



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FÍSICAS Y QUÍMICAS
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA
ÁREA DE QUÍMICA
ÁREA DE MICROBIOLOGÍA**

**ESTUDIO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE SALIVA ANTES Y DESPUÉS
DEL USO DE GOMAS DE MASCAR MEDICADAS.**

Carmen Gloria Torres Zamanillo

**TRABAJO DE INVESTIGACION
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO-DENTISTA**

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Ismael Yévenes L.

TUTORES ASOCIADOS

Dra. Patricia Palma Fluxá

Prof. Marta Gajardo Ramírez

Santiago-Chile

2009

*A mis Padres, Gladys y Jorge
Por su amor y apoyo incondicional*

AGRADECIMIENTOS

- A mis tutoras asociadas Prof. Marta Gajardo R. y Dra. Patricia Palma F. del Departamento de Patología, Área de Microbiología, Facultad de Odontología, Universidad de Chile por su amabilidad, tiempo y dedicación en la realización de este trabajo.
- A mi tutor principal Prof. Ismael Yévenes L. por su ayuda en la realización de este trabajo y en especial su colaboración durante la realización del trabajo experimental en el Laboratorio de Química.
- A los profesores del Área de Microbiología y al Sr. Jaime Donoso por su ayuda y colaboración durante la realización del trabajo experimental en el Laboratorio de Microbiología.
- Al Dr. Alejandro Oyarzún, por su asesoría y ayuda en la realización del análisis citotóxico.
- A mis grandes amigas por sus consejos, apoyo, amistad y por haber hecho más fácil y agradable cada momento vivido durante la carrera.
- A todos los que participaron en la parte experimental de este trabajo, mascando gomas de mascar, compañeros y amigos de esta Facultad, Muchas gracias.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
MARCO TEÓRICO.....	5
I. Caries Dental.....	5
• Epidemiología y Generalidades.....	5
• Microbiología de la Caries.....	9
✓ Placa bacteriana dental.....	9
✓ <i>Streptococcus mutans</i>	12
• Química de la caries.....	14
✓ Proceso de desmineralización.....	14
✓ Capacidad buffer.....	18
✓ Flujo Salival.....	18
• Factores salivales a evaluar para determinar el riesgo de caries.....	21
II. Gomas de mascar.....	22
III. Xilitol.....	27
IV. Clorhexidina.....	30
V. Para-clorofenol y Peróxido de Hidrógeno.....	33
VI. Acontecimientos Adversos.....	37
HIPÓTESIS.....	40
OBJETIVOS.....	40

MATERIALES Y MÉTODOS.....	42
I. Diseño del estudio.....	42
II. Selección de los sujetos.....	42
III. Distribución de las gomas de mascar.....	44
IV. Desarrollo del ensayo y evaluación de la respuesta experimental.....	48
V. Procedimientos de laboratorio.....	53
RESULTADOS	57
I. Caracterización del grupo de sujetos estudiados.....	57
II. Análisis químico.....	58
III. Análisis Microbiológico.....	61
IV. Acontecimientos Adversos.....	64
DISCUSIÓN.....	68
CONCLUSIONES.....	76
SUGERENCIAS.....	78
RESUMEN.....	80
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82
ANEXOS Y APÉNDICES.....	91
1. Acontecimientos Adversos.....	91
2. Ficha clínica N° 1.....	97

3. Ficha clínica N° 2.....	99
4. Ficha de recepción de Acontecimientos Adversos.....	100
5. Estudio de Citotoxicidad.....	101
6. Hoja de Información General.....	108
7. Tabla Distribución Aleatoria.....	110
8. Consentimiento informado.....	111

INTRODUCCIÓN

Actualmente la Caries, las Enfermedades Periodontales y las Anomalías Dentomaxilares constituyen las patologías de mayor prevalencia en salud bucal y afectan de forma importante la calidad de vida de las personas ¹.

La caries dental es una de las enfermedades de etiología bacteriana más común entre los seres humanos y se considera un problema de salud pública en muchas partes del mundo ². En niños y adolescentes de nuestro país esta es la patología bucal de mayor prevalencia^{3, 4}. La Caries dentaria es una enfermedad infecciosa, polimicrobiana, localizada, progresiva y transmisible que afecta a los tejidos duros de las piezas dentarias y es producto de una serie de cambios gatillados por especies bacterianas determinadas, entre ellas *Streptococcus mutans* (*S.mutans*), presente en la biopelícula de placa bacteriana supragingival. Estas bacterias mediante sus factores de virulencia son capaces de provocar la pérdida de minerales y posterior formación de una cavidad, debido al desequilibrio iónico en el proceso de mineralización y desmineralización de los tejidos duros del diente resultante del metabolismo de carbohidratos de estas bacterias ^{5,6}.

El abordaje de la caries como patología en la población, requiere de esfuerzos conjuntos que involucren educación y prevención, además de la implementación de atenciones y medidas efectivas de tratamiento ³.

Diversos investigadores han abordado el estudio de la prevención de enfermedades bucales, particularmente de la caries dental, poniendo especial énfasis en las medidas de control de la formación de placa bacteriana para reducir así la presencia del agente patógeno principal. Numerosos antimicrobianos como Clorhexidina y Vancomicina, y edulcorantes naturales, como Xilitol, se han usado para controlar la infección por *Streptococcus mutans*, reduciendo así las enfermedades mediadas por placa supragingival ¹.

El Paraclorofenol Alcanforado (PCFA) y el peróxido de hidrógeno (PH), entre otros, al igual que la Clorhexidina (CHX), son inhibidores químicos de placa bacteriana ^{7, 8}. El Paramonoclorofenol es uno de los compuestos fenólicos que se ha usado durante años en *odontología*, específicamente en el área de Endodoncia, debido a su gran poder antibacteriano ^{9,10}. El Peróxido de Hidrógeno es un ácido débil, usado al 3% como antiséptico y desinfectante. Éste posee un efecto bactericida y por estudios *in vitro* se ha demostrado que inhibe el crecimiento de *S. mutans* ¹¹.

Con el objetivo de utilizar estos antisépticos como medio de difusión masiva en la población para el control de la placa bacteriana, se han incorporado a las gomas de mascar o chicles, actualmente producto de uso muy común en la población ¹². Sus beneficios para la salud bucal son conocidos ya que corresponde a un efectivo método mecánico de remoción de placa bacteriana, de restos alimenticios y limpieza del diente, sin embargo solo es secundario al cepillado dental. Masticar chicle, además incrementa el flujo salival a través de una combinación de estimulación mecánica y gustatoria, incrementa el pH de la placa y de la saliva y lo más importante es que puede servir como vehículo para la entrega y liberación de medicamentos tales como Clorhexidina, enzimas, flúor, agentes blanqueadores, antibióticos y antisépticos. La adición de antisépticos y antibióticos a las gomas de mascar puede contribuir al control de la placa bacteriana mejorando la higiene bucal de la población ¹²⁻¹⁵.

La actividad antibacteriana del uso de gomas de mascar medicadas ya se ha demostrado, sin embargo pocos estudios han tenido resultados frente a bacterias bucales de impacto en la clínica odontológica ¹⁵.

En base a los antecedentes presentados anteriormente, el objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antibacteriana frente a *S. mutans*, del

uso de goma de mascar medicada con Paraclorofenol-Alcanfor-Peróxido de Hidrógeno, formulada en el Laboratorio de Química de la Facultad de Odontología, Universidad de Chile. Como control del procedimiento realizado se usó gomas de mascar medicadas con Xilitol y Clorhexidina ya que la eficacia antimicrobiana de estas se había comprobado previamente.

Además, con el fin de establecer la influencia del uso de gomas de mascar sobre tres parámetros químicos salivales como flujo, pH y capacidad amortiguadora, éstos fueron evaluados antes del uso de chicles medicados y una semana después.

MARCO TEÓRICO

I. Caries dental

- **Epidemiología y Generalidades**

La caries dental actualmente constituye un problema de salud social, cultural y económico. De acuerdo a la literatura, la prevalencia de la caries en poblaciones de bajos recursos de países desarrollados, equivale a la de un país subdesarrollado¹.

La incidencia de la caries en el mundo industrializado sigue siendo muy importante debido a la naturaleza multifactorial de esta enfermedad, a programas de prevención limitados, al establecimiento de dietas cariogénicas y a la falta de profesionales para cubrir las necesidades odontológicas de la población.

En Chile, un estudio realizado en el año 1990 estimó que un 90% de la población adulta tenía caries dental, con un promedio de 12 dientes comprometidos por individuo; la población infantil en cambio, mostró un promedio de 10,5 dientes afectados a los seis años³.

En un estudio más reciente realizado por el Ministerio de Salud (MINSAL), llamado “Impacto de la Fluoruración del Agua Potable en la Región Metropolitana”, se observó un 24,25% de niños libres de caries entre los 6 y 8 años de edad, sin diferencias asociadas al sexo del niño ⁴.

Siendo la caries dental una patología que afecta la salud integral de las personas, resulta esencial identificar y controlar a los grupos de alto riesgo para evitar el desarrollo de nuevas lesiones cariosas. En este sentido, los grupos que se encuentran más expuestos al riesgo de desarrollar caries dental son las poblaciones de nivel socioeconómico bajo o de bajos niveles de escolaridad, de higiene oral escasa, sin seguro dental o sin acceso a servicios dentales ⁴.

Factores individuales que contribuyen al riesgo de caries son caries dental activa, recesión gingival, niveles altos de bacterias cariogénicas en boca, malformaciones dentales, flujo salival reducido, capacidad amortiguadora salival baja y el uso de aparatos ortodóncicos o de prótesis dentales. El riesgo aumenta aún más si cualquiera de estos factores se combina con dietas inadecuadas, como el consumo frecuente de carbohidratos refinados, pero puede disminuir con una exposición adecuada a fluoruros ².

La caries dental es una enfermedad infecciosa crónica, polimicrobiana, transmisible, localizada y multifactorial, que afecta inicialmente a los tejidos duros del diente, esmalte y cemento ⁵. Los factores determinantes en la aparición de esta enfermedad son un hospedero susceptible, la presencia de microorganismos patógenos, una dieta cariogénica, y un tiempo mínimo de interacción entre estos factores ⁶.

Cuando las bacterias cariogénicas en la placa dental metabolizan sustratos de la dieta, especialmente azúcares, produciendo ácidos que desmineralizan la superficie cristalina del esmalte adyacente, sobreviene la formación de una lesión cariosa. La desmineralización implica la pérdida de calcio, fosfato y carbonato, sin embargo estos minerales pueden ser captados por la placa circundante y estar disponibles para la remineralización de la superficie del esmalte. La progresión de la caries ocurre cuando existe un desbalance entre desmineralización y remineralización, con la consiguiente pérdida de minerales y formación de una cavidad. Es importante comprender que las cavitaciones en los dientes son signo de infección bacteriana ⁶.

Una lesión cariosa puede encontrarse en distintos estadios según su actividad; y desde ese punto de vista se pueden distinguir caries agudas, caries crónicas o caries reagudizadas ⁵⁻¹⁶.

Los tres factores primarios ya mencionados, incidentes en la producción de la caries dental, representan la clásica “triada de Keyes” a la cual posteriormente se adicionó el tiempo como un cuarto factor, estableciéndose así la Triada de Keyes Modificada” ¹⁷. Para que la caries dental se desarrolle, estos factores deben estar presentes e interactuar en condiciones óptimas, es decir en un hospedero con tejidos susceptibles (dientes), colonizado por una microbiota con potencial cariogénico, consumiendo con frecuencia (tiempo) una dieta rica en sacarosa e hidratos de carbono. Bajo estas condiciones se pueden desarrollar placas dentales predominadas por bacterias cariogénicas y después de un tiempo, aparecer la lesión cariosa ¹⁷.

La saliva, la higiene bucal, la exposición al flúor, la cariogenicidad del sustrato local (dieta) y el potencial cariogénico de la microbiota son factores secundarios que aumentan o disminuyen la resistencia de los dientes. Es decir pueden modular la actividad de la caries ^{6, 17}. Factores terciarios son la educación y la motivación odontológica, los cuales cumplen un rol muy importante en el éxito de tratamiento y prevención de la enfermedad ¹⁷.

Por ser la caries dental una enfermedad bacteriana infectocontagiosa de etiología multifactorial (Keyes 1960), es importante tener claro cuales son los eventos claves involucrados en su iniciación, para así poder identificar los agentes terapéuticos que permitan eliminar y controlar el proceso de la enfermedad ¹⁸.

- **Microbiología de la Caries**

Placa bacteriana dental

La placa bacteriana dental se ha definido como una masa blanda, translúcida y muy adherente que se acumula sobre la película dental adquirida de la superficie de los dientes, formada casi exclusivamente por bacterias y sus productos ^{6,17}. La Organización Mundial de la Salud (OMS) la define como “*una entidad bacteriana proliferante, enzimáticamente activa, que se adhiere firmemente a la superficie dentaria y que por su actividad bioquímicamente metabólica ha sido propuesta como el agente etiológico principal en el desarrollo de la caries*” ¹⁸. Su acumulación corresponde a una sucesión de acontecimientos muy ordenados y perfectamente organizados ^{6,17}.

La placa dental se encuentra formada además, por una matriz orgánica con restos de alimentos, células mucosas muertas y componentes salivales que le permiten adherirse al esmalte del diente. También contiene minerales, calcio y fósforo; proteínas, polisacáridos, carbohidratos y lípidos. Las bacterias capaces de producir caries se alojan en la placa dental, pudiendo atravesar la superficie disuelta, atacar el esmalte subyacente y alcanzar la pulpa, producir la pérdida de estructura dental, dolor y concluir con la necesidad de extracción de esta pieza dentaria. La complicación infecciosa de este proceso podría desencadenar una infección sistémica aguda ¹⁸.

La formación de la placa dental sobre la pieza dentaria expuesta al medio, comienza, aunque haya sido prolijamente escobillada, a los pocos minutos cuando se deposita sobre ella una capa mucinosa acelular, libre de bacterias llamada “cutícula dentaria” o película dental adquirida. Luego se agregan a ella diversas formas bacterianas, adhiriéndose mediante uniones iónicas, electrostáticas o de tipo ligando-lectina, colonizándola y comenzando a elaborar dextrán, un polisacárido extracelular de alto peso molecular, viscoso y muy adherente, el cual se produce exclusivamente a partir de la sacarosa ¹⁸. *Streptococcus mutans* es una de las pocas especies capaces de adherirse tanto a mucosa como a la superficie dentaria ¹⁸.

Las bacterias adherentes poseen receptores especiales que les permiten coagregarse fuertemente entre si, proceso facilitado por la síntesis de dextrán. Una vez adheridos, los microorganismos pioneros proliferan y se extienden lateralmente, formando una cubierta similar a una estera sobre la superficie del diente. Posteriormente, el crecimiento bacteriano es en volumen, hacia el exterior y vertical sobre dicha superficie. La placa bacteriana en maduración permite que se adhieran otros microorganismos, colonizadores tardíos como bacterias filamentosas y espirales, que de otro modo no podrían fijarse a esta superficie.

La formación de una placa dental madura trae consigo una serie de cambios cualitativos y cuantitativos en la composición microbiana, cada uno dependiente de la fase previa durante la que se preparan las condiciones locales para la siguiente fase de colonización ^{6, 17, 19}. Entre cuatro y diez días ya se puede observar una placa dental madura ¹⁸.

Streptococcus mutans

Entre los muchos microorganismos presentes en la cavidad bucal, el género implicado con mayor frecuencia como causante de caries es *Streptococcus* y dentro de éste, la especie *Streptococcus mutans*.

Hoy en día se presume una importante función de *S. mutans* en el inicio de la lesión, aunque no es la primera especie en colonizar la superficie dental. Otro género que se asocia fuertemente a la presencia de caries dental es *Lactobacillus*, aunque su participación se correlaciona más con el avance de la lesión que con el inicio, ya que son bacterias que prosperan en el medio cariioso y contribuyen a la progresión de la enfermedad ¹⁸.

