

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**Departamento de Estomatología IV
(Profilaxis, Odontopediatría y Ortodoncia)**



**ESTUDIO A DOBLE CIEGO ALEATORIO, SOBRE LA
PREVENCIÓN QUIMIOTERAPEÚTICA DE LA CARIES
DENTAL CON BARNICES DE CLORHEDIXINA Y TIMOL
EN NIÑOS DE 5 A 8 AÑOS**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

María Concepción García Santos

Bajo la dirección de los doctores

Rafael Rioboo García

Margarita Romero Martín

Madrid, 2004

ISBN: 84-669-2621-6

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Departamento de Estomatología IV



**ESTUDIO A DOBLE CIEGO ALEATORIO, SOBRE
LA PREVENCIÓN QUIMIOTERAPÉUTICA DE
LA CARIES DENTAL CON BARNICES
DE CLORHEXIDINA Y TIMOL
EN NIÑOS DE 5 A 8 AÑOS**

TESIS DOCTORAL

María Concepción García Santos

Directores:

Prof. Dr. Rafael Rioboo García

Profa. Dra. Margarita Romero Martín

Madrid, 2003

AGRADECIMIENTOS

“Llevadera es la labor cuando muchos comparten la fatiga”.

HOMERO (siglo IX a. C.)

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar un profundo agradecimiento a mi familia y a todas aquellas personas que han hecho posible el desarrollo de esta Tesis Doctoral.

Realizando este trabajo de investigación he encontrado grandes satisfacciones en lo profesional y en lo personal; ha sido una oportunidad para conocer gente excelente que ha colaborado desinteresadamente y dando lo mejor de sí, para que este trabajo, que ha intentado aportar algo para mejorar la salud buco-dental de los niños, se pudiese realizar.

Es difícil expresar con unas pocas letras, cuan agradecida me encuentro con mi Director de Tesis; el Profesor Dr. Rafael Rioboo García, que en todo momento me guió, enseñó y estimuló para realizar el trabajo en las mejores condiciones científicas y emocionales. El Profesor Rioboo, no sólo posee todo el conocimiento y rigor científico que cualquier doctorando le gustaría tener en su director de tesis, sino que además, todo esto va aderezado con un cariño y una dulzura especial, que vuelve cualquiera de las tantas situaciones difíciles que se presentan durante el desarrollo de la tesis, algo fácil de llevar, por adversas que éstas sean. Mi querido Profesor, me encontraré eternamente agradecida con usted.

A la Directora de Tesis, mi estimada y respetada Profesora Dra. Margarita Romero Martín, por su rigor investigador y profesionalidad, ayudándome a buscar la luz

cuando todo era oscuro en los comienzos del trabajo, y revisando hasta los últimos detalles, gracias.

A mi querida Profesora Dra. Carmen Gasco, por darme una oportunidad, espero no haberla defraudado.

A todo el Departamento de Estomatología IV, por haber sido tan receptivos y amables, cuando acudí a pedir algunas de las tantas ayudas que les solicité. A doña Teresa Zamorano Zamorano, que en todo momento ha colaborado con cariño y dedicación, haciéndome sentir que estaba en casa, gracias Teresita.

Al Profesor Dr. Jesús Calatayud, que me ha ayudado de forma asidua y profunda, regalándome sus sabios consejos y su escaso tiempo, para sacarle lo mejor a este trabajo, desde el punto de vista estadístico. Antes de tener el placer de conocer al Profesor Calatayud, mis experiencias recopilando información estadística no habían sido buenas, hasta el momento en el que el Catedrático de Estadística, Profesor Dr. Miguel Sánchez García, con gran amabilidad y profunda sabiduría, me demostró que las cosas no eran tan difíciles como yo las veía, gracias Profesor.

Al Profesor de Bioética, Dr. Miguel Sánchez González, por guiarme en este aspecto tan importante para el buen desarrollo de trabajos experimentales con seres humanos, gracias.

Al Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínico San Carlos, en especial a la Dra. María del Mar García Arenillas.

Al Profesor Dr. José Liébana Ureña, que desde la distancia hizo lo posible y lo

imposible para ayudarme; de igual modo, a la Profesora Dra. Pilar Baca García; ambos de la Universidad de Granada, a quienes aún no tengo el placer de conocer personalmente.

El afecto, admiración y respeto que el Profesor Rioboo genera, va más allá de los muros de nuestra Facultad, y ha hecho que sea más que una tarjeta de presentación el ser su doctorando; todo ello me ha ayudado enormemente para que las personas con las que contacté, me trataran con especial cariño. Profesor, ser su doctorando ha sido para mí un orgullo y un privilegio.

Al personal del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid, por su paciencia y cariño.

Al personal de la Biblioteca de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid, que en todo momento me facilitó la búsqueda de la documentación científica, incluso más allá de sus atribuciones laborales. Al consejo Superior de Investigaciones Científicas (CINDOC), especialmente a doña Amelia Arcediano, quién de una forma muy amable y profesional me localizó, a través de la British Library, de manera inmediata todos aquellos artículos que precisé.

Al personal de Negociado del Tercer Ciclo, Secretaría de Alumnos, muy especialmente a doña M. Carmen Abia Quijano.

A todo el personal del Departamento de Apoyo a la Investigación de los Servicios Informáticos de la UCM, y muy especialmente, al Dr. Santiago Cano Alsúa, por su disponibilidad para colaborar en todo.

A doña Simonetta Giardini, que hizo factible que el Liceo Francés de Madrid me permitiese desarrollar el trabajo en dicho Centro.

A la Dirección del Liceo Francés. Al personal del Servicio Médico del Centro por su apoyo, colaboración y cariño, muy especialmente, a la Dra. Paloma Herrero Anso-la, que de una forma altruista colaboró infatigablemente, para que el trabajo clínico saliera adelante. Gracias Paloma, sin ti no hubiera sido posible.

A mis amigos personales, el Ingeniero Civil Juan Miguel Vázquez y el Cirujano Maxilofacial Dr. Rafael Martín-Granizo, por colaborar en la revisión del manuscrito, lo cual hicieron con mucho cariño y dedicación,

A todos los demás profesionales y amigos que de una u otra manera han aportado su ayuda, muchas gracias.

Esta tesis se la dedico con todo el amor a mi familia, por su constante comprensión apoyo y cariño.

ÍNDICE

“Sin duda no hay progreso”

DARWIN CHARLES (1809-1882)

ÍNDICE

I - INTRODUCCIÓN	14
1. CONSIDERACIONES HISTÓRICAS	15
2. LA CARIES	18
2.1. DEFINICIÓN	18
2.2. EPIDEMIOLOGÍA	18
2.2.1. INCIDENCIA Y PREVALENCIA	19
2.3. ETIOPATOGENIA:	21
2.3.1. FACTORES DETERMINANTES EN LA FORMACIÓN DE CARIES	24
2.3.1.1. BACTERIAS ODONTOPATÓGENAS	24
<u>Género <i>Actinomyces</i></u>	25
<u>Género <i>Lactobacillus</i></u>	25
<u>Género <i>Streptococcus</i></u>	27
<u>Antagonismo Bacteriano</u>	31
2.3.1.2. SUSCEPTIBILIDADES DEL HUÉSPED	34
<u>Morfología Dentaria</u>	34
<u>Ubicación en la Boca</u>	35
<u>Edad del Diente</u>	35
<u>Presencia de Caries Activa</u>	36
2.3.1.3. SACAROSA, EL SUSTRATO ADECUADO	37
2.4. TRATAMIENTOS PREVENTIVOS	41
2.4.1. LA CLORHEXIDINA	43
2.4.1.1. MECANISMOS DE ACCIÓN	44
2.4.1.2. EFFECTIVIDAD DE LA CLORHEXIDINA	46
2.4.1.3. COMPARACIÓN DE LA CLORHEXIDINA CON OTROS ANTISÉPTICOS	53
<u>Flúor</u>	53
<u>Povidona Iodada</u>	55
<u>Sanguinaria-Zinc</u>	55

<u>Peroxiborato (Bocasan) y Peroxicarbonato (Kavosan)</u>	56
<u>Peróxido de hidrógeno</u>	56
<u>Cetylpyridinium chloride, triclosan, and C31G</u>	56
<u>Fenol</u>	57
<u>Hexetidina y Fluór de Aminas</u>	57
2.4.1.4. EFECTOS SECUNDARIOS	57
2.4.1.5- DOSIS LETAL	63
II - HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS	64
1. PRIMERA HIPÓTESIS	65
2. SEGUNDA HIPÓTESIS	65
3. OBJETIVOS GENERALES	65
4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	66
III - MATERIAL Y MÉTODO	67
1. POBLACIÓN DE ESTUDIO	68
1.1. CRITERIOS DE SELECCIÓN	69
1.2. MODIFICACIÓN DE LOS CRITERIOS DE SELECCIÓN	70
1.3. PACIENTES PERDIDOS	71
2. MATERIAL.....	71
3. MÉTODO	73
4. EXAMEN CLÍNICO Y COLOCACIÓN DE LOS BARNICES	75
5. MODIFICACIONES EN EL PROTOCÓLO.....	77
6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	77
IV - RESULTADOS	79
1. COMPORTAMIENTOS REGISTRADOS	80
2. TABLAS Y GRÁFICOS	83
2.1. TABLA I	83
2. 1. 1. EXPLICACIÓN DEL CONTENIDO DE LA TABLA 1	84
2.2. TABLA 2	87
2.3. TABLA 3	87
2.4. TABLA 4	88
2.5. GRÁFICOS 1 Y 2	89
2.6. GRÁFICOS 3 Y 4	90
	12

2.7. TABLA 5	91
2.8. GRÁFICOS 5 Y 6	92
2.9. GRÁFICOS 7 Y 8	93
2.10. TABLA 6	94
2.11. GRÁFICOS 9 Y 10.....	95
2.12. GRÁFICOS 11 Y 12.....	96
2.13. TABLA 7	97
V - DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	98
VI - CONCLUSIONES	108
VII - BIBLIOGRAFÍA	111
VIII – ANEXOS	149
1. APROBACIÓN DEL COMITÉ DE ÉTICA H. C. SAN CARLOS	150
2. HOJA INFORMATIVA	151
3. CONSENTIMIENTO INFORMADO	152

INTRODUCCIÓN

“ El aburrimiento es una enfermedad cuyo remedio es el trabajo; el placer sólo es un paliativo.”

DUQUE DE LEVIS (1755-1830).

I. INTRODUCCIÓN

1. CONSIDERACIONES HISTÓRICAS

Nuestra meta es preservar la salud bucal de nuestros pacientes, lo cual no es un trabajo fácil si consideramos la magnitud y el impacto prácticamente mundial de la caries. En 1986 Walter J. Loesche describió la caries y la enfermedad periodontal como quizá las infecciones más caras, que más número de individuos tienen que afrontar durante sus vidas⁽¹⁾. Anusavice en el 2002 decía: “hoy en día la caries dental se mantiene dentro de las tres enfermedades más comunes en el mundo”⁽²⁾.

Fueron los barberos y los herreros los que comenzaron ejerciendo esta bella profesión, cuando el único recurso terapéutico para el tratamiento del dolor dental era la exodoncia.

En España, Los Reyes Católicos en el año 1500 legislaron una Pragmática donde concedían la facultad de sacar dientes y muelas a los barberos examinados y aprobados por sus Barberos Mayores^{(3),(4)}; a partir de ese momento existían unos “Barberos Examinados” que podían sangrar, sajar, poner sanguijuelas, ventosas, sacar dientes y muelas, y los “no examinados” que sólo podían cortar con navaja o tijera el pelo y la barba. En 1540 en Inglaterra se les prohíbe a los barberos la sangría, pero se les concede el privilegio de las extracciones dentales⁽⁴⁾.

En el siglo XVIII comenzaron los procedimientos restaurativos para la conservación de los

dientes. Con la aparición de los modernos materiales de obturación, como la amalgama, durante la mitad del siglo XIX se inició una nueva era en el tratamiento dental.

Willoughby Dayton Miller⁽⁵⁾, ya en 1890, describió el origen bacteriano de la caries dental; pero estos descubrimientos permanecieron en el nivel teórico, virtualmente sin ningún impacto en el tratamiento de la caries hasta que durante la década de los sesenta del siglo XX, se inició la nueva era en la investigación sobre la placa dental, con los trabajos de Paul Keyes y Fitzgerald R.^{(6),(7)}, y se estableció definitivamente la naturaleza infecto-contagiosa de la caries dental; no obstante, todavía hoy en día muchos tratamientos odontológicos continúan siendo sintomáticos. Obviamente, el tratamiento sintomático es muy importante para evitar que la enfermedad pueda seguir avanzando; además, la eliminación de caries y la obturación de las cavidades erradica las áreas de estancamiento y reduce la contaminación microbiana de la saliva⁽⁸⁾. Sin embargo, para controlar la aparición o la recurrencia de la enfermedad, es necesario adoptar medidas preventivas, y de esta forma diagnosticar e interferir en el proceso de caries antes que las cavidades aparezcan, dicho de otro modo, tratando la enfermedad, no los síntomas⁽⁹⁾. Esto sería lo que se haría en cualquier enfermedad infecciosa y así estaríamos manteniendo la integridad de los tejidos dentales.

Se ha demostrado fehacientemente que el *S. mutans* y el *Lactobacillus* son importantes en la etiología de la caries dental⁽¹⁰⁻¹⁵⁾. Entre 6 y 24 meses antes que se pueda diagnosticar la caries, esas superficies dentales presentan un aumento significativo de las proporciones de *S. mutans*⁽¹⁴⁾ y así los niveles de *S. mutans* en saliva y el estatus de las caries se correlacionan⁽¹⁶⁾. Por lo tanto, el estudio microbiológico puede ser utilizado para el diagnóstico, tratamiento y prevención de la caries^{(13),(14),(17-23)}; Krasse (1988)⁽²⁴⁾ va más allá y postula: “la mejor predicción de futuras caries, es la que se obtiene de la combinación de los factores que contribuyen a la patogénesis de la caries dental”⁽²⁴⁾. Utilizando esta filosofía, los niños con alto

riesgo de caries podrían ser identificados y se les aplicarían los tratamientos preventivos que precisasen antes de que desarrollasen las caries⁽²⁵⁾.

Anusavice (1995)⁽²⁶⁾, sugiere que la odontología debería cambiar su atención y desarrollar un protocolo estandarizado de odontología preventiva con: diagnósticos de riesgos de caries, reprimir la actividad de caries y remineralizar, evitar la cavitación y no simplemente las medidas preventivas que se suelen focalizar en la aplicación de flúor⁽²⁶⁾.

Bowen (1998)⁽²⁷⁾ dice: por más de tres décadas se sabe que la caries es una enfermedad infecto-contagiosa, en la que la virulencia del *S. mutans* está enlazada con altos niveles de caries; escasa atención se ha dado a los infantes con caries temprana, cuando se sabe que los hijos de grandes productores de caries desarrollarán significativamente más caries^{(27),(28)}.

La dieta juega un papel importante y existen leches de biberón formuladas que no desarrollan caries; no obstante, han sido largamente ignoradas⁽²⁷⁾.

Como ya hemos mencionado, desgraciadamente la odonto-estomatología de hoy aún está muy orientada hacia el tratamiento restaurador. Ya en 1983, Loesche⁽²⁹⁾ decía que esto ocurría porque entre los objetivos de tratamiento en nuestras clínicas no suele incluirse la eliminación o supresión de los microorganismos que contribuyen especialmente en el proceso cariogénico⁽²⁹⁾.

Evidentemente, la caries y la enfermedad periodontal son unas enfermedades complejas que requieren una cuidadosa y extensa investigación. En este trabajo intentaremos aportar algo a favor de la prevención temprana de la caries.

2. LA CARIES

2.1. DEFINICIÓN:

La caries es una enfermedad infecciosa, transmisible e inducida por la placa bacteriana, asociada a un huésped susceptible portador de una flora odontopatógena que produce ácidos, a través de la fermentación de carbohidratos, que provocan la disolución y destrucción localizada de los tejidos duros del diente^{(10-12),(30)}. Clínicamente, el inicio de la caries se manifiesta como una mancha blanca, como resultado de la desmineralización del esmalte que precede a la cavitación real⁽¹⁰⁾.

2.2. EPIDEMIOLOGÍA:

Los estudios epidemiológicos sobre la caries, han permitido determinar la necesidad y eficacia de algunos tratamientos odontológicos, como la fluorización de las aguas de consumo, las conexiones entre el consumo de azúcar y la magnitud del problema de caries, etc.. El epidemiólogo define la frecuencia y gravedad de los problemas sanitarios en relación con la edad, sexo, geografía, raza, situación económica, nutrición y dieta y tiene el enfoque panorámico para estudiar la salud y enfermedad, mejor que otros investigadores.

La medida epidemiológica más frecuente de la caries es el índice CAO, descrito por Klein, Palmer y Knutson en los años treinta del siglo pasado, y adoptada por la OMS para encuestas de salud oral⁽³¹⁾.

La designación **CAO-D** se utiliza para señalar **Dientes Cariados, Ausentes** (sólo los dientes ausentes debido a la caries) y **Obturados**; **CAO-S** se refiere a **Superficies Cariadas**, dientes

Ausentes y **S**uperficies **O**bturadas, ambas medidas son para dientes permanentes (sin contar con el tercer molar); las siglas para dientes deciduos son idénticas pero en letras minúsculas, **cao-d** y **cao-s**. El **CAO** es una medida acumulativa, ya que suma el número de restauraciones y extracciones con el número de dientes con caries activa. Con respecto a un individuo es simplemente la suma de los tres componentes, si se trata de una población, es la suma de todos sus valores dividido por el número de sujetos evaluados. Se supone que los dientes restaurados o extraídos han recibido ese tratamiento debido a una caries en algún momento anterior al estudio epidemiológico. Una vez que un diente es restaurado o extraído, pasa a ser un dato permanente durante toda la vida del paciente. Por consiguiente, los componentes **A** y **O** representan indicadores históricos de la existencia de alteraciones previas, y el componente **C**, mide la enfermedad activa⁽³¹⁻³⁵⁾. Los índices **CAO** no son una medida verdadera de la prevalencia de la caries y de hecho, sobrevaloran la prevalencia de la caries activa⁽³²⁾. Se debe de tener en cuenta que en el índice **cao** y **CAO**, cada diente se puede anotar una vez, es decir, no se puede anotar como obturado y como caries⁽³⁶⁾.

2.2.1. INCIDENCIA Y PREVALENCIA:

La Prevalencia de una enfermedad es el número de individuos de una población que tienen dicha enfermedad en un momento determinado y la Incidencia es el número de individuos de una población que desarrollan nuevos casos de dicha enfermedad en un período de tiempo determinado, generalmente un año⁽³²⁾.

De las enfermedades infecciosas que afectan a la humanidad, la caries dental puede ser una de las más prevalentes⁽³⁷⁾; existe en todo el mundo, aunque su incidencia, prevalencia y gravedad varía de acuerdo a los hábitos culturales, zonas geográficas o niveles de desarrollo económicos y fluctúa con el tiempo; siendo los hábitos culturales y la disponibilidad de alimentos, de

los factores más decisivos en la formación de caries⁽³³⁾. Durante la Segunda Guerra Mundial el consumo de azúcar se redujo, y junto con esto una disminución impresionante en la prevalencia de caries en los países afectados por el conflicto bélico; ésta disminución es una buena representación de los factores ambientales. La restricción de alimento y particularmente la casi total desaparición de alimentos que contenían azúcar, constituye la explicación más probable a este cambio. En 1983 se examinó la boca a todos aquellos noruegos que tenían 7 años de edad durante la Segunda Guerra Mundial y se observó, que sobre la base de **CAO** de sus primeros molares permanentes, había un efecto beneficioso duradero⁽³⁸⁾.

En la predicción de caries las variables sociodemográficas tienen un peso más preponderante en las poblaciones infantiles, que en las adultas⁽²³⁾.

Entre los años 1975 y 2000 en los países desarrollados ha habido una marcada reducción de la prevalencia de las caries en los niños y en los adultos hasta los 40 años de edad⁽²⁾, a pesar de que el consumo de azúcar se ha mantenido alto⁽³⁹⁾; los posibles factores asociados a esta disminución drástica de la caries dental, podrían ser:

- Tratamientos odontológicos restaurativos de mejor nivel; odontología preventiva⁽⁴⁰⁻⁴⁴⁾; flúor en las aguas y en los dentífricos^{(39),(44-48)}, fármacos antibacterianos⁽⁴⁴⁾, selladores de puntos y fisuras, información a los pacientes sobre la importancia de la higiene oral⁽⁴⁴⁾, etc.
- Mejora de la nutrición, modificación de hábitos alimenticios, utilización de alimentos libres de azúcar⁽⁴⁹⁾ como el xilitol, sorbitol, etc. El xilitol es más efectivo en la prevención de caries que el sorbitol^{(50),(51)} y éste último es significativamente menos cariogénico que el azúcar⁽⁵⁰⁾.
- El uso de antibióticos de forma prolongada para tratar otras enfermedades como la fiebre reumática o las enfermedades respiratorias crónicas, etc.⁽⁵²⁻⁵⁴⁾.

Estos mismos factores pueden haber hecho posible que en los países desarrollados los ancianos de más de 70 años, presenten un mayor número de dientes, incrementándose así la cantidad de caries en ese grupo de edades⁽²⁾.

En contraste con esa marcada reducción de la prevalencia de las caries dental experimentada por los niños en los países desarrollados, en los niños de países en vías de desarrollo se ha observado un rápido aumento de esta enfermedad, que se ha relacionado con un incremento de azúcar en la dieta, hasta el punto de alcanzar niveles epidemiológicos; también existen poblaciones con niveles socio económicos tan bajos, que no se pueden permitir el consumo de azúcar refinado, siendo en estos casos baja la incidencia y prevalencia de caries⁽³³⁾.

2.3. ETIOPATOGENIA:

En el siglo XIX se identificó a las bacterias como agentes causantes de muchas enfermedades. Como ya hemos mencionado, fue entonces cuando se empezó a considerar la caries dental una enfermedad de origen bacteriano y desde entonces hasta ahora se han recopilado una gran cantidad de evidencias, que demuestran que los ácidos producidos por la fermentación bacteriana de los carbohidratos, son los responsables directos de la formación de las caries (Miller 1890⁽⁵⁾).

Los primeros experimentos de la caries sobre animales gnotobióticos, fueron publicados por Orland y cols. en 1954⁽⁵⁵⁾, y confirmaban la hipótesis de que las bacterias eran un requisito para el inicio y avance de la caries, al demostrar que la caries dental no se producía en animales libres de gérmenes, sin importar lo cariogénica que fuese la dieta que se les administrase^{(6),(55),(56)}. Esta hipótesis también es confirmada por el bajo índice de caries que pre-

sentan los niños que han sido tratados durante largos períodos con altas dosis de penicilina para el tratamiento de la fiebre reumática o las enfermedades respiratorias crónicas^{(52),(53)}.

Los factores que determinan la formación de caries son: microorganismos cariógenos, dientes susceptibles y un sustrato adecuado. Deben presentarse simultáneamente para que la caries se manifieste; si uno sólo de los componentes faltase, la caries no se desarrollaría, y si ésta ya existiese, se detendría. Estamos hablando de la bien conocida tríada de Keyes⁽⁶⁾. Ernest Newbrun consideró que debería tenerse en cuenta un cuarto factor, el tiempo, dado que los tres factores iniciales necesitan estar presentes simultáneamente durante un período determinado⁽⁵⁷⁾.

Los anteriores son considerados los factores primarios, o prerequisites para la iniciación de la caries. Obviamente, existen otros factores que pueden favorecer o dificultar la enfermedad, son los llamados factores secundarios. Ejemplo de ellos son: la composición de la saliva, edad del diente, morfología, concentración de fluoruros, frecuencia de la higiene bucal, comidas etc.(Nikiforuk)⁽⁵⁸⁾.

La saliva tiene un papel protector: efecto limpiador, acción antibacteriana, capacidad neutralizante y proporciona un ambiente saturado con calcio y fósforo; de hecho, en el ambiente bucal existe un equilibrio entre desmineralización y remineralización dental (Rioboo)⁽⁵⁹⁾.

Según Strålfors (1950)⁽³⁰⁾ el pH de la saliva siempre está cerca del punto neutro, entre 6.0 y 7.5, lo que significa que la saliva nunca es suficientemente ácida como para disolver el esmalte y ni siquiera cuando se ingiere azúcar la saliva llega a hacerse tan ácida como para disolverlo, siendo éste el caso de la placa bacteriana. Con un pH por debajo de 5 y en ciertos casos de 5.5, se produce la descalcificación del esmalte; la existencia de pH

dentro de estos límites pueden ser demostrado en la placa dental después de ingerir carbohidratos. La placa bacteriana se forma y mantiene sin ser perturbada por los procesos de limpieza naturales (auto-limpieza) en las fisuras, en las caras proximales por debajo del punto de contacto, en la zona gíngivo-vestibular, coincidiendo con las localizaciones donde ocurren las descalcificaciones del esmalte dental. La placa bacteriana presenta una mayor concentración de bacterias si la comparamos con la de la saliva, esto explicaría la rápida bajada del pH en la placa bacteriana cuando se consume sacarosa⁽³⁰⁾.

El valor del pH no es el único factor determinante en la disolución de la hidroxiapatita; la concentración de calcio y fosfato también lo son. Cuanto más cantidad de Ca y P contenga, un pH más bajo será necesario para la disolución de la apatita⁽³⁰⁾.

El esmalte constituye un sistema abierto que presenta un continuo intercambio con el medio circundante y que en presencia de azúcares fermentados el pH local desciende hasta un pH crítico momento en que ocurre la desmineralización, perdiéndose el fosfato y el calcio del esmalte superficial. Cuando estos azúcares se agotan, el efecto de la homeostasis salival permite que el fosfato y el calcio se reintegren en el esmalte superficial, proceso que se conoce como remineralización. Sin embargo, si este equilibrio se rompe a favor de la desmineralización, existe pérdida de sustancia y aparece la caries^{(59),(60)}. Esto puede deberse a:

- Un aporte importante y/o prolongado de glúcidos fermentados, que exceda la capacidad de los mecanismos de neutralización.
- Debido a la reducción de la saliva, que puede ser por algún medicamento, por radiaciones terapéuticas de algunos cánceres de cabeza y cuello, por el síndrome de Gougerot-Sjögren, etc.
- Cuando los intervalos de ingesta de glúcidos sean tan próximos que los mecanismos de remineralización no sean efectivos⁽⁶⁰⁾.

2.3.1. FACTORES DETERMINANTES EN LA FORMACIÓN DE CARIES:

2.3.1.1. BACTERIAS ODONTOPATÓGENAS

2.3.1.2. SUSCEPTIBILIDADES DEL HUÉSPED

2.3.1.3. LA SACAROSA, EL SUSTRATO ADECUADO

2.3.1.1. BACTERIAS ODONTOPATÓGENAS

Miller consideraba a la caries dental como el resultado de una infección no específica que provenía de la flora oral indígena en su conjunto, que es lo que se conoce como “Hipótesis de la Placa no Específica”, donde toda la placa bacteriana es patógena. Actualmente, se sabe que las diferencias en la composición bacteriana de la placa es lo que determina qué enfermedad producirá, si es que va a producir alguna, y es lo que Loesche ha descrito como la “Hipótesis de la Placa Específica”, según la cual sólo un número identificable de microorganismos en la placa dental son odontopatógenos⁽⁶¹⁾.

Las bacterias que se consideran odontopatógenas pertenecen a estos tres géneros:

Actinomyces, *Lactobacillus* y *Streptococcus*. Los estudios epidemiológicos, han demostrado que la actividad de caries se correlaciona positivamente con la concentración de *S. mutans* y en ciertas circunstancias, con los *Lactobacillus* presentes en la placa y en la saliva^{(10-15),(18),(20),(24),(62)}, no habiéndose encontrado una correlación igual entre la prevalencia de caries y otras especies microbianas, exceptuando a los *Actinomyces* en las caries de raíz⁽¹⁰⁻¹²⁾.

Género *Actinomyces*:

Los *Actinomyces* son bacilos grampositivos, polimórficos, no esporulados e inmóviles. Son anaerobios facultativos^{(12),(63-66)}. Es un microorganismo indígena mayoritario en la flora oral, de cuya placa dental son miembros regulares. Hay dos especies principalmente: el *A. viscosus* y el *A. naeslundii*, que son abundantes en las superficies radiculares con caries en los dientes de humanos^{(10),(12),(67)}. La habilidad del *Actinomyces* de producir caries de cemento, puede deberse a que este tejido está menos mineralizado que el esmalte^{(10),(68)}.

El *Actinomyces* posee varios factores considerados cariogénicos:

- Poder acidógeno.
- Capacidad de síntesis de polisacáridos intra y extracelulares utilizando la sacarosa.
- Fimbrias, para fijarse a la superficie dental, permitiendo que otras especies bacterianas, que por sí solas no pueden hacerlo, se coagreguen a esas especies pioneras en la colonización de la superficie dental.
- Moderada actividad proteolítica⁽⁶⁴⁾.

Género *Lactobacillus*:

El género *Lactobacillus* incluye numerosas especies de bacilos grampositivos, inmóviles, de morfología alargada recta o ligeramente curvada, esporulados, generalmente acapsulados, no ramificados que pueden encontrarse como bacterias aisladas o formando cadenas cortas. Crecen en anaerobiosis pero toleran el oxígeno, aunque algunas especies son anaeróbicas estrictas^{(12),(63),(64),(66)}.

Hasta comienzos de los años cincuenta del siglo pasado, se pensaba que los principales agentes etiológicos de la caries dental eran los *Lactobacillus*⁽¹⁰⁾, por su capacidad para formar ácidos y de desarrollarse en medios ácidos^{(11),(69)}, así como, por el hecho de que los recuentos de lactobacilos en la saliva se correlacionan con la prevalencia de caries (20%), mientras que aquellos que no tienen caries, por lo general, tienen recuentos negativos o muy bajos (4%)^{(10),(11)}. En la dentina cariada también la prevalencia y el número de lactobacilos se incrementan con el grado de las caries⁽⁷⁰⁾.

La aceptación del papel etiológico de los lactobacilos, comenzó a desvanecerse a medida que se dispuso de nuevos conocimientos con respecto a la ecología bacteriana de la boca. En 1950, Strålfors⁽³⁰⁾, ideó un modelo matemático para calcular el tiempo que tardarían los lactobacilos en relación a los estreptococos, en disminuir el pH de 6 a 5 en la superficie del esmalte (pH requerido para que el esmalte se descalcifique). Los estreptococos lo consiguieron a los 13 minutos, mientras que los lactobacilos no pudieron lograr el pH de 5, ni siquiera después de unos días⁽³⁰⁾.

En 1962, MacDonald J.B.⁽¹¹⁾, halló que los lactobacilos constituyen una fracción muy pequeña de la flora de la placa^{(10),(11),(30)}; su tiempo de generación es más largo que el de los esteptococos, y al igual que Strålfors, encontró que su velocidad de formación de ácido es más baja que la de éstos^{(11),(30)}. No obstante, son más acidúricos que los estreptococos^{(11),(69)}, y pueden crecer en caldos graduados a pH de 4.7. Todos los organismos de la placa pueden contribuir a la producción inicial de ácidos; sin embargo, muy pocos pueden continuar convirtiendo la sacarosa en ácido láctico por debajo de un pH de 5.0, como los lactobacilos y los estreptococos, mientras los otros microorganismos de la placa son casi completamente inoperantes⁽¹¹⁾.

