology* 17(2): 67 – 76.
2. Bibby B.G.; Fu J. (1986): "Effects of fluorides on *in vitro* acid production by dental plaque"; *J Dent Res* 65 (5): 686 – 688.
3. Bondestam O.; Gahnberg L.; Sund M.L.; Linder L. (1996): "Effect of chlorhexidine gel treatment on the prevalence of mutans streptococci and lactobacilli in patients with impair salivary secretion rate" (Abstract); *Spec Care Dentist* 16(3): 123 – 127.
4. Bowden G.H.W. (1990): "Effects of fluoride on the microbial ecology of dental plaque"; *J Dent Res* 69 (Spec Iss): 653 – 660.
5. Bowden G.H. W. (1996): "Mutans Streptococci, Caries and Chlorhexidine"; *J Can Dent Assoc* 62 (9): 700, 703 – 707.
6. Brown P.; Nicolini S.; Onetto J.E. (1991): Etiopatogenia de la Caries. En: *Caries*; P. Brown, S. Nicolini, J.E. Onetto, Viña del Mar; Ediciones de la Universidad de Viña del Mar, pp. 15 – 16, 27 – 28.
7. de Soet J.J.; Nyvad B.; Kilian M. (2000): "Strain – Related Acid Production by Oral Streptococci"; *Caries Res* 34: 486 – 490.
8. Dong Y.E.; Pearce E.I.F.; Yue L.; Larsen M.J.; Gao X.J.; Wang J.D. (1999): "Plaque pH and associated parameters in relation to caries"; *Caries Res* 33: 428 – 436.
9. Duggal M.S.; Toumba K.J.; Amaechi B.T.; Kowash M.B.; Higham S.M. (2001): "Enamel Demineralization *in situ* with Various Frequencies of Carbohydrate Consumption with and without Fluoride Toothpaste"; *J Dent Res* 80(8): 1721 – 1724.
10. Edgar W.M.; Geddes A.M. (1986): "Plaque acidity models for cariogenicity testing - some theoretical and practical observations"; *J Dent Res* 65 (Spec Iss): 1498 – 1502.
11. Emilson C.G. (1977): "Outlook for habitane in dental caries"; *J Clin Periodontol* 4: 136 – 143.
12. Emilson C.G. (1994): "Potential efficacy of Chlorhexidine against Mutans Streptococci and Human Dental Caries"; *J Dent Res* 73(3): 682 – 691.

13. Emilson C.G.; Gisselsson H.; Birkhed D. (1999): "Recolonization pattern of mutans streptococci after supresion by three different modes of chlorhexidine gel application" (Abstract); *Eur J Oral Sci* 107(3): 170 – 175.
14. Forgie A.H.; Paterson M.; Pine C.M.; Pitts N.B.; Nugent Z.J. (2000): "A Randomised controlled trial of the Caries-Preventive efficacy of a Chlorhexidine-containing varnish in high-caries-risk adolescents"; *Caries Res* 34: 432 – 439.
15. Frostell G. (1970): "A method for evaluation of acid potentialities of foods"; *Acta Odontol Scand* 28: 599 – 608.
16. Giertsen E.; Scheie A.A.; Rolla G. (1988): "Inhibition of plaque formation and plaque acidogenicity by zinc and chlorhexidine combinations" (Abstract); *Scand J Dent Res* 96(6): 541 – 550.
17. Gisselsson H.; Birkhed D.; Björn A.L. (1988): "Effect of professional flossing with chlorhexidine gel on approximal caries in 12-to-15-years-old schoolchildren"; *Caries Res* 22: 187 – 192.
18. Gómez S.S. (2001): Generalidades sobre los fluoruros. En: *Fluorterapia en Odontología para el niño y el adulto*; S. Gómez, Santiago; Editorial Arancibia Hnos y Cía. Ltda., pp. 19 – 21.
19. Hall A.F.; Creanor S.L.; Strang R.; Foye R. (1997): "Determination of plaque pH changes within the trough of an in situ appliance used to study mineral changes in early carious lesions"; *Caries Res* 31: 50 – 54.
20. Hamilton I.R. (1990): "Biochemical effects of fluorides on oral bacteria"; *J Dent Res* 69 (Spec Iss): 660 – 667.
21. Harper D.S.; Abelson D.C.; Jensen M.E. (1986): "Human plaque acidity models"; *J Dent Res* 65 (Spec Iss): 1503 – 1510.
22. Jensen M.E.; Polansky P.J.; Schachtele C.F. (1982): "Plaque sampling and telemetry for monitoring Acid production of human Buccal tooth surfaces"; *Arch Oral Biol* 27: 21 – 31.
23. Jensen M.E.; Schachtele C.F. (1983): "Plaque pH measurements by different methods on the buccal and approximal surfaces of human teeth after a sucrose rinse"; *J Dent Res* 62 (10): 1058 – 1061.
24. Kashani H.; Emilson C.G.; Birkhed D. (1998): "Effect of NaF⁻, SnF⁻² and Chlorexidine - impregnated birch toothpicks on mutans streptococci and pH in approximal dental plaque"; *Acta Odontol Scand* 56: 197 – 201.