Streptococcus mutans es una especie de bacterias cocáceas, Gram positivo, microaerofílicas, agrupadas en cadena. Para poder crecer y desarrollarse “in vitro” necesita de medios enriquecidos y un ambiente con baja tensión de oxígeno ^{19, 20}.

Durante muchos años ha sido materia de estudio la participación de *S. mutans* en la iniciación y progresión de la caries dental. Algunas de sus características fenotípicas son determinantes en su cariogenicidad. Existen varios factores asociados a la virulencia de esta especie entre los cuales se puede mencionar

su poder acidogénico, ya que metaboliza hidratos de carbono a ácidos; su poder acidofílico, pues es capaz de crecer a pH 5.2 y su carácter acidúrico, ya que puede mantenerse metabólicamente activo a pesar de un pH bajo ^{1, 18, 19}. Sin embargo, no todas las cepas tienen estas características y algunas son más patógenas que otras ^{1, 18}. Las propiedades de patogenicidad de algunas, permiten su adaptación y crecimiento sobre la película adquirida del esmalte y así la colonización del diente. En esta etapa influyen factores exógenos como el mayor o menor consumo de sacarosa en la dieta.

Para que *S. mutans* se disemine entre las superficies dentarias, debe estar presente en cantidad suficiente en la saliva, para poder vencer la resistencia a la colonización que opone la microbiota bucal normal ^{17, 18}.

En cuanto a su participación en la formación de placa bacteriana, *S. mutans* posee la habilidad de producir glucosiltransferasas (GTF), enzimas que tienen un rol principal en las interacciones adhesivas y en la expresión de virulencia de estos microorganismos debido a que catalizan la síntesis de polisacáridos extracelulares que promueven la adhesión de streptococcus cariogénicos a la superficie del diente ^{6, 19}. Las glucosiltransferasas proporcionan a la célula un

sustrato de donde obtener energía y mantener la producción de ácido durante largos períodos de tiempo²¹.

A partir del metabolismo de la sacarosa estos microorganismos generan principalmente ácido láctico, fundamental en la virulencia, siendo este el ácido más potente que interviene en la desmineralización del esmalte dentario¹⁸.

- **Química de la Caries**

Proceso de desmineralización

Los dientes deben ser capaces de resistir la presión de masticación, además del efecto de diversas sustancias químicas y traumas físicos. Un evento que constantemente ocurre es el fenómeno de la desmineralización. Los procesos de mineralización y desmineralización del esmalte se asocian a las características medioambientales que permiten mantener la integridad del cristal de hidroxiapatita²². La Hidroxiapatita, es el fosfato de calcio más

importante en el reino animal porque está estrechamente relacionado con el fosfato de calcio básico de los huesos y dientes.

La concentración de calcio y fosfato en saliva es conocida. Se cuenta con menos información de estos iones en el líquido de la placa. Descontando el aporte de los protones en la saliva, serán las concentraciones de calcio, fosfato y fluoruro en el fluido de la interfase placa-diente quienes determinarán cuando el equilibrio entre la fase sólida y la líquida se altere ²².

La fase mineral predominante en el esmalte es la hidroxiapatita carbonatada, la que incluye muchos iones diferentes incluyendo el fluoruro. A pH neutro, la concentración de fosfato de calcio en la saliva es suficiente para sobresaturarlo con respecto a la hidroxiapatita, por lo cual la saliva a pH neutro se encuentra sobresaturada con respecto a la fase mineral, así se mantiene la integridad del esmalte ²².

El equilibrio de la disociación de hidroxiapatita es muy sensible a las variaciones de pH del medio circundante y ejerce su efecto alterando la concentración de los iones fosfato e hidroxilo. A pH neutro (7,0) la saliva se sobresatura con fosfato de calcio en sus formas mono (HPO_4^{2-}) o di hidrógeno (H_2PO_4^-).

Sin embargo, a medida que el pH se hace más ácido el grado de sobresaturación disminuye hasta que la saliva deja de estar sobresaturada respecto a la fase mineral del diente. Esto se conoce como "pH crítico" y se encuentra normalmente en la región de pH 5,2-5,5 dependiendo de la composición particular de la saliva del individuo. Si el pH llega a ser más alcalino, el grado de saturación con respecto al diente, el aumento en la concentración de minerales y fundamentalmente el fosfato de calcio, favorecen la precipitación de sales, como brushita, de rápida formación, dando origen a los cálculos dentales²².

Una de las principales funciones de la saliva es proteger el esmalte dental contra su disolución en el medio salival. Esto se logra controlando el pH de la cavidad bucal por medio de los iones bicarbonato y manteniendo un estado sobresaturado con respecto a la fase mineral. Aunque el bicarbonato puede ejercer un efecto independiente neutralizando el ácido, se debe controlar también el grado de la saturación de fosfato de calcio de la saliva, con respecto al mineral del esmalte²².

En los dientes erupcionados, la saliva se sobresatura con respecto al mineral del esmalte dental y debería esperarse que continuara el depósito de mineral,

sin embargo, esto no ocurre debido a que la solución de fosfato de calcio, requiere de un núcleo central para la deposición de hidroxiapatita y a que gran parte de la superficie de los dientes está revestida con la película salival adquirida que enmascara los cristales. La saliva contiene también una variedad de péptidos que sirven para estabilizar el fosfato de calcio soluble. A pesar de esto, el equilibrio entre la hidroxiapatita y sus iones puede verse alterado generando desmineralización que se traduce en erosión del esmalte o caries ²².

La lesión cariosa tiene una evolución bastante compleja, originándose por un descenso del pH derivado de los productos ácidos del metabolismo microbiano. Los protones H^+ originados son inicialmente “neutralizados” por el tampón salival, pero cuando el pH continúa bajando se produce el agotamiento de la capacidad amortiguadora. La continua producción de H^+ produce desequilibrios entre la fase sólida de la hidroxiapatita y sus iones en solución, promoviéndose la liberación de iones OH^- , PO_4^{3-} y Ca^{2+} . Esto ocurre porque el esmalte, si bien es sólido, aún en etapas post-eruptivas se comporta como un sólido poroso que contiene proteínas, lípidos y agua originados en su desarrollo ²².

Capacidad Amortiguadora

La función amortiguadora de la saliva, habilidad para contrarrestar los cambios de pH, se debe principalmente a la presencia del bicarbonato ya que la influencia del fosfato es menor²³. Esta propiedad ayuda a proteger a los tejidos bucales contra la acción de los ácidos provenientes de la comida o de la placa dental, por lo tanto, puede reducir el potencial cariogénico del ambiente²⁴. Los amortiguadores funcionan convirtiendo una solución ácida o alcalina, altamente ionizada que tiende a alterar el pH, en una solución más débilmente ionizada. El principal amortiguador de la saliva es el bicarbonato, cuya concentración varía de acuerdo al flujo salival. El fosfato y las proteínas también actúan como amortiguadores salivales^{25, 26}.

Fluido y Flujo Salival

El Fluido Salival es aquel fluido compuesto por las secreciones de las glándulas salivales mayores y menores, por el exudado gingival, microorganismos y sus productos, células epiteliales, restos alimenticios y exudado nasal. Flujo Salival se define como la cantidad de saliva obtenida durante un tiempo definido y es, sin lugar a dudas, uno de los factores más importante para controlar el desarrollo de la caries dental²⁷.

La saliva puede clasificarse, de acuerdo a la forma por la cual es obtenida, en estimulada y no estimulada ^{28, 29}. La saliva basal o no estimulada es aquella que se obtiene cuando el individuo está despierto y en reposo, siendo mínima la estimulación glandular o en ausencia de estímulos exógenos ²⁸.

La saliva estimulada es aquella que se obtiene al excitar o inducir, con mecanismos externos, la secreción de las glándulas salivales. Estos estímulos pueden ser mecánicos o gustatorios. En este caso, la glándula parótida es la que toma el mando y hace un aporte mayor de fluido salival el cual es de un 50% ^{28, 29}. Por lo tanto, la composición de la saliva mixta estimulada es muy parecida a la secreción hecha por la glándula parótida cuando se estimula o excita debido a su aporte a la saliva total ²⁹.

La tasa de flujo salival es uno de los puntos más importantes para determinar el riesgo de caries y puede ser modificada por diferentes factores ³⁰. Una tasa de flujo salival adecuada es esencial para que la salud bucal se mantenga, pero este equilibrio puede interrumpirse al alterarse el balance entre el hospedero y los microorganismos, dando lugar al crecimiento excesivo de las bacterias. En personas sanas, la tasa de flujo salival basal o no estimulada se puede ver afectada por la edad, el ritmo circadiano, el ritmo circanual, la posición corporal, la luminosidad ambiental, la tensión, el tabaquismo, la estimulación gustativa

previa, la estimulación olfativa, la estimulación psíquica y grado de hidratación

24 .

Existen también factores que tienen influencia sobre la tasa de flujo de saliva estimulada, como el estímulo mecánico, el vómito, estímulos gustativos y olfatorios, el tamaño de la glándula y la edad ²⁹.

La saliva tiene una función protectora, el incremento de la actividad de caries en personas con flujo salival reducido se debe no sólo a una disminución de la resistencia del hospedero, sino también a cambios microbianos.

Con respecto a la actividad cariogénica relacionada con el flujo salival y la capacidad amortiguadora de la saliva, Fure ³¹ en 1998, reportó una mayor incidencia de caries en individuos con una edad comprendida entre 60 y 80 años de edad donde el flujo salival estaba disminuido y el recuento de microorganismos como *Streptococcus sobrinus* estaba incrementado hasta en un 39%, durante un período de estudio de 5 años.

- **Factores salivales a evaluar para determinar el riesgo de caries.**

Numerosas investigaciones han puesto en evidencia la importancia de la saliva en la protección de los tejidos orales.

Algunos de los factores salivales que determinan el riesgo de caries en un individuo y que fueron evaluados en este estudio son los indicados en la Tabla 32-36.

Tabla I: Factores salivales y categoría de riesgo de caries:

Factor salival	Categoría de riesgo		
	Bajo	Medio	Alto
Flujo salival	≥ 1 ml /minuto	0,7-1 ml/minuto	$\leq 0,7$ ml/minuto
Capacidad Amortiguadora	pH 5-7	pH 4-5	pH < 4
<i>S. mutans</i> (UFC*/ml)	$<10^5$	$10^5 - 10^6$	$\geq 10^6$

*UFC: Unidades formadoras de colonias.

II. Gomas de mascar

Aunque la primera goma de mascar medicada fue introducida en USA en 1940, su gran potencial como liberadora de drogas y medicamentos ha pasado bastante inadvertido hasta la fecha. Sin embargo, la goma de mascar aparece listada como forma de dosificación en la directriz farmacéutica y como estándar en la farmacopea Europea ^{37, 38}. Se han estudiado gomas de mascar como sistema de entrega de varios agentes profilácticos y terapéuticos dentales locales y existen varias de ellas registradas que son comercializadas en distintos países ¹². Algunos ejemplos son: Fluorette® (medicada con flúor); Vitaflo CHX® (antibacteriano), Advanced+® (con Clorhexidina) y HEXIT® (acción antibacteriana) ³⁹.

Composición

La goma de mascar consiste en una masa de goma base co-formulada con varios otros ingredientes cuya función es dar a la goma de mascar la textura, sabor y sensación adecuados, y además impedir que ésta se pegue al diente

⁴⁰.Entre sus componentes se encuentran:³⁹

- ✓ Goma Base natural o sintética.
- ✓ Aditivos utilizados para mejorar las propiedades de la goma de mascar. Estos son plastificantes, elastómeros, lípidos (soyabil), emulsionantes (lecitina), suavizantes, agentes de textura (talco), revestimiento y aglutinantes, formadores de película, agentes colorantes como jarabe de maíz, que mantiene la goma flexible y fresca.
- ✓ Sustancias activas como vitaminas, anticonceptivos orales, nicotina, minerales, analgésicos, antiácidos, relajantes musculares, antihistamínicos, descongestionantes, anestésicos, antitusivos y antibióticos.
- ✓ Saborizantes como aceites esenciales, menta, hierba buena, anís y saborizantes sintéticos.
- ✓ Endulzantes y/o edulcorantes como el sorbitol, manitol, xilitol, aspartame y sacarina, entre otros.

Ventajas

El uso de goma de mascar como vehículo de medicamentos tiene las ventajas de que puede ser usada sin agua, en cualquier momento y lugar. Su estabilidad es buena, ya que los agentes terapéuticos incorporados están protegidos del oxígeno, luz y agua ¹³.

Diversas publicaciones, indican que el principal beneficio de la goma de mascar en la salud bucal se basa en el incremento del flujo salival ¹⁴, que ocurre durante la masticación del chicle. Los incrementos en el flujo salival dan como resultado también, un incremento en el pH y en la capacidad amortiguadora salival debido a un incremento en la concentración de bicarbonato, un incremento en la tasa de liberación oral de azúcar y placa ácida por un aumento de la velocidad de formación de la película salival y un incremento en la oferta de urea, la cual es un importante sustrato para la producción alcalina de la placa dental. El incremento en el flujo salival trae consigo además la remineralización de lesiones de caries tempranas, promovidas por el aumento en el grado de sobresaturación de saliva con respecto a los minerales dentales ¹⁴.

Otras ventajas de las gomas de mascar son la mejor aceptación del tratamiento por su fácil administración, mejor distribución bucal del agente terapéutico, más larga presencia en la cavidad bucal ¹⁵, rápido inicio de la acción y alta

biodisponibilidad ⁴¹, agradable sabor, lista para su uso, alta aceptación por parte de niños y jóvenes ³⁹. Además, ofrece la posibilidad de liberar el medicamento de una manera controlada por períodos prolongados de tiempo, otorgando un efecto terapéutico local prolongado. La tasa de liberación controlada también reduce el riesgo de efectos secundarios y se evitan altas concentraciones plasmáticas ³⁹.

Desventajas

La concentración de medicamentos en la cavidad bucal siempre tiende a disminuir como resultado de la dilución en la saliva ³⁹. La liberación de medicamentos en saliva desaparece rápidamente de la cavidad bucal debido a la deglución involuntaria ³⁹. La liberación del medicamento desde la goma de mascar ha mostrado ser fuertemente influenciada por la manera en que el paciente mastica la formulación ³⁹. Además, pueden aparecer reacciones de hipersensibilidad a alguno de sus componentes ³⁹, cansancio muscular en zona de cabeza y cuello, especialmente de maséteros y temporales y su uso constante puede ser una causa común de desórdenes o disfunción de la articulación temporomandibular (ATM), lo que causaría dolor por un aumento del estrés en la ATM ⁴². Finalmente también puede provocar alteraciones o molestias gástricas ⁴³.

Liberación del agente terapéutico en gomas de mascar.

Existen varios factores que influyen en la liberación del medicamento contenido en las gomas de mascar. Los principales determinantes incluyen el tiempo de masticación, la tasa de masticación, la solubilidad acuosa del medicamento y la composición de la goma de mascar ³⁹.

En un estudio *in vivo* se determinó que la liberación de CHX acetato desde las gomas de mascar era de un 40% después de 5 minutos y aproximadamente 70% después de 15 minutos de masticación ¹⁵. Esto demuestra una presencia en cavidad bucal más larga del agente terapéutico obtenido de la goma de mascar que después de enjuagarse con un enjuague bucal con el mismo agente ¹⁵.