Los lactobacilos no son necesarios para el inicio de una lesión cariosa, ellos pueden potencialmente contribuir a la desmineralización del diente, una vez la lesión está

hecha, por eso se les asocia con la progresión de las lesiones y no con su inicio^{(10),(11),(13),(14),(68)}. Junto con la exploración clínica podía ser muy útil la determinación de lactobacilos en saliva, y así poder diferenciar los pacientes de alto riesgo de los de bajo riesgo, los cuales posiblemente no precisen extensos tratamientos preventivos⁽⁷¹⁾. En el 85% de los casos el *Lactobacillus* puede ser detectado en el lugar de progresión de la caries, antes de que se detecte con el diagnóstico clínico la presencia de caries⁽¹³⁾; luego el número de lactobacilos parece ideal para la predicción de caries activa^{(13),(18),(21),(72)}. Por otro lado el número de lactobacilos en saliva parece reflejar la frecuencia de ingesta de carbohidratos fermentables^{(21),(72),(73)} e indirectamente el riesgo de iniciación de caries^{(21),(72)}.

Los lactobacilos son naturalmente más resistentes al flúor; esto puede deberse a su capacidad para crecer y mantener la glicólisis en ambientes más ácidos que los estreptococos cariogénicos. Dada esta circunstancia, quizá el flúor no sea efectivo para evitar el desarrollo de lesiones cariosas colonizadas por *Lactobacillus*, pudiendo desempeñar el lactobacilo un importante papel en la génesis de la caries, en personas que usan frecuentemente flúor^{(13),(69)}. Los tratamientos con clorhexidina no parecen afectar al número de *Lactobacillus* en saliva⁽⁷⁴⁾, en otras palabras, la amplia variedad de lactobacilos puede ser cariogénica bajo condiciones ambientales desfavorables para otros⁽⁷⁵⁾.

Género *Streptococcus*:

Los estreptococos son cocos grampositivos, generalmente acapsulados, no motiles, facultativos, que se dividen en un solo plano, y pueden presentarse como cocos aislados, diplococos y, típicamente, en forma de cadenas debido a que no se separan fácilmente después de su división^{(63),(64),(76),(77)}. Poseen un metabolismo fermentador y tienen actividad catalasanega-

tiva, lo que los diferencia de los estafilococos^{(63),(78)}. En la flora bacteriana de la placa se encontró que los cocos constituyen la mayor parte de la flora, y entre ellos especialmente los estreptococos⁽³⁰⁾.

Los estreptococos están presentes en todas las placas, se incrementan en número cuando se desarrollan procesos cariosos⁽¹¹⁾ y se encuentran más frecuentemente sobre las superficies cariadas que sobre las superficies libres de caries^{(11),(79)}.

El género *Streptococcus* reagrupa especies muy diferentes por sus características quimiotaxónicas y por su poder patógeno:

Grupo *S. mutans*: *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. cricetus*, *S. rattus*, *S. ferus*, *S. macacae* y *S. downei*.

Grupo *S. anginosus*: *S. anginosus*, *S. constellatus* y *S. intermedius*.

Grupo *S. oralis*: *S. sanguis*, *S. parasanguis*, *S. gordonii*, *S. mitis*, *S. oralis*, y *S. cirsta*.

Grupo *S. salivarius*: *S. salivarius* y *S. vestibularis*⁽⁶³⁾.

El nombre de *Streptococcus mutans* fue dado en 1924 por J. K. Clarke a los estreptococos que se habían aislado en lesiones cariosas, pero no fue hasta los años sesenta del siglo XX que se le prestó atención, gracias a los trabajos de Fitzgerald y Keyes⁽⁷⁾ sobre la transmisión de la caries en el animal; ahí se observó la analogía entre los estreptococos cariogénicos y *S. mutans* de Clarke. En la actualidad de las 7 especies de *Streptococcus mutans* se distinguen 2 humanas: el *S. mutans* y el *S. sobrinus*, y 5 animales: *S. cricetus*, *S. rattus*, *S. ferus*, *S. macacae* y *S. downei*; que antes estaban agrupadas en una única denominación de *S. mutans*. Para los estudios anteriores, *S. mutans* designa a la vez todas las especies y, por lo tanto, se debe tomar como equivalente de «grupo de los estreptococos *mutans*»⁽⁶³⁾.

Puesto que la distinción entre *S. mutans* y *S. sobrinus*, es muy reciente, los conocimientos actuales sobre patogenia, bioquímica, fisiología y ecología del *S. mutans* están mucho más adelantados que los del *S. sobrinus*. Numerosos estudios previos, en los que no se hacían diferencias entre *S. mutans* y *S. sobrinus*, han atribuido al *S. mutans* un papel en la etiología de la caries que, en algunos casos correspondía al *S. sobrinus*. El *S. sobrinus* tiene tres serotipos: “d”, “g” y “h”⁽¹⁾. El *S. mutans* está registrado en The National Collection of Type Culture con el nombre NTCC 10449 y posee tres serotipos: “c”, “e” y “f”, siendo el serotipo “c”, el que se aísla en el 70 al 100% de los seres humanos⁽¹⁾. Un estudio realizado recientemente en Japón, arroja resultados concordantes con lo anterior; en 20 matrimonios y sus 36 hijos, encontraron 144 genotipos, de los cuales 114 pertenecían al grupo de *S. mutans* (serotipo “c” 66.7% y serotipo “e” 12.5%) y 30 al grupo de *S. sobrinus* (serotipo “d” 13.2% y serotipo “g” 7.6%)⁽⁸⁰⁾. Los serotipos “c” y “e” son los más ácido-tolerantes, con un grado óptimo de pH 5.0 para la producción de ácido láctico⁽⁸¹⁾. Los niños contaminados con ambos estreptococos, el *mutans* y el *sobrinus*, presentan una incidencia significativamente mayor de caries que los que tenían sólo *S. mutans*^{(17),(82)}.

Se identificaron los tipos de *S. mutans* que colonizaban las bocas de 10 sujetos, a los que posteriormente se les colocó barnices de clorhexidina, lográndose la reducción de *S. mutans* hasta niveles indetectables. Se observó que existía una especie de *S. mutans* que era común a los 10 participantes antes del tratamiento, y que reaparecía una vez finalizado el efecto reductor de la clorhexidina. En contraste, las especies secundarias, que además no eran comunes a los 10 participantes, fueron altamente susceptibles a desaparecer con la clorhexidina y no volvían a reaparecer una vez terminado el efecto del fármaco⁽⁸³⁾.

La ventana de infección del *S. sanguis* ocurre en torno a los 9 meses de edad del niño⁽⁸⁴⁾. Los niveles de *S. sanguis* tienden a ser altos en fisuras libres de caries o en caries inactivas, aunque esta situación se invierte cuando las fosas y fisuras están cariadas, en cuyo caso los

que se encuentran incrementados son los *S. mutans*^{(10),(84-86)}. Si existen niveles elevados de *S. sanguis* en la cavidad oral, surgiría un antagonismo bacteriano entre éste y el *S. mutans*, y esto retardaría la colonización del *S. mutans*, circunstancia que sería beneficiosa en la prevención de la caries del niño^{(1),(84),(86)}.

El *S. mutans* no coloniza la boca antes de la erupción dental y requiere superficies no descamativas, como los dientes o las prótesis dentales, su número en superficies epiteliales y en saliva es bajo. La ventana de infección se encuentra en torno a los 26 meses de edad^{(10),(87),(88)}; sin embargo, el Departamento de Odontopediatría de la Universidad de Connecticut (USA) sugiere que las primeras visitas del niño al odontólogo sean antes de cumplir el primer año de edad, dado que se han observado colonias de *S. mutans* antes de los 10 meses de edad⁽⁸⁹⁾. El infante probablemente adquiere el *S. mutans* a partir de sus padres u otras personas con las que tengan contactos frecuentes^{(10),(80),(87),(88),(90)}. Los resultados de un estudio indican que los ancianos con dientes naturales o artificiales, pueden ser portadores de *S. mutans* con diferentes grados de potencial cariogénico y pueden colaborar en la transmisión inicial de microorganismos cariogénicos a los niños⁽⁹¹⁾; no obstante, las madres suelen ser la principal fuente de infección^{(28),(87),(88),(92-94)}. En concordancia con esto se encuentra un estudio realizado en Japón con 36 niños, en el que se encontró que el 51.4% de los genotipos de *S. mutans* encontrados en los niños, concordaban con los de la madre, el 31.4% con los del padre y el 18.6% no se correspondían con los de sus padres⁽⁸⁰⁾. Que la madre tenga caries activa, junto a niveles altos de *S. mutans* y consumo marcado de azúcar, son un fuerte indicador de riesgo de caries infantil⁽²⁸⁾. Un estudio concluyó que si se disminuían los niveles salivales de *S. mutans* en madres muy contaminadas, antes que erupcionasen los dientes deciduos de sus hijos, se podían retrasar o prevenir la colonización por *S. mutans* en la dentición primaria, con la concomitante disminución de la incidencia de caries, dando como resultado niveles de caries similares a los que presentan las poblaciones con baja prevalencia de caries⁽⁹³⁾. Según Alaluusua (1983)⁽⁹⁵⁾, si el *S. mutans* se establece tempranamente en la

boca de un niño, éste desarrollará una gran cantidad de caries en sus dientes temporales^{(1),(17),(95)}. La diferencia en el índice de superficies cariadas y obturadas (cos), entre un niño que presente *S. mutans* antes de los dos años de edad y la de otro que no lo tenga hasta los cuatro años, es de 10.6 y de 0.3 respectivamente⁽⁹⁵⁾. Estas observaciones ilustran el valor de la prevención temprana del *S. mutans* y justifican el esfuerzo de buscar el riesgo de caries a edades muy tempranas en los niños, a través de métodos microbiológicos de diagnóstico⁽¹⁷⁾. Esto se puede hacer incluso con bebés; al no contar en éstos casos con su colaboración en la toma de saliva, se puede retirar para los diagnósticos microbiológicos, restos de placa adherida^{(96),(97)}.

Diversas pruebas *in vitro* han demostrado que la acumulación ácida creada por las colonias de *S. mutans*, es sustancialmente mayor que la producida por otros microorganismos⁽⁹⁸⁾. Los *Streptococcus mutans* presentan un potencial de producción de caries muy superior al de cualquier microorganismo acidogénico de la placa supragingival^{(1),(10),(11),(20)}.

Existe una relación directa entre la cantidad-calidad de la caries y el número de *S. mutans* presentes en la boca^{(16),(18),(20),(27),(85),(86),(99),(100-102)}.

El potencial patógeno de *S. mutans* en la etiología de la caries dental está bien documentado^{(1),(10),(11),(18),(20),(62),(85),(86),(100),(103),(104)}; luego la supresión de *S. mutans* es un factor predominante en la prevención de la caries dental.

Antagonismo Bacteriano:

Algunas poblaciones bacterianas pueden estar inhibidas por otras a través de diversos mecanismos; ejemplo de ello es la aciduria, mediante la cual las bacterias acidógenas

excluyen del hábitat a las bacterias no acidúricas; la producción de bacteriocinas de los estreptococos, sustancias protéicas próximas a los antibióticos, como la mutacina producida por el *S. mutans*, o la sanguicina de los *S. sanguis*, que es inhibitoria de *S. mutans*. El antagonismo bacteriano de la flora establecida en la cavidad oral, puede desempeñar un papel protector que contribuya a mantener la salud del huésped⁽¹⁰⁵⁾.

La flora comensal, característica de un ecosistema en equilibrio, mantiene unas relaciones estables con el huésped sin consecuencias patológicas^{(32),(106),(107)}. El ecosistema bucal presenta una gran variedad de hábitat y dentro de éstos existen combinaciones especiales de alimentos y refugio (nicho ecológico) que permiten el desarrollo de especies concretas de bacterias; la persistencia de las colonias originales en sus respectivos nichos ecológicos dependerá en parte de la accesibilidad de los nutrientes endógenos provistos por la saliva, de los exudados tisulares, de los fluidos cervicales o de las células degenerativas del huésped⁽¹⁰⁶⁾.

Normalmente estos nichos están ocupados por la flora comensal que coloniza los dientes sin producirles alteraciones^{(32),(106),(107)}; si los nichos dentales están ya ocupados por microorganismos como el *S. sanguis*, existirá una resistencia bacteriana a la colonización de bacterias odontopatógenas^{(1),(84),(86),(108-110)}; obviamente, no se puede ignorar el efecto de los nutrientes exógenos, ya que una dieta rica en sacarosa rompería el equilibrio del ecosistema, al ser los alimentos ricos en azúcares especialmente favorables para *S. mutans*^{(106),(111)}, y si las fosas y fisuras son colonizadas por el *S. mutans* en su zona más profunda, la caries puede ser inevitable^{(1),(95)}.

Si se elimina o retrasa la colonización de *S. mutans* en la profundidad de las fosas y fisuras, otras bacterias menos odonto-patógenas podrían colonizarlas, evitando así el desarrollo de la caries^{(1),(84),(92),(108-110),(112),(113)} y dada la baja velocidad de transmisión del *S. mutans*⁽¹¹⁴⁾, su redu-

cido número en la superficie del epitelio bucal y en la saliva⁽¹⁰⁾, a demás de su alta susceptibilidad a la clorhexidina^{(103),(115),(116)} y el modo tan localizado de colonización^{(10),(117)}; todo esto nos brinda unas oportunidades únicas para el control quimioterapéutico⁽¹¹⁷⁾.

Por tanto sería factible eliminar rápidamente la práctica totalidad del *S. mutans* utilizando distintas concentraciones de clorhexidina, logrando la invasión de estos ecosistemas por otros microorganismos menos sensibles a este fármaco y menos cariogénico, que retrasarían la recolonización de *S. mutans*^{(108),(112),(113)}. Un buen ejemplo sería el trabajo de Schaecken y cols. (1989)⁽¹¹⁸⁾, con el que demostraron que colocando una sola aplicación de una pequeña cantidad de barnices de clorhexidina a diferentes porcentajes (0%, 10%, 20% y 40%) en las grietas libres de caries, se lograba una rápida y mantenida supresión selectiva de *S. mutans*, directamente proporcional a la concentración del fármaco, hasta durante 22 semanas, no teniendo ningún efecto sobre el número *S. sanguis* y *Actinomyces viscosus/naeslundii*, más allá de una semana⁽¹¹⁸⁾; de hecho existen trabajos como los de Emilson y Fornell de 1976⁽¹¹⁹⁾ y Sandham y cols. 1991⁽¹²⁰⁾, en los que el número de *S. sanguis* se incrementa después de la aplicación de clorhexidina^{(119),(120)}. La interferencia bacteriana en el recrecimiento de los *S. mutans* una vez suprimido éste por la clorhexidina, se evidenció en el estudio llevado a cabo en 1995 por van der Hoeven y Schaeken⁽¹¹⁰⁾, con el que se demostró la crucial importancia de la microflora oral para controlar el recrecimiento de *S. mutans* después de la quimioterapia. En este trabajo se formaron dos grupos de ratas: unas se alimentaron con sacarosa y el otro no, y estos grupos se subdividieron en un sub-grupo de ratas gnotobióticas y otro de ratas contaminadas con *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. gordonii*, *S. mitis biovar I*, y *Actinomyces naeslundii*; posteriormente, todos los grupos fueron contaminados con *S. mutans*, y se les colocó un barniz de clorhexidina en el grupo monoinoculado, tanto el que consumía sacarosa como el que no. La recolonización de *mutans*, ocurrió aproximadamente a la semana de la colocación del barniz, mientras que en el de las ratas contaminadas con más bacterias tardó varias semanas en ocurrir la

recolonización, las del grupo de sacarosa tres semanas y las sin sacarosa seis semanas.

De todo lo anterior podemos concluir:

1. La presencia de otras bacterias retardará la recolonización del *S. mutans*.
2. En animales de laboratorio con una microbiota definida (ratas gnotobióticas), en este caso contaminadas únicamente con *S. mutans*, la velocidad de recolonización de esta bacteria es muy rápida sin importar si se consume sacarosa o no.
3. El consumo de sacarosa acelera la velocidad de recolonización del *S. mutans* en presencia de una flora bucal normal⁽¹¹⁰⁾.

2.3.1.2. SUSCEPTIBILIDAD DEL HUÉSPED

Uno de los requisitos para que se desarrolle la caries es un huésped susceptible, son factores como la morfología dental, su localización en la boca, la edad del diente o la presencia de caries activas, los que pueden incrementar o disminuir su resistencia a la caries.

Morfología Dentaria:

Existen grandes diferencias en la susceptibilidad a la caries entre las distintas morfologías dentales^{(10),(121),(122)}. Las poblaciones con defectos morfológicos en forma de fosas o fisuras acentuadas, son más susceptibles a la caries⁽¹²³⁾; esto se debe a que las lesiones cariosas no se desarrollan igual sobre todas las superficies dentarias, aparecen con preferencia en aquellas zonas en que la placa tiende a acumularse sin ser perturbada por los mecanismos fisiológicos de limpieza (autoclisis), es decir, puntos y fisuras oclusales etc., estas cavidades constituyen un ambiente protector del crecimiento bacteriano, y la posibilidad de que apa-

rezcan caries en superficies lisas proximales es pequeña^{(10),(68),(124)}, en otras palabras, el ataque de caries en las superficies proximales es bajo con respecto a las caras oclusales^{(122),(125)}, donde no sólo es alto, sino que además es ininterrumpido⁽¹²⁵⁾. Incluso las irregularidades en la superficie del esmalte, como las que se producen en las hipoplasias del esmalte, pueden contribuir a que se incremente la colonización por *S. mutans*⁽¹²⁶⁾.

Ubicación en la Boca:

En una misma boca no todos los dientes tienen igual susceptibilidad a la caries, en general se incrementa en el sector posterior de la boca⁽¹²⁴⁾. Las bacterias recolonizan más rápidamente los sectores posteriores (molares y premolares) que los anteriores⁽¹²⁷⁾. El orden de incidencia de caries de mayor a menor es: (1) primer molar inferior, (2) segundo molar inferior, (3) primer molar superior, (4) segundo molar superior, (5) primer premolar superior, (6) segundos premolares superiores e inferiores, (7) incisivos superiores, (8) canino superior, (9) primer premolar inferior, (10) incisivos inferiores y (11) caninos inferiores⁽¹²¹⁾.

Edad del Diente:

Una de las razones por las que se forman tantas caries en los primeros años de erupción de los dientes es debido a la inmadurez del esmalte⁽¹²⁸⁾.

Como ya hemos mencionado, cuanto más alta sea la concentración de calcio y fosfato, será necesario un pH más bajo para la disolución de la apatita⁽³⁰⁾. Con los años, la composición superficial del esmalte se modifica, aumentando gradualmente la concentración de fluoruro y disminuyendo la de carbonato⁽³³⁾, la apatita carbonatada es menos estable que la hidroxia-

patita pura⁽¹²⁹⁾ y esta asimilación de minerales y oligoelementos presentes en el medio bucal, hace que el esmalte superficial adquiera una mayor dureza y resistencia a los ácidos⁽¹³⁰⁾. Así pues, la posibilidad de que se formen caries en las caras oclusales de los primeros molares permanentes, disminuye con la edad⁽¹²⁵⁾. Por otro lado cuando los dientes están erupcionando, no participan en la masticación funcional; por lo tanto, a menudo están parcialmente cubiertos por depósitos microbianos, además el cepillado en esa zona se evita por la molestia que generan las cerdas sobre la gíngiva que cubre el diente, circunstancia que favorece la formación de caries⁽¹³¹⁾.

Presencia de Caries Activa:

En pacientes con una gran cantidad de caries, tanto la disminución del pH como el tiempo requerido para que el pH se recupere, son notablemente mayores que en los individuos sin ellas o con caries inactivas⁽¹⁰⁾.

Las cavidades formadas por las caries pueden actuar como reservorio de *S. mutans* y *Lactobacilos*, y aportar millones de estas bacterias odontopatógenas a la saliva, pudiendo establecer focos infecciosos en otras superficies dentales⁽³²⁾. En estas mismas cavidades también los restos alimentarios pueden alojarse y quedar retenidos durante períodos de tiempo mucho más largos de lo que estarían en condiciones normales. Estudios clínicos han demostrado que al cabo de 15 minutos, el 90% de los alimentos adhesivos que estaban retenidos en la boca inmediatamente después de comer, ya no están presentes y esta observación es válida para los dientes sin cavidades abiertas⁽¹³²⁾.

La mejor manera de predecir la caries en el primer molar permanente a la edad de siete años, es la presencia de caries en tres o más molares temporales, a la edad de cinco años⁽¹³³⁾.

Los niños que presentan caries en sus dientes temporales, tienen el triple de posibilidades de desarrollar caries en sus dientes permanentes que los que no las presentan⁽¹³⁴⁾.

Una revisión de la literatura hecha por Powell en 1998, sobre la predicción de caries, concluyó que el mejor indicador del desarrollo de caries futuras, era la experiencia previa de éstas⁽²³⁾.

2.3.1.3. SACAROSA, EL SUSTRATO ADECUADO

Sacarosa: (C₁₂ H₂₂ O₁₁) es el azúcar normal de mesa, extraída de la remolacha azucarera o de la caña de azúcar^{(135),(136)}

La caries es una enfermedad sacarosa-dependiente⁽¹²⁾. La incidencia de la caries en el hombre ha aumentado de forma considerable desde la aparición del azúcar refinado, y es proporcional a la frecuencia de ingestión de productos azucarados.

Esto se pudo observar en un estudio llevado a cabo en 90 países, no obstante, esto no fue así de evidente cuando se analizaron por separado 49 países industrializados⁽¹³⁷⁾, en los que la prevalencia de caries ha decrecido a pesar de que el consumo de azúcar se mantiene alto⁽³⁹⁾.

Hasta aproximadamente la mitad del siglo XV, el consumir azúcar era un lujo al alcance de la corte y la nobleza. La introducción del azúcar refinado de forma masificada en la alimentación humana, trastocó completamente la ecología de la cavidad oral, confiriendo a *S. mutans* una enorme ventaja sobre las demás bacterias, menos equipadas para competir por esta nueva fuente nutritiva. El consumo de sacarosa promueve la selección de *S. mutans* y su desarrollo en la cavidad oral, incrementando el riesgo de caries⁽¹¹¹⁾. Aunque la

caries existía, era rara y aparecía únicamente en adultos, localizándose principalmente en la unión cemento-esmalte. Se cree que los *Actinomyces* eran los principales agentes etiológicos⁽⁶⁰⁾.

La virulencia del *S. mutans* se relaciona directamente con el disacárido sacarosa, que es utilizado por este microorganismo para obtener la energía necesaria para su crecimiento y proliferación, acumulándolo en reservas glucídicas del tipo glucógeno y fermentándolo en períodos de escasez. El *S. mutans* puede además metabolizar la sacarosa hacia ácidos orgánicos sobreviviendo y proliferando en este medio tan ácido que sería letal para la mayoría de las demás bacterias⁽¹¹⁾. Por otra parte, este hidrato de carbono es transformado por el *S. mutans* en polisacáridos extracelulares insolubles, sustancias adhesivas que ayudan a aglutinar las bacterias y a mantenerse en las superficies dentales^{(60),(106),(138)}.

Se ha sugerido que los polisacáridos extracelulares pueden ser utilizados como reservas nutricionales, mientras los intracelulares representen reservas energéticas⁽¹³⁹⁾.

La capacidad de eliminar el azúcar de la cavidad oral en pacientes con altos y bajos recuentos de *S. mutans* ha sido estudiada; los sujetos con altos niveles de *S. mutans* y *Lactobacillus*, necesitan un tiempo significativamente mayor para lograr la eliminación de la sacarosa en comparación con los que tienen niveles bajos⁽¹⁴⁰⁾. Los alimentos con alto contenido de azúcar, disminuyen más rápida y más profundamente los niveles de pH de la placa^{(141),(142)}. Al suplementar la dieta con terrones de azúcar y toffee, se encontró un incremento significativo en el número de microorganismos presentes en la placa⁽¹⁴³⁾. La proporción de *S. mutans* sobre la superficie de los dientes, disminuye de forma notoria después de la reducción de la ingesta de azúcar⁽¹⁰⁾, de igual modo que una dieta rica en sacarosa acelera la recolonización de *S. mutans*⁽¹¹⁰⁾. Como ya hemos mencionado antes, el número de lactobacilos en saliva parece reflejar la frecuencia de la ingesta de carbohidratos fermentables y así, de forma

indirecta, el riesgo de iniciación de lesiones cariosas⁽²¹⁾.

La alta prevalencia de caries temprana en el niño (ECC: Early Childhood Caries), antes de los tres años, puede deberse a que las madres no tengan una información adecuada de cómo alimentar a sus hijos y le suministren un alto número de carbohidratos^{(144),(145)}. Los fabricantes de productos alimenticios infantiles deberían proporcionar alimentos no cariogénos, dado que esto puede ser determinante en la futura salud dental de un individuo⁽⁹²⁾. No obstante, como ya hemos hecho mención, las leches de biberón formuladas para no desarrollar caries, han sido ignoradas⁽²⁷⁾.

De igual modo no hay conocimiento en el público de que en algunos agentes terapéuticos pueden existir a veces concentraciones altas de carbohidratos fermentables, que podrían afectar a niños con enfermedades crónicas y un consumo mantenido de jarabes^{(139),(146)}.

Lo anterior se evidenció en un estudio llevado a cabo en ancianos, en el que se observó que los sujetos que tenían prescritos medicamentos que reportaban como efecto secundario, la reducción en el flujo salival, presentaban significativamente poca actividad de caries radicular, con respecto a los que no consumían este tipo de medicamento, sin embargo, los niveles en saliva de *S. mutans*, *Lactobacillus* y hongos, estaban significativamente incrementados en los sujetos que tomaban medicamentos que contenía sacarosa⁽¹⁴⁷⁾.

Al comparar la aparición y distribución de *S. mutans* en África, Europa y Norteamérica se aprecia que las cantidades son análogas; por tanto, la diferencia en experiencia cariosa de estos tres continentes no puede ser atribuida sólo a estos gérmenes, sino a la diferencia en la cariogenicidad de las diferentes dietas⁽¹³⁹⁾. Un ejemplo de esto, es el trabajo de Carlsson y cols. (1987), que estudiaron una población infantil en una zona rural de Sudán que presentaba bajísima experiencia de caries a pesar de estar muy infectados por estreptococos cario-

génicos, pero la dieta de esta población de niños no presentaba sacarosa⁽¹⁴⁸⁾.

En España en 893 niños con niveles bajos de caries, se encontró una relación entre el consumo de alimentos ricos en sacarosa y una mayor cantidad de caries, así como un menor número de caries en los que consumían chicles y caramelos libres de azúcar⁽⁴⁹⁾. La evolución histórica del consumo de azúcar en nuestro país, ha seguido un camino paralelo a la prevalencia de caries, y permite confirmar la hipótesis de que en comunidades no fluoradas, el consumo de azúcar se convierte en el elemento más directamente relacionado con la prevalencia de caries dental⁽¹⁴⁹⁾. Enjuagándose nueve veces al día con 10 ml de sacarosa al 50% y suprimiendo las medidas de higiene se producen caries en tres semanas^{(150),(151)}.

A pesar de la fuerte relación que aparentemente existe entre el consumo de azúcar y la caries dental, en algunos estudios esta relación no fue encontrada de forma tan evidente^{(39),(45),(152)}. No debemos olvidar que la etiología de la caries es multifactorial y si los factores que determinan la formación de caries, microorganismos cariógenos, dientes susceptibles y un sustrato adecuado, no se presentan simultáneamente durante un periodo de tiempo, la caries no se manifestará, ya que uno solo de los factores, en este caso la dieta (sustrato adecuado), no es suficiente para el desarrollo de la caries. Por ejemplo, si estos trabajos estuviesen formados mayoritariamente por pacientes de baja prevalencia de caries o de bajo riesgo, podría haber ocurrido como en el estudio de Barcelona (1997)⁽¹⁵³⁾ en el que se intentó, al igual que en estos trabajos, buscar la relación entre el alto consumo de sacarosa y la prevalencia de caries en niños, no encontrándose una relación estadísticamente significativa, el fallo posiblemente estaba en que la población era de baja prevalencia de caries, sin embargo, cuando se estratificaron los niños en dos grupos, de acuerdo a si presentaban cantidades moderadas o bajas de *S. mutans*, observaron que los niños que poseían una moderada cantidad de *S. mutans* si además ingerían gran cantidad de alimentos ricos en azúcar, tenían una mayor cantidad de caries (23.0) que sus compañeros de grupo, que restringían el

consumo de azúcar (1.6). En cambio, en el grupo con cantidades bajas de *S. mutans*, las diferencias en el desarrollo de caries entre los de alto consumo de azúcar (1.6) y los de bajo consumo (0.1) era insignificante⁽¹⁵³⁾.

2.4. TRATAMIENTOS PREVENTIVOS

Como ya mencionamos anteriormente, para que se desarrolle la caries se requiere que simultáneamente existan, un huésped susceptible, un agente microbiano y un sustrato adecuado que debe estar durante un espacio de tiempo en contacto con la superficie dental. Recíprocamente, para intentar prevenir la caries deberíamos:

- 1) Incrementar la resistencia del huésped (diente) con:
 - Fluoruros, selladores de puntos y fisuras, hábitos de higiene etc.
- 2) Disminuir el número de microorganismos cariógenos a través de:
 - Agentes químicos: antimicrobianos, antibióticos, etc.
 - Remoción mecánica de la placa, etc.
- 3) Modificación de hábitos alimenticios:
 - Realizar una ingesta de alimentos controlada
 - Utilización de alimentos libres de azúcar como el xilitol, sorbitol etc.
- 4) Reducir el tiempo que el sustrato está en la boca, limitando la frecuencia de la ingesta.

En este trabajo nos vamos a centrar en los métodos preventivos logrados con la disminución del número de microorganismos cariogénicos a través de agentes químicos. Los antimicrobianos reducen el desarrollo de las caries^{(29),(74),(150),(154)}, así como los antibióticos^{(52-54),(155)}; no obstante, estos últimos pueden llegar a producir efectos secundarios serios. Dicho lo

anterior, el estudio se llevará a cabo con un antimicrobiano. El fármaco de elección ha sido la clorhexidina por ser el agente antibacteriano más efectivo^{(18),(115),(150),(156-165)}, con unos efectos secundarios que se podrían considerar aceptables^{(118-120),(166-180)}. Ya en 1983, Loesche decía que el antimicrobiano podía ser efectivo en reducir la caries cuando se dirigía el blanco contra organismos como el *S. mutans* y además el fármaco poseía sustentividad, como era el caso de la clorhexidina⁽²⁹⁾. Se utilizó un barniz de clorhexidina que además contiene timol, marca comercial Cervitec[®]. El timol proviene de la esencia de tomillo, es un alquife-nol, y su derivado biyodado es el aristol⁽¹⁸¹⁾. El timol a pesar de no ser tan efectivo como la clorhexidina, tiene un efecto sinérgico con ésta⁽¹⁸²⁾. El Cervitec[®] tiene actividad antimicro-biana frente a los grampositivos y gramnegativos y contra un tipo de Cándida⁽¹⁸³⁾.