25. Kleinberg I.; Jenkins G.N.; Chatterjee R.; Wijeyeweera L. (1982): "The antimony pH electrode and its role in the assessment and interpretation of dental plaque pH"; *J Dent Res* 61 (10): 1139 – 1174.
26. Kleinberg I. (2002): "A mixed – bacteria ecological approach to understanding the role of the oral bacteria in dental caries causation: an alternative to *Streptococcus Mutans* and the specific - plaque hypothesis"; *Crit Rev Oral Biol Med* 13 (2): 108 – 125.
27. Koch G.; Fejerskov O.; Thylstrup A. (1994): Fluorides in Caries treatment – clinical implications. En: *Textbook of Clinical Cariology*, 2nd Edition; A. Thylstrup, O. Fejerskov, Copenhagen, Ed. Munksgaard, pp. 259 – 281.
28. Larsen M.J.; Bruun C. (1994): Caries Chemistry and Fluoride mechanism of action. En: *Textbook of Clinical Cariology*, 2nd Edition; A. Thylstrup, O. Fejerskov, Copenhagen, Ed. Munksgaard, pp. 231 - 257.
29. Lingström P.; Imfeld T.; Birkhed D. (1993): "Comparison of three different methods for measurement of plaque - pH in humans after consumption of soft bread and potato chips"; *J Dent Res* 72 (5): 865 – 870.
30. Lingström P.; Van Ruyven F.O.J.; Van Houte J.; Kent R. (2000): "The pH of dental plaque in its relation to early enamel caries and dental plaque flora in humans"; *J Dent Res* 79 (2): 770 – 777.
31. Marsh P.D.; Nyvad B. (2003): The Oral microflora and biofilms on teeth. En: *Dental Caries, the disease and its clinical management*, 1st Edition; O. Fejerskov, E. Kidd, Copenhagen, Ed. Blackwell – Munksgaard, pp. 29 – 48.
32. Miller W.D. (1890): "The micro-organism of the human mouth. The local and general diseases which are caused by them"; Reprinted by S. Karger, Basel 1973.
33. Nyvad B.; Fejerskov O. (1994): Development, structure and pH of dental plaque. En: *Textbook of Clinical Cariology*, 2nd Edition; A. Thylstrup, O. Fejerskov, Copenhagen, Ed. Munksgaard, pp. 89 – 110.
34. Øgaard B.; Larsson E.; Henriksson T.; Birkhed D.; Bishara S. (2001): "Effects of combined application of antimicrobial and fluoride varnishes in orthodontic patients"; *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 120: 28 – 35.
35. Overman P.R. (2000): "Biofilm: a new view of Plaque"; *J Contemporary Dent Practice* (Summer Issue) 1 (3), www.thejcdp/issue003/overman/overman.pdf.

36. Riethe P. (1990): Placa Bacteriana. En: Atlas de profilaxis de la Caries y tratamiento conservador; P. Riethe, G. Rau, Barcelona, Salvat Editores S.A., pp. 1 – 3.
37. Schachtele C.F.; Jensen M.E. (1982): "Comparisson of methods for monitoring changes in the pH of human dental plaque"; J Dent Res 61 (10): 1117 - 1125.
38. Schaeken M.J.M.; De Jong M.H.; Franken H.C.M.; Van der Hoeven J.S. (1986): "Effects of Highly Concentrated Stannous Fluoride and Chlorhexidine Regimens on Human Dental Plaque Flora"; J Dent Res 65 (1): 57 – 61.
39. Scheie A.A.; Fejerskov O.; Lingstöm P.; Birkhed D.; Manji F. (1992): "Use of palladium touch microelectrodes under field conditions for in vivo assessment of dental plaque pH in children"; Caries Res 26: 44 – 52.
40. Scheie A.A. (1994): Chemoprophylaxis of Dental Caries. En: Textbook of Clinical Cariology, 2nd Edition; A. Thylstrup, O. Fejerskov, Copenhagen, Ed. Munksgaard, pp. 311 – 326.
41. Sissons C.H.; Wong L.; Shu M. (1998): "Factors affecting the resting pH of in vitro human microcosm dental plaque ans streptococcus mutans biofilms"; Archives of Oral Biology 43: 93 – 102.
42. Sopena R. (1968): Volumen 7, Enciclopedia Universal Sopena, Ramón Sopena, Barcelona, Editorial Ramón Sopena S.A., pp. 6667.
43. SPSS Inc. (2001): SPSS base system syntac referente guide; Release 10.0, U.S.A.
44. Stephan R.M. (1940): "Changes in hydrogen-ion concentration on tooth surfaces and in carious lesions"; J Am Dent Assoc 27: 718 – 723.
45. Stephan R.M. (1944): "Intra oral hydrogn-ion concentration associated with dental caries activity"; J Dent Res 23: 257 – 266.
46. Tatevossian A. (1990): "Fluoride in dental plaque and its effects"; J Dent Res 69 (Spec Iss): 645 – 652.
47. Thylstrup A.; Fejerskov O. (1994): Textbook of Clinical Cariology, 2nd Edition; A. Thylstrup, O. Fejerskov, Copenhagen, Ed. Munksgaard, pp. 316 – 318.
48. Twetman S.; Petersson L.G. (1998): "Comparisson of the efficacy of three different CHX preparations in decreasing the levels of mutans streptococci in saliva and interdental plaque"; Caries Res 32: 113 – 118.