III. Xilitol

El Xilitol (1, 2, 3, 4,5-pentanepentol) es un azúcar alcohólico de uso común en productos odontológicos. Se conoce hace más de 90 años y se ha utilizado durante mucho tiempo como endulzante en diversos países de Europa y Asia²². Este compuesto presenta marcada actividad contra estreptococos orales y otros microorganismos que no fermentan el xilitol a ácido láctico. Los efectos inhibitorios, están dados por la entrada a la célula del Xilitol 5-fosfato, lo que promueve la vacuolización y degradación de la célula bacteriana.

Químicamente, el Xilitol se clasifica como un polialcohol formado por una cadena de 5 carbonos o alcohol pentahídrico cuya fórmula química es $C_5H_{12}O_5$. (Figura 1).

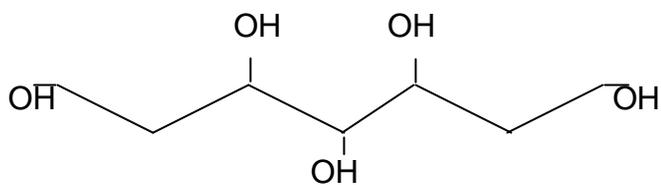


Figura1, Estructura química del Xilitol.

Características del Xilitol

No es metabolizado por microorganismos de la microbiota bucal, reducido en calorías, baja viscosidad, alta solubilidad (169 g/100g 20° C), baja actividad de

agua, lo que le da una alta estabilidad microbiológica, alta estabilidad térmica y química y posee efecto refrescante gracias a la “sensación de frío” que produce a nivel del trigémino ²².

Se ha demostrado que el consumo habitual (20 o más meses) del Xilitol por la madre, está asociado a una reducción estadísticamente significativa en la probabilidad de transmisión al hijo de *S. mutans*. Al analizar los resultados obtenidos en experiencias en uno, dos y cuatro años posteriores al consumo de Xilitol, se pudo establecer que el riesgo de colonización por *S. mutans* en los hijos de madres que no consumieron Xilitol era dos a tres veces mayor que en los hijos de madres que si habían usado el edulcorante habitualmente ^{22, 44}.

En la experiencia de Ylivieska (Finlandia, 1982-1984)²² se observó que el consumo habitual de xilitol, mayor o igual a 2 veces por día, produce efectos notables en la disminución del número de *S. mutans* en placa, no así en saliva, cuando se comparan los recuentos con los obtenidos desde personas que no consumen Xilitol. Se pudo establecer con esto, que el Xilitol afecta fundamentalmente los procesos de adherencia bacteriana ²². Sin embargo, en numerosos estudios *in vivo* e *in vitro* se ha demostrado la eficacia del uso del Xilitol en disminuir el recuento de *S. mutans* tanto salival como en placa ^{41, 44}.

También se ha demostrado que la inhibición de la actividad cariogénica por parte del Xilitol y otros polialcoholes puede ser una consecuencia de la disminución en la producción de ácido láctico, de la formación de polisacáridos extracelulares solubles, que hacen la placa menos adhesiva y consecuencia de un aumento en el metabolismo general del nitrógeno de la placa dental. Todo esto resulta en una transaminación y proteólisis aumentada con un aumento del *pool* de aminoácidos libres y la posibilidad de formación de amoníaco. Estos efectos se combinan con las propiedades saliva-estimulante del xilitol, común a todos los carbohidratos dulces. Además, el Xilitol y otros polialcoholes protegen a las proteínas y a las enzimas de la desnaturalización, regulando las reacciones de precipitación que ocurren en la saliva o en soluciones saturadas de fosfato de calcio ²².

La acción anticariogénica del uso de chicles con Xilitol, se ha estudiado ampliamente. Brian A. Burt, (2006) ⁴⁴ reportó que el uso regular de chicles con xilitol, inhibe el crecimiento de *S. mutans*, el principal microorganismo responsable de la caries dental. En otro estudio, realizado en Tailandia en el 2004 por Sroisiri ⁴¹, en 90 niños entre 10 y 12 años, se demostró que el uso de goma de mascar diario después de 90 días de tratamiento, causa una reducción significativa en el recuento de *S. mutans* salival y en placa ⁴¹.

IV. Clorhexidina

La Clorhexidina (CHX), (1,6-bis[N⁵-(p-clorofenil)-N¹ -biguanido] hexano), es uno de los antisépticos más comúnmente estudiado y usado en la clínica odontológica ⁴⁵ (figura 2). Es usado como “gold standard” en su presentación de colutorio, entre los agentes antiplaca y antigingivitis existentes.

Corresponde a un agente antimicrobiano catiónico y es la bisguanidina más efectiva contra Gram (+). Se une por unión electrostática a grupos fosfato, carboxilo o sulfato en mucosa, microorganismos y a la película adquirida. En virtud de su carga positiva, la Clorhexidina tiene la capacidad de unirse a las superficies de carga negativa como es la pared celular de las bacterias ⁴⁶. Ya que la mayoría de las superficies intraorales son de carga negativa la CHX se distribuye bien en la cavidad bucal y no es fácil de remover ⁴⁷. Una vez unida, puede ejercer su efecto bacteriostático y bactericida ³³. Produce una disrupción de la membrana microbiana por interacciones con la porción hidrofóbica de la molécula ³³.

La sustantividad de la CHX está dada por el hecho de que una vez absorbida por la superficie intraoral, se vuelve muy lentamente desplazable, sólo por iones calcio de la saliva. Su naturaleza dicatiónica hace que sea sumamente interactiva con aniones, lo cual no sólo es importante para su eficacia y

seguridad, sino que también es relevante para los efectos locales secundarios y las dificultades con la formulación del producto ³³.

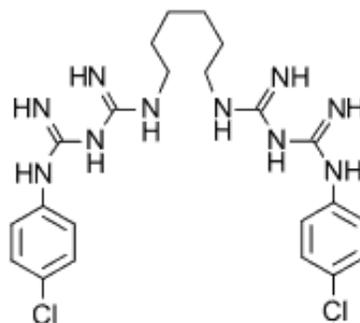


Figura 2. Estructura química de la Clorhexidina.

En bajas concentraciones es bacteriostática y bactericida en altas concentraciones. La microbiota de placa y saliva puede ser reducida en un 80% a un 90% por un enjuague con CHX al 0,2%. Dos enjuagues diarios inhiben la formación de placa completamente ^{33, 12, 15}.

La clorhexidina puede reducir la placa dental, caries y gingivitis en humanos. Tiene un amplio espectro antimicrobiano con actividad contra un amplio rango de bacterias Gram (+) y Gram (-) supra y subgingivales, e incluso levaduras y hongos. Puede inhibir en altas concentraciones la producción de *placa in vivo*, por alguno de los siguientes mecanismos ³³.

- ✓ Elimina la actividad del sistema fosfoenolpiruvato fosfotransferasa, con una marcada disminución en la producción de ácidos.
- ✓ Inhibe la captación y catabolismo de arginina en *S. sanguis*.
- ✓ Inhibe la proteólisis en *P. gingivalis*.
- ✓ Afecta la actividad de la ATP sintetasa en estreptococos.

Desventajas

Una prolongada exposición o uso excesivo, ocasiona pigmentación de tejidos duros y tejidos blandos, la que no es permanente y puede ser removida con una profilaxis sencilla o limpieza profesional^{33, 12, 15}. Altera la percepción^{22, 12, 15} debido a su sabor amargo¹³. También se han reportado, en forma esporádica, pacientes con descamación y dolor de la mucosa bucal¹³.

El uso de CHX en forma de goma de mascar se ha probado en pacientes jóvenes y adultos, resultando efectivo y conveniente según documentación clínica publicada por T. Imfeld, 2006^{13, 48}.

Con fines comparativos en el presente estudio se usó chicles con Xilitol y chicles con Clorhexidina cuya eficacia antimicrobiana está comprobada.

V. Para-clorofenol Alcanforado y Peróxido de Hidrógeno.

El paraclorofenol alcanforado (PCFA) y el peróxido de hidrógeno (PH) entre otros, al igual que la CHX, son inhibidores químicos de la placa bacteriana ^{7, 8}.

- **Para-clorofenol alcanforado (PCF)**

El Para-clorofenol alcanforado corresponde a uno de los compuestos fenólicos más utilizados. Estos compuestos actúan desencadenando una serie de eventos moleculares que producen la muerte bacteriana ⁴⁹. En altas concentraciones, actúan como un gran fluido protoplasmático bactericida, destruyendo la pared celular y precipitando proteínas ⁴⁹. En bajas concentraciones, los derivados fenólicos provocan la muerte bacteriana por inactivación de sistemas enzimáticos y filtración de metabolitos esenciales de la pared celular ⁴⁹. Walkhoff, en 1929 agregó alcanfor al PCF, en una proporción de 3 partes de PCF y de 7 partes de alcanfor, con la intención de reducir su citotoxicidad ⁵⁰. El Alcanfor es una sustancia semisólida cristalina y cerosa con un fuerte y penetrante olor acre. Es rápidamente absorbido por la piel reportando

una sensación de enfriamiento similar a la del mentol, actuando como un anestésico local leve y también como antimicrobiano.

Existen estudios en donde se ha evaluado la citotoxicidad del PCF⁵¹⁻⁵³, la cual depende principalmente de su concentración y del vehículo empleado para disolverlo. Sin embargo, su poder antibacteriano y antiséptico es evidente por lo que se ha utilizado durante años en Odontología, específicamente en el área de Endodoncia^{9, 10} como medicamento intraconducto¹⁰ y en patologías periapicales. Aunque es un medicamento que puede resultar tóxico, la evidencia clínica de estos efectos es rara vez observada. La razón es que no está en contacto directo con tejido vital cuando se aplica en los conductos o en la cámara pulpar.

Chang et al.⁵⁵ estudiaron los efectos patológicos y biológicos de diversos compuestos fenólicos sobre los fibroblastos de la pulpa dental humana utilizando pruebas de inmunofluorescencia y de precipitación del ADN. Todos los compuestos, que incluían al fenol, guayacol, eugenol y timol, mostraron citotoxicidad por inhibición del ADN celular de una manera dependiente de la concentración. Los resultados indicaron que estos compuestos son citotóxicos, pero no tienen efectos genotóxicos sobre los fibroblastos de la pulpa *in vivo*⁵⁵.

Harrison y Madonia⁵⁵, en 1970 concluyeron que es un agente antimicrobiano efectivo en muy bajas concentraciones y esto tiene la ventaja de reducir su potencial de toxicidad.

El PCF alcanforado tiene una importante acción sobre los microorganismos aerobios más resistentes al tratamiento endodóntico; es comparativamente menos activo sobre anaerobios, y es prácticamente no irritante en condiciones de uso clínico, tales como en mota de algodón intraconducto⁵⁵.

Debido a la baja dosis y frecuencia de exposición, su uso clínico es seguro para los humanos. Sin embargo, en altas concentraciones son altamente citotóxicos, razón por la cual debe reducirse la posibilidad de irritación pulpar y periapical por la extrusión inadvertida de éstos en el tratamiento clínico⁵⁵.

La solución acuosa de Para-clorofenol al 1% posee un espectro antibacteriano amplio y eficaz y además posee un bajo potencial de toxicidad tisular⁷. Esta solución acuosa es estable, incolora, incapaz de manchar y con gran penetración, sin embargo, su vida terapéutica "in situ" es de sólo tres días y, aunque resulta eficaz contra un 94% a 95% de todas las bacterias endodónticas, deja un remanente de un 5% de ellas. La irritación periapical es rara, siempre que el antiséptico se encuentre confinado dentro del conducto radicular⁷. Entre los microorganismos que destruye efectivamente están: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*,

Escherichia coli, *Candida albicans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Prevotella denticola* and *Prevotella melaninogenicael*. Así lo demostró un estudio clínico realizado por John W. Harrison ⁵¹.

La concentración inhibitoria mínima del PCF va desde 46.67 µg/ml, para *E. faecalis* a 213.33 µg/ml para *E. Coli*. Así fue demostrado en un estudio realizado por Amorin, Mayer en 2004 ⁵⁶.

- **Peróxido de Hidrógeno**

El Peróxido de Hidrógeno (PH) es un ácido débil comúnmente usado al 3% como antiséptico general y desinfectante ⁵⁴. Su mecanismo de acción se basa en la producción de radicales hidroxilos que atacan la membrana lipídica, el ADN y otros componentes celulares de las bacterias ⁵⁴

En un estudio *in vitro* realizado por Silhacek KJ, Taake KR. (2005) ¹¹, se demostró que el peróxido de Hidrógeno posee un efecto bactericida e inhibe el crecimiento de *S. mutans*, por lo tanto productos que contengan este agente pueden ser útiles como antibacterianos y anticariogénicos.

La Agencia Internacional para Investigación contra el Cáncer, The International Agency for Research on Cancer (IARC), determinó que el Peróxido de Hidrógeno no es clasificable como producto carcinogénico en humanos, ya que, no existe evidencia adecuada que pruebe su carcinogenicidad ⁵⁷.

Los productos dentales que contienen concentraciones del 0,1% de peróxido de Hidrógeno, que se emplean una o dos veces por día no dañan el interior de la boca⁵⁸, ni siquiera a largo plazo y, por el contrario, pueden mejorar la salud de las encías. Sin embargo, los enjuagues que contienen concentraciones iguales o mayores a 3% de Peróxido de Hidrógeno o que se utilizan con una frecuencia mayor pueden irritar la boca ^{57- 59}.

VI. Acontecimientos Adversos

Acontecimiento adverso es: “Cualquier suceso médico adverso que pueda presentar un paciente o sujeto de investigación clínica al que se ha administrado un producto farmacéutico y que no tiene necesariamente que tener una relación causal con dicho tratamiento”. Durante la fase previa a la autorización de una especialidad farmacéutica o de una nueva forma de uso, especialmente cuando las dosis terapéuticas aún no se han establecido: “deben

considerarse reacciones adversas a medicamentos todas las respuestas nocivas y no intencionadas a un medicamento con independencia de la dosis utilizada”⁶⁰. (Anexo N°1).

Debido a que en este estudio un producto nuevo, gomas de mascar que contienen Alcanfor, p-Clorofenol y Peróxido de Hidrógeno como antisépticos, sería probado en humanos y debido a los antecedentes de toxicidad de dichos productos, se elaboró la Ficha Clínica N°1 (anexo N°2), la Ficha Clínica N°2 (anexo N°3) y la Ficha de Recepción de Acontecimientos Adversos (anexo N°4) con el fin de documentar e informar la posible aparición de dichos acontecimientos o reacciones adversas en los sujetos. En el Anexo N° 1 se adjunta información referente a acontecimientos adversos y a su clasificación.

En el Anexo N°5 se presentan los resultados de un estudio de citotoxicidad realizado en la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, utilizando un colutorio con la misma formulación de la goma de mascar medicada utilizada en este estudio. Se pudo establecer que dicho producto no tenía efectos citotóxicos sobre células de la mucosa bucal.

Si bien la actividad antibacteriana del uso de gomas de mascar medicadas ya se ha demostrado, pocos estudios han tenido resultados positivos frente a bacterias bucales de impacto en la Clínica Odontológica. Es por ello que en el Laboratorio de Química de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, se formuló una goma de mascar que contiene alcanfor (aceite esencial) (0,01g), p-Clorofenol (0,005g) y peróxido de hidrógeno (0,02g) como antisépticos. Conviene señalar que en la literatura no se había descrito gomas de mascar que presentaran, en su composición, antisépticos y aceites esenciales simultáneamente.

De acuerdo a los antecedentes presentados anteriormente, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del uso de goma de mascar medicada con Paraclorofenol-Alcanfor-Peróxido de Hidrógeno sobre parámetros químicos y microbiológicos de la saliva.

De acuerdo con los antecedentes expuestos, en este estudio se propuso trabajar en base a la siguiente hipótesis:

HIPÓTESIS

El uso mantenido durante 7 días de chicles medicados en base a Alcanfor, p-Clorofenol y Peróxido de Hidrógeno, eleva la velocidad de flujo salival, el pH y la capacidad amortiguadora de la saliva, junto con reducir el recuento salival de *Streptococcus mutans*.