Algunas de las ventajas de los barnices son:

- Es un dispositivo de liberación lenta que hace más efectiva la sustentividad de la clorhexidina.
- Los efectos secundarios de tinción, descamación de la mucosa y mal sabor, propios de la clorhexidina, quedan reducidos a su mínima expresión^{(99),(184)}.
- Presentan una alta retención y se pueden utilizar dosis muy bajas de clorhexidina⁽¹²²⁾.
- No dependen de la colaboración del paciente, al ser de administración profesional.
- El agente puede ser colocado específicamente sobre las zonas de predicción de caries^{(99),(122)}.
- Los barnices son una forma adecuada de colocar clorhexidina en niños, dado que se evita el riesgo de deglución, del fármaco⁽¹⁸⁵⁾; no obstante, como veremos posteriormente, el tragarse la clorhexidina no tiene una repercusión negativa, más allá de la pérdida de gran parte del efecto de la misma en su lugar de aplicación.

2.4.1. LA CLORHEXIDINA

Las bis-biguanidas, como es la clorhexidina, se caracterizan por poseer una estructura molecular que tiene grupos hidrófilos e hidrófobos (anfipáticos) y tienen una carga positiva neta a un pH fisiológico⁽¹⁸⁶⁻¹⁸⁸⁾. La capacidad catiónica de la molécula de la clorhexidina implica que se inactive rápidamente en presencia de los agentes aniónicos^{(161),(187),(189),(190)}, principalmente los que se encuentran en ciertos dentífricos^{(161),(189),(190)}.

A finales de la década de los 40, del siglo pasado, los científicos estaban intentando desarrollar un agente antimalárico formulando un grupo de compuestos llamados polibiguánidas, que demostraron un amplio espectro antimicrobiano. La clorhexidina es una de las drogas pertenecientes a este grupo, y es habitualmente utilizada desde hace 20 años de forma segura como agente antiplaca en Europa (Greenstein 1986)⁽¹⁹¹⁾. Hoy en día, se ha propuesto que en los consultorios, los pacientes se enjuaguen con clorhexidina antes de comenzar el tratamiento, con el fin de reducir el número de microorganismos presentes en los aerosoles que se producen durante los procedimientos dentales^{(192),(193)}.

La clorhexidina se ha mezclado con un gran número de antibacterianos, para mejorar sus propiedades, ejemplo de ellos son: el xilitol⁽¹⁹⁴⁾, el timol, con el que tiene un probado sinergismo⁽¹⁸²⁾ así como con el perborato sódico⁽¹⁹⁵⁾, el cetylpyridinium chloride⁽¹⁹⁶⁾ y el flúor, con el que también se ha demostrado su sinergismo^{(18),(127),(194),(197-199)}; no obstante, esto no ocurre con todos los derivados minerales y orgánicos del flúor⁽²⁰⁰⁾, el monofluorofosfato (MFP) que es muy utilizado como dentífrico, es incompatible con la clorhexidina, al reducirse la actividad de ambos cuando se utilizan conjuntamente^{(201),(202)}. De igual modo ocurre cuando se utiliza simultáneamente el digluconato de clorhexidina con el lauril sulfato sódico, que se emplea como excipiente en muchos dentífricos^{(190),(202)}.

2.4.1.1- MECANISMO DE ACCIÓN DE LA CLORHEXIDINA:

Según Rölla, Löe y Rindom Schiøtt, en 1970⁽¹⁵⁸⁾ y 1971⁽²⁰³⁾, la clorhexidina se une a la hidroxiapatita, a la superficie dental y a la mucina salival. Cuando la concentración del fármaco en el medio ambiente baja, se va liberando de acuerdo a las necesidades del medio. La formación de reservorios de clorhexidina en la cavidad oral podría ser la responsable de la prevención de la colonización bacteriana y el desarrollo de la placa dental⁽¹⁵⁸⁾⁽²⁰³⁾.

En las pruebas *in vitro* un gran número de compuestos químicos presentan propiedades bactericidas muy parecidas a las de la clorhexidina, no obstante, *in vivo* la clorhexidina es muy superior, dadas sus características de sustantividad, o propiedad de fijarse a los tejidos duros y blandos de la cavidad bucal y difundir lentamente con la saliva, le permiten ejercer un efecto prolongado⁽²⁰⁴⁾. Es determinante el efecto reservorio que ejerce la cavidad bucal en la absorción local de clorhexidina⁽²⁰⁵⁾.

En 1974 Bonesvoll y cols.⁽²⁰⁶⁾, llevaron a cabo un trabajo para estimar la cantidad de clorhexidina que se retenía en la cavidad bucal después de un enjuague durante un minuto con 10 ml de clorhexidina al 0.2%; para esto utilizaron clorhexidina marcada radioactivamente [¹⁴C] - clorhexidina, y para calcular qué cantidad de ella era ingerida se le agregó [⁵¹Cr] - EDTA / 10 ml. La cantidad total del fármaco retenido fue de 34% ± 7%, del cual, el 4% ± 2% fue deglutido y un 30% ± 7% se retuvo en la mucosa oral. Veinticuatro horas después se hallaron concentraciones de clorhexidina en saliva, demostrándose así la alta retención de ésta en la boca tras un enjuague⁽²⁰⁶⁾. Este estudio se continuó con otro trabajo que evaluó como afectaba 1.) la concentración, 2.) el tiempo, 3.) la temperatura y 4.) el pH en la retención de la clorhexidina en la cavidad oral⁽²⁰⁷⁾. Los resultados fueron:

1. La retención fue proporcional a la concentración.

2. Después de un enjuague durante 1 minuto, aproximadamente la mitad de la clorhexidina se retiene durante los primeros 15 segundos (existen variaciones inter-personales).
3. Al incrementar de 22 a 60 °C la temperatura, no hubo cambios en la retención.
4. Con un pH entre 3.0 y 1.5 se retuvo la mitad que en un pH 6.4; cuando se llevó el pH a 9.0 no hubo diferencias⁽²⁰⁷⁾.

Según Gjermo, Bonesvoll y G. Rölla (1973)⁽²⁰⁸⁾, parece que el efecto clínico de la clorhexidina en la inhibición de la placa bacteriana depende más de la retención del fármaco en la cavidad oral, con su consecuente liberación lenta y su efecto bacteriostático, que de su capacidad bactericida inicial, a nivel de la placa y la saliva⁽²⁰⁸⁾.

Rölla y Melsen (1975)⁽²⁰⁹⁾ en su trabajo, confirman que la clorhexidina se une a los grupos ácidos, posiblemente por interacción electrostática, y estos grupos ácidos de las macromoléculas de las secreciones mucosas son probablemente los lugares receptores principales. El desplazamiento de la clorhexidina desde los grupos fosfato o carboxilo por cationes divalentes, como el calcio, podría explicar parte de su efecto antibacteriano prolongado⁽²⁰⁹⁾.

Según Rölla y Kaae (1975)⁽²¹⁰⁾, el desplazamiento por los iones de calcio de la saliva puede ser el mecanismo que implica la lenta liberación de la clorhexidina en la cavidad oral *in vivo*⁽²¹⁰⁾.

Basándose en trabajos previos y en el actual Rölla y Melsen⁽²⁰⁹⁾, concluyen que el mecanismo de la clorhexidina para inhibir el desarrollo de la placa bacteriana puede ser debido a:

1. La reducción hasta de un 95% en el número de bacterias disponibles en la saliva para adherirse al diente⁽¹⁵⁷⁾.

2. El bloqueo que hace a los grupos ácidos en las glicoproteínas salivales, reduciendo así su adsorción a la superficie dental.
3. La unión de la clorhexidina a las bacterias salivales, interfiriendo de esta forma con la unión de la bacteria a la superficie dental.
4. La precipitación de los agentes ácidos aglutinados en saliva y desplazamiento del calcio, el cual es envuelto en el aglutinamiento junto con la placa⁽²⁰⁹⁾.

2.4.1.2. EFECTIVIDAD DE LA CLORHEXIDINA:

La clorhexidina en bajas concentraciones presenta una alta capacidad bacteriostática, interfiriendo el mecanismo de transporte fosfoenolpiruvato fosfotransferasa⁽²¹¹⁾; posee una acción fungicida y bactericida contra los organismos tanto grampositivos como gramnegativos^{(157),(159),(181),(186),(187)}.

Se encontraron concentraciones inhibitorias mínimas bajas con estreptococos, *S. mutans*, *S. salivarius* y *E. coli*, en tanto que, cepas de *Proteus*, *Pseudomonas* y *Klebsiella* eran menos susceptibles. El *S. sanguis*, dependiendo de las cepas, podía tener mayor o menor susceptibilidad. Los menos susceptibles fueron los cocos gramnegativos^{(157),(159),(181),(187)}. Con una concentración inhibitoria mínima de 62 microgramos/ml, se pueden inhibir el 64% de las bacterias que se aíslan en la placa sub-gingival de pacientes con enfermedad periodontal crónica⁽²¹²⁾.

La utilización de la clorhexidina en la prevención de la caries constituye un método efectivo, dado que las bacterias involucradas en los procesos de caries, son muy sensibles a ella, especialmente el *S. mutans*^{(103),(115),(116)}. Inhibiendo la acumulación de la placa, este antimicrobiano catiónico previene la gingivitis^{(150),(156),(159),(213-217)}. El advenimiento de los colutorios de

clorhexidina ha sido el mayor avance en la prevención de caries a través de quimioterapéuticos⁽¹⁶⁴⁾.

En 1970, Løe y Rindom Schiøtt⁽¹⁵⁶⁾, llevaron a cabo unos estudios en humanos, con los que demostraron que, en ausencia total de higiene oral durante varias semanas, y con una aplicación tópica de gluconato de clorhexidina al 2% de forma diaria, se prevenía completamente la formación de placa bacteriana. También se lograba este objetivo enjuagándose con 10 ml de gluconato de clorhexidina al 0.2% dos veces al día, durante un minuto; no obstante, si se utilizaban los colutorios al 0.2% sólo una vez al día, no se inhibía la formación de placa bacteriana en todas las áreas de la dentición. De todo esto se concluyó que la completa inhibición de la placa bacteriana y la prevención de la gingivitis se puede lograr con la aplicación diaria de clorhexidina⁽¹⁵⁶⁾.

En ese mismo año Rindom Schiøtt y cols, realizaron un trabajo similar al anterior, con enjuagues dos veces al día de clorhexidina al 0.2% y eliminando todo tipo de higiene oral; pero en este caso se evaluó qué efectos producía el fármaco en la flora bucal. Se observó una disminución de hasta un 95% en el número de bacterias por ml. de saliva⁽¹⁵⁷⁾.

Davies y cols. en 1970⁽¹⁵⁹⁾, también hicieron un experimento parecido colocando clorhexidina tópica al 2% diariamente, en este caso para evaluar la colonización bacteriana del diente y la gíngiva. Con este trabajo se confirmaron los resultados de Løe y Rindom Schiøtt⁽¹⁵⁶⁾, en cuanto a que se prevenía completamente la formación de placa bacteriana; pero esta colocación tópica no afectaba la colonización de la unión gingival y no reducía la flora salival. Esto llevó a pensar que la inhibición de la formación de la placa bacteriana era debido a la interacción de la clorhexidina con los componentes inorgánicos y orgánicos de la superficie dental. También encontraron que en las aplicaciones tópicas, los dientes se manchan como con los enjuagues, aunque el dorso de la lengua no⁽¹⁵⁹⁾.

Flötra y cols. (1972)⁽²¹³⁾, encontraron que en los dos primeros meses del estudio, los enjuagues con clorhexidina al 2%, reducían la placa bacteriana en un 66%; en la segunda parte del trabajo (otros dos meses) los dientes fueron previamente pulidos y se logró hasta un 84% en la reducción de la placa, a pesar de que las últimas cuatro semanas del estudio (la mitad del tiempo en la segunda parte), se hizo sólo con clorhexidina al 1%⁽²¹³⁾.

Löe, von der Fehr y Schiøtt (1972)⁽¹⁵⁰⁾, demostraron la capacidad de la clorhexidina para prevenir la formación de placa, evitando así la gingivitis y la caries dental, incluso suprimiendo todas las medidas de higiene oral y enjuagándose nueve veces al día con 10 ml de sacarosa al 50%, durante veintidós días; en estas mismas condiciones, en los grupos que no utilizaron clorhexidina se desarrolló caries en un número de superficies vestibulares⁽¹⁵⁰⁾, lo que confirma los resultados obtenidos por von der Fehr y cols. en 1970⁽¹⁵¹⁾.

La preparación más usual en colutorios de clorhexidina es al 0.2%, la formulación al 0.12% se empezó a comercializar cuando ésta evidenció ser tan eficaz como la primera^{(218),(219)}. Los resultados microbiológicos demuestran que la clorhexidina al 0.12% es un excelente antimicrobiano de amplio espectro, que reduce significativamente a los anaerobios obligados y facultativos⁽²²⁰⁾. En su estudio Addy, Moran y Newcombe (1991)⁽²¹⁸⁾, compararon un colutorio al 0.12% con otro al 0.1%, ambos de clorhexidina, sobre los efectos en el recrecimiento de la placa, obteniéndose niveles similares entre ambos⁽²¹⁸⁾.

Ernst C. y cols. (1999)⁽²²¹⁾, no hallaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a los beneficios o a los efectos secundarios de dos colutorios de clorhexidina al 0.1% y al 0.2%. Ambos fueron igual de efectivos en la prevención y mejora de la gingivitis, y sus efectos secundarios (tinciones dentales o alteraciones del sabor) fueron similares, no hallándose erosiones mucosas en ninguno de los voluntarios estudiados. Dados los resultados, no encuentran razones para incrementar la concentración del fármaco, si es efectivo al

0.1%. El efecto de los colutorios de clorhexidina depende generalmente de la dosis y no de la concentración. Por esta razón, la mitad de la cantidad de un colutorio concentrado al 0.2% puede ser tan efectiva como la concentración al 0.1%; no obstante, enjuagarse con 15 ml de un colutorio, es clínicamente más fácil para los pacientes que enjuagarse con 7.5 ml⁽²²¹⁾.

Estudios epidemiológicos confirman la fuerte relación entre la placa dental y la iniciación de caries y enfermedades periodontales. Por consiguiente, la prevención de estas enfermedades debe basarse en el control de la placa bacteriana, que puede lograrse a través de su remoción mecánica o química^{(222),(223)}. Addy M. (1986)⁽¹⁶⁰⁾, dice que en el control de la placa bacteriana supra-gingival, la clorhexidina no ha podido ser superada por ningún agente químico⁽¹⁶⁰⁾. De todos los agentes químicos utilizados para el control de la placa dental, el digluconato de clorhexidina ha demostrado ser el más efectivo y seguro⁽¹⁶²⁾. También la clorhexidina ha demostrado ser efectiva en el control y prevención de las caries⁽¹⁸⁾. Es posible eliminar en el hombre al *S. mutans* de forma efectiva y segura a través de barnices antimicrobianos⁽²²⁴⁾. Según Schaecken MJ y Mikx FH.(1992)⁽²²⁵⁾, el factor bacteriológico en los procesos cariosos puede ser suprimido por la aplicación de barnices de clorhexidina⁽²²⁵⁾. Los barnices de clorhexidina han demostrado ser eficaces en el control del *S. mutans* sobre todo en personas con riesgo microbiológico alto^{(108),(112)}, y también reducen el número de *S. mutans* durante largos periodos de tiempo⁽¹⁸⁾. En los trabajos realizados con barnices de clorhexidina las aplicaciones suelen ser trimestrales; no obstante, las pautas y maneras de aplicarlo son muy variadas y en la mayoría de los casos se coloca en más de una ocasión (dentro del trimestre), 2 ó 3 veces con intervalos de dos días, una o dos semanas, mensual etc.^{(16),(175),(197),(226-232)}. Bratthall D. y cols. (1995)⁽¹⁶⁾ y Joharji RM y Adenubi JO. (2001)⁽⁹⁹⁾, encontraron que los barnices de Cervitec® (clorhexidina-timol) reducían significativamente el desarrollo de caries de fisuras^{(16),(99)}. Baca P. y cols. (2002)⁽²³³⁾, observaron que los barnices de clorhexidina-timol (Cervitec®) son efectivos en prevenir la caries en los primeros mola-

res permanentes, logrando un 48% de disminución⁽²³³⁾. Araujo AM. y cols. (2002)⁽²³⁴⁾, colocando trimestralmente (al inicio, a los tres meses y a los seis meses) barnices de Cervitec[®] sobre los primeros molares permanentes en erupción, observaron que se reducía el número de *S. mutans* en la placa que los cubría y no se formaron caries durante los dos años que duró el estudio, aunque en este trabajo a los niños se les suministraba varios tratamientos preventivos, además del Cervitec[®]⁽²³⁴⁾. Los niveles en saliva de *S. mutans* se mantuvieron significativamente bajos al aplicar un barniz de clorhexidina al 10% (Chlorzoin[®]) semestralmente⁽²³⁵⁾. Los niveles de *S. mutans* en saliva se reducen de forma significativa hasta durante tres meses, con los barnices de Cervitec[®]⁽²²⁶⁻²²⁸⁾. La placa bacteriana fue significativamente reducida después de la colocación de barnices de Cervitec[®], y a las 12 semanas no se podía diferenciar el efecto inhibitorio⁽²³⁶⁾. Los barnices de clorhexidina al 10% impiden la actividad de caries e inhiben la actividad proteolítica presente en las caries de dentina *in vivo*⁽²³⁷⁾. En un grupo de 29 adultos (20-30 años de edad) que presentaban un elevado número de *S. mutans* en sus fisuras oclusales de los molares y premolares, se les colocó unos barnices en las caras oclusales dependiendo del grupo: (1) un placebo, (2) una aplicación de clorhexidina al 40% y (3) una aplicación adicional de clorhexidina al 40% una semana después. En el grupo (2) la supresión de *S. mutans* se mantuvo más allá de dos meses con respecto al grupo placebo; en el grupo (3) la supresión de *S. mutans* fue durante más de cuatro meses. En los grupos que se les colocó clorhexidina, el *S. mutans* fue suprimido con mayor intensidad a nivel de los premolares que de los molares, y más aun en el tercer grupo⁽²³⁸⁾. Se colocó clorhexidina *in situ* al 0.2% sobre la dentina cariada y como control agua, y en este último grupo no se logró ninguna reducción de bacterias, y aunque, con la clorhexidina la reducción bacteriana no fue total, hubo una reducción significativa de *S. mutans*; la proporción de *Actinomyces* y *Lactobacillus* no fue afectada significativamente, y la superficie de dentina desmineralizada se encontraba completamente cubierta de *Streptococcus*⁽¹⁷⁶⁾. Los niveles de *Actinomyces viscosus/naeslundii* en placa se encontraron incrementados después de la colocación de barnices de clorhexidina⁽²³⁹⁾. Se colocaron férulas nocturnas que conte-

nían barnices de clorhexidina o placebo; se logró una reducción significativa del *S. mutans*, mientras los niveles totales de bacterias anaerobias y facultativas no se encontraron significativamente afectados^{(174),(178)}.

En cualquiera de sus presentaciones la clorhexidina, ha sido de gran ayuda en la práctica odontológica^{(240),(241)}; esto se acentúa cuando observamos los casos de pacientes comprometidos; a continuación mencionaremos algunos estudios con este tipo de pacientes:

Newbrun (1996)⁽²⁴²⁾, considera que en pacientes con hipo-salivación podría ser útil el enjuagarse con flúor junto con colutorios o geles de clorhexidina, así como el uso profesional de barnices de clorhexidina sobre los dientes⁽²⁴²⁾. En los pacientes tratados con radioterapia y quimioterapia de cabeza y cuello, las enfermedades periodontales y las caries pueden ser controladas con el uso apropiado de clorhexidina y flúor⁽²⁴³⁾. Para el control de la caries es útil la colocación de geles de clorhexidina en pacientes con secreción salival deteriorada, dada la reducción de *S. mutans* que se logra con este medio⁽¹⁰³⁾. En pacientes jubilados se evaluó el efecto de masticar chicle dos veces al día durante 10 minutos, sobre los niveles de *S. mutans*, *Lactobacillus* y levaduras, se formaron dos grupos, uno utilizaría xilitol-clorhexidina y el otro sólo xilitol. El grupo de xilitol-clorhexidina logró una marcada reducción en los niveles de *S. mutans*, *Lactobacillus* y levaduras, en el grupo del xilitol se logró solamente una modesta pero significativa reducción del *S. mutans*, y los *Lactobacillus* y levaduras no se vieron afectados⁽²⁴⁴⁾. Se investigó el efecto de cuatro aplicaciones consecutivas de Cervitec® o placebo *in situ* sobre raíces desmineralizadas durante dos semanas y en el grupo del Cervitec® se observó una reducción en la profundidad de las lesiones y en la pérdida de minerales del 77% y 82% respectivamente; esto nos lleva a concluir que éste es un producto muy útil en la prevención de caries de raíz⁽²⁴⁵⁾. La utilización de clorhexidina puede ser útil en la prevención de caries en los pacientes con sobre-dentadura⁽²³⁹⁾. Se ha encontrado de gran utilidad la colocación de

clorhexidina en pacientes con pobre higiene oral, utilizando un gel de clorhexidina al 1%, dos veces al día como dentífrico durante cuatro semanas se logró una mejoría en la salud gingival⁽²¹⁵⁾. Las aplicaciones de barnices de clorhexidina al 40%, reducen cuantitativamente las colonias de *S. mutans* de forma significativa y mejoran los parámetros clínicos en los pacientes con grandes cúmulos de placa bacteriana⁽²⁴⁶⁾. En la Universidad de Pittsburgh (USA) encontraron que con aplicaciones profesionales de barnices de clorhexidina se lograba mantener la salud periodontal en adolescentes, durante más de seis meses⁽²¹⁷⁾. La aplicación de barnices de clorhexidina al 10% mejora significativamente la salud gingival de los adolescentes, manteniéndose los efectos durante más de seis meses⁽²¹⁴⁾. Los resultados demuestran que los barnices de clorhexidina y timol (Cervitec®), son efectivos en la reducción del número de *S. mutans* en la placa dental alrededor de los apliques de ortodoncia^{(229),(231),(247),(248)}. No hubo diferencias significativas entre aplicar acetato de clorhexidina en barniz al 10% o al 20%, en pacientes con ortodoncia fija. Se observó una supresión oral de *S. mutans*, efectiva durante largos periodos⁽²⁴⁹⁾. Los resultados indican que si se usa gluconato de clorhexidina al 0.12% en colutorios junto a hábitos de higiene oral, se reducirá la placa y la gingivitis en adolescentes con ortodoncia fija y su efecto se mantendrá durante los tres meses siguientes a su uso⁽²⁵⁰⁾. Los barnices de clorhexidina en pacientes con ortodoncia fija, parecen disminuir los niveles de *S. mutans* sin encontrarse cambios significativos en los niveles de *A. viscosus*. Se concluye que puede ser útil en la prevención de caries en este tipo de pacientes⁽¹⁷³⁾. Colocando Cervitec® interproximalmente, se logró una reducción en la incidencia de caries en escolares de alto riesgo de caries⁽²³⁰⁾. Wallman, Krasse, Birked y Diacono (1998)⁽²⁵¹⁾; encontraron que en los pacientes con un elevado número de *S. mutans* y gran cantidad de restauraciones, era muy difícil mantener el efecto reductor de *S. mutans* (logrado por la clorhexidina) durante largos períodos de tiempo y por ende precisaban además del tratamiento antimicrobiano (gel de clorhexidina 1%) otras medidas, como la restricción de la sacarosa, si se quería mantener la cantidad de *S. mutans* baja durante mayor cantidad de tiempo⁽²⁵¹⁾. Parece lógico incluir

a la clorhexidina en todas las estrategias de tratamiento en pacientes con alta actividad de caries o que tengan reducida la capacidad de realizar procedimientos adecuados de higiene^{(160),(161),(165),(237),(252-255)}. También se ha recomendado el empleo de clorhexidina durante y posteriormente al tratamiento de las avulsiones dentarias⁽²⁵⁶⁾. Los enjuagues de gluconato de clorhexidina al 0.2% reducen significativamente la incidencia, duración y severidad de las ulceraciones aftosas, y los geles de gluconato de clorhexidina al 1% reducen la severidad y la duración, aunque no la incidencia⁽²⁵⁷⁾.

Se realizó un mega-análisis conformado por los antecedentes publicados sobre el efecto inhibitorio de la caries utilizando clorhexidina y los resultados fueron del 46%, con un 95% de confianza⁽²⁵⁸⁾. Se puede objetivar que la clorhexidina es el agente de elección como colutorio en la reducción de la placa y la gingivitis⁽¹⁶⁵⁾. La clorhexidina es el patrón oro contra el cual se miden todos los agentes antiplaca^{(161),(163)}.

2.4.1.3.COMPARACIÓN DE LA CLORHEXIDINA CON OTROS ANTISÉPTICOS:

La clorhexidina es probablemente el agente químico más ampliamente usado junto con el flúor, más potente en la inhibición de la placa y el único verdaderamente aceptado como agente anticaries disponible hoy en día⁽²⁵⁹⁾.

Flúor:

El flúor estañoso (SnF_2) puede lograr una gran disminución de *S. mutans*^{(260),(261)}. Sin embargo, a pesar de tener más actividad anti-placa^{(261),(262)}, cuando se compara la disminución del *S. mutans* obtenida con este flúor en relación a la lograda con la clorhexidina,

existe una diferencia estadísticamente significativa a favor de la clorhexidina^{(263),(264)}. El flúor sódico (NaF) no logra reducir el número de *S. mutans* ni en placa ni en saliva^{(261),(265)}, aunque sí puede incrementar la resistencia del diente a la desmineralización; no obstante, es incapaz de reducir la formación de placa^{(266),(261)}. La reducción de caries lograda con el barniz de flúor Duraphat no puede deberse a una alteración de la incidencia de *S. mutans* en placa dental o saliva, dado que los niveles tanto en placa como en saliva de *S. mutans* no fueron modificados significativamente⁽²⁶⁷⁾. Se ha logrado potenciar el efecto de la clorhexidina en la reducción del *S. mutans*, cuando se utilizó simultáneamente con flúor^{(127),(198)}. Los barnices de Cervitec® se potencian si se colocan simultáneamente con flúor para la reducción de *S. mutans* durante un mayor periodo de tiempo⁽¹⁹⁷⁾. Utilizando colutorios de flúor sódico y clorhexidina se logró una reducción de la placa bacteriana y del sangrado gingival además de un incremento en la tinción dental^{(268),(269)}.

Existen algunos estudios en los que fueron igual de efectivos en la reducción de las caries proximales, un barniz de flúor (Fluor-Protector) como el barniz de clorhexidina y timol (Cervitec®)⁽²⁷⁰⁾; en otro estudio muy similar al anterior, los resultados demostraron que la mezcla de Fluor-Protector y Cervitec® era igual de efectiva que la utilización única de Fluor-Protector en la prevención de caries proximales⁽²⁷¹⁾; en contraste con esto, cuando se empleó Fluor-Protector y Cervitec® mezclados, contra Fluor-Protector solo, en la prevención de caries de raíz, hubo una diferencia estadísticamente significativa a favor de la mezcla de ambos componentes⁽²⁷²⁾. En un estudio en el que se midió la capacidad de evitar el desarrollo de caries entre la clorhexidina, un barniz de flúor (Duraphat), solución de fluoruro de aluminio férrico (FeAlF) y un placebo, la clorhexidina logró reducciones de caries mucho mayores que los otros⁽¹⁵⁴⁾. Al comparar el efecto de un barniz de clorhexidina, un barniz de flúor y un barniz placebo, sobre superficies radiculares con y sin caries, en pacientes con enfermedad periodontal avanzada, tras un año de tratamiento, se observó que en el grupo de la clorhexidina había una supresión de *S. mutans*, y mostró

más superficies duras en zonas donde inicialmente existían lesiones⁽¹⁷⁷⁾. Todos estos resultados tan positivos de la clorhexidina para la reducción de caries de raíz, podrían deberse a que la capacidad de penetración del Cervitec® en la dentina cariada es de 35 micrones, mientras que los barnices de Fluor Protector y Duraphat lograron una penetración considerablemente menor⁽²⁷³⁾.

Povidona Iodada:

En un estudio se compararon las propiedades antibacterianas de dos colutorios bucales antisépticos empleando un enjuague simple con clorhexidina al 0.2% o con povidona iodada al 0.1%; se dio inmediatamente una drástica reducción de los gérmenes anaerobios y aerobios en la saliva de ambos grupos y la diferencia radicó en que el grupo de la povidona iodada recobró los niveles bacterianos iniciales una hora después del enjuague, mientras que la clorhexidina siete horas más tarde aún mostraba reducción bacteriana en la saliva⁽²⁷⁴⁾.

Sanguinaria-Zinc

Moran, Addy y Newcombe en 1988⁽²⁷⁵⁾, en un estudio compararon la capacidad de un colutorio de clorhexidina al 0.2%, con uno de sanguinaria-zinc, para inhibir la placa y la gingivitis eliminando todas las medidas de higiene durante 19 días; los resultados que obtuvieron fueron significativamente mejores en el grupo de la clorhexidina⁽²⁷⁵⁾.

Peroxiborato (Bocasan) y Peroxicarbonato (Kavosan)

En un estudio se comparó la capacidad de inhibir la formación de placa bacteriana de los enjuagues con peroxyborato, peroxycarbonato y clorhexidina, y el resultado fue que los colutorios de peroxicarbonato fueron mejor que los de peroxiborato, siendo los de clorhexidina significativamente superior a todos ellos⁽²⁷⁶⁾.

Peróxido de hidrógeno (H₂O₂)

Treinta y dos sujetos tuvieron un estricto control de higiene oral y luego se les dividió en tres grupos, se eliminaron todas las medidas de higiene oral y sólo se utilizaron dos enjuagues diarios; un grupo con clorhexidina al 0.12%, otro con peróxido de hidrógeno al 1% y el tercer grupo con placebo, todo esto durante 21 días; el grupo de la clorhexidina logró una reducción del 95% en el índice de gingivitis, 100% de reducción del sangrado y 80% en el conteo de la placa, comparado con el grupo placebo; el grupo del peróxido de hidrógeno en el índice de gingivitis logró una pequeña reducción del 15% y del 28% en el sangrado y en cuanto al conteo de la placa no hubo una reducción significativa, todo esto en comparación al grupo placebo⁽²²⁰⁾.

Cetylpyridinium chloride, triclosan, and C31G

Se comparó la capacidad de inhibición de la placa bacteriana de cuatro enjuagues bucales y un placebo, clorhexidina, cetylpyridinium chloride, triclosan, y C31G; los resultados en orden de eficacia de mayor a menor fue: clorhexidina, cetylpyridinium chloride, triclosan, C31G y placebo⁽²⁷⁷⁾.

Fenol

Para prevenir el desarrollo de la placa y la gingivitis se comparó un colutorio de fenol con otro de clorhexidina al 0.2%. Los enjuagues de clorhexidina demostraron mayores beneficios en la higiene oral que los de fenol⁽²⁷⁸⁾.