49. Van Houte J., Lopman J., Kent R. (1996): "The final pH of bacteria comprising the predominant flora on sound and carious human root and enamel surfaces"; *J Dent Res* 75 (4): 1008 – 1014.
50. Van Loveren C. (2001): "Antimicrobial activity of fluoride and its in vivo importance: identification of research questions"; *Caries Res* 35 (suppl 1): 65 – 70.
51. Vogel G.L.; Carey C.M.; Chow L.C.; Brown W.E. (1987): "Microelectrode techniques for the analysis of oral fluids"; *J Dent Res* 66 (11): 1691 – 1697.
52. Wei S.H.Y.; Ngan P.W.H.; Nararian G.L.; Lenke J. (1981): Evaluation of dental plaque acidity following the ingestion of test foods. En: *Foods, Nutrition and Dental Health*, Vol 3; J.J. Hefferen, H.M. Koehler, C.T. McEnery, Chicago; American Dental Association, pp. 23 – 34.

Anexos.**CONSENTIMIENTO**

Yo, _____, declaro haber sido consultado(a) sobre la posibilidad de participar en forma voluntaria, en un estudio experimental acerca de la efectividad de dos colutorios, sobre el pH del Biofilm dental interproximal. Realizado por la señorita Verónica Flores y el señor Konrad Fritz, coordinados por el Dr. Santiago Gómez, de la Escuela de Odontología de la Universidad de Valparaíso.

Declaro además que se me han explicado claramente los procedimientos a efectuar y que éstos estarán exentos de costo alguno para mí.

Por lo tanto acepto mis deberes y obligaciones, acatando las instrucciones que se me indiquen.

Firma Participante

Valparaíso, _____ de _____ de 20__.

TABLA XII. *pH ex vivo Biofilm dental interproximal en reposo.*

	Control (n=6)		Clorhexidina (n=6)		Ion Fluoruro (n=6)	
	5 min.	10 min.	5 min.	10 min.	5 min.	10 min.
Sujeto 1	6.5	6.5	7.0	7.0	6.5	6.5
Sujeto 2	7.0	6.75	7.0	7.0	7.0	7.0
Sujeto 3	7.0	7.0	5.5	5.3	6.75	6.75
Sujeto 4	5.5	4.7	7.0	7.0	7.0	7.0
Sujeto 5	7.0	7.0	6.75	6.75	6.5	6.5
Sujeto 6	5.4	5.3	6.5	6.5	6.1	5.8
Promedio	6.4	6.2	6.6	6.5	6.6	6.5
SD	±0.76	±0.97	±0.58	±0.66	±0.34	±0.44
ANOVA p	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

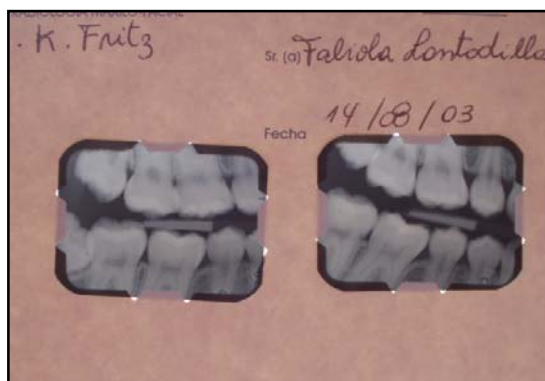
TABLA XIII. (anexos) *pH ex vivo Biofilm dental interproximal en actividad.*