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar si el uso sostenido de chicles medicados con Alcanfor, p-Clorofenol y peróxido de Hidrógeno modifica parámetros salivales bioquímicos y microbiológicos

Objetivos Específicos

1. Medir la velocidad de flujo, el pH y la capacidad amortiguadora de la saliva, antes y después de 7 días de usar gomas de mascar con alcanfor, p-clorofenol y peróxido de Hidrógeno; Clorhexidina y Xilitol.
2. Determinar el recuento salival de *S mutans*, antes y después de 7 días de usar las gomas de mascar medicadas o con Xilitol.
3. Analizar comparativamente el efecto de las diferentes gomas de mascar utilizadas, sobre los parámetros salivales químicos y microbiológicos evaluados en este estudio.
4. Determinar la aparición de acontecimientos adversos y comparar su frecuencia, en asociación con las diferentes gomas de mascar.

MATERIALES Y MÉTODOS

- I. **Diseño del estudio:** Este es un ensayo clínico doble ciego, cruzado y con distribución aleatoria de tratamientos ⁶¹.

- II. **Selección de los sujetos**

Se reclutó un total de 24 sujetos. Los individuos fueron seleccionados de acuerdo a los siguientes criterios:

Criterios de inclusión:

1. Voluntarios sanos, de ambos sexos, mayores de 18 y menores de 60 años.

Criterios de exclusión:

1. Presentar signos evidentes de enfermedades orales o dentales, tales como policaries, restos radiculares, sacos periodontales, candidiasis, etc.
2. Ser fumador.
3. Haber recibido tratamiento con antibióticos o antisépticos para una patología dental, o por cualquier otra razón durante los 30 días previos al control basal.

5. Estar en tratamiento con cualquier medicación de la que se conozca que pueda interferir con la salivación (antiespasmódicos, tranquilizante, ansiolíticos, antidepresivos (especialmente tricíclicos), relajantes musculares, fármacos anti-HIV (DDI e inhibidores de proteasas), antidiarreicos, antiparkinsonianos, anorexígenos, antihistamínicos, diuréticos, citoquinas, antipsicóticos, broncodilatadores, cocaína y otras drogas, descongestionantes, antihipertensivos, bloqueadores de secreción ácida (bloq. H2 e IBP) y retinoides durante los 15 días previos al control basal ⁴³.
6. Tener una historia previa de alergia específica, ya sea por aplicación tópica en cavidad bucal o por ingesta, a cualquiera de los componentes de las medicaciones utilizadas en el estudio.
7. Tratamiento con las medicaciones a valorar durante los 30 días previos al control basal.
8. Embarazo o lactancia.
9. Enfermedades sistémicas, especialmente de tipo crónico (diabetes, cardiopatía, hipertensión arterial, inmunodepresión, etc.), que puedan interferir con la obtención de datos representativos y exclusivos sobre la saliva.
10. Uso de prótesis removible.
11. Uso de aparato de ortodoncia.

Se realizó un examen clínico a los 24 sujetos seleccionados, y sus datos se consignaron en la ficha clínica individual N°1 (anexo N°2).

La exploración de la cavidad bucal se realizó en la clínica de diagnóstico, en el primer piso de la Facultad de Odontología, de la Universidad de Chile, entre las 09:00 y las 10:00, para estandarizar la hora de recolección de saliva.

III. Distribución de las gomas de mascar.

Previo al uso de las gomas de mascar, los sujetos seleccionados recibieron una profilaxis de la cavidad bucal para higienización, la que se realizó con escobilla suave, piedra pómez fina y agua. Luego, el tratamiento con las tres gomas de mascar señaladas anteriormente fue distribuido aleatoriamente, por el tutor principal, en los distintos sujetos, para ser tratados en forma cruzada. A cada uno se le facilitó una “hoja de información general” (anexo N° 6), en la cual se le recordaba las pautas básicas a seguir durante el estudio y los procedimientos a los cuales sería sometido. Además, a todos se les recordó la posibilidad de retirarse del estudio en cualquier momento, en caso de cualquier tipo de molestias o por razones de fuerza mayor.

Los sujetos fueron cuidadosamente instruidos en el sentido de que, a lo largo de todo el estudio, estaba contraindicado el uso de cualquier otro producto de

higiene y tratamiento bucal (pasta dentífrica, colutorio, etc.), diferente de los mencionados anteriormente. Asimismo, se les recordó la existencia de medicación concomitante prohibida.

Distribución aleatoria de los tratamientos

Este ensayo clínico fue randomizado simple, con ocultamiento de la secuencia de aleatorización, fueron ciegos los pacientes, los tratantes y los encargados de analizar los datos.

A cada sujeto en estudio se le adjudicó un número correlativo y se le entregó el tratamiento que correspondía a dicho número de sujeto en cada una de las tres fases experimentales (esto fue realizado bajo la tutela del investigador responsable). Los sujetos fueron distribuidos aleatoriamente, y en idéntica proporción, para ser sometidos a las 6 distintas secuencias o series de tratamiento (1-2-3, 1-3-2, 2-1-3, 2-3-1, 3-1-2 ó 3-2-1) de acuerdo a la tabla de distribución aleatoria (anexo N°7) confeccionada mediante el programa Excel.

Durante una fase pre-experimental de 1 semana, los sujetos realizaron una higiene bucal personal con una pasta dental formulada especialmente y un cepillo dental (Colgate® extra clean) entregado antes de iniciar la primera fase experimental.

Durante las fases experimentales, los sujetos usaron, cada vez, 1 tableta de chicle tres veces al día durante 20 minutos, por la mañana (tras el desayuno), al mediodía (después de almuerzo) y por la noche (tras la cena) (Figura 3). Asimismo, no debieron realizar un enjuague posterior con agua ni comer o beber en los 30 minutos siguientes al uso del producto.

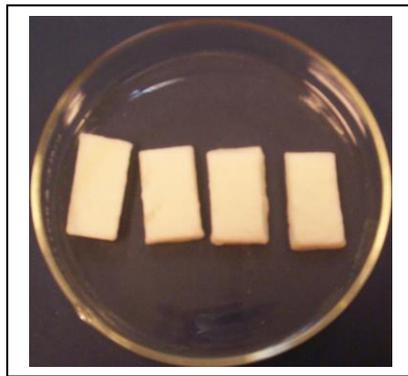


Figura 3. Chicles con Alcanfor, p-Clorofenol y Peróxido de Hidrógeno

La composición y régimen de aplicación de cada una de las gomas de mascar se muestran en la tabla II.

Tabla II: Composición y Régimen de aplicación de las Gomas de Mascar.

Gomas de Mascar	Composición	Régimen de Aplicación
Chicle 1	Alcanfor (0,01 g), p-clorofenol (0,005 g) y Peróxido de Hidrógeno (0,02 g) y Excipientes c.s.p. 100 g.	1 trozo (0,8 grs.) durante 20 minutos, 3 veces al día.
Chicle 2	*Xilitol (286 mg), Sorbitol (141 mg). Excipiente c.s.p. 100 g.	1 trozo (0,8 grs.) durante 20 minutos, 3 veces al día.
Chicle 3	Acetato de Clorhexidina 5,33 mg por 0,8 g de chicle	1 trozo (0,8 grs.) durante 20 minutos, 3 veces al día.

*Orbit White^R. Marca comercial de la goma de mascar con Xilitol que fue utilizada como chicle 2.

IV. Desarrollo del ensayo y evaluación de la respuesta experimental

Fase pre-experimental

Si el sujeto cumplía los criterios de selección, se le explicaron los procedimientos del estudio y se obtuvo el consentimiento informado (anexo N°8) por escrito para participar en el mismo. Se realizó profilaxis de la cavidad bucal para higienización y se entregaron instrucciones de higiene oral personal con una pasta dental entregada por el área, para realizar durante una semana.

Fase experimental

A continuación de la fase pre-experimental, y durante un período de 7 días (primera fase experimental), los sujetos continuaron con las medidas de higiene bucal habitual y fueron tratados con uno de los chicles, previamente asignado de acuerdo con la tabla de aleatorización (anexo N°7). La primera aplicación de la medicación se realizó tras la cena del día de entrega.

Al comienzo y al final de cada una de las tres fases experimentales, los sujetos fueron sometidos a exploración de la cavidad oral (tejidos blandos y duros), obtención de muestra de saliva para análisis microbiológico y obtención de muestra de saliva para análisis químico. Al finalizar cada fase experimental, además, se realizó verificación de cumplimiento del tratamiento con la recogida

del chicle sobrante o no empleado y profilaxis de la cavidad bucal para higienización. Luego de cada fase experimental entraron en una fase de "blanqueo" de 2 semanas.

Para las fases pre-experimentales y experimentales, a todos los sujetos se les facilitó un cepillo dental y una pasta dentífrica, como ya se mencionó, para que los utilizaran durante la investigación y se les instruyó en la técnica adecuada para realizar su higiene oral, indicándoseles también la frecuencia mínima diaria.

La medicación del estudio (gomas de mascar) les fue aportada al inicio de cada fase experimental.

En cada uno de los controles se realizó una exploración de la cavidad oral (tejidos duros y blandos), cuyos datos obtenidos fueron registrados en una segunda ficha (ficha N°2, anexo N°3).

Variables principales de evaluación

Muestras de saliva estimulada obtenidas por la masticación de placa de parafina sólida durante 5 minutos ⁴⁵, fueron sometidas a análisis químicos y

microbiológicos, los cuales consistieron en: Determinación de pH, capacidad de amortiguación, velocidad de flujo salival y recuento cuantitativo de *S. mutans*.

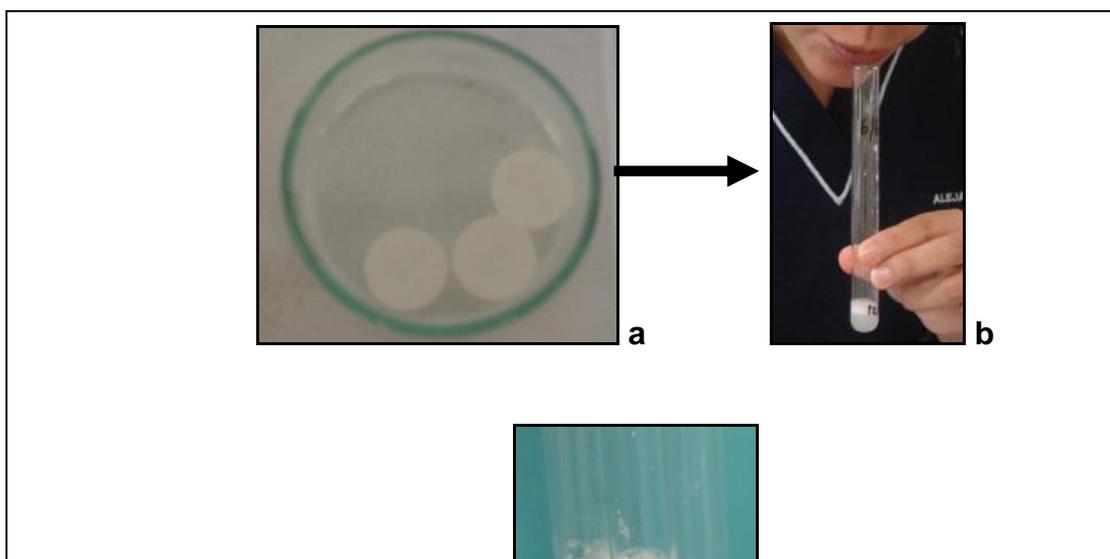
A partir del segundo control, los sujetos fueron sometidos consecutivamente a los siguientes procedimientos:

I. Obtención de muestra de saliva para análisis microbiológico.

Con el propósito de obtener un recuento microbiológico preciso, se solicitó al paciente que no ingiriera alimentos 1 o 2 horas previas a la toma de la muestra.

El cepillado previo de los dientes no tiene relevancia en el resultado de la muestra.

Las muestras de saliva se obtuvieron por estimulación de la secreción salival utilizando un trozo de parafina sólida estéril, de 1 gramo, por 2 minutos¹⁷ (figura 4a). El volumen de saliva obtenido se depositó en un tubo de ensayo estéril (figuras 4b y 4c). Las muestras de saliva obtenidas de esta manera se trasladaron refrigeradas al laboratorio (4°C), para su inmediato procesamiento microbiológico.



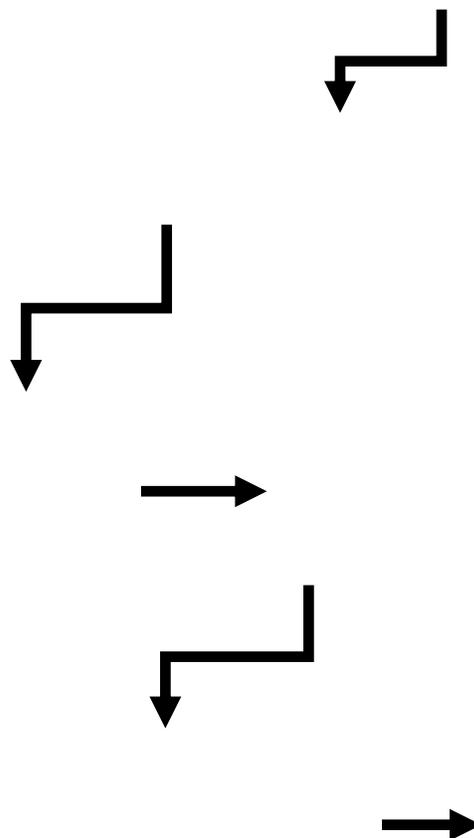
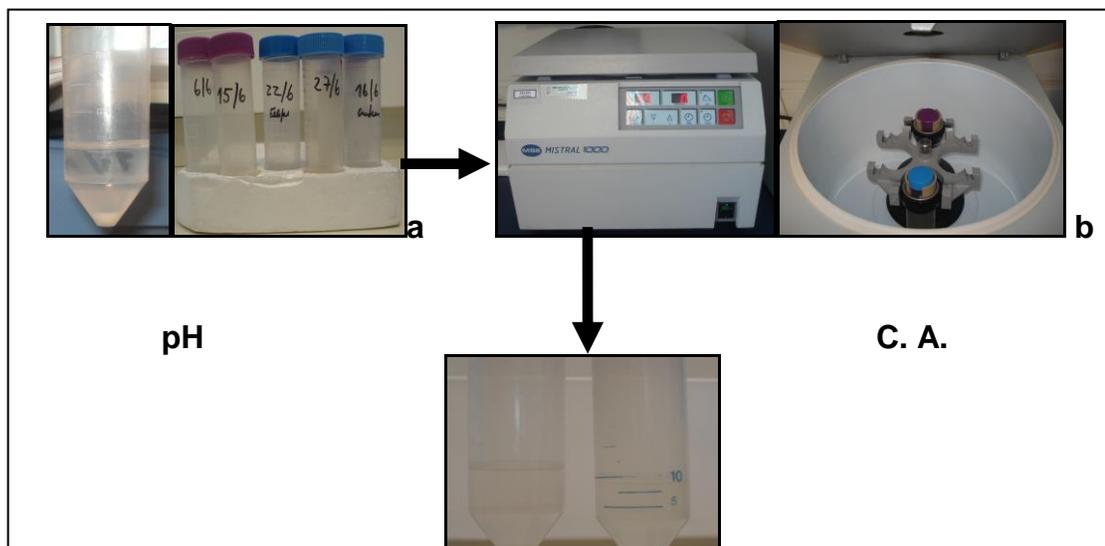


Figura 4. Procesamiento Microbiológico. **a:** Pastillas de Parafina sólida estéril utilizada para estimulación de flujo salival. **b:** Recolección de saliva en tubo estéril. **c:** Muestras de saliva obtenidas para cultivo. **d:** Campana de flujo laminar en donde se realizaron las diluciones y la siembra de las muestras. **e:** Muestras de saliva homogenizadas en vórtex y diluidas en tubos Eppendorf. **f:** Placas de TYCSB sembradas y jarra con ambiente microaerofílico (vela). **g:** Estufa Pasteur para incubación de las muestras a 37°C.