Hexetidina y Fluór de Aminas

Se comparó la acción preventiva sobre la placa y la gingivitis de siete dentífricos comerciales, que contenían en su composición hexetidina o fluór de aminas, contra un gel de clorhexidina; los resultados ilustran la limitada actividad de las pastas dentales, sobre la actividad de la flora salival, en comparación con la clorhexidina⁽²⁷⁹⁾.

2.4.1.4. EFECTOS SECUNDARIOS DE LA CLORHEXIDINA:

En 1977 se hizo una revisión bibliográfica de los estudios llevados a cabo sobre la seguridad de la clorhexidina en animales durante más de dos décadas, encontrando que la clorhexidina es pobremente absorbida después de la administración oral, es bien tolerada si se administra por vía parenteral y su absorción percutánea es mínima no encontrándose efectos clínicos o histológicos de tumorigénesis u otros signos de toxicidad⁽¹⁷⁹⁾. En hamsters fue bien tolerada cuando se administró junto al agua que tomaban⁽¹⁸⁰⁾.

La clorhexidina es un antiséptico en general bien tolerado, no obstante, en la literatura internacional se encuentran casos de shock anafilácticos. En Japón se han registrado varios casos que desarrollaron urticaria, disnea y shock anafiláctico por aplicación tópica de clor-

hexidina^{(280),(281)}. En Londres se dio un caso de reacción anafiláctica al colocar clorhexidina intra-nasal⁽²⁸²⁾. En España se ha reportado un caso de urticaria aguda por contacto tópico con clorhexidina⁽²⁸³⁾.

La clorhexidina se viene utilizando en humanos oralmente desde 1959, principalmente para el control de la placa dental. La clorhexidina es un producto seguro con una toxicidad baja cuando se usa correctamente⁽¹⁶⁷⁾.

En 1975, dieciséis estudiantes participaron en un estudio que se llevó a cabo para evaluar si el enjuagarse diariamente con clorhexidina al 0.2%, modificaría el metabolismo oxidativo enzimático del epitelio gingival y palatino. La mitad del grupo utilizó la clorhexidina y la otra mitad placebo. Transcurridos los dos años que duró el estudio se procedió a tomar biopsias gingivales y palatinas. No se observaron diferencias entre ambos grupos⁽²⁸⁴⁾.

En 1976, Rindom Schiøtt, Løe H. y Briner WW⁽¹⁶⁶⁾, quisieron saber qué efectos se podían producir en varios parámetros médicos, en los seres humanos, al utilizar durante dos años un enjuague diario de 10 ml de gluconato de clorhexidina al 0.2%. Para ello, tomaron pacientes sanos, un grupo experimental de 61 estudiantes y 59 estudiantes para el grupo placebo. Mensualmente se les extrajo sangre, con el fin de evaluar la hemoglobina, eritrocitos, leucocitos, etc. y un análisis de orina; el primer año rellenaban una vez al mes un cuestionario con respecto a su salud general: oídos, garganta, etc., en el segundo año éste se hacía cada cuatro meses, y al final del estudio también se evaluó la función renal. No se encontraron diferencias entre los grupos en ninguno de los parámetros clínicos y bioquímicos estudiados⁽¹⁶⁶⁾. En este trabajo con seres humanos, se confirmaban los resultados disponibles que se tenían de veinte años de experimentos con animales.

Un estudio muy parecido al anterior, llevaron a cabo Løe y cols (1976)⁽¹⁶⁸⁾, pero en este

caso, aún cuando se realizaba análisis de sangre, no eran los parámetros médicos el objetivo, sino los efectos clínicos que podía producir la utilización durante dos años de clorhexidina al 0.2% una vez al día. Estos dos años de estudio demostraron que la utilización de clorhexidina una vez al día y con una técnica de cepillado convencional se logró reducir la placa y la gingivitis de forma evidente, siendo esto menos notorio cuando se utilizó este fármaco para cepillarse los dientes, respecto a cuando se usó como colutorio.

Se apreció también en el grupo experimental un incremento en el índice del cálculo supra-gingival^{(168),(188),(199),(285)}, no obstante, ese depósito no produce gingivitis. En el grupo de trabajo, aproximadamente el 50% no presentaba o presentaba leves manchas en las superficies dentales, aunque la intensidad de la tinción fue muy inferior a la observada en estudios previos; con dos enjuagues al día y sin higiene dental, la tinción lingual no ocurrió, debido quizá a que se les instruyó para que se cepillaran la lengua. La analítica de sangre, el examen renal y los parámetros generales de salud, no estaban comprometidos⁽¹⁶⁸⁾.

Flötra y cols. (1971)⁽¹⁷⁰⁾, encontraron después de usar clorhexidina al 2%, áreas dolorosas de descamación que desaparecieron al usarla al 1%, y que volvieron a desarrollarse al utilizarla nuevamente al 2%. Algunos participantes que se enjuagaban con clorhexidina al 1%, igualmente tenían áreas dolorosas, que también desaparecían al retirarla y volvían a hacer aparición al usar el colutorio nuevamente; no obstante, en la anamnesis esas personas refirieron que periódicamente sufrían aftas. Se mancharon dientes, lengua y restauraciones de silicato; sin embargo, 49 de los 50 participantes estarían deseosos de continuar en el estudio si realmente el producto fuese eficaz⁽¹⁷⁰⁾.

Otro efecto secundario de la clorhexidina es su sabor desagradable, que debería ser enmascarado, para hacerlo más aceptable⁽⁶¹⁾.

Después de utilizar clorhexidina al 0.2%, sobre el quinto día, se desarrolló una tinción amarillo-pardusca, en el dorso de la lengua, alrededor del día diez, se habían teñido dientes y lengua en todos los participantes, a excepción de uno⁽¹⁵⁶⁾. Las evidencias sugieren que el incremento de las tinciones ocurre por una interacción catión/anión de la clorhexidina con los componentes de ciertos alimentos, ejemplos de ellos son el té y el café⁽²⁸⁶⁻²⁸⁸⁾. La tinción dental es mayor en los fumadores que en los no fumadores⁽²¹⁵⁾. Los metales y el sulfuro son los responsables de las manchas extrínsecas ocasionadas al diente por la clorhexidina⁽²⁸⁹⁾. Un estudio reveló la presencia de hierro en las manchas producidas por la clorhexidina⁽²⁹⁰⁾. Se ha demostrado que los pacientes que toman hierro inmediatamente después de utilizar clorhexidina, desarrollaban manchas severas a las dos semanas⁽²⁸⁹⁾.

En cuanto a los desequilibrios en la microbiota bucal por incremento en el crecimiento de otros microorganismos, los sujetos tratados con clorhexidina experimentaron un aumento en los niveles de *S. sanguis*^{(119),(120)} y una pequeña disminución en las levaduras⁽¹²⁰⁾; con respecto al *S. mutans*, sí hay una reducción drástica de su número, no obstante, esto no afectaba de forma significativa al número total de streptococos y lactobacilos^{(120),(175)}. La clorhexidina suprime selectivamente el *S. mutans*, no teniendo ningún efecto significativo en el número de *Actinomyces viscosus* y *naeslundii*^{(118),(169)}. Se podría decir que la clorhexidina es efectiva como anticaries y mantiene la flora bacteriana bucal equilibrada⁽¹⁷²⁾. Con respecto al desarrollo de cepas microbianas resistentes a la clorhexidina por su uso prolongado, ya quedó evidenciado en 1974 que la clorhexidina no perdía su efectividad por su uso durante largos periodos de tiempo, con el estudio de Gjermo y Eriksen⁽¹⁷¹⁾, quienes evaluaron si al utilizar un dentífrico que contenía digluconato de clorhexidina al 1%, dos veces al día durante dos años, las bacterias se podían volver resistentes al fármaco. Se hicieron dos grupos, uno placebo y el otro de tratamiento y al cabo de dos años cepillándose con clorhexidina o con placebo, de acuerdo al grupo que le correspondiese, se les pidió a ambos grupos que suspendieran las medidas de higiene oral durante una semana y que se enjuagasen dos

veces al día con 10 ml de clorhexidina al 0.2%. Los resultados demostraron la efectividad de los enjuagues con clorhexidina en ambos grupos, quedando patente que no había aparecido resistencias al fármaco por la utilización prolongada del mismo⁽¹⁷¹⁾. Por lo tanto, se puede utilizar la clorhexidina a largo plazo con supervisión profesional⁽¹⁶⁵⁾.

Existe una extensa bibliografía sobre los estudios llevados a cabo sobre la seguridad de la clorhexidina en seres humanos y en animales. Nosotros sólo hemos expuesto una pequeña muestra que esperamos sea representativa. En los estudios anteriores se puede observar los niveles extremadamente bajos de toxicidad de la clorhexidina, tanto de forma local como sistémica, en el organismo humano^{(166),(168),(179),(284)}, así como en los animales⁽¹⁸⁰⁾. La ausencia de resistencias o modificaciones significativas en la flora oral, con su uso frecuente y prolongado^{(118-120),(171-178),(188),(291)}. Hasta hoy en día, el efecto secundario principal de la clorhexidina es el manchado extrínseco de los dientes, prótesis y lengua, las cuales se puede prevenir utilizando polivinilpirrolidona, agentes oxidantes (peróxido) o fluoruro estañoso⁽¹⁸⁷⁾. Con respecto al polivinilpirrolidona existe algo de controversia; un artículo dice que si se utiliza simultáneamente con la clorhexidina se observa una reducción en las tinciones bucales aunque perdiendo la clorhexidina algo de su actividad inhibitoria sobre la placa⁽²⁹²⁾. No obstante, otro trabajo desmiente ambas cosas⁽²⁹³⁾. Los enjuagues con agentes oxidantes (peroxiborato) logran una considerable reducción del teñido residual de los dientes ocasionados por el uso de la clorhexidina, aun cuando el efecto sobre la lengua suele ser menos predecible⁽²⁹⁴⁾. El uso conjunto de clorhexidina y de un agente oxidante (peroxiborato), es superior a la clorhexidina sola, para inhibir la placa y el desarrollo de la gingivitis, además de presentar un 28% menos de tinción⁽¹⁹⁵⁾. La utilización simultánea de clorhexidina y monosulfato de peróxido, reduce significativamente las manchas extrínsecas de los dientes sin interferir en la capacidad anti-placa de la clorhexidina^{(295),(296)}. Utilizando una solución de zinc simultáneamente con la clorhexidina, se puede disminuir la posibilidad de tinciones⁽²⁹⁷⁾; además el zinc incrementa la actividad de la clorhexidina^{(298),(299)}.

La clorhexidina al 0.12% + CPC 0.05% (Perio.Aid[®], nueva fórmula), en comparación con la clorhexidina al 0.12% + alcohol (Perio.Aid[®]), es igual de efectiva como agente anti-placa y anti-inflamatorio, no obstante, los efectos secundarios se reducen⁽¹⁶³⁾.

Otras formas de reducir las manchas extrínsecas producidas por la clorhexidina en los dientes y lengua serían:

- Una buena técnica de higiene oral que incluya el cepillado de la lengua; en el trabajo de Löe H. y Schiøtt C. R. de 1970⁽¹⁵⁶⁾, los pacientes no se cepillaban y encontraron tinciones amarillo-parduscas en dientes y lengua al enjuagarse con clorhexidina al 0.2%⁽¹⁵⁶⁾; los mismos autores en 1976⁽¹⁶⁸⁾ observaron muy pocas manchas en los dientes y la tinción de la lengua no apareció; en este estudio las medidas de higiene oral no se suprimieron y se les instruyó para que se cepillaran la lengua⁽¹⁶⁸⁾; no obstante, otro estudio dice que al cepillarse correctamente los dientes, los enjuagues de clorhexidina al 0.2% son más efectivos para inhibir el crecimiento de la placa, aunque no previene la tinción dental⁽³⁰⁰⁾.
- Enjuagarse con clorhexidina por la noche suele pigmentar menos los dientes que si se hace por la mañana⁽²⁸⁸⁾; los resultados de este estudio pueden deberse al origen alimenticio de las pigmentaciones dental⁽²⁸⁶⁻²⁸⁸⁾.
- Los pacientes que tomen hierro, deben hacerlo una hora antes o dos horas después de utilizar la clorhexidina⁽²⁸⁹⁾.
- Como ya hemos dicho, en los fumadores las tinciones dentales son mayores⁽²¹⁵⁾, y se debería intentar reducir este hábito.
- Los colutorios de clorhexidina formulados al 0.1% producen menos tinciones y a su vez se reduce ligeramente su efecto inhibitor de placa, en comparación a las formulaciones al 0.2%^{(301),(302)}.

Løe H. y Schiøtt C. R. en 1970⁽¹⁵⁶⁾, también observaron que cuando aplicaban la clorhexidina al 2% diariamente, pero de forma tópica, no había manchas en la lengua y en los dientes casi no se percibieron, a pesar de que los pacientes no se cepillaban⁽¹⁵⁶⁾. Hoy en día contamos con la presentación de la clorhexidina en barniz que minimiza los problemas de tinción y de mal sabor asociados con los enjuagues de clorhexidina⁽¹⁸⁴⁾, con una disponibilidad más larga de la sustancia activa y con la posibilidad de dirigirlo a áreas particularmente susceptibles.

2.4.1.5. DOSIS LETAL

La pobre adsorción de la clorhexidina es un factor positivo en su baja toxicidad⁽¹⁷⁹⁾. Estudios monitorizados de la clorhexidina, determinaron que la dosis letal administrada por vía oral en ratones, fue de 1800 mg/kg. La dosis letal, lógicamente, nunca ha sido determinada en humanos, pero extrapolando estos datos, se puede deducir que para el promedio de peso en adultos (70 kg), ésta podría ser de alrededor de 126000 mg (70 kg x 1800mg)⁽³⁰³⁾. Si comparamos con la del flúor, para un niño de 2 años de edad y de 10 kg de peso sería aproximadamente 320 mg⁽³⁰⁴⁾, se puede apreciar una gran diferencia entre ambos productos, con un nivel sumamente bajo en la toxicidad a favor de la clorhexidina.

HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

*“Jamás se descubrirá nada si nos consideramos
satisfechos con las cosas descubiertas.”*

SÉNECA (4 a. C.-65)

HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

PRIMERA HIPÓTESIS

En una boca con dientes deciduos cariados, si no se adoptan medidas preventivas, los primeros molares permanentes pueden desarrollar la enfermedad en sus caras oclusales, durante el primer año de su erupción.

SEGUNDA HIPÓTESIS

La caries en los primeros molares permanentes, recién erupcionados, no se desarrollará, o será menor, si se aplican en ellos barnices de clorhexidina y timol (Cervitec®) cada tres meses, aún cuando los niños presentaran caries activas en sus dientes deciduos.

OBJETIVO GENERAL

Conocer la utilidad del barniz de clorhexidina-timol (Cervitec®) para la prevención de la caries en los primeros molares permanentes, recién erupcionados, cuando se aplica a niños con dientes deciduos cariados.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Valorar la incidencia de caries en los primeros molares permanentes tratados con barnices de clorhexidina-timol, de niños con dientes deciduos cariados, y compararla con la que se observa en niños con igual riesgo tratados con placebo.
2. Evaluar si la efectividad de dicho barniz, aplicado a los citados molares, presenta diferencias, estadísticamente significativas, cuando se utiliza en bocas con gran cantidad y/o calidad de caries y en bocas donde la magnitud de la enfermedad sea menor.
3. Observar si existen, a nivel local y/o general efectos secundarios, más allá de lo esperable, tras la aplicación del barniz, así como la tolerancia subjetiva que muestra la población en estudio.
4. Contribuir con nuestro estudio, si se confirman nuestras hipótesis, a la prevención de la caries, proponiendo su inclusión en los programas de salud oral.

MATERIAL

Y

MÉTODO

*“ No es hacer lo que nos gusta, sino que nos guste lo que hacemos,
lo que convierte la vida en una bendición.”*

GOETHE (1749-1832)

MATERIAL Y MÉTODO

Este trabajo experimental fue aprobado el 18 de julio del 2000 por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínico San Carlos de Madrid, registrado con el número 116/99 (se anexa copia).

POBLACIÓN DE ESTUDIO

Para la realización del presente estudio clínico-experimental se eligió un centro escolar en Madrid, con alto número de escolares que además fuera multicultural, multiétnico y que integrase a un alumnado de diferentes estratos socioeconómicos. Una vez que la Dirección del Centro aceptó la posible realización del estudio, se revisaron todos los niños, con edades comprendidas entre 5 y 8 años, en los periodos escolares 2000/2001 y 2001/2002 (al rededor de 1.000 niños); que acudían a la revisión médica, que es llevada a cabo anualmente, por la Dra. Herrero Ansola, Directora del Servicio de Salud Escolar del Centro, y en la que como odontólogo participamos.

Todos los padres o representantes se encontraban informados de los puntos relevantes del estudio. Se les convocó a una charla para que pudieran exponer todas sus dudas y se les aportó un escrito informativo, que tenía un número de teléfono abierto de forma permanente para aclarar cualquier interrogante que les surgiera durante el estudio (se anexa formato).

Una vez así apoyada nuestra comunicación y a fin de que quedara constancia escrita de su conformidad, los padres o representantes firmaron el correspondiente Consentimiento Informado (el cual también se anexa) todo acorde con los protocolos de ética estándar.

1.1. CRITERIOS DE SELECCIÓN

Los participantes debían reunir los siguientes requisitos:

1. Presentar los cuatro primeros molares permanentes con las caras oclusales completamente descubiertas; no obstante, si estaban parcialmente cubiertos eran admitidos, siempre y cuando al comenzar el estudio ya estuviesen completamente erupcionados.
2. No presentar en esos primeros molares, caries, ni siquiera incipientes, ni fisuras pigmentadas, ni restauraciones o selladores.
3. Caries cavitadas clínicamente evidentes en los dientes temporales que podían ser, de primera aparición o de recidiva y/o presencia de restauraciones, no importando si estaban en buenas condiciones o no.

De los alrededor de 1000 niños explorados, sólo 83 reunieron las condiciones necesarias, y de éstos, 57 aceptaron participar; entregando por escrito su consentimiento (documentos en nuestro poder). A estos niños no se les realizó por nuestra parte ningún tratamiento odontológico, apartando la profilaxis dental seguida de la colocación de los barnices de placebo o tratamiento, durante el año que duro el estudio; una vez finalizado éste, se les restauraría o sellaría, de acuerdo a lo que precisase sus primeros molares permanentes.

1.2. MODIFICACIÓN DE LOS CRITERIOS DE SELECCIÓN

Debido a que desde la primera exploración general que realizamos a los niños, hasta el momento en el que procedimos a cumplimentar el odontograma de los casos incluíbles, había transcurrido ocho meses, se hizo necesario modificar el primer criterio de selección.

Nosotros creíamos que todos los niños seleccionados presentaban sus primeros molares permanentes ilesos cuando fueron revisados la primera vez; no obstante, en esta primera evaluación se hizo una revisión clínica sin aislamiento y sin limpieza de las superficies dentales, sólo se utilizó un eyector y la jeringa de agua-aire, y en estas condiciones es posible que algunas caries incipientes u obturaciones blancas hayan podido pasar desapercibidas en este primer contacto, el diagnóstico clínico de caries tiene una baja sensibilidad^{(305),(306)}. También es factible que los 8 meses que tardamos en comenzar con las aplicaciones del barniz, haya sido tiempo suficiente como para que se le desarrollasen caries incipientes, no olvidemos que son niños de alto riesgo de caries. Por otro lado, durante estos meses algunos niños fueron al dentista y les restauraron o sellaron sus dientes, de acuerdo a los criterios del colega que les atendió. Por todo lo antes expuesto, fue preciso hacer algunas adaptaciones para poder evaluar el desarrollo de las caries con las nuevas condiciones que se daban; optamos por dividir las caras oclusales de los primeros molares permanentes, en dos, una zona mesial y otra zona distal; de esta forma incrementábamos los lugares para evaluar el desarrollo o no de las nuevas caries que se formasen una vez iniciado el trabajo clínico, los niños que presentasen más de cuatro de estos ocho sitios cariados, sellados o restaurados, fueron retirados del estudio, y se aceptaron 11 niños que presentaban en el momento de la colocación del primer barniz de 1 a 4 de sus ocho cavidades posibles con caries, selladores y/o restauraciones; el resto de los niños presentaban sus ocho cavidades libres de todo (ver TABLA 1). En estas condiciones el índice **CAO-S** no mediría las caries u obturaciones de todas las superficies dentales, sino de las caras oclusales de los primeros molares perma-

nentes, que en este caso serían dos por diente, es decir, un **CAO-S** de 8 sería el máximo posible, para estos cuatro primeros molares permanentes.

1.3. PACIENTES PERDIDOS

De los 57 que habían accedido a participar, sólo llegaron hasta el final del estudio 42, por las siguientes razones:

- No poder cumplir con el requisito número uno (los cuatro primeros molares completamente erupcionados).
- Por presentar caries, selladores o restauraciones en más de cuatro superficies de las ocho en las que se estratificaron los primeros molares permanentes.
- El primer niño al que se le colocó el barniz (1 A-160), decidió retirarse, pese a cumplir con los tres puntos necesarios para participar en el estudio, aduciendo que le picaba y era incómodo.
- Por cambio de colegio.

MATERIAL

La Dra. Herrero Ansola nos proporcionó (en el Servicio Médico del Colegio) para realizar nuestro trabajo: una habitación completamente acristalada con luz natural y fluorescentes en el techo, así como una camilla articulada de la enfermería, una silla con ruedas para el operador y una mesa también con ruedas, que hacía las funciones de porta-bandejas. Por nuestra parte llevamos una unidad odontológica portátil completa (ultrasonido, pieza de mano con contra-ángulo y jeringa de tres funciones), una lámpara para la unidad, un equipo

de alta succión, así como todo el instrumental y consumibles necesarios para el desarrollo del estudio, que procedemos a nombrarlo:

- Espejos bucales planos
- Exploradores
- Pinzas algodoneras
- Rollos de algodón
- Gasas
- Abre bocas (marca Markel)
- Retractores de labios (marca Ceosa)
- Eyectores
- Cepillos para contra ángulo
- Piedra pómez en polvo
- Bolsitas enumeradas que portaban cada una, dos botellitas todas idénticas que contenían el placebo o el tratamiento
- Pinceles
- Bandejas plásticas desechables
- Baberos de plástico y porta servilletas
- Servilletas para los baberos
- Servilletas en general
- Guantes
- Historias clínicas
- Lápiz bicolor
- Lápices y bolígrafos
- Bata
- Máscara de protección total

Todo el material que no era fungible se traía esterilizado, ya que en el centro escolar (Servicio Médico) nunca se esterilizó o desinfectó el instrumental.

Para el trabajo experimental el laboratorio Ivoclar-Vivadent España nos facilitó, el BARNIZ-CERVITEC® y asimismo el BARNIZ-PLACEBO, se dispuso de unos recipientes, de color ámbar, que contenían 1.5 ml de un líquido transparente, que venían en parejas metidas en unas bolsas codificadas con una letra y un número de tres cifras, las bolsas tenían auto cierre, para evitar que se salieran y se pudiesen confundir, situación factible, dado que todos los recipientes eran físicamente idénticas; se utilizaron dos en lugar de uno, pensando que podía no ser suficiente la dosis de uno sólo, para todo el tratamiento, circunstancia muy acertada, dado que en un porcentaje muy alto se utilizaron completamente las dos. El 50% de las bolsas contenía placebo y el 50% restante tratamiento. Estas bolsas fueron preparadas por una persona ajena al operador, junto a las bolsas, entregaron asimismo dos sobres lacrados, con las claves para la interpretación de los resultados, todo ello de acuerdo con los protocolos del ensayo clínico.

El placebo es un barniz con las mismas características organolépticas para los cinco sentidos, que el barniz del tratamiento. El placebo contiene: un polímero, que es polivinilbutirol y un solvente, el etanol-etilacetato. El tratamiento es un barniz, Cervitec® (Ivoclar-Vivadent, Schaan, Liechtenstein) que contiene dos antimicrobianos: clorhexidina 1% y timol 1%, un polímero: polivinilbutirol 10% y un solvente: etanol-etilacetato 88%.

MÉTODO

Con el material preparado para la sistemática codificada de Ensayo Experimental que inmediatamente antes hemos descrito, se ha llevado a cabo un estudio Clínico-Experimental, doble ciego aleatorio estratificado.

Los trabajos experimentales son los que aplican en su totalidad el método científico-experimental propio de las ciencias fácticas a las poblaciones; por esta razón, la evidencia de causalidad que proporciona es muy firme⁽³⁰⁷⁾.

Con el objeto de lograr un criterio único de estimación de caries, el examen buco-dental así como la aplicación de los barnices, fue realizado exclusivamente por el autor, como ya se ha dicho a doble ciego, para evitar el efecto Rosenthal tanto de los sujetos como del operador⁽³⁰⁸⁾.

A fin de valorar el efecto de la técnica preventiva en las mayores condiciones de riesgo posible de caries para el primer molar permanente, se ha realizado el estudio en aquellos niños multicariados en sus dientes temporales y, por ende, con alto riesgo de caries para su primer molar permanente, puesto que aumentan las probabilidades de observar los efectos, protectores ó no, del producto experimental y por esta razón se pueden utilizar tamaños más pequeños de muestra⁽³⁰⁹⁾; dado que los niños que presentan caries en sus dientes temporales, tienen tres veces más posibilidades de desarrollar caries en sus dientes permanentes, que los que no las presentan⁽¹³⁴⁾.

La adscripción de los niños para la aplicación del material en -experimentación o del placebo- se realizó con muestreo al azar como exige el estudio de doble ciego. Dentro de ser todos los niños de alto riesgo, se los estratificó en dos grupos, “Alto Riesgo” y “Riesgo Normal” para evitar un error de asignación, ya que en el conjunto, un pequeño grupo presentó una cantidad o calidad de caries algo superior al presentado por el otro, y así se controló que se pudiese caer de forma muy marcada en placebo o Cervitec® comprometiendo la validez interna del estudio. En orden al azar, se dio a los niños la posibilidad de elegir la bolsa de material en experimentación (Cervitec® o placebo), de la bandeja correspondiente al grupo que ellos perteneciesen (Alto Riesgo, Riesgo Nor-

mal); en cada bandeja se ofrecían un 50% de bolsas con placebo y otro 50% con Cervitec®.

Una vez que el niño elegía una bolsa, ésta se engrapaba a una historia clínica en la cual se anotaba:

- El número del niño (que correspondía al orden en que iban llegando).
- El número de la bolsa, que era el que le habían asignado para que luego al finalizar el estudio supiésemos cual barniz era, el placebo o el Cervitec® .
- La fecha correspondiente a ese día, para registrar la primera colocación del barniz, así como el primer odontograma e inmediatamente se llevaba a cabo el examen clínico la profilaxis dental y la colocación de los barnices.

EXAMEN CLÍNICO Y COLOCACIÓN DE LOS BARNICES

1. Profilaxis dental, con ultrasonido si el paciente presentaba sarro, y pulido de las superficies con piedra pómez y cepillo montado en pieza de mano con contra-ángulo. A medida que se iban limpiando las superficies se procedía a su aislamiento.
2. Se aislaba con un retractor de labios, un abre-bocas, eyector y rollos de algodón; con las superficies dentales limpias, secas y el campo bien aislado se realizó la inspección visual y táctil sin presión, con espejos dentales planos y exploradores de punta fina, y el rellenado del odontograma; las anotaciones de los datos dentales se registraron según los criterios de caries de la OMS⁽³¹⁰⁾. Después de 12 meses, los dientes se reexaminaron, y en esta oportunidad cualquier indicio de caries, incluso las incipientes, fueron registradas.

3. Sin retirar el aislamiento se colocaba el abre-bocas del lado izquierdo y se aplicaba el barniz en el lado derecho, que estaba perfectamente aislado con el retractor de labios y los rollos de algodón, el barniz era aplicado en las superficies dentales, sobre restauraciones con y sin recidiva de caries, inclusive en superficies amplias de cavidades abiertas, dicho de otro modo, en todas las superficies dentales en las que tuviésemos acceso de ese lado; primero se hacía una aplicación muy delgada del barniz, para que se fuese secando a medida que lo íbamos colocando en otros dientes, y este procedimiento se repetía tres veces, se esperaba un tiempo mientras el barniz se fraguaba, lo ayudábamos con el aire de la jeringa, pero con una presión muy suave, porque de lo contrario levantábamos todo el barniz y había que repetirlo. Una vez fraguado cambiábamos el abre-boca de lugar y repetíamos el procedimiento en el lado izquierdo.

4. Se les daban unas instrucciones verbales a los niños, sobre no enjuagarse ni comer o ingerir algún líquido hasta que llegasen a casa y de no cepillarse los dientes ese día. Estas mismas instrucciones se les daban por escrito para que se las entregasen a sus padres o representantes.

El apartado de no cepillarse, era realmente fácil que lo cumplieran. Un poco más difícil era que no se enjuagasen o comieran algo antes de llegar a casa, entre 4 y 5 horas después de aplicárselo. Nosotros sólo precisábamos que esperasen tres horas, pero dadas las edades de los niños, era más comprensible para ellos, de que el plazo era hasta llegar a casa. El barniz se le colocaba inmediatamente que salían del comedor del colegio, y una vez colocado ya les correspondía ir a clases, con esto garantizábamos un mínimo de dos horas y media, durante las cuales no podían ingerir alimentos ya que estaban en clase, y además de esta forma no interferíamos con el horario de clases, para beneplácito de padres y educadores.

Los apartados 1, 3 y 4, se repitieron a los tres, seis y nueve meses. Al año se repitieron los puntos 1 y 2.

Una vez finalizado el estudio se sellaron todos los primeros molares permanentes que se encontraban ilesos y los que presentaban caries se eliminaron éstas y restauraron.

MODIFICACIONES EN EL PROTOCOLO

Durante el estudio se pidió permiso al Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínico San Carlos de Madrid, para modificar dos procedimientos que se habían establecido en el protocolo aprobado por ellos y que no eran posibles de llevar a cabo; las modificaciones fueron: en un principio deseábamos tener un sub-grupo más, al que se les colocaría el placebo o Cervitec® cada seis meses (además del grupo trimestral) y de esta forma evaluar si era interesante el efecto anticaries del producto, tomando en cuenta la comodidad de una colocación bianual; esto no fue factible dado el grupo tan reducido de la muestra. Por otro lado, nosotros queríamos hacer el control bacteriológico de los *estreptococos mutans*, circunstancia que no se pudo dar.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los datos se realizó en el Departamento de Apoyo a la Investigación de los Servicios Informáticos de la UCM, Dr. Santiago Cano Alsúa, utilizando el programa SPSS 11.5 para Windows. Los métodos estadísticos utilizados fueron los siguientes (SPSS, 2002)⁽³¹¹⁾:

- Estadística descriptiva de las variables continuas (procedimiento DESCRIPTIVE) para la descripción de las muestras: media, desviación estándar, máximo, mínimo, mediana, desviación estándar de la media, etc⁽³¹²⁾.
- Test de la t de Student pareada (procedimiento T-TEST) para la comparación muestras relacionadas comparando las medias de un atributo en dos momentos de tiempo (antes y después)⁽³¹²⁾.
- Análisis de la varianza, ANOVA (procedimiento GLM) para el análisis de varianza para variables dependientes múltiples con un factor (grupo) y varios factores (riesgo y grupo)⁽³¹²⁾.
- Análisis de medidas repetidas (procedimiento GLM) para el análisis del comportamiento de grupos de un factor inter-sujetos (grupo) o varios factores (grupo y riesgo) en las medidas de dientes y superficie en un factor intra-sujeto (tiempo, antes y después)⁽³¹²⁾.