	Control (n=6)				Clorhexidina (n=6)				Ion Fluoruro (n=6)			
	25 min.	30 min.	35 min.	40 min.	25 min.	30 min.	35 min.	40 min.	25 min.	30 min.	35 min.	40 min.
Sujeto 1	5.0	5.0	4.7	4.7	5.5	5.3	5.0	5.0	5.15	5.15	4.7	4.7
Sujeto 2	5.3	5.3	5.0	4.85	5.8	5.4	5.4	5.15	5.25	5.25	5.0	4.7
Sujeto 3	5.3	5.15	5.15	5.0	4.85	4.4	4.4	4.2	5.25	5.15	4.7	4.55
Sujeto 4	4.7	4.4	4.2	4.0	5.5	4.4	4.4	4.4	5.15	5.15	5.0	5.0
Sujeto 5	5.5	5.0	5.0	5.0	5.5	5.5	5.0	5.0	5.8	5.65	5.15	5.15
Sujeto 6	5.3	4.7	4.4	4.4	4.7	4.7	4.4	4.4	5.3	4.7	4.7	4.7
Promedio	5.18	4.92	4.74	4.65	5.30	5.00	4.76	4.69	5.31	5.17	4.87	4.80
SD	±0.28	±0.32	±0.37	±0.39	±0.43	±0.45	±0.42	±0.40	±0.24	±0.30	±0.19	±0.22
ANOVA p	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

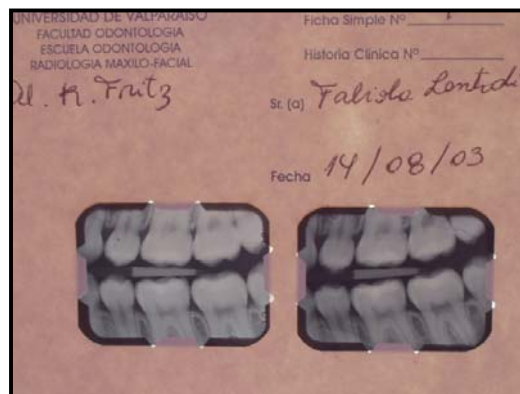
TABLA XIV. *pH ex vivo del Biofilm dental con Clorhexidina al 1% en colutorio.*

	Clorhexidina al 1% (n=6)											
	55 min.	60 min.	65 min.	70 min.	85 min.	90 min.	95 min.	100 min.	115 min.	120 min.	125 min.	130 min.
Sujeto 1	5.5	5.5	5.5	5.5	6.3	6.3	5.8	5.65	6.75	6.75	7.0	7.0
Sujeto 2	6.3	6.75	6.5	6.75	6.5	6.5	6.5	6.5	7.0	7.0	7.0	7.0
Sujeto 3	5.15	5.15	5.3	5.3	5.15	5.15	4.7	4.7	5.5	5.5	5.65	5.65
Sujeto 4	4.85	4.7	4.7	4.7	5.65	5.5	5.3	5.0	6.5	6.3	6.1	6.1
Sujeto 5	5.65	5.65	5.8	5.65	5.9	5.5	5.5	5.15	6.5	6.5	6.75	6.75
Sujeto 6	4.7	4.7	4.7	4.7	5.3	5.3	5.0	5.0	6.5	6.5	6.1	6.1
Promedio	5.35	5.40	5.41	5.43	5.80	5.70	5.46	5.33	6.45	6.42	6.43	6.43
SD	±0.58	±0.76	±0.68	±0.75	±0.53	±0.55	±0.63	±0.65	±0.51	±0.51	±0.56	±0.56

FOTOGRAFÍAS



Fotografía n° 8 Radiografía Bite Wing derecha para COPs.



Fotografía n°9 Radiografía Bite Wing izquierda para COPs.



Fotografía n°10 Conjunto de radiografías utilizadas en éste seminario de tesis para COPs de los panelistas.



Fotografía nº11 Índice Green Vermillion vista central.



Fotografía nº12 Índice Green Vermillion vista lateral.



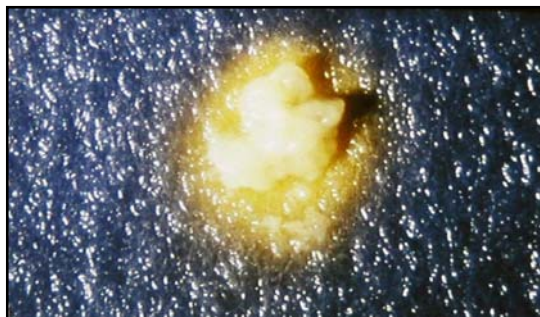
Fotografía nº13 Tabletas reveladoras.



Fotografía nº 14 Muestra y guía de pH en posición.



Fotografía nº 15 Vista lejana de muestra y guía en posición.



Fotografía n° 16 Muestra de Biofilm activado con sacarosa al 10%, luego de 10 minutos.



Fotografía n° 17 Examinador realizando observación de muestra.