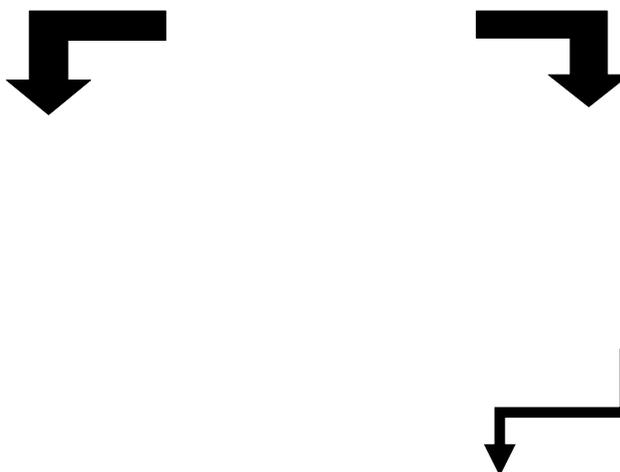


Figura 5.a: Procesamiento Químico. Muestras de saliva para determinación de Flujo Salival, pH y capacidad amortiguadora. **b:** Centrifuga MSE mistral 1000 facilitada por el laboratorio de Biología **c.** Muestras de saliva centrifugadas, se observa el sobrenadante claro. **d:** "pHmeter" calibrado para medición directa del pH salival en el tubo. **e:** Se agregó una alícuota de 1 ml de saliva centrifugada, a tubos con 3 ml de HCl 0.005 M. y 1 gota de 2-octanol. **f:** Las muestras fueron agitadas por 20 minutos, en un agitador vortex Stuart, con imanes en su interior para facilitar la agitación. **g:** Medición del pH final, directamente en un pHmeter previamente calibrado.

II. Obtención de muestra de saliva para análisis químico.

Una vez obtenida la muestra de saliva para cultivo, y sin eliminar la pastilla de parafina sólida, los pacientes continuaron la masticación de ésta, se prendió el

timer y se continuó con la recolección, por 5 minutos más, en un segundo tubo de boca ancha. Completado el tiempo de recolección, el volumen de saliva colectada (figura 5a) en este segundo tubo se usó para la determinación de Velocidad de flujo salival, pH y capacidad amortiguadora.

V. Procedimientos de laboratorio.

Velocidad de flujo salival

La velocidad o tasa de flujo salival se calculó determinando el volumen de saliva colectado en un tiempo determinado ²³. Los valores de referencia para flujo salival fueron: normal: 1-2 ml/min; Hiposalivación: < 0,7 ml/min.⁶²

En este estudio el tubo fue pesado antes y después de la recolección. Para calcular la velocidad de flujo salival (VFS) se aplicó la siguiente fórmula: ⁶³.

$$VFS = \frac{(P2 - P1)}{T} / 1.005$$

Donde: P2 = Peso tubo con saliva; P1 = Peso tubo vacío; T = Tiempo de recolección; 1.005 = Peso específico de la saliva (g/ml). Los resultados fueron expresados en ml/minuto.

Determinación de pH

Los tubos de ensayo fueron centrifugados a 5000 rpm por 10 minutos (figura 5b) y se aseguró que el sobrenadante quedara claro (figura 5c). El “pHmeter” fue calibrado entre pH 4 y pH7, con soluciones de referencia. Luego, el pH de la muestra se midió directamente en el tubo en que fue colectado (figura 5d). Todas las mediciones se realizaron en duplicado y los resultados se expresaron en unidades de pH⁶¹.

Capacidad de amortiguación

Se tomó una alícuota de 1 ml de saliva previamente centrifugada y se agregó a 3 ml de HCl 0.005 M. Luego se agregó 1 gota de 2-octanol (figura 5e), se agitó por 20 minutos (figura 5f) y luego se midió el pH (figura 5g). Este procedimiento se realizó en duplicado y el promedio de los resultados obtenidos se expresó en unidades de pH⁶¹.

Procesamiento microbiológico.

En el Laboratorio de Microbiología Bucal de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, las muestras de saliva mantenidas a 4°C fueron homogenizadas en vórtex Mixer (tipo maximir) por 45 segundos¹². Posteriormente fueron diluidas en forma seriada, 10, 100 y 1000 veces (10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} , respectivamente) en solución salina 0.15M, en gabinete de Bioseguridad tipo II A (FiltroMet) (figuras 4d y 4e). De cada dilución se depositó 100 microlitros en placas de Petri con agar selectivo TYCSB (Trypticase, L-casitone, Extracto de levadura, Sulfito de sodio, Cloruro de sodio, Fosfato disódico, Acetato de sodio, Sacarosa, agar y bacitracina). Todo el procedimiento se realizó en el gabinete de Bioseguridad tipo II A. Las placas

sembradas se incubaron en jarras con vela, ambiente microaerofílico, (figura 4f) en estufa Pasteur por 48 horas a 37° C (Figura 4g).

Recuento cuantitativo de *S. mutans*.

El recuento de colonias de *S mutans* crecidas en TYCSB, se realizó utilizando lupa estereoscópica Zeiss, Stemi 2000C. El resultado se expresó como número de unidades formadoras de colonias por mililitro de saliva (UFC/ ml)^{18, 61, 64}.

Análisis estadístico

EL análisis estadístico que se utilizó para muestras pareadas de saliva fue el t Test. Se fijó un intervalo de confianza del 95% aceptando diferencias estadísticamente significativas cuando $p < 0,05$.

Aparición de RAM.

Los pacientes en estudio llenaron una ficha de recepción de posibles acontecimientos adversos, al término de cada fase experimental (anexo N° 4).

Si hubiesen aparecido RAM estos habrían sido tratados por Profesionales Odontólogos de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile.

Propiedad del producto investigado.

La goma de mascar utilizada en este ensayo fue desarrollada en el Área de Química de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile y por lo tanto no obedece a los intereses de un patrocinador externo. Los resultados obtenidos son de uso exclusivo de los participantes en el proyecto de investigación aplicada que sustenta este trabajo.

Resultados

I. Caracterización del grupo de sujetos estudiados.

En este estudio participaron 24 sujetos, 7 de género masculino (29,17%) y 17 de género femenino (70,83%) (Tabla III), cuyas edades fluctuaban entre 22 y 40 años.

Tabla III. Distribución según género de los sujetos en estudio.

Hombres		Mujeres		Total	
Nº	%	Nº	%	Nº	%
7	29,17	17	70,83	24	100

II. Resultados de los Análisis Químicos

a) Velocidad de flujo salival.

En la tabla IV se presenta el promedio de la velocidad de flujo salival expresada en ml/min para cada tratamiento, obtenido antes y después de 7 días de uso. Para las gomas de mascar con Alcanfor, p-clorofenol y Peróxido de Hidrógeno (chicle 1) y para las gomas de mascar con Xilitol (chicle 2) se observó un muy leve aumento en la velocidad de flujo salival. En cambio para las gomas de mascar con clorhexidina (chicle 3) se observó una disminución en el flujo promedio de los pacientes que va de un 2,38 a un 2,11 ml/min, diferencia que fue estadísticamente significativa.

b) pH salival.

En la Tabla IV se puede observar que, después de 7 días de uso, hubo un aumento muy leve del pH salival en pacientes tratados con los chicles 1 y 2, siendo mayor este aumento cuando se utilizó goma de mascar con Alcanfor, p-clorofenol y Peróxido de Hidrógeno (chicle 1). Por el contrario, al tratar con la goma de mascar con clorhexidina (chicle 3), se observó una muy leve disminución del pH. Ninguna de estas diferencias fue estadísticamente significativa.

c) Capacidad Amortiguadora.

Finalmente en la tabla IV se puede apreciar, que para el producto con Alcanfor, p-clorofenol y Peróxido de Hidrógeno (chicle 1) la capacidad amortiguadora disminuyó de 5,99 a 5,6, mientras que para el producto con xilitol (chicle 2) y para el producto con clorhexidina (chicle 3), se observó una disminución en la capacidad amortiguadora, siendo mayor esta disminución para el chicle 3. Al igual que en los resultados anteriores, estas diferencias no fueron significativas.

Tabla IV. Promedio de Parámetros Químicos, desviación estándar y valores de p obtenidos por la Prueba T para cada variable medida antes y después de 7 días del uso de chicles medicados.

Producto	Velocidad de Flujo Salival ml/min			pH		Capacidad Amortiguadora			
	Antes	Después		Antes	Después	Antes	Después		
Chicle 1 DS	2,16 ± 0,24	2,19 ± 0,22	p=0,79	7,81 ± 0,11	7,88 ± 0,18	p=0,44	5,99 ± 2,41	5,60 ± 0,17	p=0,16
Chicle 2 DS	2,36 ± 0,02	2,38 ± 0,25	p=0,90	7,95 ± 0,18	7,99 ± 0,01	p=0,74	6,18 ± 0,21	6,01 ± 0,04	p=0,51
Chicle 3 DS	2,38 ± 0,47	2,11 ± 0,04	*p=0,02	7,94 ± 0,45	7,88 ± 0,12	p=0,38	6,20 ± 2,08	5,60 ± 2,97	p=0,10

*p <0,05 Estadísticamente significativo.

DS: Desviación estándar.

Chicle 1: Alcanfor, p-clorofenol y Peróxido de Hidrógeno.

Chicle 2: Xilitol.

Chicle 3: Acetato de Clorhexidina.

III. Análisis microbiológicos.

Las colonias de *S. mutans* se reconocieron como colonias adherentes, blanco grisáceas, con superficie rugosa, apariencia de vidrio esmerilado y consistencia dura (figura 6), que no pudieron ser disgregadas cuando se manipularon con un asa de platino.

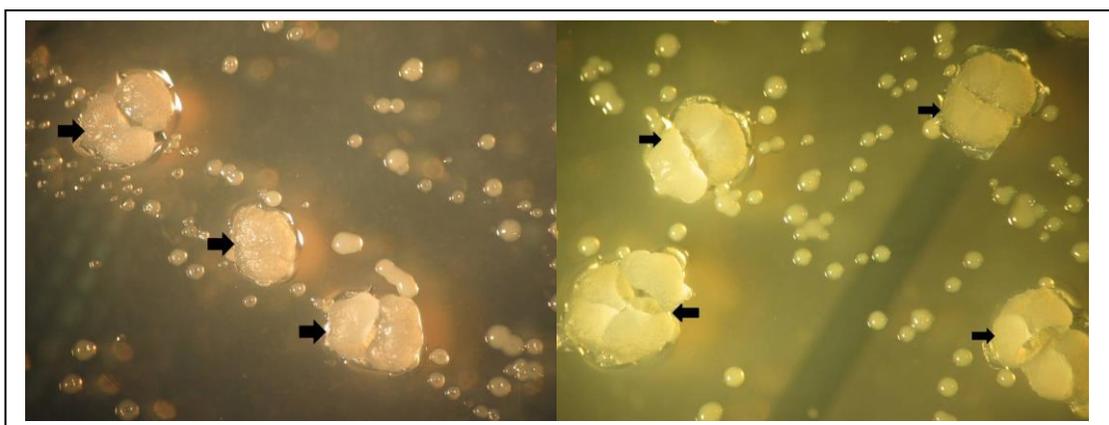


Figura 6. Colonias de *S. mutans* en Agar TYCSB

En la tabla V podemos ver el promedio del recuento cuantitativo de *S. mutans*, expresado como UFC/ml, para cada tratamiento antes y después de su uso durante 7 días.

Para los productos con Alcanfor, p-clorofenol y Peróxido de Hidrógeno (chicle 1) y con Xilitol (chicle 2) se observa un aumento en las UFC de *S. mutans* después del uso de los chicles. En cambio para el producto con clorhexidina (chicle 3) se observa una clara disminución que va de $0,25 \times 10^5$ a $0,06 \times 10^5$ UFC/ml saliva. La diferencia entre estos valores fue estadísticamente significativa.

Tabla V. Promedio de UFC/ml saliva de *S. mutans* y desviación estándar antes y después de 7 días del uso de chicles medicados, y valores de p obtenidos por la Prueba t para cada tratamiento.

Producto	UFC/ml de saliva <i>S. mutans</i> .		
	Antes	Después	
Chicle 1 DS	$1,33 \times 10^5$ $\pm 0,15 \times 10^5$	$7,03 \times 10^5$ $\pm 0,03 \times 10^5$	p= 0,34
Chicle 2 DS	$0,91 \times 10^5$ $\pm 0,13 \times 10^5$	$1,2 \times 10^5$ $\pm 0,30 \times 10^5$	p= 0,62
Chicle 3 DS	$0,25 \times 10^5$ $\pm 0,01 \times 10^5$	$0,06 \times 10^5$ $\pm 0,01 \times 10^5$	*p= 0,02

*p <0,05 Estadísticamente significativo.

DS: desviación estándar

Chicle 1: Alcanfor, p-clorofenol y Peróxido de Hidrógeno.

Chicle 2: Xilitol.

Chicle 3: Acetato de Clorhexidina.

IV. Acontecimientos Adversos.

Luego de analizar la hoja de recepción de acontecimientos adversos (anexo N°4) y la ficha N° 2(anexo N°3), los acontecimientos adversos más comunes encontrados tras la utilización de las 3 gomas de mascar, se resumen en la Tabla VI y corresponden a tinciones dentarias, las cuales fueron fácilmente removidas con profilaxis oral; dolor o molestias musculares en zona de cabeza y cuello; y molestias en la Articulación Temporo-mandibular (ATM).

Para la goma de mascar con Alcanfor, p-Clorofenol y Peróxido de Hidrógeno (chicle 1) solo un individuo de la muestra (4,3%) experimentó tinciones dentarias; 2 individuos (8,7%) relataron molestias y/o dolor a la palpación en zonas de maséteros y temporal principalmente; y 2 personas (8,7%) presentaron molestias en ATM. Esta fue la goma de mascar que presentó menor porcentaje de Acontecimientos Adversos.

En el caso de las gomas de mascar con Xilitol (chicle 2) no se presentaron tinciones dentarias. Molestias o dolores musculares en cabeza y cuello afectaron a 5 personas (21,7%) y 4 personas (17, 4%) presentaron molestias en ATM.

En el caso de la goma de mascar con Clorhexidina (chicle 3), 3 personas (12,5%) presentaron tinciones dentarias, 4 personas (16,6%) presentaron dolor o molestias musculares en cabeza y cuello, y 2 personas (8,3%) presentaron molestias en ATM.

Tabla VI. Acontecimientos Adversos más comunes tras la aplicación de las 3 gomas de mascar en estudio.

	Dolor o molestias musculares en cabeza y cuello	Molestias en ATM	Tinciones dentarias
Chicle 1	8,7%	8,7%	4,3%
Chicle 2	21,7%	17,4%	0%
Chicle 3	16,6%	8,3%	12,5%

Chicle 1: Alcanfor, p-clorofenol y Peróxido de Hidrógeno.

Chicle 2: Xilitol.

Chicle 3: Acetato de Clorhexidina.