RESULTADOS

*“ El mejor modo de resolver una dificultad
es no tratar de soslayarla.”*

CLARASÓ NOEL (1905-1985)

RESULTADOS

De los 57 niños que habían accedido a participar, llegaron hasta el final del estudio 42, de los cuales 21 eran placebo y 21 Cervitec®. Se designó el nivel de significancia del 95% como estadísticamente significativo.

En otros estudios no se registraron molestias en las mucosas, provocadas por los barnices de Cervitec®^{(99),(122),(184),(253)}; nosotros sí tuvimos problemas, al punto de llegar a retirarse un niño. Con respecto a las tinciones no se apreciaron, estando esto en concordancia con muchos trabajos^{(99),(122),(184),(253)}.

En las historias clínicas se registraron todas las incidencias que acaecieron; nosotros *a priori* no hicimos una tabla de estos posibles comportamientos, dado que siempre pensamos que el tratamiento no presentaría dificultades por la facilidad del mismo y las referencias de otros estudios, sobre la ausencia de disconformidad en los participantes.

COMPORTAMIENTOS REGISTRADOS:

- Mucho miedo: (8 A-116) (21 A-151) (24 A-120) (37 A-197) (39 A-193)
- No se portaron bien: (1 A-160) (17 A-165) (21 A-151) (28 A-141) (35 A-172)
- Náuseas y/o tos: (1 A-160) (10 A-100) (19 A-148) (24 A-120) (35 A-172) (47 A-118)

- Se quejaron mucho del sabor del barniz: (1 A-160) (19 A-148) (24 A-120) (32 A-145)
- No quisieron acudir:
 - Fue necesario ir a buscarlos en alguna de las citas (6 A-168) (8 A-116) (39 A-193)
 - Fue necesario ir a buscarlos en todas las citas (46 A-181)

En general, los niños expresaban abiertamente que no les gustaba el barniz, esto podía deberse a que no se encontraban en un centro dental donde estarían solos y posiblemente más tímidos para expresarse, en cambio ellos se encontraban en su entorno y rodeados de sus compañeritos, circunstancia que facilita, para que una simple queja de uno de ellos, fuese potenciada por el grupo, son niños de muy corta edad; también conviene recordar que es una población con patologías dentales severas, que previamente han podido sufrir odontalgias y/o experiencias negativas con el odonto-estomatólogo, y esto puede crearles ansiedad ante cualquier tratamiento dental, volviéndolos más sensibles. Por ejemplo, si revisamos el odontograma de los niños del apartado Mucho miedo encontramos, que todos presentaban graves problemas dentales, tales como:

El (8 A-116):

- Caries en todos sus dientes temporales presentes en boca, a excepción de los cuatro caninos y los laterales inferiores.
- Restos radiculares del 74.
- Le habían extraído el 84 y 85.

El (21 A-151):

- Presentaba varias caries y le habían extraído en 84.

El (24 A-120)

- Presentaba caries en todos sus temporales, a excepción de los caninos inferiores y el

superior izquierdo, el canino derecho sí tenía caries.

— Resto radicular del 65.

El (37 A-197)

— Caries en varios molares temporales.

— Caries en la zona ocluso distal del 16 y ocluso mesial del 46.

— Restauración en ocluso mesial de 26 y 36.

— Una fístula en el 64.

El (39 A-193)

— Caries en todos sus temporales presentes a excepción de caninos y laterales inferiores.

— Caries en ocluso distal de 16 y 26.

TABLAS Y GRÁFICOS:

TABLA 1

CÓDIGO	RIESGO	PLA/CER	cao d	cao s	CAO D	CAO S
1 A-160	N	CER	2 /	4 /	0 /	0 /
2 A-124	A	CER	4 / 4	5 / 5	0 / 0	0 / 0
3 A- 189	A	PLA	10 / 13	20 / 29	0 / 4	0 / 8
4 A-169	N	PLA	5 / 5	8 / 8	0 / 0	0 / 0
5 A-199	A	PLA	6 / 6	10 / 10	0 / 4	0 / 8
6 A-168	N	CER	7 / 7	9 / 10	0 / 1	0 / 2
7 A-143	N	PLA	6 / 6	7 / 7	0 / 0	0 / 0
8 A-116	A	CER	12 / 12	21 / 21	0 / 0	0 / 0
9 A-166	N	CER	5 / 5	5 / 5	0 / 0	0 / 0
10 A-100	A	CER	10 / 11	17 / 20	0 / 0	0 / 0
11 A-162	N	CER	5 /	5 /	0 /	0 /
12 A-185	A	PLA	8 / 8	15 / 16	2 / 2	2 / 4
13 A-171	N	PLA	6 / 6	9 / 9	0 / 4	0 / 6
14 A-167	N	PLA	7 / 7	12 / 12	0 / 4	0 / 6
15 A-183	A	PLA	7 / 7	16 / 16	0 / 4	0 / 5
16 A-192	N	CER	6 / 6	6 / 6	0 / 1	0 / 2
17 A-165	N	PLA	4 / 4	6 / 6	3 / 4	4 / 8
18 A-164	A	CER	6 / 6	12 / 12	0 / 2	0 / 2
19 A-148	N	CER	6 / 6	6 / 6	2 / 3	2 / 3
20 A-147	N	PLA	5 / 5	6 / 8	0 / 4	0 / 8
21 A-151	N	PLA	5 / 5	5 / 12	0 / 4	0 / 8
22 A-112	A	CER	8 / 8	10 / 10	2 / 2	2 / 2
23 A-						
24 A-120	A	CER	9 / 9	21 / 21	4 / 4	4 / 4
25 A-158	N	CER	6 / 6	8 / 8	0 / 0	0 / 0
26 A-142	N	CER	8 / 8	37 / 37	0 / 0	0 / 0
27 A-187	A	PLA				
28 A-141	N	PLA	8 / 8	10 / 10	1 / 3	2 / 6
29 A-140	N	CER	6 / 6	7 / 7	0 / 0	0 / 0
30 A-139	N	PLA	4 / 4	5 / 5	2 / 4	3 / 8
31 A-156	N	CER	7 / 7	10 / 10	0 / 0	0 / 0
32 A-145	N	PLA	1 / 3	1 / 3	0 / 0	0 / 0
33 A-195	A	PLA				
34 A-146	N	CER	4 / 4	7 / 7	0 / 0	0 / 0
35 A-172	N	CER	5 / 5	12 / 12	0 / 0	0 / 0
36 A-150	N	CER	6 /	13 /	0 /	0 /
37 A-197	N	PLA	3 / 3	5 / 5	4 / 4	4 / 7
38 A-196	N	CER	3 / 3	7 / 7	0 / 0	0 / 0
39 A-193	A	PLA	11 / 11	14 / 14	2 / 4	2 / 8
40 A-175	N	PLA	2 / 2	4 / 4	0 / 0	0 / 0
41 A-149	N	CER	8 /	11 /	0 /	0 /
42 A-191	A	PLA	8 / 8	17 / 18	3 / 4	4 / 7
43 A-	N					
44 A-108	N	CER	7 / 8	9 / 10	0 / 0	0 / 0
45 A-111	N	PLA	8 / 8	8 / 8	0 / 0	0 / 0
46 A-181	N	PLA	1 / 1	2 / 2	0 / 1	0 / 2
47 A-118	N	CER	8 / 8	3 / 13	1 / 1	2 / 2
48 A-	N					
49 A-123	N	PLA	1 / 1	1 / 1	0 / 1	0 / 0
50 A-198	A	CER	8 / 8	28 / 28	0 / 0	0 / 0
51 A-110	A	CER	5 / 5	11 / 11	0 / 1	0 / 2

2.1.1. EXPLICACIÓN DEL CONTENIDO DE LA TABLA 1:

CÓDIGO: el primer número denota el orden en que iban llegando los participantes, la letra A- y un número, son las numeraciones que presentaban las bolsas que contenían las botellitas con los placebos o Cervitec®.

RIESGO: la **A** significa **Riesgo Alto**, la **N** **Riesgo Normal** (como ya se ha mencionado antes, todos los niños eran de alto riesgo, esta denominación es sólo comparativa).

PLA/CER: Una vez finalizado el estudio y recogidos todos los datos se procedió a abrir el sobre con los resultados, ahí se explicaba que todas las bolsas con números impares eran placebo y las de numeración par eran Cervitec®. **PLA** = placebo y **CER** = Cervitec®.

cao-d: cariados, **a**usentes y **o**bturados **d**ientes temporales.

cao-s: cariados, **a**usentes y **o**bturados superficies dentales en dientes temporales.

CAO-D: Cariados, **A**usentes y **O**bturados **D**ientes permanentes.

CAO-S: Cariados, **A**usentes y **O**bturados **S**uperficies dentales en dientes permanentes.

Debajo de las siglas **CAO** y **cao** aparecen dos números separados por una barra diagonal, el primer valor corresponde a la medida inicial y el segundo a la medida final. Cuando sólo aparece el valor inicial, como ocurre con el primer participante, significa que el paciente no concluyó el estudio; cuando no hay datos puede ser que pertenezca a los niños que se excluyeron por no tener todos los primeros molares completamente erupcionados o porque desarrollaron más de cuatro superficies cariadas en esos mismos molares, antes de comenzar el estudio.

(1 A-160) (N) (CER) (2 /) (4 /) (0 /) (0 /)

Donde **1** significa que era el primer niño con el que comenzaba el estudio; **A-160** la numeración de la bolsa que él había escogido aleatoriamente del contenedor de riesgo Normal (**N**); al ser **160** un número par el niño recibió **Cervitec®** (**CER**); **2 /** significa que sólo tenemos el valor inicial y que éste era de 2 dientes temporales cariados, **4 /** cuatro superficies cariadas en sus temporales, y **0 / 0 /** ningún primer molar permanente cariado (éste es el niño que él decidió retirarse por el sabor del barniz).

En todo trabajo experimental lo que se persigue es demostrar de forma válida que los cambios entre los grupos hallados cuando se concluye éste, tuvieron como causa las diferentes intervenciones. Para ello, es imprescindible que los grupos sean al inicio del estudio equiparables, circunstancia que se daba en este trabajo, como se puede apreciar en la TABLA 2, en la que se demuestra que los grupos placebo y Cervitec®, no presentan diferencias entre sí al inicio del trabajo, con un 95% de confianza, ni en los dientes temporales (cao-d, cao-s), ni en los permanentes (CAO-D, CAO-S); lo cual garantiza la validez interna del estudio, y nos lleva a concluir de forma válida que las diferencias que podamos hallar en los resultados de los grupos tendrán como causa las diferentes intervenciones realizadas.

En tan sólo un año se desarrollaron nuevas lesiones de caries, como lo demuestra la TABLA 3, en la que se aprecian diferencias estadísticamente significativa con un 95% de confianza, entre el antes y el después, en los molares permanentes, y en los temporales; en este último grupo en menor grado. Cuando buscamos si en este desarrollo de nuevas caries existe alguna diferencia entre los tratados con placebo y con Cervitec®, observamos que el grupo placebo presenta una cantidad significativamente mayor, de caries tanto en la medida de Dientes (CAO-D) ($P < 0.000$) como en las de Superficie (CAO-S) ($P < 0.000$) con un 95% de confianza. Existe una

tendencia equivalente a lo anterior, en los dientes temporales en la medida de superficie (caos); todo esto lo podemos apreciar en la TABLA 4 y en los GRÁFICOS 2, 3 y 4.

Como ya se ha mencionado en el apartado Material y Método, se estratificó el grupo en Alto Riesgo y Riesgo Normal, porque aún cuando todos los niños eran de alto riesgo, un pequeño grupo presentaba una cantidad o calidad de caries algo mayor que el resto; en base a esto, hemos tratado de buscar alguna diferencia entre estos dos grupos, y no encontramos diferencias significativas, ni en los temporales ni en los permanentes, en ninguna de sus medidas, con un 95% de confianza; lo cual se puede evidenciar en las TABLAS 5 y 6 y en los GRÁFICOS 5,6,7,8,9,10,11 y 12. En la TABLA 7, se observa, que en los dientes permanentes del grupo placebo existen diferencias significativas, en el desarrollo de caries, en el antes y el después, sin importar que perteneciesen a los grupos de Alto Riesgo o de Riesgo Normal, con un 95% de confianza. Como se puede ver, no pudimos encontrar una relación significativa, entre el riesgo y el mayor o menor desarrollo de las caries, al final del estudio, esto puede deberse a que ambos grupos fuesen muy similares.

2.2 TABLA 2

TABLA 2 ANOVA de un factor independiente grupo placebo y Cervitec® ; en dientes temporales y permanentes, en el momento inicial del estudio.

DIENTES inicio del estudio	GRUPO	N	MEDIA ± DE	F	P
cao-d	PLACEBO	21	6,367 ± 0,517	0,851	0,361
	CERVITEC	21	6,875 ± 0,481		
cao-s	PLACEBO	21	10,633 ± 1,476	1,693	0,200
	CERVITEC	21	13,043 ± 1,373		
CAO-D	PLACEBO	21	0,917 ± 0,282	1,250	0,269
	CERVITEC	21	0,490 ± 0,263		
CAO-S	PLACEBO	21	1,100 ± 0,326	1,768	0,190
	CERVITEC	21	0,529 ± 0,303		

La TABLA 2 demuestran que los grupos placebo y Cervitec®, no presentan diferencias entre sí al inicio del estudio, con un 95% de confianza, ni en los dientes temporales (cao-d, cao-s), ni en los permanentes (CAO-D, CAO-S).

2.3 TABLA 3

TABLA 3 ANOVA de un factor pareado, factor tiempo: antes, después; en dientes temporales y permanentes.

DIENTES	N	ANTES		DESPUÉS		F	P
		N	MEDIA ± DE	N	MEDIA ± DE		
cao-d	42	42	6,621 ± 0,353	42	6,830 ± 0,369	4,674	0,037
cao-s	42	42	11,838 ± 1,008	42	12,612 ± 1,069	6,895	0,012
CAO-D	42	42	0,704 ± 0,193	42	1,863 ± 0,236	30,593	0,000
CAO-S	42	42	0,814 ± 0,223	42	3,136 ± 0,406	43,417	0,000

La TABLA 3 demuestra que en un año se pueden desarrollar nuevas lesiones de caries, dado que existen diferencias estadísticamente significativa con un 95% de confianza, entre el antes y el después, en los molares permanentes, y en los temporales; en este último grupo en menor grado.

2.4 TABLA 4

TABLA 4 ANOVA de dos factores: factor tiempo pareado antes-después y factor tratamiento independiente entre los grupos placebo y Cervitec®, en dientes temporales y permanente.

DIENTES	GRUPO	TIEMPO	N	MEDIA ± DE	F	P
cao-d	PLACEBO	ANTES	21	6,367 ± 0,517	1,247	0,271 NS
		DESPUÉS	21	6,683 ± 0,541		
	CERVITEC	ANTES	21	6,875 ± 0,481		
		DESPUÉS	21	6,976 ± 0,503		
cao-s	PLACEBO	ANTES	21	10,633 ± 1,476	2,988	0,092 NS
		DESPUÉS	21	11,917 ± 1,566		
	CERVITEC	ANTES	21	13,043 ± 1,373		
		DESPUÉS	21	13,308 ± 1,457		
CAO-D	PLACEBO	ANTES	21	0,917 ± 0,282	16,700	0,000
		DESPUÉS	21	2,933 ± 0,346		
	CERVITEC	ANTES	21	0,490 ± 0,263		
		DESPUÉS	21	0,793 ± 0,322		
CAO-S	PLACEBO	ANTES	21	1,100 ± 0,326	28,447	0,000
		DESPUÉS	21	5,300 ± 0,595		
	CERVITEC	ANTES	21	0,529 ± 0,303		
		DESPUÉS	21	0,971 ± 0,553		

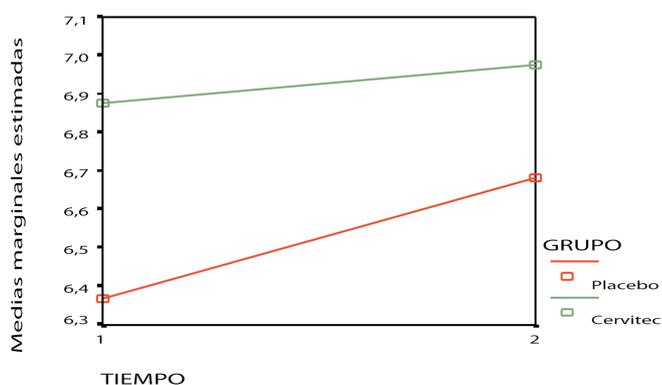
En la TABLA 4 se observa una diferencia estadísticamente significativa con un 95% de confianza, en el menor desarrollo de la enfermedad entre los dientes permanentes tratados con Cervitec®, con respecto a los tratados con placebo. Tanto en las medidas de diente (CAO-D) como de superficie (CAO-S), en dientes permanentes. Existe una tendencia equivalente a lo anterior, en los dientes temporales en la medida de superficie (cao-s) .

Esto se puede observar en los gráficos siguientes:

2.5 GRÁFICOS 1 Y 2

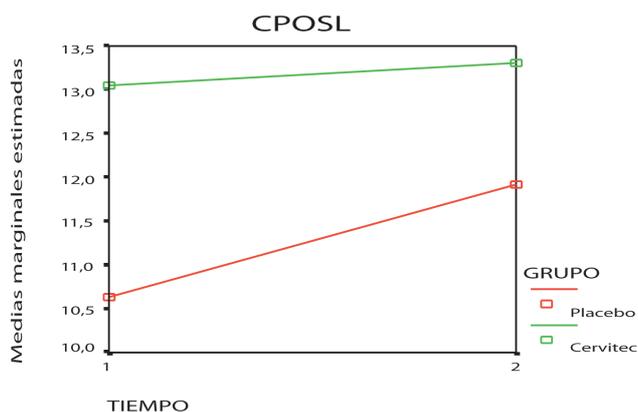
En el GRÁFICO 1 **cao-d** en los dientes temporales (en la medida diente) no se aprecian diferencias estadísticamente significativas en el desarrollo de las caries entre los grupos placebo y cervites

GRÁFICO 1 **cao-d**



En el GRÁFICO 2 **cao-s** en los dientes temporales (medida superficie) se puede apreciar una tendencia de menor desarrollo de las caries en el grupo de Cervitec®; no estadísticamente significativa.

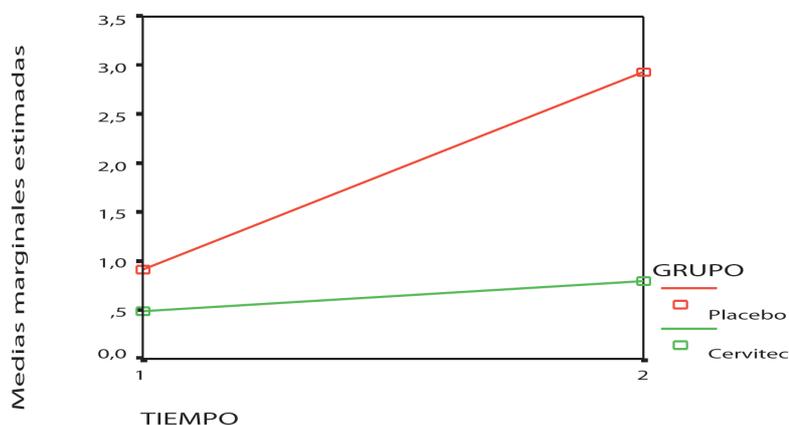
GRÁFICO 2 **cao-s**



2.6 GRÁFICOS 3 Y 4

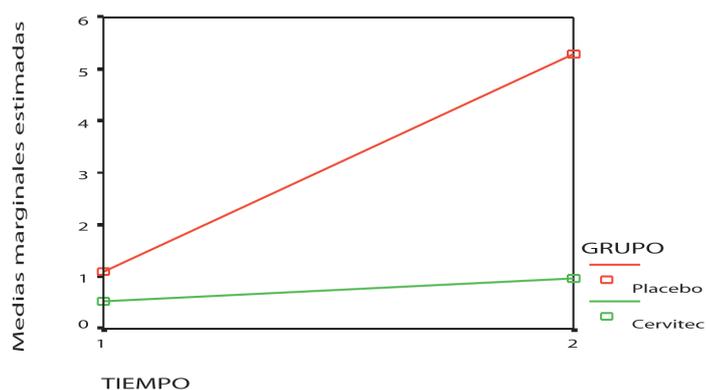
El GRÁFICO 3 CAO-D en los dientes permanentes (medida diente) presenta una diferencia estadísticamente significativa, con un 95% de confianza, en el menor desarrollo de las caries en el grupo tratado con Cervitec®.

GRÁFICO 3 CAO-D



El GRÁFICO 4 CAO-S en los dientes permanentes (medida superficie) presenta una diferencia estadísticamente significativa, con un 95% de confianza, en el menor desarrollo de las caries en el grupo tratado con Cervitec®.

GRÁFICO 4 CAO-S



2.7 TABLA 5

TABLA 5 ANOVA de dos factores: factor tiempo pareado entre: grupo antes y después, y el factor riesgo independiente entre: grupo alto riesgo y grupo de riesgo normal, para cada grupo: placebo y Cervitec® ; en dientes temporales.

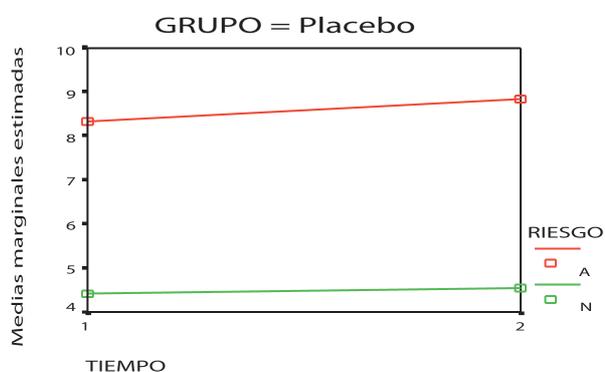
DIENES	GRUPO	RIESGO	TIEMPO	N	MEDIA ± DE	F	P
cao-d	PLACEBO	ALTO	ANTES	6	8,333 ± 0,875	0,975	0,336 NS
			DESPUÉS	6	8,833 ± 0,914		
		NORMAL	ANTES	15	4,400 ± 0,553		
			DESPUÉS	15	4,533 ± 0,578		
cao-d	CERVITEC	ALTO	ANTES	8	7,750 ± 0,757	0,121	0,732 NS
			DESPUÉS	8	7,875 ± 0,791		
		NORMAL	ANTES	13	6,000 ± 0,594		
			DESPUÉS	13	6,077 ± 0,621		
cao-s	PLACEBO	ALTO	ANTES	6	15,333 ± 2,495	0,882	0,360 NS
			DESPUÉS	6	17,167 ± 2,647		
		NORMAL	ANTES	15	5,933 ± 1,578		
			DESPUÉS	15	6,667 ± 1,674		
cao-s	CERVITEC	ALTO	ANTES	8	15,625 ± 2,161	0,481	0,496 NS
			DESPUÉS	8	16,000 ± 2,292		
		NORMAL	ANTES	13	10,462 ± 1,695		
			DESPUÉS	13	10,615 ± 1,798		

La TABLA 5 demuestra con un 95% de confianza, que no hay diferencias significativas en los dientes temporales en el desarrollo de las caries, entre los grupos de alto riesgo y riesgo normal, ni en el placebo o el Cervitec®, ni en las medidas de diente ni de superficies.

IV- 2.8 GRÁFICOS 5 Y 6

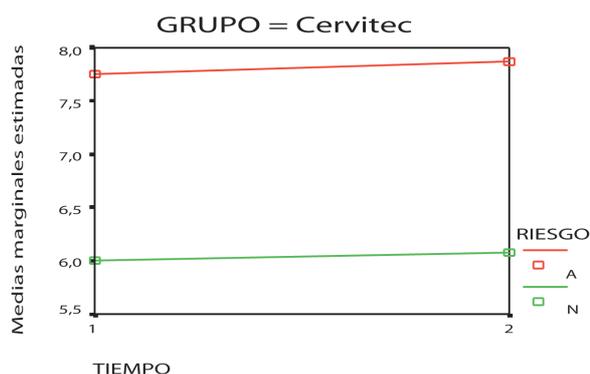
En el GRÁFICO 5 cao-d en los dientes temporales (medida diente) no se observa una diferencia estadísticamente significativa en el desarrollo de la caries entre los grupos de alto riesgo y riesgo normal en el grupo de placebo.

GRÁFICO 5 cao-d



En el GRÁFICO 6 cao-d en los dientes temporales (medida diente), no se observa una diferencia estadísticamente significativa en el desarrollo de la caries entre los grupos de alto riesgo y riesgo normal en el grupo de Cervitec®.

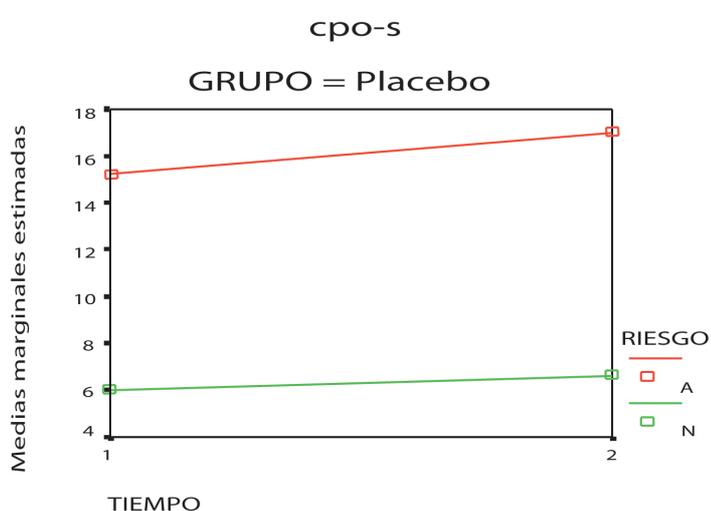
GRÁFICO 6 cao-d



2.9 GRÁFICOS 7 Y 8

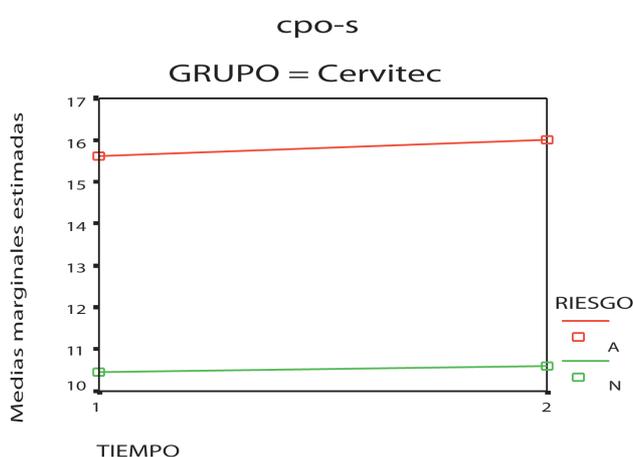
En el GRÁFICO 7 **cao-s** en los dientes temporales (medida superficie) no se observa una diferencia estadísticamente significativa en el desarrollo de la caries entre los grupos de alto riesgo y riesgo normal en el grupo de placebo.

GRÁFICO 7 **cao-s**



En el GRÁFICO 8 **cao-s** en los dientes temporales (medida superficie), no se observa una diferencia estadísticamente significativa en el desarrollo de la caries entre los grupos de alto riesgo y riesgo normal en el grupo de Cervitec®.

GRÁFICO 8 **cao-s**



2.10 TABLA 6

TABLA 6 ANOVA de dos factores: factor tiempo pareado entre: grupo antes y después, y el factor riesgo independiente entre: grupo alto riesgo y grupo de riesgo normal, para cada grupo: placebo y Cervitec® ; en dientes permanentes.

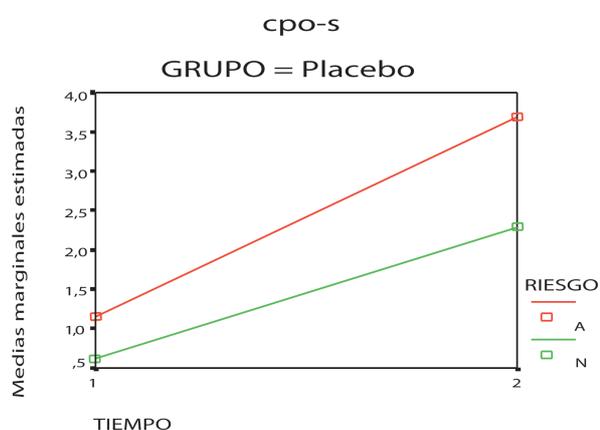
DIENES	GRUPO	RIESGO	TIEMPO	N	MEDIA ± DE	F	P
CAO-D	PLACEBO	ALTO	ANTES	6	1,167 ± 0,477	1,378	0,255 NS
			DESPUÉS	6	3,667 ± 0,584		
		NORMAL	ANTES	15	0,667 ± 0,302		
			DESPUÉS	15	2,200 ± 0,370		
CAO-D	CERVITEC	ALTO	ANTES	8	0,750 ± 0,413	0,317	0,580 NS
			DESPUÉS	8	1,125 ± 0,506		
		NORMAL	ANTES	13	0,231 ± 0,324		
			DESPUÉS	13	0,462 ± 0,397		
CAO-S	PLACEBO	ALTO	ANTES	6	1,333 ± 0,551	2,610	0,123 NS
			DESPUÉS	6	6,667 ± 1,006		
		NORMAL	ANTES	15	0,867 ± 0,349		
			DESPUÉS	15	3,933 ± 0,636		
CAO-S	CERVITEC	ALTO	ANTES	8	0,750 ± 0,478	0,096	0,760 NS
			DESPUÉS	8	1,250 ± 0,871		
		NORMAL	ANTES	13	0,308 ± 0,375		
			DESPUÉS	13	0,692 ± 0,683		

La TABLA 6 demuestra con un 95% de confianza, que no hay diferencias significativas en los dientes permanentes en el desarrollo de las caries, entre los grupos de alto riesgo y riesgo normal, ni en el placebo ni en el Cervitec®, ni en las medidas diente ni en las de superficie.

2.11 GRÁFICOS 9 Y 10

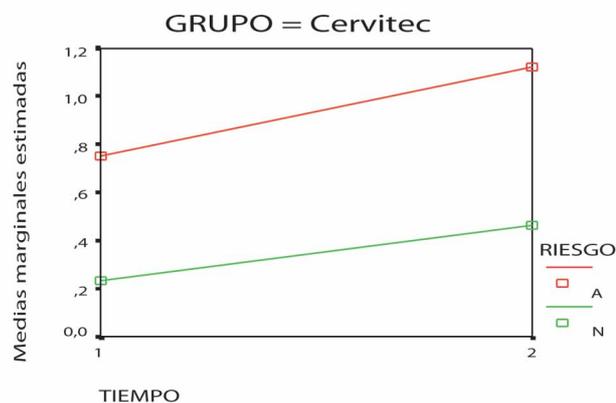
En el GRÁFICO 9 CAO-D en los dientes permanentes (medida diente) no se observa una diferencia estadísticamente significativa en el desarrollo de la caries entre los grupos de alto riesgo y riesgo normal en el grupo de placebo.

GRÁFICO 9 CAO-D



En el GRÁFICO 10 CAO-D en los dientes permanentes (medida diente), no se observa una diferencia estadísticamente significativa en el desarrollo de la caries entre los grupos de alto riesgo y riesgo normal en el grupo de Cervitec®.

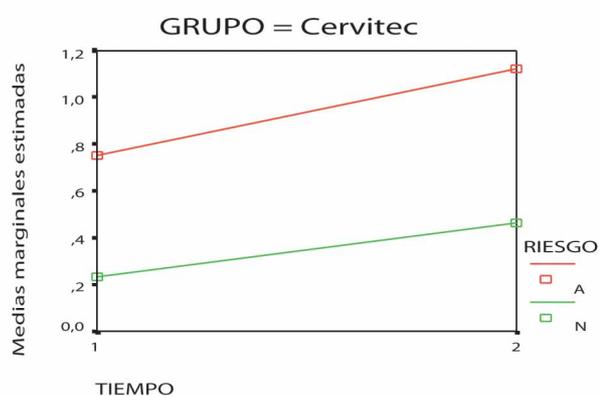
GRÁFICO 10 CAO-D



2.12 GRÁFICOS 11 Y 12

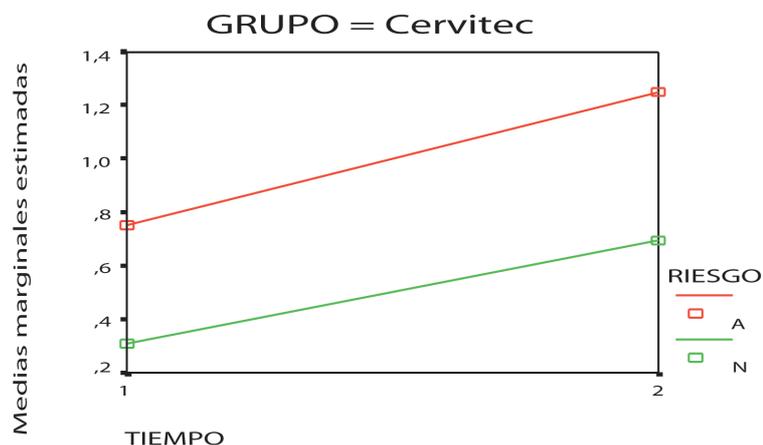
En el GRÁFICO 11 CAO-S en los dientes permanentes (medida superficie) no se observa una diferencia estadísticamente significativa en el desarrollo de la caries entre los grupos de alto riesgo y riesgo normal en el grupo de placebo.

GRÁFICO 11 CAO-S



En el GRÁFICO 12 CAO-S en los dientes permanentes (medida de superficie), no se observa una diferencia estadísticamente significativa en el desarrollo de la caries entre los grupos de alto riesgo y riesgo normal en el grupo de Cervitec®.

GRÁFICO 12 CAO-S



2.13 TABLA 7

TABLA 7 Prueba t-Student sobre factor tiempo pareado, entre grupo antes y después, para cada grupo del factor riesgo, grupo alto riesgo y riesgo normal, y para cada grupo de placebo y Cervitec® en dientes temporales y permanentes.

CERVITEC RIESGO –NORMAL	t	Gl	P
cao-d antes-después	- 1,000	12	0,337
cao-s antes-después	-1,477	12	0,165
CAO-D antes-después	-1,897	12	0,082
CAO-S antes-después	-1,806	12	0,096

CERVITEC RIESGO – ALTO	t	Gl	P
cao-d antes-después	-1,000	7	0,351
cao-s antes-después	-1,000	7	0,351
CAO-D antes-después	-1,426	7	0,197
CAO-S antes-después	-1,528	7	0,170

PLACEBO RIESGO NORMAL	t	Gl	P
cao-d antes-después	-1,000	14	0,334
cao-s antes-después	-1,519	14	0,151
CAO-D antes-después	-3,525	14	0,003
CAO-S antes-después	-3,914	14	0,002

PLACEBO RIESGO – ALTO	t	Gl	P
cao-d antes-después	-1,000	5	0,363
cao-s antes-después	-1,267	5	0,261
CAO-D antes-después	-3,478	5	0,018
CAO-S antes-después	-5,219	5	0,003

Si existen diferencias estadísticas significativas con un 95% de confianza, en los dientes permanentes del grupo placebo entre el antes y el después, no importando si pertenecen al grupo de riesgo alto o normal.

DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

“ No hay ninguna cosa seria que no se pueda decir con una sonrisa.”

Alejandro Casona (1903-1965).

DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Nuestros resultados sugieren:

Que en un año es posible que se desarrollen nuevas lesiones de caries en las caras oclusales de los primeros molares permanentes en niños de cinco a ocho años de edad con alto riesgo de caries.

Que un barniz que contiene clorhexidina y timol, ambos al 1% (Cervitec®), colocado trimestralmente, en cuatro ocasiones (al inicio, a los tres, seis y nueve meses), puede ser efectivo aminorando la formación de caries en las caras oclusales de los primeros molares permanentes durante los periodos inmediatos a su erupción en niños con gran tendencia a la caries.

Cuando se comenzó este trabajo se objetó la duración del estudio por considerarse un año un periodo corto para que se pudiesen manifestar las lesiones de caries; no obstante, ya en 1956, Parfitt, G. J.⁽³¹³⁾ decía que la caries en las caras oclusales de los dientes, se podían desarrollar desde antes de tres meses hasta más de 48 meses y en superficies lisas encontró en áreas previamente libres de caries, que se formaron cavidades en cuatro semanas después de cementar aditamentos de ortodoncia⁽³¹³⁾. Experimentalmente, se pueden producir caries incipientes en humanos sobre las superficies lisas en la zona buco-gingival, en tan sólo 3 semanas, suprimiendo las medidas de higiene oral y enjuagándose deliberadamente

la boca nueve veces al día con 10 ml de sacarosa al 50%^{(150),(151)}. Enjuagarse nueve veces al día con sacarosa al 50% puede parecer exagerado, no obstante, los niños pueden ingerir con esta frecuencia alimentos y bebidas que contienen sacarosa⁽⁵⁷⁾. En nuestro estudio no creamos caries de manera experimental, ellas se desarrollaron de forma natural al darse simultáneamente varias características primordiales para el desarrollo de la caries, tales como:

1. El grupo lo formaban niños pequeños, la edad del niño predice la habilidad en el cepillado⁽³¹⁴⁾, y unos buenos hábitos higiénicos y alimenticios son muy difíciles de lograr en estas edades; los niños del estudio nunca acudieron a sus citas con los dientes limpios y, como es bien sabido, la placa bacteriana se forma y mantiene sin ser perturbada por los procesos de limpieza naturales (auto-limpieza, autoclisis) en algunas zonas de los dientes, entre las que se encuentran las fisuras de las caras oclusales⁽³⁰⁾, y como ya hemos hecho mención, en ausencia de higiene bucal y con una exposición frecuente a alimentos ricos en sacarosa, es fácil dar lugar a lesiones incipientes en tan sólo 3 semanas^{(150),(151)}.
2. Nuestros niños tenían el triple de posibilidades de desarrollar caries en sus dientes permanentes con respecto a niños sin caries en sus temporales⁽¹³⁴⁾. El estatus de caries de una boca es un fuerte indicador de riesgo de caries^{(18),(23),(133),(134)}. Los niños seleccionados tenían extensas caries, extracciones prematuras de molares temporales (aparentemente por caries), reconstrucciones en buenas condiciones o con caries de recidiva, o cavidades abiertas, pólipos pulpares y algunos tenían sus molares tan destruidos que sólo se apreciaban restos radiculares de los temporales. Los altos valores en los índices de caries y concretamente la presencia de un alto número de lesiones sin tratar, constituyen una fuente de infección de bacterias cariogénas⁽¹⁸⁵⁾. La caries en los dientes temporales puede ser usada como un indicador de riesgo, para predecir caries en los

dientes permanentes^{(23),(133),(134)}, dado que las bocas con caries son un foco infeccioso y, según Loesche, los dientes primarios son la fuente de infección más probable para los dientes permanentes⁽¹⁴⁾. Ya se ha mencionado que al cabo de 15 minutos, el 90% de los alimentos adhesivos que estaban retenidos en la boca inmediatamente después de comer, ya no están presentes, esta observación es válida para los dientes libres de cavidades abiertas, no obstante, cuando existen cavidades los restos alimentarios se alojan en ellas y pueden quedar retenidos durante períodos de tiempo mucho más largos⁽¹³²⁾. Estas mismas cavidades también pueden actuar como reservorio de *S. mutans* y *Lactobacillus* y constantemente aportar millones de ellos, pudiendo establecer focos infecciosos en otras superficies dentales⁽³²⁾, siendo las fosas y fisuras del primer molar recién erupcionado un lugar idóneo, y si el *S. mutans* se alojase tempranamente en la zona más profunda de esas fosas y fisuras, la caries podría ser inevitable^{(1),(17),(95)}.

3. La superficie dental escogida para el estudio era la cara oclusal; el 83% o más de todas las caries en los escolares de hoy en día ocurre en las fosas y fisuras⁽¹²⁵⁾, que es la superficie en la que se desarrolla más caries en un diente^{(10),(68),(122-125)}, el ataque de caries en las superficies proximales es bajo con respecto a las caras oclusales^{(122),(125)}, donde no sólo es alto, sino que además es ininterrumpido⁽¹²⁵⁾.
4. También estábamos trabajando con unos dientes que son de los que presentan más tendencia a la caries^{(121),(122)}.
5. Los dientes recién erupcionados (inmaduros) son más susceptibles a las caries^{(33),(125),(128-131)}.
6. Durante el periodo de la erupción dental es más probable el desarrollo de caries, debido a las condiciones favorables para la acumulación de placa⁽³¹⁵⁾.

Éste cúmulo de circunstancias pudo ser el causante de un mayor número de caries, estadísticamente significativo, en los primeros molares que no fueron tratados con Cervi-

tec[®], dado que el alto riesgo hace que se exprese de forma más evidente el efecto protector del producto^{(29),(74),(316-318)}.

Loesche ya en 1983⁽²⁹⁾, observó que el tratamiento eficaz de algunos antimicrobianos como los antibióticos, el flúor y la clorhexidina, podía deberse más, a que se habían escogido pacientes con alto riesgo de caries, y no a la acción antibacteriana de una u otra droga; es decir cualquiera de los antimicrobianos antes nombrados, serían efectivos, al compararlos con un placebo si la población escogida fuese de alto riesgo⁽²⁹⁾. Esto vendría a explicar por qué en muchos estudios no se logró demostrar la efectividad de la clorhexidina en la prevención de la caries, a pesar de que el control bacteriológico cuando se llevó a cabo en algunos de esos estudios sí se evidenció la disminución de las concentraciones bacterianas en placa o saliva^{(18),(62),(122),(184),(319),(320)}. Un ejemplo elocuente de esa observación de Loesche serían los trabajos de Krasse llevados a cabo en 1976⁽³¹⁷⁾, los de Zickert, Emilson y Krasse de 1982⁽⁷⁴⁾ y de 1987⁽³¹⁸⁾, y los de Fennis-le YL y cols en 1998⁽³¹⁶⁾.

Krasse (1976)⁽³¹⁷⁾, consiguió reducir drásticamente el nivel de estreptococos cariogénicos en pacientes de alto riesgo de caries, mediante el uso de un gel con 1% de clorhexidina durante 2 semanas. Con este tratamiento, los estreptococos del grupo *mutans* fueron prácticamente eliminados, y su número permaneció bajo durante 3 meses⁽³¹⁷⁾.

Zickert, Emilson y Krasse en 1982⁽⁷⁴⁾, después de tres años utilizando un gel de clorhexidina al 1%, observaron una reducción del 80% en la incidencia de caries en los pacientes de alto riesgo, sin obtener los mismos resultados, en los pacientes que no eran de alto riesgo⁽⁷⁴⁾. Los mismos autores, en 1987⁽³¹⁸⁾, encontraron que los tratamientos con antimicrobianos lograban una marcada reducción de la caries, especialmente en niños con más de 10^6 *S. mutans* por ml de saliva⁽³¹⁸⁾.

Fennis-le YL y cols (1998)⁽³¹⁶⁾, colocaron semestralmente durante tres años barnices de clorhexidina al 40% o placebo, sobre las caras oclusales de primeros o segundos molares permanentes dependiendo el grupo de edades (5/6 y 11/12), en 316 niños. En los resultados no se observaron diferencias significativa entre los grupos de placebo y clorhexidina, situación que cambió cuando se estratificaron los grupos en alto y bajo riesgo, encontrándose una reducción de caries, estadísticamente significativa, sobre las caras oclusales de los molares en los grupos de alto riesgo de la clorhexidina con respecto al grupo placebo también de alto riesgo. Por ello, concluyeron que la colocación bianual de barnices de clorhexidina al 40% no tiene efecto en la reducción de caries en las caras oclusales de primeros y segundos molares permanentes recién erupcionados, en poblaciones con baja prevalencia de caries⁽³¹⁶⁾.

Otra de las razones que posiblemente determinaron, en nuestro estudio, esta elevada reducción de caries en las caras oclusales de los primeros molares permanentes tratados con barnices de Cervitec[®], se debiese a la interferencia bacteriana en la recolonización de *S. mutans*. Cuando realizamos la profilaxis dental de forma prolija, acto que se repitió antes de cada colocación trimestral de los barnices, posiblemente hayamos logrado retirar gran parte de los *S. mutans* de sus nichos ecológicos que seguramente existiesen en ese momento (colonias de *S. mutans* en las fisuras de las caras oclusales). Dada la incidencia de caries, cavidades abiertas, la ingesta sin control de sacarosa y los malos hábitos de higiene oral que presentaban los participantes, la presencia de *S. mutans* sería de esperar; una vez retiradas las bacterias de sus nichos, éstos volverían a ser recolonizados de forma muy similar a la preexistente y en un corto plazo de tiempo, debido a que se mantenían las mismas condiciones iniciales ideales para el desarrollo de esa flora bacteriana, y posiblemente habrá ocurrido así en los pacientes tratados con el barniz placebo. Sin embargo en el grupo tratado con el barniz de Cervitec[®], esto no se daría de igual modo, debido a que las bacterias involucradas en los procesos de caries, son muy

sensibles a la clorhexidina, especialmente los *S. mutans*^{(103),(115),(116)}, que con un corto contacto del barniz de clorhexidina sobre los dientes puede ser suficiente para reducirlos⁽³²¹⁾; la presentación en barniz de este fármaco es la más efectiva⁽¹¹⁵⁾ y asegura una estancia más prolongada en el lugar.

Como ya hemos dicho se utilizó un barniz de clorhexidina que además contiene timol, que a pesar de no ser tan efectivo como la clorhexidina, tiene un efecto sinérgico con ella; en un estudio *in vitro* se observó que, después de tres meses, se continuaban liberando los dos agentes⁽¹⁸²⁾ y no olvidemos que *in vivo* la clorhexidina es muy superior, debido a el efecto reservorio que ejerce la cavidad bucal en la adsorción local de la misma⁽²⁰⁵⁾, dadas sus características de afinidad con los tejidos duros y blandos de la cavidad bucal y su posterior liberación lenta⁽²⁰⁴⁾. Todo lo anterior nos lleva a pensar que no sólo tendremos el efecto bactericida y posteriormente bacteriostático de la clorhexidina de forma más duradera de lo considerado normal, sino que además podríamos contar con el antagonismo bacteriano en la competición por el nicho ecológico^{(84),(108-110),(112),(113)}, porque como dice Loesche, “Si lográsemos retirar la colonización de *S. mutans* de la profundidad de las fosas y fisuras, otras bacterias menos odonto-patógenas podrían colonizarlas, evitando así el desarrollo de la caries”⁽¹⁾. En este caso con ventaja para el *S. sanguis* que incrementa su número después de la aplicación de clorhexidina^{(119),(120)}; por otro lado, el *S. mutans* no se disemina rápidamente de unos dientes a otros^{(68),(114)} dadas sus reducidas concentraciones salivales disponibles para la adherencia y su dificultad para absorberse a los dientes^{(10),(12)}, en cambio el *S. sanguis* tiene mejor capacidad para adherirse a las superficies dentales y es más numerosos en la placa⁽¹²⁾, además de tener capacidad para producir bacteriocinas como la sanguicina, que es inhibidora de *S. mutans*⁽¹⁰⁵⁾. El *A. naeslundii* también inhibe el recrecimiento del *S. mutans* después de la supresión de este último con la clorhexidina⁽¹¹⁰⁾, y la clorhexidina no tiene ningún efecto significativo en el número de *Actinomyces naeslundii*^{(118),(169)}. Todo lo ante-

rior le obstaculizará de forma considerable al *S. mutans* la recolonización dental, dificultando así el desarrollo de la caries. Después de este tratamiento intensivo con clorhexidina, se restablece una microflora oral normal, caracterizada por una baja proporción de *S. mutans*⁽¹⁰⁹⁾, y de esta forma la mala higiene oral, así como la ingesta descontrolada de sacarosa, no tendrán tantos efectos perniciosos sobre los dientes, porque como se ha mencionado anteriormente la ausencia de higiene y la ingesta de sacarosa no produce caries si los dientes estaban regularmente tratados con agentes antibacterianos, como la clorhexidina⁽¹⁵⁰⁾.

Por otro lado, nosotros aplicamos los barnices trimestralmente y según estudios previos, los barnices de clorhexidina al 1% y el timol al 1% (Cervitec®) continúan liberándose después de tres meses^{(182),(226-228)}. El efecto del barnices de Cervitec® se ha mantenido hasta por seis meses cuando se ha colocado en dentina⁽³²²⁾; esto se puede deber a que el Cervitec® penetra dentro de la dentina cariada hasta 35 micrones⁽²⁶³⁾, nuestros barnices se colocaron sobre todas las superficies dentales, incluidas las amplias cavidades abiertas de caries de los molares temporales, en otras palabras, sobre dentina cariada; esto aunado al hecho de que la clorhexidina suprime con mayor intensidad el *S. mutans* a nivel de los premolares⁽²³⁸⁾ (localización coincidente con los molares temporales), puede haber creado un nivel de clorhexidina superior, y por ende más efectivo, repercutiendo esto positivamente en los primeros molares permanentes de forma indirecta. La suma de todos estos factores pudo haber sido la que determinó la obtención de unos resultados tan favorables en nuestro trabajo.

En la literatura científica existe una gran cantidad de trabajos en los que se han utilizado los barnices de Cervitec® para prevenir la caries dental, no obstante, no hay muchos estudios que hayan podido demostrar significativamente esta prevención de caries.

A continuación pasaremos a evaluar las diferencias y similitudes entre los trabajos que de igual modo que el nuestro, sí han logrado la reducción de las caries de fisuras a través de la colocación de barnices de clorhexidina y timol (Cervitec®).

En los trabajos de: Bratthall D. y cols. (1995)⁽¹⁶⁾, Joharji RM y Adenubi JO. (2001)⁽⁹⁹⁾, Baca P, Muñoz MJ, Bravo M, Junco P, Baca AP. (2002)⁽²³³⁾ y Araujo AM, Naspitz GM, Chelotti A, Cai S. (2002)⁽²³⁴⁾, entre los criterios de selección no se encontraba el alto riesgo de caries, como en nuestro caso, y el alto riesgo hace que se exprese de forma más evidente el efecto protector del producto^{(29),(74),(309),(316-318)}. Tres de estos trabajos^{(16),(99),(234)}, se realizaron a boca partida, y el efecto bactericida y bacteriostático de los barnices de Cervitec® colocados en el lado del tratamiento, pudieron beneficiar de modo alguno al lado del control. En uno de los estudios⁽¹⁶⁾ los barnices de Cervitec® se colocaron al comienzo, después de 3-4 meses y al cabo de 8-9 meses; nosotros lo hicimos trimestralmente, y es posible que esto nos permitiese tener más limitada la recolonización de *S. mutans*; como ya hemos mencionado existen varios estudios en los que se encontró que el Cervitec® mantiene su efecto durante tres meses^{(182),(226-228)}. Estas tres circunstancias antes citadas, pudieron hacer que la diferencia en cuanto al número de caries, entre los dientes tratados y los que servían de control, no fuesen tan significativas, en estos cuatro estudios^{(16),(99),(233),(234)}, en comparación con las obtenidas en nuestro estudio.

En los trabajos de: Bratthall D. y cols.⁽¹⁶⁾, Joharji RM y Adenubi JO⁽⁹⁹⁾ y Baca P, Muñoz MJ, Bravo M, Junco P, Baca AP.⁽²³³⁾, se desarrollaron caries en los primeros molares que se colocó Cervitec® (no en igual cantidad, obviamente), esto también nos ocurrió a nosotros; a diferencia del trabajo de Araujo AM, Naspitz GM, Chelotti A, Cai S.⁽²³⁴⁾, en el que no se desarrollaron caries; esto pudo deberse a que en ese trabajo se dieron varios tratamientos preventivos-curativos, además de la colocación de Cervitec®, y en los otros tres

estudios^{(16),(99),(233)}, no se les dio ningún tratamiento odontológico, apartando la colocación de Cervitec® al grupo de tratamiento, al igual que en nuestro estudio.

Estos cuatro estudios^{(16),(99),(233),(234)}, contaron con los controles bacteriológicos, nosotros no, casi todos se han realizado durante periodos de tiempo superiores y con tamaños de muestra mayores.

Nuestro trabajo presentaba un grupo de placebo y otro de tratamiento y era a doble ciego, de esta forma evitábamos el efecto Rosenthal, tanto en los participantes como en el operador⁽³⁰⁸⁾.

CONCLUSIONES

*“Todas las buenas máximas están en el mundo;
sólo hace falta aplicarlas.”*

PASCAL (1623-1662)

VI - CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en el capítulo IV, y respondiendo así a los objetivos planteados, inferimos las siguientes conclusiones:

1. Los barnices que contienen clorhexidina al 1% y timol al 1%, Cervitec® aplicados en niños con gran tendencia a la caries, trimestralmente en cuatro oportunidades (en el inicio, a los tres, seis y nueve meses), son efectivos aminorando la formación de caries en las caras oclusales de los primeros molares permanentes, durante los periodos inmediatos a su erupción.
2. En un año es posible que se desarrollen nuevas lesiones de caries en las caras oclusales de los primeros molares permanentes en niños de cinco a ocho años de edad con alto riesgo de caries, si no se toman medidas preventivas.
3. No pudimos encontrar diferencias en la efectividad de los barnices de Cervitec®, cuando comparamos los niños que denominamos de alto riesgo, con los que denominamos de riesgo normal; posiblemente porque no había mucha diferencia inter-grupos. Como ya hemos hecho mención en otras oportunidades, todos los niños eran de alto riesgo, siendo esta denominación sólo comparativa.
4. No hemos observado en ninguno de los niños pigmentaciones ni dentales ni de la

lengua, durante el año que duró el estudio, debidas a la colocación trimestral de los barnices de Cervitec®.

5. No se apreciaron erosiones en las mucosas, no obstante, sería interesante que se mejorase esa sensación de ardor en las mucosas y olor muy penetrante, que hemos encontrado en la clínica de este barniz, para poderlo aplicar en niños incluso de menor edad.
6. Se debería intentar prolongar la acción del producto hasta seis meses, para volver más práctico y económico su uso de forma masiva.
7. De todo lo anterior podemos concluir que los barnices de Cervitec®, en nuestra opinión, se podrían considerar como otra opción más en la prevención de las caries, de las caras oclusales en los niños con alto riesgo de sufrir esta enfermedad, dado que ellos precisan algo más que los procedimientos estándar utilizados para prevenir la caries.

BIBLIOGRAFÍA

“La única libertad es la sabiduría.”

SÉNECA (4 a. C.-65)

BIBLIOGRAFÍA

1. Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in Human Dental Decay, *Microbiol Rev.* 1986;50(4):353-80.
2. Anusavice KJ. Dental caries: risk assessment and treatment solutions for an elderly population. *Compend Contin Educ Dent.* 2002 Oct;23(10 Suppl):12-0.
3. González J. Los Barberos examinados. La Pragmática de 1500. En: *Cincuenta Años de Estomatología en España con sus Antecedentes Históricos.* Gijón: FDE 1998;1:15-33.
4. González J. Quinto Centenario (1500-2000) de la Pragmática de los Reyes Católicos. Madrid: Edit. Ilustre Consejo General de Colegios de Odontólogos y Estomatólogos de España 2000:7-52.
5. Miller WD. *Microorganisms of the Human Mouth.* S. S. White Publishing Co., Philadelphia, 1890. In: Loesche W. *History of Caries Research.* In: Loesche W. *Dental Caries: A treatable infection.* Illinois: Charles Thomas 1982;VI:111-23.
6. Keyes PH. Recent advances in dental caries research. Bacteriological findings and biological implications. *Int. Dent. J.* 1962;12(4):443-64.
7. Fitzgerald RJ, Keyes PH. Demonstration of the etiologic role of streptococci in experimental caries in the hamster. *J Am Dent Assoc.* 1960;61:9-33.

8. Wright JT, Cutter GR, Dasanayake AP, Stiles HM, Caufield PW. Effect of conventional dental restorative treatment on bacteria in saliva. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1992 Jun;20(3):138-3.
9. Anderson MH, Bales DJ, Omnell KA. Modern management of dental caries: the cutting edge is not the dental bur. *J Am Dent Assoc.* 1993 Jun;124(6):36-4.
10. Gibbons RJ, and van Houte J. Bacteriology of Dental Caries. In Shaw JH, Sweeney EA, Cappacino CC and Miller SM. *Textbook of Oral Biology.* Saunder, Philadelphia, 1978:975-91.
11. MacDonald JB. Microbiology of Caries. In: Sognnaes RF., ed. : *Chemistry and the prevention of Dental Caries.* C. C. Thomas, Springfield, III., 1962: 89-25.
12. Loesche WJ. *Dental caries: A treatable infection.* Illinois: Charles C Thomas, 1982:1-558.
13. Boyar RM, Bowden GH. The Microflora Associated with the Progression of Incipient Carious Lesions in Teeth of Children Living in a Water-Fluoridated Area. *Caries Res* 1985;19:298-6.
14. Loesche WJ, Eklund S, Earnest R, Burt B. Longitudinal investigation of bacteriology of humane fissure decay: epidemiological studies in molars shortly after eruption. *Infection & Immunity.* 1984;46(3):765-2 (abstract).
15. Zickert I, Emilson CG, Krasse B. Streptococcus mutans, lactobacilli and dental heah in 13-14-year-old Swedish children. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1982 Apr;10(2):77-1.
16. Bratthall D, et al. A study into the prevention of fissure caries using an antimicrobial varnish. *Int Dent J.* 1995;45(4):245-4.

17. Khöler B, Andreen I, Johnson B. The earlier the colonization by streptococci, the higher the caries prevalence at 4 years of aged. *Oral Microbiol Immunol.* 1988;3:14-7.
18. Bowden GH. Mutans streptococci caries and chlorhexidine. *J Can Dent Assoc.* 1996;62(9):700-7.
19. Loesche WJ. Clinical and microbiological aspects of chemotherapeutic agents used according to the specific plaque hypothesis. *Journal of Dental Research.* 1979 Dec;58(12):2404-2.
20. Emilson CG, Krasse B. Support for and implications of the specific plaque hypothesis. *Scand J Dent Res.* 1985 Apr;93(2):96-4.
21. Crossner CG. Salivary lactobacillus counts in the prediction of caries activity. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1981 Aug;9(4):182-0.
22. Togelius J, Bratthall D. Frequency of the bacterium streptococcus mutans in the saliva of selected human populations. *Arch. Oral Biol.* 1982;27:113-6.
23. Powell LV. Caries prediction: a review of the literature. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1998 Dec;26(6):361-1.
24. Krasse B. Biological factors as indicators of future caries. *Int Dent J.* 1988 Dec; 38(4):219-5.
25. Krasse B. Specific microorganisms and dental caries in children. *Pediatrician* 1989;16(3-4):156-0.
26. Anusavice KJ. Treatment regimens in preventive and restorative dentistry. *J Am Dent Assoc.* 1995 Jun;126(6):727-43.

27. Bowen WH. Response to Seow: biological mechanisms of early childhood caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 1998;26(1 Suppl):28-1.
28. Smith RE, Badner VM, Morse DE, Freeman K. Maternal risk indicators for childhood caries in an inner city population. *Dent Oral Epidemiol* 2002 jun;30(3):176-1.
29. Loesche WJ. Antimicrobials, Can They Be Effective. In: *Cariology Today*. Int. Congr., Zürich 1983: 293-0 (Karger, Basel, 1984).
30. Strålfors A. Investigations into the bacterial chemistry of dental plaque. *Odontologisk Tidshrift*. 1950;58:155-341.
31. Cortés FJ. Medición de la enfermedad en odontología comunitaria. En: Cuenca E. y col. *Odontología preventiva y comunitaria. Principios, métodos y aplicaciones*. Segunda edición. Barcelona: Masson 1999;(20):303-25.
32. Lundeen TF, y Roberson TM. Cariología: lesión etiología prevención y control. En: Sturdevant M, y col. *Arte y Ciencia Operatoria Dental*. Tercera edición Madrid: Mosby 1996;3:60-28.
33. Nikiforuk G. Epidemiología de la Caries Dental. En: Nikiforuk G. *Caries Dental*. Argentina: Editorial Mundi 1986;(2):25-59.
34. Rioboo R. Índices en Odontología. Generalidades. Índices de Salud e Índices para Evaluar la Caries Dental. En: Rioboo R. *Odontología Preventiva y Odontología Comunitaria*. Madrid: Ediciones Avances 2002;30: 859-78.
35. Thylstrup A, Fejerskov O. Epidemiología de la caries dental. En: Thylstrup A, Fejerskov O. *Caries*. Doyma. Edición en inglés 1986, en español 1988;(14):225-42.

36. Gish C, Smith C. Salud oral de la comunidad. En: McDonald R, Avery D. Odontología pediátrica y del adolescente. Trad. del ingl. VI Edición. Madrid: Mosby/Doyma Libros 1995;31:829-43.
37. Caufield PW, Griffen AL. Dental caries. An infectious and transmissible disease. *Pediatr Clin North Am* 2000 Oct;47(5):1001-19.
38. Eriksen HM, Grytten J, Holst D. Is there a long-term caries-preventive effect of sugar restrictions during World War II? *Acta Odontol Scand* 1991 Jun;49(3):163-7.
39. Konig KG, Navia JM. Nutritional role of sugars in oral health. *Am J Clin Nutr* 1995 Jul;62(1 Suppl):275S-282S; discussion 282S-283S.
40. Luoma AR, Ronnberg K. Twelve-year follow-up of caries prevalence and incidence in children and young adults in Espoo, Finland. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1987 Feb;15(1):29-2.
41. Angulo M, Zinemanas E, Pivel L, Jorysz E, Casamayou R, Krasse B. Caries incidence, effect of preventive measures, and caries reduction in Uruguayan children. *Acta Odontol Scand* 1995 Feb;53(1):1-6.
42. Luoma H. Experience and views of caries research and oral health. *Proc Finn Dent Soc* 1991;87(4):659-70.
43. Tickle M. The 80:20 phenomenon: help or hindrance to planning caries prevention programmes? *Community Dent Health* 2002 Mar;19(1):39-2.
44. Baat C, Kalk W, Schuil GR. The effectiveness of oral hygiene programmes for elderly people a review. *Gerodontology.* 1993 Dec;10(2):109-3.
45. Gibson S, Williams S. Dental caries in pre-school children: associations with social class, toothbrushing habit and consumption of sugars and sugar-containing foods.