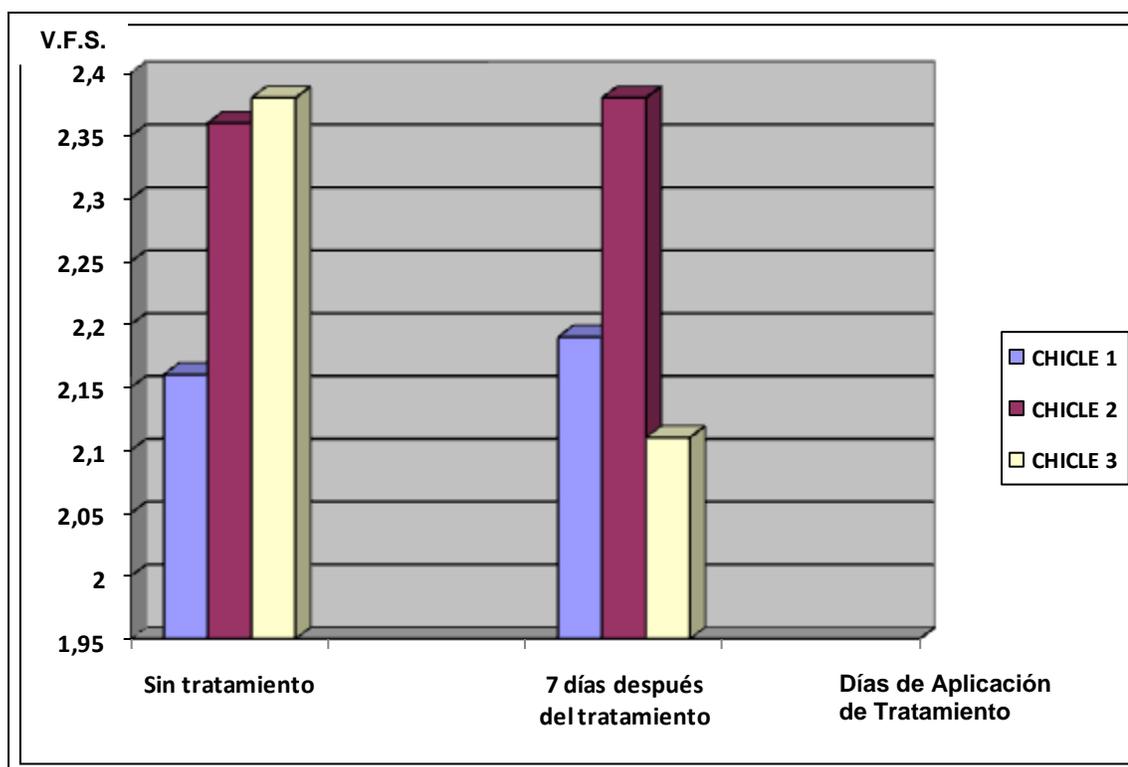


Figura 7. Velocidad de Flujo salival antes y después de 7 días de cada tratamiento.

Chicle 1: Alcanfor, p-clorofenol y Peróxido de Hidrógeno.

Chicle 2: Xilitol.

Chicle 3: Acetato de Clorhexidina.

Discusión

Diversos estudios se han orientado a investigar sobre la prevención de la caries dental, poniendo especial énfasis en las medidas de control de la formación de placa bacteriana. *Streptococcus mutans* ha sido implicado como el principal agente etiológico de la caries dental y es por esto que numerosas investigaciones han estudiado sustancias que impidan que este agente patógeno prolifere en el medio bucal o que controlen su crecimiento.

En este ensayo clínico de tipo aleatorio, doble ciego y cruzado, se realizó el análisis químico y microbiológico de muestras de saliva antes y después del uso de gomas de mascar medicadas con Alcanfor, p-Clorofenol y Peróxido de Hidrógeno, y se comparó estos mismos parámetros usando como control gomas de mascar medicadas con Xilitol y CHX (chicles 1 y 2).

Como ya se sabe, gracias a numerosos estudios, como el realizado por C. Dawes²³ en 2005, masticar chicle aumenta la velocidad de flujo salival (VFS),

llegando a su valor máximo a los 2 minutos, para luego ir bajando progresivamente con el tiempo.

En este estudio se propuso verificar el aumento de la velocidad de flujo salival al masticar gomas de mascar, pero en un período de tiempo más prolongado. Así, se planteó determinar si luego de una semana de uso diario, con una frecuencia de tres veces al día, la velocidad de flujo se mantenía aumentada. Esto no fue así para el uso de los chicles 1 y 2 (Alcanfor, p-clorofenol y Peróxido de Hidrógeno; y Xilitol, respectivamente) ya que la velocidad de flujo se mantuvo igual a la inicial. Aunque estos estudios fueron realizados en saliva estimulada, los resultados obtenidos concuerdan con los estudios realizados por Dawes^{23, 38} quién concluyó que un extenso período de masticación no fatiga las glándulas salivales y que el flujo de saliva, después de masticar chicle por un tiempo prolongado, no disminuye^{23, 38}.

El uso del chicle 3, que contenía Clorhexidina, produjo una disminución significativa de la velocidad de flujo salival, lo cual contrasta con lo reportado por Dawes²³. Ésta se puede explicar debido a una posible “fatiga” de las glándulas salivales al estar siendo estimuladas 3 veces al día, 20 minutos y durante 7 días. Esta observación no ha sido reportada en la literatura por lo

que amerita mayor investigación. Aún así, todos los resultados obtenidos se mantuvieron dentro de valores de VFS normales de 1-2 ml/min.

Este estudio sugiere que el aumento de la VFS, al consumir chicles, sólo se produce en el momento de masticación de dicha goma de mascar y este cambio no se mantiene en el tiempo, para ninguno de los tres medicamentos.

Con respecto al pH salival podemos afirmar que 7 días después del uso de gomas de mascar, este parámetro se mantuvo igual al inicial para los tres tratamientos. Esto también sugiere que el pH aumenta sólo durante el momento de masticación del chicle, como lo declaran numerosos reportes ^{23, 37, 38, 42, 44} y que este efecto no se mantendría en el tiempo. No se observó disminución significativa del pH salival con ningún tratamiento (tabla VII).

Tabla VII. Promedios de parámetros químicos y microbiológicos obtenidos antes y después de 7 días del uso de gomas de mascar medicadas. Se indica el valor p respectivo.

Tratamiento	Chicle 1			Chicle 2			Chicle 3		
	Antes	Después	p	Antes	Después	p	Antes	Después	p
pH	7,81	7,88	0,44	7,95	7,99	0,74	7,94	7,88	0,38
C.T.	5,99	5,60	0,16	6,18	6,01	0,51	6,20	5,60	0,10
V.F.S.	2,16	2,19	0,79	2,36	2,38	0,90	2,38	2,11	0,02
R.S.m x 10⁵	1,33	7,03	0,34	0,91	1,2	0,62	0,25	0,055	0,02

Chicle 1: Alcanfor, p-clorofenol y Peróxido de Hidrógeno.

Chicle 2: Xilitol.

Chicle 3: Acetato de Clorhexidina.

C.T.= Capacidad Tamponante.

V.F.S.=Velocidad de Flujo Salival.

R.S.m=Recuento microbiológico de *S. mutans*.

La Capacidad amortiguadora salival no sufrió variaciones estadísticamente significativas para ninguno de los tres tratamientos, pero podemos destacar que para la goma de mascar con clorhexidina (chicle 3) se produjo una disminución mayor, la cual podría ser explicada debido a que el flujo salival se presentó también disminuido, lo que también acarrearía una disminución en la concentración de bicarbonato ³⁴, principal agente amortiguador de la saliva, lo cual explicaría esta leve disminución en la capacidad amortiguadora. Esta observación tampoco ha sido reportada en la literatura, por lo que también amerita una mayor investigación.

Al igual que para los 2 parámetros anteriores, se puede sugerir que la capacidad buffer o amortiguadora se elevaría sólo en el momento de la masticación de la goma de mascar, como lo señalan numerosos estudios, y este efecto no se mantendría en el tiempo ^{23, 37, 38, 42, 44}.

Con respecto al análisis microbiológico, los resultados obtenidos en este estudio muestran que la goma de mascar con clorhexidina (chicle 3) sigue siendo la más

eficaz en disminuir el recuento de *S. mutans*, lo que concuerda con lo reportado por Imfeld³⁷ en 2006.

Para las otras dos gomas de mascar los resultados obtenidos no muestran una disminución en el recuento cuantitativo de *S. mutans*, sino que por el contrario, se produce un aumento, aunque no es estadísticamente significativo, el cual se podría explicar de la siguiente manera:

- El no cumplimiento del tratamiento por parte de los pacientes;
- La liberación de medicamentos en saliva desaparece rápidamente de la cavidad oral debido a la deglución involuntaria³⁵;
- La baja concentración de los agentes activos en la formulación de la goma de mascar número 1 en base a Alcanfor, p-Clorofenol y Peróxido de Hidrógeno.
- La concentración de medicamentos en la cavidad oral siempre tiende a disminuir como resultado de la dilución con la saliva;
- La liberación del medicamento desde la goma de mascar es fuertemente influenciada por la manera en que el paciente mastica la formulación³⁵.
- Variables como dieta y actividad de caries no fueron evaluadas.

- Otra explicación a este hecho podría ser que el número de días de utilización de la goma de mascar fue muy reducido (solo una semana), ya que en la mayoría de los estudios realizados con chicles con Xilitol el período de tiempo de utilización es mucho mas prolongado, entre 90 días y 20 meses ^{18, 42, 43}.
- El Alcanfor, p-Clorofenol, Peróxido de Hidrógeno y el Xilitol no poseen sustantividad, ventaja que si posee la Clorhexidina.
- El número de sujetos de la muestra es muy reducido
- No se analizó el efecto en otros microorganismos implicados en caries.

Los Acontecimientos Adversos registrados, luego de masticar las tres gomas de mascar por 20 minutos, 3 veces al día y durante 7 días, fueron tinciones dentarias, dolor o molestias musculares en zona de cabeza y cuello; y molestias ATM. Estas se pueden explicar debido a que las molestias y/o dolores, tanto musculares en cabeza y cuello y en ATM, se produjeron en un mayor porcentaje para el chicle N° 2, con Xilitol con un 21,7% y 17,4% respectivamente, el cual presenta la consistencia más dura de las tres gomas de mascar. No existe documentación con respecto al tiempo máximo de masticación en el cual se comenzarían a producir molestias y alteraciones,

tanto musculares como articulares, hecho que podría ser investigado en profundidad.

Las tinciones dentarias ocurridas en tres pacientes, están mayormente asociadas al uso del chicle con clorhexidina (chilce 3) con un 12,5%. Esta ocurrencia de pigmentaciones corresponde a una de las principales desventajas de la clorhexidina ^{18, 34, 43}. Cabe mencionar que estas tinciones fueron fácilmente removidas con una profilaxis con escobilla suave y piedra pómez fina. Este hallazgo no concuerda con lo reportado por Imfeld ³⁷ en 2006, quién afirmó que la goma de mascar con Clorhexidina produciría menos tinciones que el uso en colutorio.

La goma de mascar que presentó menor porcentaje de acontecimientos adversos fue la que contenía Alcanfor, p-Clorofenol y Peróxido de Hidrógeno.

Es destacable que en este estudio no se reportaron acontecimientos adversos tales como irritación de mucosas o piel, ni algún tipo de lesión, para ninguna de las tres gomas de mascar en investigación.

Conclusiones

De acuerdo a lo reportado en este trabajo de investigación, cuyo objetivo fue evaluar mediante análisis químicos y microbiológicos, la efectividad del uso de chicles medicados con Alcanfor, p-Clorofenol y Peróxido de Hidrógeno en modificar parámetros salivales, como: velocidad de flujo salival, pH, y capacidad amortiguadora y recuento cuantitativo de *S.mutans* en saliva estimulada, podemos concluir lo siguiente:

El uso de chicles medicados en base a alcanfor, p-clorofenol y peróxido de Hidrógeno no modifica los parámetros químicos salivales ni reduce el número de *S. mutans*, después de su uso durante un período de 7 días.

1. El uso de goma de mascar medicada con Alcanfor, p-Clorofenol y Peróxido de Hidrógeno y goma de mascar medicada con Xilitol, no altera la VFS promedio.

2. La goma de mascar con CHX produjo una disminución estadísticamente significativa de la VFS promedio.
3. El uso de gomas de mascar medicadas con Alcanfor, p-Clorofenol y Peróxido de Hidrógeno, gomas de mascar medicadas con Xilitol y gomas de mascar medicadas con Clorhexidina no afecta el pH promedio de la saliva.
4. Con respecto a los resultados del análisis microbiológico, el recuento cuantitativo de *S. mutans*, para el tratamiento con Clorhexidina (chicle 3) mostró una disminución estadísticamente significativa de las UFC/ml saliva y resultó ser el más eficaz.
5. Los Acontecimientos Adversos encontrados mas frecuentes fueron: tinciones dentarias con un 16,8 % y dolor o molestias musculo articulares en cabeza y cuello con un 81,4 %.
6. La goma de mascar con CHX presentó el mayor número de tinciones dentarias (12,5 %).
7. La goma de mascar con Xilitol presentó mayor dolor y mayor número de molestias musculares en cabeza-cuello y ATM. (39,1%).

Sugerencias

En base a los resultados obtenidos en este trabajo se sugiere:

- La realización de un estudio similar en el cual se utilice gomas de mascar en base a Alcanfor, p-Clorofenol y Peróxido de Hidrógeno en mayores concentraciones a las utilizadas en este estudio, previo estudio que analice la citotoxicidad en dicha concentración.
- La realización de un estudio comparativo del uso de gomas de mascar en base a alcanfor, p-clorofenol y peróxido de Hidrógeno, Xilitol y Clorhexidina, con respecto a recuentos microbiológicos de *S. mutans* y otras bacterias bucales, como *Pophyromonas gingivalis* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, implicadas en el proceso de enfermedad periodontal, durante períodos de utilización mayores de 7 días.

- la realización de un estudio que correlacione el uso de Clorhexidina, en cualquiera de sus formas, con la velocidad de flujo y la Capacidad Amortiguadora salival a largo plazo.
- La realización de un estudio que correlacione el tiempo de masticación de gomas de mascar con la aparición de acontecimientos adversos, tales como alteraciones en músculos masticatorios y alteraciones en ATM.
- La realización de un ensayo clínico que analice el efecto momentáneo de las tres gomas de mascar en los parámetros analizados.

Resumen

El uso de gomas de mascar se encuentra actualmente muy masificado en la población. Sus beneficios para la salud oral son conocidos ya que corresponde a un método efectivo, tanto físico como mecánico, de remoción de restos alimenticios y limpieza del diente. Sin embargo, sólo es secundario al cepillado dental. Masticar chicle, incrementa el flujo salival, incrementa el pH de la saliva y sirve como vehículo para la entrega y liberación de medicamentos.

En la literatura no se describen gomas de mascar que presenten en su composición antisépticos y aceites esenciales, por esto en laboratorio de química de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, se formuló un chicle que cuenta con Alcanfor (aceite esencial), p-Clorofenol y Peróxido de Hidrógeno, como antisépticos.

Se realizó un ensayo clínico para medir efectos y seguridad de estos preparados en recuentos microbianos, evaluar y comparar parámetros químicos

salivales, como: flujo salival, pH y capacidad amortiguadora de la saliva. Se usaron chicles con xilitol y clorhexidina a modo de agentes comparativos.

Los resultados del estudio muestran que el uso de chicles medicados en base a Alcanfor, p-Clorofenol y Peróxido de Hidrógeno NO modifica parámetros químicos salivales como pH, Capacidad Amortiguadora y Velocidad de flujo salival, ni reduce el número de *S. mutans*, después de su uso durante un período de 7 días. Las gomas de mascar con clorhexidina fueron las únicas que redujeron en forma significativa el recuento cuantitativo de *S. mutans* en un período de 7 días, pero al mismo tiempo produjeron una disminución significativa de la Velocidad de Flujo Salival, hecho que amerita una mayor investigación.