- Further analysis of data from the National Diet and Nutrition Survey of children aged 1.5-4.5 years. *Caries Res* 1999;33(2):101-13.
46. Haugejorden O, Nord A, Klock KS. Direct evidence concerning the 'major role' of fluoride dentifrices in the caries decline. A 6-year analytical cohort study. *Acta Odontol Scand*. 1997 Jun;55(3):173-0.
 47. Konig KG. Role of fluoride toothpastes in a caries-preventive strategy. *Caries Res* 1993;27(Suppl)1:23-8.
 48. Newbrun E. Effectiveness of water fluoridation. *J.Public Heah Dent* 1989;49(5 Spec No):279-9.
 49. Serra L, Garcia R, Ramon JM, Manau C, Cuenca E, Krasse B. Dietary habits and dental caries in a population of Spanish schoolchildren with low levels of caries experience. *Caries Res* 1993;27(6):488-4.
 50. Makinen KK, Makinen PL, Pape HR Jr, Peldyak J, Hujoel P, Isotupa KP, Soderling E, Isokangas PJ, Allen P, Bennett C. Conclusion and review of the Michigan Xylitol Programme (1986-1995) for the prevention of dental caries. *Int Dent J* 1996 Feb;46(1):22-34.
 51. Machiulskiene V, Nyvad B, Baelum V. Caries preventive effect of sugar-substituted chewing gum. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2001 Aug;29(4): 278-8.
 52. Littleton NW, and White CL. Dental findings from a preliminary study of children receiving extensive antibiotic therapy. *J.A.D.A.* 1964;68:520-5.
 53. Handelman SL, Mills JR, and Hawes RR. Caries incidence in subjects receiving long term antibiotic therapy. *J. Oral Therap. Pharmac.* 1966;2(5):338-5.

54. Loesche WJ, Eklund SA, Mehlisch DF, Burt B. Possible effect of medically administered antibiotics on the mutans streptococci: implications for reduction in decay. *Oral Microbiology & Immunology*. 1989;4(2):77-1.
55. Orland FJ, Blayney JR, Harrison RW, Reyniers JA, Trexler PC, Wagner M, Gordon HA and Luckey TD. Use of the germfree animal technic in the study of experimental dental caries. I. Basic observation on rats reared free of all microorganisms. *J. Dent. Res.* 1954;33:147-74.
56. Orland FJ, et al. Experimental caries in germfree rats inoculated with enterococci. *J.A.D.A.* 1955;50(3);259-72.
57. Newbrun E. Current Concepts of Caries Etiology. In: Newbrun E. *Cariology*. Williams & Wilkins 1977. 2: 15-43.
58. Nikiforuk G. Etiología de la Caries Dental -Un Repaso de las Primeras Teorías y Concepto Actuales. En: Nikiforuk G. *Caries Dental*. Argentina: Editorial Mundi 1986;3: 60-82.
59. Rioboo R. La Dinámica de la Desmineralización-Remineralización de las Estructuras Dentales. En: Rioboo R. *Odontología Preventiva y Odontología Comunitaria*. Madrid: Ediciones Avances 2002;4:119-41.
60. Mouton C, Robert J-C. Bacteriología de la caries. En: Mouton C, Robert J-C. *Bacteriología bucodental*. Barcelona: Masson 1995;(6):91-07.
61. Loesche WJ. Chemotherapy of dental plaque infection. *Oral Sciences Reviews*, 1976;9:65-07.
62. Bowden GH. Mutans streptococci caries and chlorhexidine. *Biol Oral* 1982; 27 (10):861-8.

63. Mouton C, Robert J-C. Bacterias grampositivas. En: Mouton C, Robert J-C. Bacteriología bucodental. Barcelona: Masson 1995;(5):73-90.
64. Fierro JF, y Andres MT. Bacterias de Interés Oral. En: Bascone A. (coordinador). Tratado de Odontología (Tomo I). Smithkline Beecham, SA. 1998;V(8):615-32.
65. Ellen P. Genus Actinomyces and other filamentous bacteria. In: Newman and Nisengard. Oral Microbiology and Immunology. Saunders. 1988;8:173-2.
66. Castillo AM, Liébana J. Bacterias anaerobias facultativas. En: Liébana J. Microbiología Oral. Inter Americana. Mc.Graw-Hill. 1995. 17: 255-266.
67. Fure S, Romaniec M, Emilson CG, Krasse B. Proportions of Streptococcus mutans, lactobacilli and Actinomyces spp in root surface plaque. Scand J Dent Res 1987 Apr;95(2):119-3.
68. Gibbons RJ, and van Houte J. Dental Caries. Ann Rev. Med. 1975;26:121-36.
69. Hamion IR, Boyar RM, and Bowden GH. Acid-induced fluoride resistance by an oral strain of Lactobacillus casei growing in continuous cuure. J. Dent. Res. 1984; I 63:246. Abstr. 683.
70. Fitzgerald RJ, Adams BO, Davis ME. A microbiological study of recurrent dentinal caries. Caries Res 1994;28(6):409-15.
71. Crossner CG, Unell L. Salivary lactobacillus counts as a diagnostic and didactic tool in caries prevention. Community Dent Oral Epidemiol. 1986 Jun;14(3):156-60.
72. Crossner CG, Claesson R, Johansson T. Presence of mutans streptococci and various types of lactobacilli indental spaces related to development of proximal carious lesions. Scand J Dent Res. 1989 Aug;97(4):307-15.

73. Crossner CG. Variation in human oral lactobacilli following a change in sugar intake. *Scand J Dent Res*. 1984 Jun;92(3):204-10.
74. Case DE. Safety of Hibitane. I. Laboratory experiments. *J Clin Periodontol* 1977 Dec;4(5):66-2.
75. Fitzgerald RJ, Adams BO, Fitzgerald DB, Knox KW. Cariogenicity of human plaque lactobacilli in gnotobiotic rats. *J Dent Res* 1981 May;60(5):919-26.
76. Burton Rosan. The streptococci. In: Newman and Nisengard. *Oral Microbiology and Immunology*. Saunders.1988;6:145-65.
77. Schuster George. Streptococci and Streptococcal Infections. In: *Oral Microbiology and Infectious Disease*. Williams & Wilkings. Second Student Edition. 20:279-88.
78. Liébana J, Castillo AM, y Gutiérrez J. Género *Streptococcus*. En: Liébana J. *Microbiología Oral*. Inter Americana. Mc.Graw-Hill. 1995;15:219-39.
79. Street CM, Goldner M and Le Riche WH. Epidemiology of Dental Caries in Relation to *Streptococcus Mutans* on Tooth Surfaces in 5-Year-Old Children. *Archs. Oral Biol*. 1976;21:273-75.
80. Kozai K, Nakayama R, Tedjosasonko U, Kuwahara S, Suzuki J, Okada M, Nagasaka N. Intrafamilial distribution of mutans streptococci in Japanese families and possibility of father-to-child transmission. *Microbiol Immunol* 1999;43(2):99-06.
81. Harper DS, Loesche WJ. Effect of pH upon sucrose and glucose catabolism by the various genogroups of *Streptococcus mutans*. *Journals of Dental Research*. 1983;62(5):526-31.

82. Okada M, Soda Y, Hayashi F, Doi T, Suzuki J, Miura K, Kozai K. PCR detection of *Streptococcus mutans* and *S. sobrinus* in dental plaque samples from Japanese pre-school children. *J Med Microbiol* 2002 May;51(5):443-7.
83. Kozai K, Wang DS, Sandham HJ, Phillips HI. Changes in strains of mutans streptococci induced by treatment with chlorhexidine varnish. *J Dent Res* 1991 Sep;70(9):1252-57.
84. Caufield PW, Dasanayake AP, Li Y, Pan Y, Hsu J, Hardin JM. Natural history of *Streptococcus sanguinis* in the oral cavity of infants: evidence for a discrete window of infectivity. *Infect Immun* 2000 Jul;68(7):4018-23.
85. Loesche WJ, Straffon LH. Longitudinal investigation of the role of *Streptococcus mutans* in human fissure decay. *Infection & Immunity*. 1979; 26(2):498-07.
86. Nyvad B, Kilian M. Comparison of the initial streptococcal microflora on dental enamel in caries-active and in caries-inactive individuals. *Caries Res* 1990;24(4):267-72.
87. Tedjosongko U, Kozai K. Initial acquisition and transmission of mutans streptococci in children at day nursery. *ASDC J Dent Child* 2002 Sep-Dec;69(3):284-8, 234-5.
88. Caufield PW, Cutter GR, and Dasanayake AP. Evidence for a Discrete Window of Infectivity. *J Dent Res*. 1993;72(1):37-5.
89. Karn TA, O'Sullivan DM, Tinanoff N. Colonization of mutans streptococci in 8- to 15-month-old children. *J Public Health Dent*. 1998 Summer;58(3):248-9.
90. Emanuelsson IR, Li Y, Bratthall D. Genotyping shows different strains of mutans streptococci between father and child and within parental pairs in Swedish families. *Oral Microbiol Immunol*. 1998 Oct;13(5):271-7.

91. Fitzgerald DB, Fitzgerald RJ, Adams BO, Morhart RE. Prevalence, distribution of serotypes, and cariogenic potential in hamsters of mutans streptococci from elderly individuals. *Infect Immun.* 1983 Aug;41(2):691-7.
92. Loesche W.J. Nutrition and dental decay in infants. *American Journal of Clinical Nutrition.* 1985;41 (2 suppl):423-35 (Abstr.).
93. Tenovuo J, Hakkinen P, Paunio P, Emilson CG. Effects of chlorhexidine-fluoride gel treatments in mothers on the establishment of mutans streptococci in primary teeth and the development of dental caries in children. *Caries Res* 1992;26(4):275-80.
94. Li Y, and Caufield PW. The fidelity of initial acquisition of mutans streptococci by infants from their mothers. *J. Dent. Res.* 1995;74:681-5 (Abstr.).
95. Alaluusua S, Renkonen OV. Streptococcus mutans establishment and dental caries experience in children from 2 to 4 years old. *Scand J Dent Res* 1983 Dec;91(6):453-7.
96. Wyatt CCL, MacEntee MI, McBride BC. A simple and rapid plaque-sampling assay for monitoring the number of cariogenic organisms. *Oral Microbiol Immunol* 1988; 3:40-1.
97. Köhler B, and Bratthall D. Practical method to facilitate estimation of Streptococcus mutans levels in saliva. *J Clin Microbiol.* 1979 May; 9(5):584-8.
98. Onose H, And Sandham HJ. PH changes during cuure of human dental plaque streptococci on mitis-salivarius agar. *Arch. Oral Biol.* 1976;21:291-6.
99. Joharji RM, Adenubi JO. Prevention of pit and fissure caries using an antimicrobial varnish: 9 mouth clinical evaluation . *J. Dent* 2001 29 (4): 247-54.

100. Thibodeau EA, O'Sullivan DM, Tinanoff N. Mutans streptococci and caries prevalence in preschool children. *Community Dent Oral Epidemiol* 1993 Oct;21(5):288-91.
101. Seibert W, Farmer-Dixon C, Bolden T, Stewart JH. Streptococcus mutans levels and caries prevalence in low-income schoolchildren. *J Tenn Dent Assoc* 2002 Spring;82(1):19-2.
102. Lynch E, Beighton D. Relationships between mutans streptococci and perceived treatment need of primary root-caries lesions. *Gerodontology*. 1993 Dec;10(2):98-04.
103. Bondestam O, Gahnberg L, Sund ML, Linder L. Effect of chlorhexidine gel treatment on the prevalence of mutans streptococci and lactobacilli in patients with impaired salivary secretion rate. *Spec Care Dentist* 1996 May-Jun;16(3):123-7.
104. Twetman S, Petersson LG. Interdental caries incidence and progression in relation to mutans streptococci suppression after chlorhexidine-thymol varnish treatments in schoolchildren. *Acta Odontol Scand*. 1999 Jun;57(3):144-8.
105. Mouton C, Robert J-C. Placa dental. En: Mouton C. Robert J-C *Bacteriología bucodental*. Barcelona: Masson 1995;(2):19-33.
106. Morhart RE, Fitzgerald RJ. Nutritional determinants of the ecology of the oral flora. *Dent Clin North Am* 1976 Jul;20(3):473-89.
107. Mouton C, Robert J-C. Ecosistema Oral. En: Mouton C. Robert J-C *Bacteriología bucodental*. Barcelona: Masson 1995;(1):3-18.
108. Baca P. Fundamento, desarrollo y unidad de los barnices de clorhexidina en el control de la caries dental: revisión bibliografía I. Chlorzoin y EC40. *Archivos de Odonto-Estomatología Preventiva y Comunitaria*. 2000;16(9):586-95.

109. Schaeken MJ, van der Hoeven JS, van den Kieboom CW. Effect of chlorhexidine varnish on streptococci in dental plaque from occlusal fissures. *Caries Res.* 1994;28(4):262-6.
110. Van der Hoeven JS, Schaeken MJ. Streptococci and actinomyces inhibit regrowth of *Streptococcus mutans* on gnotobiotic rat molar teeth after chlorhexidine varnish treatment. *Caries Res* 1995;29(2):159-62.
111. Petti S, Pezzi R. Effect of sucrose consumption on level of *Streptococcus mutans* in saliva. *New Microbiol* 1996 Apr;19(2):133-40.
112. Baca P. Fundamento, desarrollo y unidad de los barnices de clorhexidina en el control de la caries dental: revisión bibliografía II. Cervitec®. *Archivos de Odonto-Estomatología Preventiva y Comunitaria.* 2001;17(2):87-95.
113. Alaki SM, Loesche WJ, da Fonesca MA, Feigal RJ, Welch K. Preventing the transfer of *Streptococcus mutans* from primary molars to permanent first molars using chlorhexidine. *Pediatr Dent.* 2002 Mar-Apr;24(2):103-8.
114. Loesche WJ, Svanberg ML, Pape HR. Intraoral Transmission of *Streptococcus Mutans* by a Dental Explorer. *J. Dent. Res.* 1979;58(8):1765-70.
115. Emilson CG. Potential efficacy of chlorexidine against mutans streptococci and human dental caries. *J Dent Res.* 1994;73(3):682-91.
116. Balanyk TE, Sandham HJ. Development of sustained-release antimicrobial dental varnishes effective against *Streptococcus mutans* in vitro. *J Dent Res.* 1985 Dec;64(12):1356-60.
117. Nikiforuk G. Fluoruros y caries dental. En: Nikiforuk G. *Caries Dental.* Argentina: Editorial Mundi 1986;12:305-37.

118. Schaeken MJM, Van Der Hoeven JS, Hendriks JCM. Effects of varnishes containing chlorhexidine on the human dental plaque flora. *J.Dent Res.* 1989;68: 1786-9.
119. Emilson CG, Fornell J. Effect of toothbrushing with chlorhexidine gel on salivary microflora, oral hygiene, and caries. *Scand J Dent Res.* 1976 Sep;84(5):308-19.
120. Sandham HJ, Brown J, Chan KH, Phillips HI, Burgess RC, Stokl AJ. Clinical trial in adults of an antimicrobial varnish for reducing mutans streptococci. *J Dent Res.* 1991 Nov;70(11):1401-8.
121. Carlos JP, Gittelsohn AM. Longitudinal Studies of the Natural History of Caries. II. *Archs Oral Biol.* 1965;10:739-51.
122. Splieth C, Steffen H, Rosin M, Welk A. Caries prevention with chlorhexidine-thymol varnish in high risk schoolchildren *Community Dent Oral Epidemiol.* 2000 Dec;28(6):419-23.
123. Bossert WA. The Relation Between the Shape of the Occlusal Surfaces of Molars and the Prevalence of Decay. *J Dent. Res.* 1937;16: 63-7.
124. Reid DBW, and Grainger, RM. Variations in the Caries Susceptibility of Children's teeth. *Hum. Biol.* 1955;27: 1-11.
125. Ripa W, Leske S, and Varma O. Longitudinal Study of the Caries Susceptibility of Oclusal and Proximal Surfaces of First Permanent Molars. *J. Public Heah Dentistry.* 1988;48(1):8-13.
126. Li Y, Navia JM, Caufield PW. Colonization by mutans streptococci in the mouths of 3- and 4-year-old Chinese children with or without enamel hypoplasia. *Arch Oral Biol.* 1994 Dec;39(12):1057-62.

127. Wallman C, Krasse B, Birkhed D. Effect of chlorhexidine treatment followed by stannous fluoride gel application on mutans streptococci in margins of restorations. *Caries Res.* 1994;28(6):435-40.
128. Weyne Sergio. Cariología. En: *Operatoria Dental Procedimientos Preventivos y Restauradores*. Baratieri Luiz N. Et al. Quintessence. Versión española de la segunda edición. 1993;1: 1-42.
129. Nikiforuk G. La naturaleza de la sustancia dentaria. En: Nikiforuk G. *Caries Dental*. Argentina: Editorial Mundi 1986;4:83-18.
130. Legler DW. y Menaker L. Definición, etiología, epidemiología e implicaciones clínicas de la caries dental. En: Menaker L. *Bases Biológicas de la Caries Dental*. Barcelona: Salvat (Versión española) 1986;8:223-60.
131. Thylstrup A. Fejerskov O. Patología de la caries dental. En: Thylstrup A. Fejerskov O. *Caries*. Doyma. Edición en inglés 1986, en español 1988;(11):170-96.
132. Katz S, McDonald J. and Stookey G. Plaque and Dental Caries. In: Katz S, McDonald J. and Stookey G. *Preventive Dentistry in Action*. Third edition D.C.P. Publishing 1979;7:140-66.
133. Gray MM, Marchment MD, Anderson RJ The relationship between caries experience in the deciduous molars at 5 years and in first permanent molars of the same child at 7 years. *Community Dent Health*.1991 Mar;8(1):3-7.
134. Li Y, Wang W. Predicting caries in permanent teeth from caries in primary teeth: an eight-year cohort study. *J Dent Res*. 2002 Aug;81(8):561-6. .
135. Encyclopaedia Britannica de México, S.A. Lexipedia. Tomo II.
136. Enciclopedia Microsoft Encarta 97. Diccionario Actual de la Lengua Española.

137. Woodward M, Walker AR. Sugar consumption and dental caries: evidence from 90 countries. *Br Dent J* 1994 Apr 23;176(8):297-02.
138. Nikiforuk G. La caries como una infección microbiana específica. En: Nikiforuk *Caries Dental*. Argentina: Editorial Mundi 1986;6:158-81.
139. Escobar F. Prevención en odontología pediátrica. En: Escobar F. *Odontología Pediátrica*. Caracas: Editorial Amolca 2003;6:105-69.
140. Wennerholm K, Emilson CG, Krasse B. Oral glucose clearance in subjects with high or low salivary levels of *Streptococcus mutans* and lactobacilli. *Scand J Dent Res* 1986 Apr;94(2):121-4.
141. Bibby BG, Mundorff SA, Zero DT, Almekinder KJ. Oral food clearance and the pH of plaque and saliva. *J Am Dent Assoc* 1986 Mar;112(3):333-7.
142. Sgan-Cohen HD, Newbrun E, Huber R, Tenebaum G, Sela MN. The effect of previous diet on plaque pH response to different foods. *J Dent Res* 1988 Nov;67(11):1434-7.
143. Beighton D, Brailsford SR, Lynch E, Chen HY, Clark DT. The influence of specific foods and oral hygiene on the microflora of fissures and smooth surfaces of molar teeth: A 5-day study. *Caries Res*. 1999 Sep-Oct;33(5):349-56.
144. Dimitrova MM, Kukleva MP, Kondeva VK. Prevalence of early childhood caries and risk factors in children from 1 to 3 years of age in Plovdiv, Bulgaria. *Folia Med* 2002;44(1-2):60-3.
145. Corpas L, Ruiz C. ¿Odontología Preventiva para niños con patología respiratoria crónica? En: Corpas L. Ruiz C. *Dieta, Higiene y Salud Bucal*. León: Editorial Mic 2002;(3):31-47.

146. Figueiredo LR, Ferelle A. e Issao M. Odontología para el bebé. Odontopediatría desde el nacimiento hasta los tres años. En: Dieta y caries en la primera infancia. Fraiz FC. Trad. portg Caracas: AMOLCA. 2000;107-22.
147. Beighton D, Hellyer PH, Lynch EJ, Heath MR. Salivary levels of mutans streptococci, lactobacilli, yeasts, and root caries prevalence in non-institutionalized elderly dental patients. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1991 Oct;19(5):302-7.
148. Carlsson P, Ganour IA, Olsson B, Abbas K. High prevalence of mutans streptococci in a population with extremely low prevalence of dental caries. *Oral Microbiol. Immunol.* 1987;2:121-124.
149. Noguerol B, Llodra JC, Sicilia A, Follana M. La salud bucodental en España. 1994. En: La salud bucodental en España situación actual. Antecedentes y perspectivas de futuro. Madrid: Ediciones Avances 1995;(2):21-33.
150. Löe H, von der Fehr FR, Schiøtt CR. Inhibition of Experimental Caries by Plaque Prevention. The Effect of Chlorhexidine Mouthrinses. *Scand J Dent Res.* 1972;80:1-9.
151. Von der Fehr FR, Löe H and Theilade Else. Experimental Caries in Man. *Caries Res.* 1970;4:131-48.
152. Burt BA, Szpunar SM. The Michigan study: the relationship between sugars intake and dental caries over three years. *Int Dent J* 1994 Jun;44(3):230-40.
153. Garcia R, Garcia M, Serra L. A cross-sectional study of dental caries, intake of confectionery and foods rich in starch and sugars, and salivary counts of *Streptococcus mutans* in children in Spain. *Am J Clin Nutr* 1997 Nov;66(5):1257-63.

154. Lindquist B, Edward S, Torell P, Krasse B. Effect of different carriers preventive measures in children highly infected with mutans streptococci. *Scand J Dent Res.* 1989 Aug;97(4):330-7.
155. Fitzgerald RJ, Morhart RE, Marquez C, Adams BO. Inhibition of caries in hamsters treated with staphylococcin 1580. *Infect Immun* 1986 Nov; 54 (2): 288-90.
156. Løe H, and Schiøtt R. The Effect of Mouthrinses and Topical Application of Chlorhexidine on the Development of Dental Plaque and Gingivitis in Man. *J. Periodont. Res.* 1970;5: 79-3.
157. Schiøtt C, Løe H, Jensen Borglum S., Kilian, M., Davies R. M. and Glavind K., The Effect of Chlorhexidine Mouthrinses on the Human Oral Flora. *J. Periodont. Res.* 1970;5: 84-9.
158. Rølla G, Løe H, and Schiøtt CR. The Affinity of Chlorhexidine for Hydroxyapatite and Salivary Mucins. *J. Periodont Res.* 1970;5:90-5.
159. Davies RM, Jensen SB, Schiøtt CR, and Løe H. The Effect of Topical Application of Chlorhexidine on the Bacterial Colonization of the Teeth and Gingiva. *J. Periodont Res.* 1970;5:96-01.
160. Addy M. Chlorhexidine compared with other locally delivered antimicrobials. A short review. *J Clin Periodontol.* 1986 Nov;13(10):957-64.
161. Jones CG. Chlorhexidine: is it still the gold standard? *Periodontol* 2000. 1997;15:55-62.
162. Matthijs S, Adriaens PA. Chlorhexidine varnishes: a review. *J Clin Periodontol.* 2002;29(1):1-8.

163. Quirynen M, Avontroodt P, Peeters W, Pauwels M, Coucke W, van Steenberghe D. Effect of different chlorhexidine formulations in mouthrinses on de novo plaque formation. *J Clin Periodontol.* 2001 Dec;28(12):1127-36.
164. Adams D, Addy M. Mouthrinses. *Adv Dent Res.* 1994 Jul;8(2):291-01.
165. Bascone A, Manso FJ. Clorhexidina en Odontoestomatología: Conceptos actuales y revisión de la literatura. *Avances en Odontoestomatología* 1994;10:685-08.
166. Schiøtt CR, Løe H, & Brinner WW. Two Year Oral Use of Chlorhexidine in Man IV. Effect on various medical parameters. *J Periodont Res.* 1976;11:158-4.
167. Al-Tannir MA, Goodman HS. A Review of Chlorhexidine and its Use in Special Populations. *Spec Care Dent.* 1994;14(3):116-2.
168. Løe H., Schiøtt CR, Glavin L, Karring T. Two Years Oral Use of Chlorhexidine in Man I. General design and clinical effects. *J. Periodont Res* 1976;11:135-4.
169. Fure S, Emilson CG. Effect of chlorhexidine gel treatment supplemented with chlorhexidine varnish and resin on mutans streptococci and Actinomyces on root surfaces. *Caries Res.* 1990;24(4):242-7.
170. Flötra L, Gjermo P, Rölla G, and Waerhaug J. Side effects of chlorhexidine mouth washes. *Scand J dent Res.* 1971;79:119-5.
171. Gjermo P, and Eriksen H.M. Unchanged plaque inhibiting effect of chlorhexidine in human subjects after two years of continuous use. *Archs. Oral Biol.* 1974;19: 317-9.
172. Fan M, He H, Ling J. The effect of chlorhexidine varnish system on Streptococcus mutans in fissure plaques. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi* 1997;32(5):269-1.

173. Beyth N, Redlich M, Harari D, Friedman M, Steinberg D. Effect of sustained-release chlorhexidine varnish on *Streptococcus mutans* and *Actinomyces viscosus* in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2003 Mar;123(3):345-8.
174. Achong RA, Briskie DM, Hildebrandt GH, Feigal RJ, Loesche WJ. Effect of chlorhexidine varnish mouthguards on the levels of selected oral microorganisms in pediatric patients. *Pediatric Dentistry*. 1999;21(3):169-5.
175. Ekenbäck SB, Linder LE, Lonnie H. Effect of four dental varnishes on the colonization of cariogenic bacteria on exposed sound root surfaces. *Caries Res*. 2000 Jan-Feb;34(1):70-4.
176. Van Strijp AJ, van Steenberg TJ, ten Cate JM. Effects of chlorhexidine on the bacterial colonization and degradation of dentin and completely demineralized dentin in situ. *Eur J Oral Sci* 1997 Feb;105(1):27-5.
177. Schaeken MJ, Kejens HM, Van Der Hoeven JS. Effects of fluoride and chlorhexidine on the microflora of dental root surfaces and progression of root-surface caries. *J Dent Res* 1991 Feb;70(2):150-3.
178. Steinberg D, Amit U, Brayer L, Sela MN, Friedman M. The effect of sustained-release varnish of chlorhexidine in dental plastic shells on salivary *Streptococcus mutans*. *Clin Prev Dent* 1991 Mar-Apr;13(2):9-2.
179. Case DE. Safety of Hibitane. I. Laboratory experiments. *J Clin Periodontol*. 1977 Dec;4(5):66-2.
180. Fitzgerald RJ, Fitzgerald DB, Adams BO. Effects of chlorhexidine gluconate in drinking water on dental caries and oral microorganisms in the Syrian hamster. *Arch Oral Biol*. 1986;31(10):707-9.

181. Pham Huy D, Rouveix B. Antisépticos y desinfectantes. En: Farmacología Odontológica. Masson. 1994;(16):154-0.
182. Huizinga ED, Ruben JL, Arend J. Chlorhexidine and thymol release from a varnish system. J. Biol Buccale. 1991;19(4):343-8.
183. Petersson LG, Edwardsson S, Arends J. Antimicrobial effect of a dental varnish, in vitro. Swed Dent J. 1992;16(5):183-9.
184. Forgie AH, Paterson M, Pine CM, Pitts NB, Nugent ZJ. A randomised controlled trial of the caries-preventive efficacy of a chlorhexidine-containing varnish in high-caries-risk adolescents. Caries Res. 2000 Sep-Oct;34(5):432-9.
185. Baca P. Trabajo Original de investigación. Resumen: Influencia de la discontinuidad y del riesgo de caries en la eficacia de un programa de barniz de clorhexidina. Granada, 2003. 1-58.
186. Rioboo R. Quimioterapia de la Placa Bacteriana. Rev. Española de Estomatol. 1982;30:335-52.
187. Rioboo R. Control de la Placa Bacteriana por Agentes Químicos. En: Odontología Preventiva y Odontología Comunitaria. Madrid: Ediciones Avances 2002;7:197-32.
188. Rioboo R. y col. Control de la Placa Bacteriana y Clorhexidina. Rev. Española de Estomatol. 1985;33:79-92.
189. Addy M, Jenkins S, Newcombe R. Studies on the effect of toothpaste rinses on plaque regrowth. (I). Influence of surfactants on chlorhexidine efficacy. J Clin Periodontol. 1989 Jul;16(6):380-4.
190. Barkvoll P, Rolla G, Svendsen K. Interaction between chlorhexidine digluconate and sodium lauryl sulfate in vivo. J Clin Periodontol. 1989 Oct;16(9):593-5.

191. Greenstein G, Berman C, Jaffin R. Chlorhexidine. An Adjunt to Periodontal Therapy. *J. Periodontol Res.* 1986;57:370-7.
192. Ciancio S. Expanded and future uses of mouthrinses. *J Am Dent Assoc.* 1994 Aug;125 Suppl 2:29S-32S
193. Fischman SL. A clinician's perspective on antimicrobial mouthrinses. *J Am Dent Assoc.* 1994 Aug;125 Suppl 2:20S-22S
194. Meurman JH, Suhonen J. Combination chemotherapy of dental plaque infections. *Proc Finn Dent Soc.* 1991;87(4): 549-4.
195. Grundemann LJ, Timmerman MF, van der Velden U, van der Weijden GA. [Reduction of stain, plaque and gingivitis by mouth rinsing with chlorhexidine and peroxyborate] *Ned Tijdschr Tandheelkd.* 2002 Jul;109(7):255-9. [Article in Dutch].
196. Jenkins S, Addy M, Newcombe RG. A comparison of cetylpyridinium chloride, triclosan and chlorhexidine mouthrinse formulations for effects on plaque regrowth. *J Clin Periodontol.* 1994 Jul;21(6):441-4.
197. Twetman S, Petersson LG. Efficacy of a chlorhexidine and a chlorhexidine-fluoride varnish mixture to decrease interdental levels of mutans streptococci. *Caries Res.* 1997;31(5):361-5.
198. Zickert I, Emilson CG, Ekblom K, Krasse B. Prolonged oral reduction of *Streptococcus mutans* in humans after chlorhexidine disinfection followed by fluoride treatment. *Scand J Dent Res.* 1987 Aug;95(4):315-9.
199. Yates R, Jenkins S, Newcombe R, Wade W, Moran J, Addy M. A 6-month home usage trial of a 1% chlorhexidine toothpaste (1). Effects on plaque, gingivitis, calculus and toothstaining. *J Clin Periodontol.* 1993 Feb;20(2):130-8.