Los Acontecimientos Adversos registrados luego de masticar las tres gomas de mascar fueron tinciones dentarias, dolor o molestias musculares en zona de cabeza y cuello; y molestias y/o ruidos en ATM. Estas últimas se produjeron en mayor porcentaje para los chicles con Clorhexidina y Xilitol respectivamente. No se reportaron acontecimientos adversos como irritación de mucosas o piel, ni algún tipo de lesión para ninguna de las tres gomas de mascar.

Referencias

1. Linossier, A. *Streptococcus mutans* y caries dental. *Odontología Chilena*. **42**: 113-119. 1984.
2. Macek MD, Heller KE, Selwitz RH, Manz MC, “ Is 75 percent of dental caries really found in 25 percent of the population?” *J Public Health Dent*. **64**(1) 20-5. 2004.
3. Ministerio de Salud de Chile. “Plan de Salud Buco Dental 1990-1999” PP. 8-15. Minsal.
4. Yévenes, I. Zillmann, G. Muñoz, A. Araneda, W. Echeverría, S Hassi, J Espinoza, N Reyes, J. Estudio: Impacto de la fluoruración del agua potable en la Región Metropolitana. 2004-2005.
5. Cameron A, Widmer R. “Manual de Odontología pediátrica”, Primera edición. Ed. Harcourt Brace. Madrid-España, 338 págs. 55-81 Cap.3. 1998.
6. Sturtevant. C, Roberson. T and H. Heymann. “Operatoria Dental Arte y Ciencia”. 3ª Ed. 1996 pp 223-28.

7. Zanatta FB, Antoniazzi RP, Rösing CK: "The effect of 0.12% chlorhexidine gluconate rinsing on previously plaque-free and plaque-covered surfaces: a randomized, controlled clinical trial". *J Periodontol.* **78**(11):2127-2134. 2007.
8. Murray P, Baron E, Pfaller M, Tenover F, Tenover FC: "Manual of Clinical Microbiology". 6th edition. ASM Press. 1482 pp 89, Section II-8. P 238-39 Section IV-19. 1995.
9. Menezes M., Valera M., Jorge A., Koga-ito C, Camargo, C., Mancini M.: "In vitro evaluation of the effectiveness of irrigants and intracanal medicaments on microorganisms within root canals". *Int Endod J.* **37**(5):311-319. 2004.
10. Barbosa CA, Goncalves RB, Siqueira JF, De Uzeda M et al. (1997) Evaluation of the antibacterial activities of calcium hydroxide, chlorhexidine, and camphorated paramonochlorophenol as intracanal medicament. A clinical and laboratory study. *J endod*; **23**(5):297-300. 1997.
11. Silhacek KJ, Taake KR, (2005) Sodium bicarbonate and hydrogen peroxide: the effect on the growth of *Streptococcus mutans*. *J Dent Hyg.* **79**(4):7. Epub 2005.
12. Imfeld T: Chewing gum – Facts and fiction: A review of gumchewing and oral health. *Crit Rev Oral Biol Med* **10**: 405–419 1999.
13. Imfeld T. 2006. Chlorhexidine-containing chewing gum Clinical documentation. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 116: 476–483 2006.

14. C. Dawes, K. Kubieniec,. The effects of prolonged gum chewing on salivary flow rate and composition. *Arch Oral Biol.* **49**, 665—669. 2004.
15. Alnamo J, Etemadzadeh H: Prevention of plaque growth with chewing gum containing chlorhexidine acetate. *J Clin Periodontol* **14**: 524–527 1987.
16. Pinkham J, “Odontología Pediátrica”, 2da edición, EE.UU., Ed. Interamericana- McGraw-Hill, 667 págs. Pp. 180-183 cap.12. 1996.
17. Urzúa I, Stanke F, “Nuevas estrategias en cariólogía”, 1° Edición, Chile, 125 págs 10-11. 1999.
18. Huerta J. “Principios de Microbiología Bucal”. Ed. De la Universidad de Chile. Pp 23-33; 35-36; 42-45; 55-58. 1975.
19. Loeshe. W.J. “Rol of Streptococcus mutans in Human Dental Decay”. *Microbiol. Rev.* 50: 353-380. 1986.
20. Galas M, Corso A, Pasterán F, Ceriana P. “XVII Curso intensivo de Actualización en antimicrobianos”. Pp 9, 11, 76, 95-104. 2003.
21. Venkitaraman. A. R, Vacca-Smith. A.M, Kopec. L.K and W.H. Bomen. “Characterization of GlucosyltransferaseB, GtfC, and GtfD in Solution and on the Surface of Hydroxyapatite”. *J Dent. Res.* 74: 1695-1701. 1995.
22. Narvárez C. Elementos de bioquímica para odontología. Cap 2. Pag 36-39. 2008.

23. Lagerlöf F, Oliveby A. Caries-Protective factors in saliva. *Adv Dent Res*; **8**(2): 229-238. 1994.
24. Sreebny LM. Salivary flow in health and disease. *Compend Contin Educ Dent*, Suppl N° 13, 1989.
25. C. Dawes, et al. The unstimulated salivary flow rate after Prolonged gum chewing. *Archives of Oral Biology* 50, 561—563. 2005.
26. Lucy A. Anderson, Robin Orchardson. The effect of chewing bicarbonate-containing gum on salivary flow rate and pH in humans. *Arch Oral Biol*; **48**, 201—204. 2003.
27. Tenovuo J. Salivary parameters of relevance for assessing caries. Activity in individuals and populations. *Community Dent Oral Epidemiol*; 25:82-6. 1997.
28. Sreebny LM, Valdini A, Yu A. Xerostomia. Part II: Relationship to nonoral symptoms, drugs, and diseases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*; 68:419-27. 1981.
29. Dawes C. Factors Influencing Salivary Flow Rate and Composition. In: WM Edgar and DM O'Mullane, editors. *Saliva and Oral Health*. 2ed. 1996.
30. Anderson MH. Oral health maintenance by preventive therapy. In: Professional Prevention in Dentistry. Advances in dentistry I. Williams and Wilkins. Baltimore, 1994.

31. Fure S. Five-year incidence of caries salivary and microbial conditions in 60-70-, and 80-year-old Swedish individuals. *Caries Res*; **32**: 166-174. 1998.
32. Afonsky D. Saliva and its relation to oral health. A survey of the literature. Alabama: University of Alabama Press; 1961.
33. Almståhl A, Wikström M. Electrolytes in stimulated whole saliva in individuals with hyposalivation of different origins. *Arch Oral Biol*. **48**(5):337-344. 2003.
34. Mandel ID. The role of saliva in maintaining oral homeostasis. *J Am Dent Assoc*.; **119**(2):298-304. 1989.
35. Ericsson Y, Hellstrom I, Jared B, Stjernstrom L. Investigations into the relationship between saliva and dental caries. *Acta Odont Scand*.; **11**(3-4):179-94. 1954.
36. Amerongen AV, Veerman EC. Saliva - the defender of the oral cavity. *Oral Dis*.; **8**(1):12-22. 2002.
37. Commission Of The European Communities: CPMP list of allowed terms for pharmaceutical dosage form, route of administration, container, closure and administration devices, III/3593/91 1991.
38. European Department For The Quality Of Medicine With The Council Of Europe: Chewing gums, medicated. Masticabilia gummis medicata. European Pharmacopoeia. Council of Europe, Strassburg, p1638 2001.

39. Rassing M R: Chewing gum as a drug delivery system. *Adv Drug Deliv Rev* **13**: 89–121 1994.
40. Rassing M R: Specialised oral mucosal drug delivery systems: Chewing gum. In: Rathbone M J (Ed.): *Oral Mucosal Drug Delivery*, Marcel Dekker Inc., New York, pp 319–357 1996.
41. Sroisiri Thaweboon, Boonyanit Thaweboon and Surin Soo-Ampon. The effect of xylitol chewing gum on mutans Streptococci in saliva and dental plaque. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, **35**, No. 4. 2004.
42. Hertling, D. and Kessler R. *Management of Common Musculoskeletal Disorders Physical Therapy Principles and Methods*. 2nd edition, J.B. Lippincott Company, 1990.
43. Yazigi R. Rincones olvidados de la Gastroenterología II: Las glándulas salivales y el papel de la saliva. *Gastr Latinoam*; **17**, N° 3: 338-350. 2006.
44. Brian A. Burt, 2006 The use of sorbitol - and xylitol-sweetened chewing gum in caries control. *JADA*; **137**:190-196. 2006.
45. Kimbrough C. PYCNOGENOL® chewing gum minimizes gingival bleeding and plaque formation. *Phytomedicine* 9: 410–413 2002.
46. Koontongkaew S, Jitpukdeebodindra S: Interaction of chlorhexidine with cytoplasmic membranes of *Streptococcus mutans* GS-5. *Caries Res* 29: 413–417 1995.

47. Loesche W J: Chemotherapy of dental plaque infections. *Oral Sci Rev* 9: 65–107 1976.
48. Cosyn J, Verelst K. An efficacy and safety analysis of a chlorhexidine chewing gum in young orthodontic patients. *J Clin Periodontol*; **33**: 894–899. 2006.
49. Esberard R.: “Avaliação histológica em dentes de cães portadores de lesões periapicais crônicas (obtidas experimentalmente) frente ao tricresol formalina”. *R.B.O.LI*(2) mar/abr 1994.
50. Harrison, JW., Madonia, JV.: “The toxicity of parachlorophenol”. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*; **32**(1):90-99. 1971.
51. John W. Harrison, Ralph Bellizzi, Edward M. Osetek. The Clinical Toxicity of Endodontic Medicaments. *J Endod.* **5**, Pp. 42-47). 1979.
52. Chang, YC., Tai, KW., Chou, LS., Chou, MY.: “Effects of camphorated parachlorophenol on human periodontal ligament cells in vitro”. *J Endod.*; **25**(12):779-781. 1999.
53. Ferreira, CM, Da Silva, R., Torres, SA., Ferreira, FB., Bernardinelli, N.: “Activity of endodontic antibacterial agents against selected anaerobic bacteria”. *Braz Dent J.*; **13**(2):118-122. 2002.

54. Patel A, Louca C, Millar B: "An *in vitro* comparison of tooth whitening techniques on natural tooth colour". *Br Dent J.* **11** [Epub ahead of print] PMID: 18408707. 2008.
55. Chang YC. In vitro evaluation of the cytotoxicity and genotoxicity of root canal medicines on human pulp fibroblasts. *J Endod.* ; **24**(9):604-606. 1998.
56. Amorin CV. Susceptibility of some oral microorganisms to chlorhexidine and paramonochlorophenol. *Braz Oral Res*; **18**(3):242-246. 2004.
57. International Agency for Research on Cancer (IARC). Summaries & Evaluations, Hydrogen Peroxide (Group 3). Summary of Data Reported and Evaluation. VOL.: **71** (p. 671). (1999).
58. Scientific Committee On Consumer Products. Guidance document on Epidemiological and clinical studies on Tooth Whitening Products. 2006.
59. Peróxido de hidrógeno (*Hydrogen Peroxide*). *Agency for toxic substances and Disease Registry. Cas N 7722-84-1.2000.*
60. Morante S, Bascones A. Valoración cruzada y a doble ciego, mediante el modelo de gingivitis experimental, de la eficacia de tres colutorios de clorhexidina sin alcohol frente a la prevención de gingivitis y a la neoformación de placa supragingival. Tesis doctoral Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Odontología. 2003.

61. Yévenes, I., Rivera, S.: “Efecto comparativo antiplaca de colutorio a base de paraclorofenol, alcanfor y peróxido de hidrógeno con colutorio de clorhexidina al 0,12%”. Libro resúmenes XIX Reunión Anual IADR Chile 72 pp. 29. 2006.
62. Echeverría. J, Cuenca. E, El manual de Odontología. Cap.7 pp 70-80. Elsevier España, 1994.
63. Grillaud, M. Les polyols en odontologie pédiatrique: intérêt du xylitol The polyols in pediatric dentistry: advantages of xylitol. *Archives de pédiatrie* **12** 1180–1186. 2005.
64. Castro V., Gajardo M, Ulloa M. Inhibición del crecimiento in vitro de *Streptococcus mutans* por papaina y Sanitrend. Trabajo de investigación requisito para optar al título de cirujano dentista., 34-35. 2005

Anexo N°1

Acontecimientos Adversos.

Acontecimiento adverso es: “Cualquier suceso médico adverso que pueda presentar un paciente o sujeto de investigación clínica al que se ha administrado un producto farmacéutico y que no tiene necesariamente que tener una relación causal con dicho tratamiento”.

Por lo tanto, un AA puede ser cualquier signo (incluyendo, por ejemplo, un hallazgo anormal de laboratorio), síntoma o enfermedad no intencionados y desfavorables, asociados cronológicamente con la utilización de un producto farmacéutico, se considere o no relacionado con él.

Acontecimiento adverso grave

Es aquel suceso médico etiquetado como tal que, independientemente de la dosis:

- produce la muerte

- pone en peligro la vida
- precisa de ingreso hospitalario o lo prolonga
- produce una discapacidad / incapacidad persistente o importante, o es una anomalía congénita.

En otras situaciones, como en acontecimientos médicos importantes que no pongan en peligro inmediato la vida ni produzcan la muerte, pero que comprometan al sujeto o requieran intervención para prevenir alguno de los resultados enumerados en la definición anterior, debe utilizarse el juicio médico y científico para decidir si la comunicación expeditiva es adecuada. Estas situaciones, habitualmente, también se considerarán graves.

Reacción adversa

Durante la fase previa a la autorización de una especialidad farmacéutica o de una nueva forma de uso, especialmente cuando las dosis terapéuticas aún no se han establecido: “deben considerarse reacciones adversas a medicamentos todas las respuestas nocivas y no intencionadas a un medicamento con independencia de la dosis utilizada”.

La frase “respuestas nocivas y a un medicamento” significa que la relación causal entre el medicamento y el acontecimiento adverso es al menos una probabilidad razonable (La relación no puede ser descartada).

Reacción adversa inesperada

Es aquella cuya naturaleza e intensidad no coincide con la información disponible del producto (“Manual del Investigador” si se trata de un producto en investigación no autorizado).

Documentación y clasificación de acontecimientos adversos.

En todas las visitas se preguntará al sujeto por los AA experimentados desde la visita anterior.

Para recoger una información normalizada de los posibles AA, hay que formular al sujeto en cada visita la pregunta siguiente:

“¿Le ha producido el fármaco alguna molestia?”

“¿Ha observado algún nuevo síntoma, molestia o lesión desde su última visita?”

Y, si procede en razón de los objetivos de seguridad del estudio, se interrogará al sujeto para rellenar un impreso de AA o RA específico.

Todos los AA o las RA que se produzcan durante un estudio deben ser documentados en una ficha de recepción de AA' para cada AA o RA deben documentarse los siguientes datos:

- Descripción del síntoma / acontecimiento.
- Intensidad
- Fecha (hora) de la primera y la última aparición.
- Clasificación como "grave" o "no grave"
- Frecuencia (una vez, ocasionalmente, frecuentemente, permanentemente).
- Tratamiento requerido: no requiere tratamiento, tratamiento con fármacos de prescripción exclusivamente, tratamiento en régimen ambulatorio (con registro de las fechas), prolongación de la hospitalización (con registro de las fechas).
- Relación causal con el o los productos en investigación.
- Medidas adoptadas con respecto al o a los productos en investigación (continuación de la medicación, suspensión temporal de la medicación, suspensión definitiva de la medicación).

Clasificación y codificación de la relación causal

El investigador debe:

1. Evaluar la intensidad y la gravedad del AA o RA

2. Estimar la relación causal del AA o la RA con los fármacos utilizados en el estudio cuando sea grave

3. Registrar las medidas adoptadas para tratar el AA o la RA.

Definición de causalidad

La relación causal de un acontecimiento adverso con el o los productos en investigación se clasificará como sigue:

A = Probable.

B = Posible.

N = Sin relación causal.

0 = No clasificado.