200. Mendieta C, Vallcorba N, Binney A, Addy M. Comparison of 2 chlorhexidine mouthwashes on plaque regrowth in vivo and dietary staining in vitro. *J Clin Periodontol.* 1994 Apr;21(4):296-0.
201. Barkvoll P, Rolla G, Bellagamba S. Interaction between chlorhexidine digluconate and sodium monofluorophosphate in vitro. *Scand J Dent Res.* 1988 Feb;96(1):30-3.
202. Barkvoll P, Rølla G, Bellagamba S. Chlorhexidine interactions with sodium monofluorophosphate and sodium lauryl sulphate. *Caries Res.* 1989;23:(2);120.
203. Rølla G, Løe, H, Schiøtt, CR. Affinity of Chlorhexidine Gluconate to hydroxyapatite and to Salivary Mucins. *Caries Res.* 1971;5:23.
204. Mandel ID. Antimicrobial mouthrinses: overview and update. *J Am Dent Assoc.* 1994 Aug;125 Suppl 2:2S-10S.
205. Addy M, Moran J. Comparison of plaque accumulation after topical application and mouth rinsing with chlorhexidine gluconate. *J Clin Periodontol.* 1983 Jan;10(1):69-1.
206. Bonesvoll P, Løkken P, Rølla G. and Paus P. Retention of Chlorhexidine in the Human Oral Cavity After Mouth Rinses. *Archs Oral Biol.* 1974;19: 209-2.
207. Bonesvoll P, Løkken P and Rølla G. Influence of concentration, time, temperature and pH on the retention of chlorhexidine in the human oral cavity after mouth rinses. *Archs oral Biol.* 1974;(19):1025-9.
208. Gjermo P, Bonesvoll P. Rølla G. Relationship Between Plaque-Inhibiting Effect and Retention of Chlorhexidine in the Human Oral Cavity. *Archs oral Biol.* 1973;19:1031-4.
209. Rølla G. And Melsen B. On the Mechanism of Plaque Inhibition by Chlorhexidine. *J Dent Res.* 1975;54: Special Issue B57-B62.

210. Röllä G. and Kaae O. Slow release of chlorhexidine in the oral cavity. A possible mechanism. *J. Dent. Res.* 1975; Special Issue A-B-C. 54. Abstr. L 33.
211. Liébana J, Baca P. Microbiología de las placas dentales. En: Liébana J. *Microbiología Oral*. Inter Americana. Mc.Graw-Hill. 1995;31:429-45.
212. Stanley A, Wilson M, Newman HN. The in vitro effects of chlorhexidine on subgingival plaque bacteria. *J Clin Periodontol.* 1989 Apr;16(4):259-4.
213. Flötra L, Gjerrmo P, Röllä G, Waerthaug J. A 4 month study on the effect of chlorhexidine mouthwashes on 50 soldiers. *Scand J Dent Res.* 1972;8:10-7.
214. Bretz WA, Valente MI, Djahjah C. et al: Chlorhexidine varnishes prevent gingivitis in adolescents. *J Dent Child*, 2000 November-December;67:398-1.
215. Lie T. and Enersent M. Effects of Chlorhexidine Gel in a Group of Maintenance Care Patients with Poor Oral Hygiene. *J. Periodontol.* 1986;57(6):364-9.
216. Schaeken MJ, van der Hoeven JS. Experimental gingivitis. *Ned Tijdschr Tandheelkd* 1993 Jan;100(1):31-2 [Article in Dutch].
217. Bretz WA, Valente MI, Djahjah C, do Valle EV, Weyant RJ, Nor JE. Chlorhexidine varnishes prevent gingivitis in adolescents. *ASDC J Dent Child* 2000 Nov-Dec;67(6):399-2.
218. Addy M, Moran J, Newcombe R. A comparison of 0.12% and 0.1% chlorhexidine mouthrinses on the development of plaque and gingivitis. *Clin Prev Dent.* 1991 May-Jun;13(3):26-9.
219. Smith RG, Moran J, Addy M, Doherty F, Newcombe RG. Comparative staining in vitro and plaque inhibitory properties in vivo of 0.12% and 0.2% chlorhexidine mouthrinses. *J Clin Periodontol.* 1995 Aug;22(8):613-7.

220. Gusberti FA, Sampathkumar P, Siegrist BE, Lang NP. Microbiological and clinical effects of chlorhexidine digluconate and hydrogen peroxide mouthrinses on developing plaque and gingivitis. *J Clin Periodontol.* 1988 Jan;15(1):60-7.
221. Ernst CP, Prockl K, y Willershausen B. Estudio clínico de la efectividad y efectos secundarios de colutorios de clorhexidina al 0,1% y al 0,2%. *Quintessence (ed. Esp.).* 1999;12(4):221-6.
222. Axelsson P. Current role of pharmaceuticals in prevention of caries and periodontal disease. *Int Dent J.* 1993 Oct;43(5):473-2.
223. Iacono VJ, Aldredge WA, Lucks H, Schwartzstein S. Modern supragingival plaque control. *Int Dent J.* 1998 Jun;48(3 Suppl 1):290-7. .
224. Sandham HJ, Brown J, Phillips HI, Chan KH. A preliminary report of long-term elimination of detectable mutans streptococci in man. *J Dent Res.* 1988 Jan;67(1):9-4.
225. MJ, Mikx FH. [Individual risk assessment of caries] : *Ned Tijdschr Tandheelkd* 1992 Jun;99(6):209-2. [Article in Dutch].
226. Petersson LG, Maki Y, Twetman S, Edwarsson S. Mutans streptococci in saliva and interdental spaces after topical applications of an antibacterial varnish in schoolchildren. *Oral Microbiol Immunol.* 1991 Oct;6(5):284-7.
227. Twetman S, Petersson LG. Comparison of efficacy of three different chlorhexidine preparations in decreasing the levels of mutans streptococci in saliva and interdental plaque. *Caries Res* 1998; 32(2):113-8.
228. Twetman S Petersson LG. Effect of different chlorhexidine varnish regimens on mutans streptococci levels in interdental plaque and saliva. *Caries Res* 1997;31(3):189-3.

229. Twetman S, Hallgren A, Petersson LG Effect of an antibacterial varnish on mutans streptococci in plaque from enamel adjacent to orthodontic appliances. *Caries Res.* 1995;29(3):188-1.
230. Twetman S, Petersson LG. Interdental caries incidence and progression in relation to mutans streptococci suppression after chlorhexidine-thymol varnish treatments in schoolchildren. *Acta Odontol Scand.* 1999;57(3):144–8.
231. Ogaard B, Larsson E, Glans R, Henriksson T, Birkhed D. [Antimicrobial effect of a chlorhexidine-thymol varnish (Cervitec) in orthodontic patients. A prospective, randomized clinical trial.] *J Orofac Orthop* 1997;58(4):206-3. [Article in English, German]
232. Junco-Lafuente MP, Baca-García P, y Mesa-Aguado FL. Utilización de la Clorhexidina en la prevención oral de pacientes de la tercera edad. *RCOE*, 2001;6(1):81-9.
233. Baca P, Muñoz MJ, Bravo M, Junco P, Baca AP. Effectiveness of chlorhexidine-thymol varnish for caries reduction in permanent first molars of 6-7-year-old children: 24-month clinical trial. *Community Dent Oral Epidemiol* 2002; 30(5):363-8.
234. Araujo AM, Naspitz GM, Chelotti A, Cai S. Effect of Cervitec on mutans streptococci in plaque and on caries formation on occlusal fissures of erupting permanent molars. *Caries Res* 2002 Sep-Oct;36(5):373-6.
235. Dasanayake AP, Wiener HW, Li Y, Vermund SV, Caufield PW. Lack of effect of chlorhexidine varnish on *Streptococcus mutans* transmission and caries in mother and children . *Caries Res* 2002 Jul-Aug;36(4):288-93.
236. Weiger R, Friedrich C, Netuschil L, Schlagenhaut U. Effect of chlorhexidine-containing varnish (Cervitec) on microbial vitality and accumulation of supragingival dental plaque in humans. *Caries Res* 1994;28(4):267-1.

237. Garcia MB, Nor JE, Schneider LG, Bretz WA. A model for clinical evaluation of the effect of antimicrobial agents on carious dentin. *Am J Dent* 2001 Jun;14(3):119-2.
238. Ie YL, Schaeken MJ. Effect of single and repeated application of chlorhexidine varnish on mutans streptococci in plaque from fissures of premolar and molar teeth. *Caries Res.* 1993;27(4):303-6.
239. Kejens HM, Creugers TJ, Schaeken MJ, Van der Hoeven JS. Effects of chlorhexidine-containing gel and varnish on abutment teeth in patients with overdentures. *J Dent Res.* 1992 Sep;71(9):1582-6.
240. Fardal O, Turnbull RS. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *J Am Dent Assoc.* 1986 Jun;112(6):863-9.
241. Emilson CG, Gisselsson H, Birkhed D. Recolonisation pattern of mutans streptococci after suppression by three different modes of chlorhexidine gel application. *Eur J Oral Sci.* 1999 Jun;107(3):170-5.
242. Newbrun E. Current treatment modalities of oral problems of patients with Sjogren's syndrome: caries prevention. *Adv Dent Res* 1996 Apr;10(1):29-4.
243. Joyston-Bechal S. Prevention of dental disease following radiotherapy and chemotherapy. *Int Dent J.* 1992 Feb;42(1):47-3.
244. Simons D, Kidd EA, Beighton D, Jones B. The effect of chlorhexidine/xylitol chewing-gum on cariogenic salivary microflora: a clinical trial in elderly patients. *Caries Res.* 1997;31(2):91-6.
245. Huizinga ED, Ruben J, Arends J. Effect of an antimicrobial-containing varnish on root demineralisation in situ. *Caries Res.* 1990;24(2):130-2.

246. Frentzen M, Ploenes K, Braun A. Clinical and microbiological effects of local chlorhexidine applications. *Int Dent J.* 2002 Oct;52(5):325-9.
247. Madlena M, Vitalyos G, Márton S, Nagy G. Effect of Chlorhexidine Varnish on Bacterial Levels in Plaque and Saliva During Orthodontic Treatment. *J Clin Dent.* 2000;11:42-6.
248. Eronat C, Alpoz AR. Effect of Cervitec varnish on the salivary Streptococcus mutans levels in the patients with fixed orthodontic appliances. *J Marmara Univ Dent Fac* 1997 Sep;2(4):605-8.
249. Sandham HJ, Nadeau L, Phillips HI. The effect of chlorhexidine varnish treatment on salivary mutans streptococcal levels in child orthodontic patients. *J Dent Res.* 1992 Jan;71(1):32-5.
250. Anderson GB, Bowden J, Morrison EC, Caffesse RG Clinical effects of chlorhexidine mouthwashes on patients undergoing orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1997 Jun;111(6):606-2.
251. Krasse B, Birkhed D, Diacono S. The effect of monitored chlorhexidine gel treatment on mutans streptococci in margins of restorations. *J Dent.* 1998 Jan;26(1):25-0.
252. Albertos JM, Junquera LM, Albertos MT, Olay S, y Lopez-Arranz E. La clorhexidina en pacientes especiales. *Revista Europea de Odonto-Estomatología.* 1997 noviembre-diciembre; IX (6):393-6.
253. Cinca L, Junco P, Bravo M, Baca P, Bolaños MV. Efectividad del barniz de clorhexidina-timol sobre el índice de placa en el síndrome de Down. *Avances en odontología.* 2002;18(3):171-6.

254. Junco P, Lucena M, Baca P, Bravo M, Baca A. Efectividad de un colutorio de clorhexidina al 0,12% en el control de placa y gingivitis en ancianos institucionalizados. *Archivos de Odonto Estomatología*. 2001 noviembre-diciembre;17(9):655-0.
255. Clavero J, Junco P, Baca P. El spray de clorhexidina como alternativa o complemento al cepillado dental en pacientes ancianos y discapacitados: revisión bibliográfica. *Archivos de Odonto Estomatología. Preventiva y Comunitaria*. 2002 noviembre-diciembre;18(9):649-3.
256. Martín Ó, Nova J, y Barbería E. Empleo de clorhexidina en las avulsiones dentarias del niño. Revisión y actualización de conceptos y procedimientos. *Quintessence (ed. Esp.)* 2001;14(2):93-8.
257. Addy M. Hixitane in the treatment of aphthous ulceration. *J Clin Periodontol*. 1977 Dec;4(5):108-6.
258. Van Rijkom HM, Truin GJ, van 't Hof MA. A meta-analysis of clinical studies on the caries-inhibiting effect of chlorhexidine treatment. *J Dent Res*. 1996 Feb;75(2):790-5.
259. Ullsfooss BN, Ogaard B, Arends J, Ruben J, Rolla G, Afseth J Effect of a combined chlorhexidine and NaF mouthrinse: an in vivo human caries model study. *Scand J Dent Res*. 1994 Apr;102(2):109-2.
260. Tinanoff N, Hock J, Camosci D, Hellden L. Effect of stannous fluoride mouthrinse on dental plaque formation. *J Clin Periodontol*. 1980 Jun;7(3):232-1.
261. Tinanoff N, Klock B, Camosci DA, Manwell MA. Microbiologic effects of SnF₂ and NaF mouthrinses in subjects with high caries activity: resus after one year. *J Dent Res*. 1983 Aug;62(8):907-1.

262. Bacca LA, Leusch M, Lanzalaco AC, et al. A comparison of intraoral antimicrobial effects of stabilized stannous fluoride dentifrice, baking soda/peroxide dentifrice, conventional NaF dentifrice and essential oil mouthrinse. *J Clin Dent* 1997;8(2 Spec No):54-1.
263. Netuschil L, Weiger R, Preisler R, Brex M. Plaque bacteria counts and vitality during chlorhexidine, meridol and listerine mouthrinses. *Eur J Oral Sci* 1995 Dec;103(6):355-1.
264. Hellden L, Camosci D, Hock J, Tinanoff N. Clinical study to compare the effect of stannous fluoride and chlorhexidine mouthrinses on plaque formation. *J Clin Periodontol.* 1981 Feb;8(1):12-6.
265. Giertsen E, Scheie A. Effects of chlorhexidine-fluoride mouthrinses on viability, acidogenic potential, and glycolytic profile of established dental plaque. *Caries Res* 1995;29:181-7.
266. Brown LR, White JO, Horton IM, Dreizen S, Streckfuss JL - "Effect of continuous fluoride gel use on plaque fluoride retention and microbial activity" *Dent Res.* 1983; 62(6):746-1.
267. Zickert I, Emilson CG - "Effect of a fluoride-containing varnish on *Streptococcus mutans* in plaque and saliva" *Scand J Dent Res.* 1982;90(6):423-8.
268. Joyston-Bechal S, Hernaman N. The effect of a mouthrinse containing chlorhexidine and fluoride on plaque and gingival bleeding. *J Clin Periodontol.* 1993 Jan;20(1):49-3.
269. Jenkins S, Addy M, Newcombe R. Evaluation of a mouthrinse containing chlorhexidine and fluoride as an adjunct to oral hygiene. *J Clin Periodontol.* 1993 Jan;20(1):20-5.

270. Petersson LG, Magnusson K, Andersson H, Almquist B, Twetman S. Effect of quarterly treatments with a chlorhexidine and a fluoride varnish on approximal caries in caries-susceptible teenagers: a 3-year clinical study. *Caries Res.* 2000 Mar-Apr;34(2):140-3.
271. Petersson LG, Magnusson K, Andersson H, Deierborg G, Twetman S. Effect of semi-annual applications of a chlorhexidine/fluoride varnish mixture on approximal caries incidence in schoolchildren. A three-year radiographic study. *Eur J Oral Sci.* 1998 Apr;106(2 Pt 1):623-7.
272. Brailsford SR, Fiske J, Gilbert S, Clark D, Beighton D. The effects of the combination of chlorhexidine/thymol- and fluoride-containing varnishes on the severity of root caries lesions in frail institutionalised elderly people. *J Dent.* 2002 Sep-Nov;30(7-8):319-4.
273. Arends J, Duschner H, Ruben JL. Penetration of varnishes into demineralized root dentine in vitro. *Caries Res.* 1997;31(3):201-5.
274. Addy M, Wright R. Comparison of the in vivo and in vitro antibacterial properties of providone iodine and chlorhexidine gluconate mouthrinses. *J Clin Periodontol.* 1978 Aug;5(3):198-5.
275. Moran J, Addy M, Newcombe R. A clinical trial to assess the efficacy of sanguinarine-zinc mouthrinse (Veadent) compared with chlorhexidine mouthrinse (Corsodyl). *J Clin Periodontol.* 1988 Nov;15(10):612-6.
276. Moran J, Addy M, Wade W, Milson S, McAndrew R, Newcombe RG. The effect of oxidising mouthrinses compared with chlorhexidine on salivary bacterial counts and plaque regrowth. *J Clin Periodontol.* 1995 Oct;22(10):750-5.

277. Renton-Harper P, Addy M, Moran J, Doherty FM, Newcombe RG. A comparison of chlorhexidine, cetylpyridinium chloride, triclosan, and C31G mouthrinse products for plaque inhibition. *J Periodontol*. 1996 May;67(5):486-9.
278. Moran J, Pal D, Newcombe R, Addy M. Comparison of a phenolic and a 0.2% chlorhexidine mouthwash on the development of plaque and gingivitis. *Clin Prev Dent*. 1991 Jul-Aug;13(4):31-5.
279. Moran J, Addy M, Newcombe R. The antibacterial effect of toothpastes on the salivary flora. *J Clin Periodontol*. 1988 Mar;15(3):193-9.
280. Ohtoshi T, Yamauchi N, Tadokoro K, Miyachi S, Suzuki S, Miyamoto T, Muranaka M. IgE antibody-mediated shock reaction caused by topical application of chlorhexidine. *Clin Allergy*. 1986 Mar;16(2):155-1.
281. Okano M, Nomura M, Hata S, Okada N, Sato K, Kitano Y, Tashiro M, Yoshimoto Y, Hama R, Aoki T. Anaphylactic symptoms due to chlorhexidine gluconate. *Arch Dermatol*. 1989 Jan;125(1):50-2.
282. Chisholm DG, Calder I, Peterson D, Powell M, Mou P. Intranasal chlorhexidine resulting in anaphylactic circulatory arrest. *BMJ*. 1997 Sep 27;315(7111):785.
283. Beitia J. M. y col. Acute urticaria due to chlorhexidine. *Alergol Inmunol Clin*. 2001;16:351-4.
284. Nuki K, Mackenzie IC, Schlenker R. Dpt. of Oral Biology, U. of Iowa, USA, Løe H, Schiøtt R, Aarhus, Denmark. Oxidative Enzymes in Human Oral Epithelia Following Two Years Chlorhexidine. *J. Dent. Res.* 1975; Special Issue A-B-C. 54. Abstr. L 35 .

285. Yates R, Jenkins S, Newcombe R, Wade W, Moran J, Addy M. A 6-month home usage trial of a 1% chlorhexidine toothpaste (1). Effects on plaque, gingivitis, calculus and toothstaining. *J Clin Periodontol*. 1993 Feb;20(2):130-8.
286. Addy M, Prayitno SW. Light microscopic and color television image analysis of the development of staining on chlorhexidine-treated surfaces. *J Periodontol*. 1980 Jan;51(1):39-3.
287. Addy M, Roberts WR. Comparison of the bisbiguanide antiseptics alexidine and chlorhexidine. II. Clinical and in vitro staining properties. *J Clin Periodontol*. 1981 Jun;8(3):220-0.
288. Addy M, Moran J, Davies RM, Beak A, Lewis A. The effect of single morning and evening rinses of chlorhexidine on the development of tooth staining and plaque accumulation. A blind cross-over trial. *J Clin Periodontol*. 1982 Mar;9(2):134-0.
289. Warner RR, Myers MC, Burns J, Mitra S. Analytical electron microscopy of chlorhexidine-induced tooth stain in humans: direct evidence for metal-induced stain. *J Periodontal Res*. 1993;28(4):255-5.
290. Nordbo H, Eriksen HM, Rolla G, Attramadal A, Solheim H. Iron staining of the acquired enamel pellicle after exposure to tannic acid or chlorhexidine: preliminary report. *Scand J Dent Res*. 1982 Apr;90(2):117-3.
291. Maynard JH, Jenkins SM, Moran J, Addy M, Newcombe RG, Wade WG. A 6-month home usage trial of a 1% chlorhexidine toothpaste (II). Effects on the oral microflora. *J Clin Periodontol*. 1993 Mar;20(3):207-1.
292. Claydon N, Addy M, Jackson R, Smith S, Newcombe RG. Studies on the effect of polyvinyl pyrrolidone on the activity of chlorhexidine mouthrinses: plaque and stain. *Journal of Clinical Periodontology*. 2001 Jun;28(6):558-4.

293. Claydon N, Manning CM, Darby-Dowman A, Ridge D, Smith S, Addy M. The effect of polyvinyl pyrrolidone on the clinical activity of 0.09% and 0.2% chlorhexidine mouthrinses: *Journal Of Clinical Periodontology*. 2001;28(11):1037-4.
294. Addy M, al-Arrayed F, Moran J. The use of an oxidising mouthwash to reduce staining associated with chlorhexidine. *Studies in vitro and in vivo. J Clin Periodontol*. 1991 Apr;18(4):267-1.
295. Eriksen HM, Solheim H, Nordbo H. Chemical plaque control and prevention of extrinsic tooth discoloration in vivo. *Acta Odontol Scand*. 1983;41(2):87-1.
296. Solheim H, Eriksen HM, Nordbo H. Chemical plaque control and extrinsic discoloration of teeth. *Acta Odontol Scand*. 1980;38(5):303-9.
297. Sanz M, Vallcorba N, Fabregues S, et al. The effect of a dentifrice containing chlorhexidine and zinc on plaque, gingivitis, calculus and tooth staining. *J. Clin Periodontol*. 1994; 21:431-7.
298. Waler SM, Rolla G. Plaque inhibiting effect of combinations of chlorhexidine and the metal ions zinc and tin. A preliminary report. *Acta Odontol Scand*. 1980;38:213-7.
299. Addy M, Dowell P. Dentine hypersensitivity: effect of interactions between metal salts, fluoride and chlorhexidine on the uptake by dentine. *J Oral Rehabil*. 1986 Nov;13(6):599-5.
300. Addy M, Hunter L. The effects of a 0.2% chlorhexidine gluconate mouthrinse on plaque, toothstaining and candida in aphthous ulcer patients. A double-blind placebo-controlled cross-over study. *J Clin Periodontol*. 1987 May;14(5):267-3.
301. Addy M, Wade W, Goodfield S. Staining and antimicrobial properties in vitro of some chlorhexidine formulations. *Clin Prev Dent*. 1991 Jan;13(1):13-7.

302. Addy M, Wade WG, Jenkins S, Goodfield S. Comparison of two commercially available chlorhexidine mouthrinses: I. Staining and antimicrobial effects in vitro. : Clin Prev Dent. 1989 Sep-Oct;11(5):10-4.
303. Criado V. Estado actual de los antimicrobianos en la prevención de la caries dental y la enfermedad periodontal. En: Seif T. Cariología. Prevención, diagnóstico y tratamiento contemporáneo de la caries dental. Caracas: AMOLCA 1997;10:258-78.
304. Rioboo R. Flúor: Historia; Biodisponibilidad; Farmacocinética; Toxicidad. En: Rioboo R. Odontología Preventiva y Odontología Comunitaria. Madrid: Ediciones Avances 2002; 12:329-60.
305. Lussi A. Validity of diagnostic and treatment decisions of fissure caries. Caries Res. 1991;25(4):296-3.
306. Ismail AI. Clinical diagnosis of precavitated carious lesions. Community Dent Oral Epidemiol. 1997 Feb;25(1):13-3.
307. Serra LL. Epidemiología: Principios, métodos y aplicaciones en Odontología. En : Cuenca E, Manau C, Serra LL. Odontología preventiva y comunitaria. Principios, métodos y aplicaciones. 2ª ed. Barcelona: Masson 1999;18:263-83.
308. Porgar S, Thomas S. Introducción a la investigación en las ciencias de la salud. En: Diseños experimentales. 2ª ed. Madrid: Churchill Livingstone 1992;(5):73-84.
309. Calatayud J, Martín G. Principios Básicos de Investigación y Estadística. En Bioestadística en la Investigación Odontológica. Madrid: Eitorial Pues S.L. 2003;(1):17-7.
310. World Health Organization. Oral Health Surveys. Basic Methods 4th ed., Geneva, WHO 1997.
311. SPSS. *SPSS 11.5 Syntax Reference Guide*. SPSS Inc. 2002.

312. Ferrán Aranaz, M. SPSS para Windows. Programación y Análisis Estadístico. Mc Graw Hill. 1996.
313. Parfitt, GJ. The Speed of Development of The Carious Cavity. Br. Dent. J. 1956;100:204-7.
314. Unkel JH, Fenton SJ, Hobbs G Jr, Frere CL. Toothbrushing ability is related to age in children. ASDC J Dent Child. 1995 Sep-Oct;62(5):346-8.
315. Carvalho JC, Ekstrand KR, Thylstrup A. Dental plaque and caries on occlusal surfaces of first permanent molars in relation to stage of eruption. J Dent Res. 1989 May;68(5):773-9.
316. Fennis-le YL, Verdonschot EH, Burgersdijk RC, Konig KG, van 't Hof MA. Effect of 6-monthly applications of chlorhexidine varnish on incidence of occlusal caries in permanent molars: a 3-year study. J Dent 1998 Mar; 26 (3):233-8.
317. Krasse B. Approaches to prevention. In: O'Brien W Y. et al. Proc. microbiol. Aspects of dental caries. Sp. Suppl. Microbiol.1976;3:867-876 Abstr.
318. Zickert I, Emilson CG, Krasse B. Microbial conditions and caries increment 2 years after discontinuation of controlled antimicrobial measures in Swedish teenagers. Community Dent Oral Epidemiol, 1987 Oct;15(5):241-4.
319. Almerich-Silla JM, San Antonio- Morat I, Tatay-Vivó V, y Ortolá-Siscar JC. Eficacia de un barniz de Clorhexidina y Timol, al 1%, en la reducción de los niveles de Mutans Streptococci y Lactobacilli en saliva. Un ensayo clínico. RCOE. 2000;5(6):643-9.
320. Haukali G, Poulsen S. Effect of a varnish containing chlorhexidine and thymol (Cervitec) on approximal caries in 13 to 16-year-old schoolchildren in a low caries area. Caries Res. 2003 May-Jun;37(3):185-9.

321. Luoma H. Chlorhexidine solutions, gel and varnishes in caries prevention. Proc Finn Dent Soc. 1992;88(3-4):147-3.
322. Arends J, Ruben J. Chlorhexidine CHX release by dentin after varnish treatment. Caries Res. 1993:206-240. Abstr. 88.

ANEXOS

*“Con constancia y tenacidad se obtiene lo que se desea;
la palabra imposible no tiene significado.”*

NAPOLEÓN I (1769-1821)

APROBACIÓN DEL COMITÉ DE ÉTICA H. C. SAN CARLOS

COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA
Hospital Clínico San Carlos
Área 7 -Madrid-

Telf. 330 34 13/ Fax. 330 32 99
e-mail: ceic@hcsc.insalud.es

DÑA. M^a DEL MAR GARCÍA ARENILLAS, SECRETARIA DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DEL HOSPITAL CLÍNICO SAN CARLOS DE MADRID

HACE CONSTAR

Que el proyecto de investigación titulado (116/99) "ESTUDIO A DOBLE CIEGO ALEATORIO ESTRATIFICADO SOBRE LA PREVENCIÓN QUIMIOTERAPÉUTICA DE LA CARIES DENTAL CON BARNICES DE CLORHEXIDINA Y TIMOL EN NIÑOS DE SEIS A OCHO AÑOS DE EDAD" del que es Investigadora Principal la Dra. M. García Santos, de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid, ha sido estudiado por este Comité, y han sido contestadas satisfactoriamente las aclaraciones solicitadas.

Es por ello que el Comité **informa favorablemente** sobre la realización de dicho proyecto.

Madrid, 18 de julio del 2000


Fdo.: Dra. M. García Arenillas

HOJA INFORMATIVA

HOJA DE INFORMACIÓN PARA EL PADRE/MADRE O REPRESENTANTE DEL NIÑO

Se llevará a cabo un estudio sobre la prevención quimioterapéutica de la caries dental con barnices de clorhexidina y timol, en niños de seis a ocho años de edad.

Introducción:

La caries dental figura entre las más significativas de las enfermedades humanas debido, simplemente, a la frecuencia de su aparición. Es la primera de las enfermedades crónicas, por el número de personas a las que ataca.

Motivo del estudio:

El motivo de este estudio es determinar la eficacia, del barniz antibacteriano, para prevenir las caries inclusive en pacientes con tendencia a la caries.

Riesgos:

No existe ningún tipo de riesgo para el paciente, y tiene una acción desinfectante que permite la reducción de un gran número de hongos y bacterias productoras de caries. Los componentes del barniz son la clorhexidina y el timol. La clorhexidina es uno de los antisépticos más seguros y eficaces que se conocen. El timol es un poco menos efectivo, pero la mezcla de ambos potencia el efecto antimicrobiano. Estos activos químicos se vienen utilizando hace varias décadas como enjuagues dentales y son los únicos que, hasta hoy en día, han sido aceptados por la Asociación Dental Americana, para el control de la placa bacteriana y gingivitis (inflamación de las encías) en pacientes.

Le invitamos a que su hijo participe en un estudio de investigación que evaluará la efectividad para reducir o evitar la formación de caries a través de un barniz dental. Una vez dado el consentimiento del padre o representante, se hará una selección ya que no todos los niños podrán participar en el proyecto. Si el niño es elegible para el estudio, será asignado aleatoriamente (como echar una moneda a cara o cruz) para recibir el barniz o el placebo (producto sin clorhexidina y sin timol). En lo sucesivo se les hará revisiones clínicas y cultivos bacteriológicos para saber la cantidad de bacterias que presentan en su boca. El estudio tendrá una duración de un año, con controles cada tres o seis meses. Estos tratamientos se llevarán a cabo en la enfermería del mismo Liceo Francés. Si tiene alguna pregunta o duda sobre el tratamiento, usted podrá contactar con la odontólogo García Santos M., en el número telefónico: 91 372 19 74 Fax: 91 734 19 52.

Beneficios:

A todos los niños que participen en este estudio se les eliminarán y restaurarán las caries que se les hayan desarrollado en sus primeros molares permanentes, y a los niños que no presenten caries, se les colocarán restauraciones preventivas, llamadas selladores de puntos y fisuras.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

MODELO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO POR ESCRITO

Estudio sobre la prevención quimioterapéutica de la caries dental con barnices de clorhexidina y timol, en niños de cinco a ocho años de edad.

Declaración de Consentimiento:

Yo _____
(nombre y apellidos)

en calidad de padre/madre _____ representante _____

De _____
(nombre y apellidos)

He leído la hoja de información que me han entregado

He podido hacer preguntas sobre el estudio

He recibido suficiente información sobre el estudio

He hablado con la odontólogo García Santos M.

Comprendo que la participación, de mi hijo o representado, es voluntaria y que puede retirarse del estudio cuando lo deseemos.

Presto libremente mi conformidad para que participe, mi hijo o representado, en el estudio.

FIRMA DEL PADRE/MADRE O REPRESENTANTE

FECHA