Deben utilizarse las siguientes definiciones:

A = Cuando existen buenas razones y documentación suficiente para suponer que existe una relación causal en el sentido de que es plausible, concebible o probable, pero no necesariamente muy probable.

B = Cuando existe suficiente información para aceptar la posibilidad de una relación causal en el sentido de que no es imposible ni improbable, aunque la conexión sea incierta o dudosa, p. ej., debido a que faltan datos o a que las pruebas son insuficientes.

N = Cuando existe información suficiente para aceptar la ausencia de una relación causal, en el sentido de que es imposible e improbable.

0 = Cuando la relación causal no puede valorarse por cualquier motivo, debido a que las pruebas son insuficientes, los datos contradictorios o la documentación escasa.

Definición y valoración de la intensidad

La intensidad de los acontecimientos adversos se valorará de acuerdo con las siguientes categorías y definiciones:

Leve: Existe un síntoma, pero se tolera (es un síntoma fácilmente tolerado).

Moderada: Afecta a la actividad normal (cuando existen molestias suficientes para afectar a las actividades de la vida diaria del sujeto).

Intensa: Efecto intenso / incapacidad para trabajar o realizar las actividades habituales. Es necesario suspender la medicación del ensayo¹.

Referencia

1. Morante S, Bascones A. Valoración cruzada y a doble ciego, mediante el modelo de gingivitis experimental, de la eficacia

de tres colutorios de clorhexidina sin alcohol frente a la prevención de gingivitis y a la neoformación de placa supragingival. Tesis doctoral Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Odontología. 2003

Anexo N°2

Ficha odontológica

Día	Mes	Año

Información General

Paciente N°:.....
 Nombre:
 Dirección :.....
 Teléfono:.....
 Edad en años:.....
 Sexo:

Anamnesis próxima actual:

- Enfermedades generales, tabaquismo, consumo de medicamentos, alergias, etc.

- Última atención odontológica

Evaluación Clínica

Evaluación extraoral

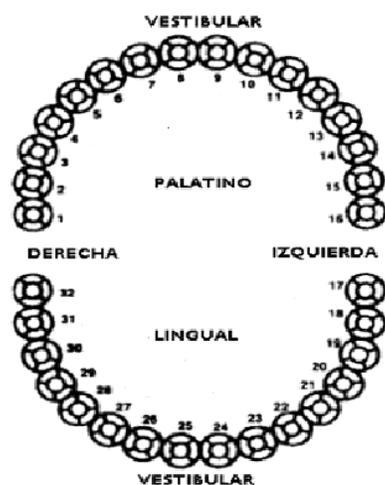
	SI	NO		
Ganglios palpables			Ubicación	
Puntos y/o zonas dolorosas en zonas de cabeza y cuello			Ubicación	
Dolor ATM			Espontáneo	Provocado

Ruidos ATM			Descripción		
	Aspecto normal	Úlceras	Inflamaciones	Erosiones	otros
Cabeza-cuello					
Nariz-mejilla-barbilla					

Evaluación intraoral

Mucosa Oral

Examen dentario:



	Estado Normal	Úlcera o lesión	Otros
Labios, comisuras			
Borde bermellón			
Mucosa mejillas			
Piso de boca			
lengua			
Paladar duro y/o blando			
encías			
vestíbulos			
Región faringoamigdalina			

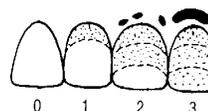
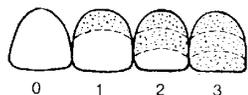
COPD:

Índice de Higiene Oral Simplificado

	SI	NO
Uso de prótesis		
Anomalías dentomaxilares		

(1) Índice de depósitos blandos _____

(2) Índice de depósito duros _____



Diente	Valor 1	Valor 2	Promedio
1,6			
1,1			

2,6			
3,6			
3,1			
4,6			

Diente	Valor 1	Valor 2	Promedio
1,6			
1,1			
2,6			
3,6			
3,1			
4,6			

Adecuado	0.0 - 1.2
Aceptable	1.3 - 3.0
Deficiente	3.1 - 6.0

IHOS (1) + (2) = _____

Anexo N° 3 Ficha N° 2

Día	Mes	Año

Información General

Paciente N°:

Nombre:

Control N°:

Fecha 1 2 3 4 5 6 7

--	--	--	--	--	--	--	--

Evaluación Clínica Evaluación extraoral

	SI	NO		
Ganglios palpables			Ubicación	
Puntos y/o zonas dolorosas en zonas de cabeza y cuello			Ubicación	
Dolor ATM			Espontáneo	Provocado
Ruidos ATM			Descripción	

	Aspecto normal	Úlceras	Inflamaciones	Erosiones	otros
Cabeza-cuello					
Nariz-mejilla-barbilla					

Evaluación intraoralMucosa Oral

	Estado Normal	Úlcera o lesión	Otros
Labios, comisuras			
Borde bermellón			
Mucosa mejillas			
Piso de boca			
lengua			
Palador duro y/o blando			
encías			
vestíbulos			
Región faringoamigdalina			

Anexo Nº 4**Ficha de recepción de acontecimientos adversos**Fecha:Nombre:Fase experimental N^a:

Paciente número:

Responda las siguientes preguntas según su experiencia en la pasada semana, en la cual usó uno de los chicles en estudio:

1. ¿Tuvo algún tipo de molestia o reacción fuera de lo común en su boca, ya sean heridas, úlceras, o cualquier tipo de lesión en la semana recién pasada?
2. ¿Tuvo algún otro tipo de molestias en relación al ejercicio de masticar chicles, que pueda mencionar, ya sean molestias musculares alrededor de la boca, mejillas, dolor de cabeza, dolor de cuello. Etc.?

3. ¿Sintió molestias o ruidos en relación al oído?
4. ¿Comenzó a tomar algún medicamento en los últimos 10 días, además de los chicles en estudio? ¿Cual?
5. ¿ha tenido alguna reacción a medicamentos en el pasado?
Describe

Anexo Nº 5

Análisis de Citotoxicidad de colutorio en base a Alcanfor (0,01 g), p-Clorofenol (0,005 g) y Peróxido de Hidrógeno (0,04 g).

Introducción

En el Laboratorio de Química de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile se formuló un colutorio a base de Alcanfor (aceite esencial) (0,02 g), p-Clorofenol (0,01 g) y Peróxido de Hidrógeno (0,04 g) como antisépticos.

Debido a los antecedentes de toxicidad en altas concentraciones de estos componentes ⁽¹⁻⁷⁾, se realizó un estudio que evaluó la existencia de citotoxicidad del colutorio en las concentraciones anteriormente citadas.

Para ello se utilizó la citología exfoliativa⁸ y la observación de alteraciones citológicas en frotis, tales como picnosis, cariorrexis, cariólisis y queratinización⁹.

Objetivos:

- Evaluar la citotoxicidad de un colutorio que contiene Alcanfor (0,01 g), p-Clorofenol (0,005 g) y Peróxido de Hidrógeno (0,04 g) mediante la observación de alteraciones citológicas: picnosis, cariorrexis, cariolisis y queratinización en células exfoliadas la mucosa bucal.
- Comparar la frecuencia de aparición de picnosis, cariorrexis, cariolisis, queratinización en células exfoliadas de la cavidad bucal de pacientes antes y después de enjuagarse durante un minuto con el colutorio en estudio.

Materiales y método**Sujetos en estudio**

Se reclutó un total de 10 sujetos entre 18 y 40 años, 5 de género masculino y 5 de género femenino.

Se tomaron dos frotis de mucosa bucal en cada sujeto, un frotis control y otro experimental con colutorio. El control fue tomado en mucosa del labio superior y el experimental en mucosa del labio inferior.

Procedimiento

Luego de examinar la cavidad bucal cada paciente realizó un primer enjuague con ácido acético al 1% durante un minuto, para remover desechos de *mucus* y *debris* de la superficie de la mucosa bucal.

Posteriormente se realizó un frotis control de mucosa del labio superior con una espátula de madera limpia. El material colectado fue esparcido rápidamente sobre un portaobjetos y fijado con laca en *spray*.

Luego se solicitó a cada sujeto que realizara un enjuague circunscrito en el labio inferior con el colutorio en estudio, durante un minuto, para posteriormente, tomar un segundo frotis, ahora de la mucosa del labio inferior, según el procedimiento descrito anteriormente.

Los 20 frotis obtenidos (10 control, y 10 experimental) fueron teñidos con tinción Giemsa y fueron observadas bajo microscopio. Se contaron 500 células epiteliales intactas por cada muestra, las cuales fueron examinadas para detectar la presencia de picnosis, cariólisis, cariorrexis, queratinización o normalidad. El análisis fue realizado en forma ciega.

Los resultados fueron expresados en porcentaje (%). Las diferencias entre el uso del colutorio y el control fueron determinadas usando el Test Wilcoxon (Mann-Whitney). Se fijó un intervalo de confianza del 95% aceptando diferencias estadísticamente significativas cuando $p < 0,05$.

Resultados

Las muestras colutorio y control fueron comparadas haciendo una evaluación de la frecuencia de observación de normalidad, picnosis, cariorrexis, cariolisis y queratinización en células exfoliadas desde mucosa bucal de labio inferior y superior respectivamente⁹. (Tabla I).

El análisis estadístico no arrojó diferencias significativas en la observación de alteraciones citológicas y células normales entre las muestras control y colutorio. (Tabla I).

Tabla I. Distribución de anomalías citológicas de mucosa bucal en la población examinada (n=10).

	n	Normales %	Picnosis %	Cariorrexis %	Cariolisis %	Queratinización %
Colutorio	10					

		83.74	9.2	0.28	0.38	6.4
control		86.72	9.58	0.16	0.42	3.12
Valores de p		0.5453	0.7910	0.2493	0.5607	0.1849

Test wilcoxon (Mann-Whitney) ($p > 0.05$)

Discusión

El paraclorofenol alcanforado (PCFA) y el peróxido de hidrógeno (PH) entre otros, al igual que la Clorhexidina, son inhibidores químicos de la placa bacteriana ^{1, 2}. Es por esto que estos compuestos fueron utilizados en la elaboración de un nuevo colutorio. Existen estudios en donde se ha evaluado la citotoxicidad del PCF ⁽³⁻⁵⁾, la cual depende principalmente de su concentración y del vehículo empleado para disolverlo. Sin embargo, su poder antibacteriano y antiséptico es evidente por lo que se ha utilizado durante años en Odontología. Enjuagues que contienen concentraciones elevadas de Peróxido de Hidrógeno o que se utilizan con alta frecuencia pueden irritar la boca ^{6, 7}. Debido a estos antecedentes se realizó este estudio con el fin de evaluar la existencia de

citotoxicidad de un nuevo colutorio que contiene alcanfor (aceite esencial) (0,01 g), p-clorofenol (0,005 g) y peróxido de hidrógeno (0,04 g) como antisépticos.

En este estudio fueron observados cambios citológicos como picnosis, cariólisis, cariorrexis y queratinización tanto en muestras control como en las muestras experimentales, no existiendo diferencias o aumentos estadísticamente significativos en las muestras experimentales con colutorio.

Conclusión

Los resultados de este estudio demuestran que la aplicación de un enjuague del nuevo colutorio a base de paramonoclorofenol alcanforado y peróxido de hidrógeno no produce alteración en las células de la mucosa oral.

Referencias

1. Zanatta FB, Antoniazzi RP, Rösing CK: "The effect of 0.12% chlorhexidine gluconate rinsing on previously plaque-free and plaque-covered surfaces: a randomized, controlled clinical trial". *J Periodontol.* **78**(11):2127-2134. 2007.

2. Murray P, Baron E, Pfaller M, Tenover F, Tenover F, Tenover F, Yolken R.: “Manual of Clinical Microbiology”. 6th edition. ASM Press. 1482 pp 89, Section II-8. P 238-39 Section IV-19. 1995.
3. Ferreira, CM, Da Silva, R., Torres, SA., Ferreira, FB., Bernardinelli, N.: “Activity of endodontic antibacterial agents against selected anaerobic bacteria”. *Braz Dent J*; **13**(2):118-122. 2002.
4. John W. Harrison, Ralph Bellizzi, Edward M. Osetek. (1979). The Clinical Toxicity of Endodontic Medicaments. *Journal of Endodontics* February 1979 (Vol. 5, Issue 2, Pages 42-47).
5. Chang, YC., Tai, KW., Chou, LS., Chou, MY.: “Effects of camphorated parachlorophenol on human periodontal ligament cells in vitro”. *J Endod.*; 25(12):779-81. 1999.
6. Gurney B. Farmacología clínica en endodoncia y medicamentos para el interior del conducto. *Dent Clin North Am*; 255-66. 1979.
7. Peróxido de hidrógeno (*Hydrogen Peroxide*). *Agency for toxic substances and Disease Registry. Cas N 7722-84-1. Abril 2000.*
8. Lobos N. Patología de la mucosa Oral. Cap 3 Págs 37-46.
9. Almeida Reis S R. Cytologic alterations in the oral mucosa after chronic exposure to ethanol. *Braz Oral Res.*; **20**(2): 97-102. 2006

Anexo Nº 6

HOJA DE INFORMACION GENERAL

Estudio de valoración cruzada, doble ciego y con distribución aleatoria de tratamientos, del efecto químico y microbiológico en saliva antes y después del uso de tres chicles medicados con Clorhexidina, xilitol y un antiséptico en estudio.

Acaba usted de incorporarse a un estudio para valorar comparativamente los efectos en saliva de tres chicles con, xilitol, clorhexidina y con una sustancia antiséptica experimental.

Recuerde que, una vez iniciado el estudio, y durante 9 semanas, deberá realizar una excelente higiene bucal personal, cepillándose adecuadamente los dientes, tal como le han indicado los investigadores, durante un mínimo de dos minutos, tres veces al día (después del desayuno, de la comida y de la cena) con el cepillo dental y la pasta dentífrica que se le han entregado. **NO DEBE USAR NINGÚN OTRO ELEMENTO DE HIGIENE, YA SEA COLUTORIO, OTRA PASTA, SEDA O HILO DENTAL, ETC.**

1. En la 1° visita se le realizará un examen bucal y confección de ficha clínica, además se le realizará una profilaxis o limpieza dental simple, se

le instruirá en una técnica correcta de cepillado y se le entregará una pasta y un cepillo para que realice una adecuada higiene durante dos semanas.

2. En la 2° visita, se le tomará una 1° muestra de saliva y le será entregado un set de uno de los tres chicles experimentales que deberá usar durante una semana. Para ello, **masticará 3 chicles al día, el primero después del desayuno, el segundo después de almuerzo y el último después de la comida, durante 20 minutos, para posteriormente eliminarlo.** Durante esta semana debe mantener su higiene de acuerdo a lo señalado en el punto 1.
3. No deberá realizar un enjuague posterior con agua ni comer o beber en los 30 minutos siguientes al uso del producto.
4. Luego de terminar la 1era semana masticando el primer chicle, debe volver para tomar una 2ª muestra de saliva, en esta sesión se repetirá la profilaxis o limpieza dental y se le entregará un 2º cepillo y pasta para continuar con su higiene bucal señalada anteriormente por otras 2 semanas.
5. Concluidas estas 2 semanas debe volver para la toma de una 3ª muestra de saliva y se le entregará un 2ª set de chicle para comenzar nuevamente el tratamiento por una semana, repetir las mismas instrucciones que en paso N° 2.
6. Al final de esta semana deberá volver para una 4º toma de muestra de saliva, otra profilaxis y entrega de un 3ª cepillo y pasta, para nuevamente esperar sin tratamiento de chicle (solo con su higiene bucal señalada) por 2 semanas.
7. Finalmente deberá volver a una 5 toma de muestra de saliva y entrega de su tercer set de chicle para utilizar del mismo modo ya señalado en el punto 2, por una semana y 3 veces al día durante 20 minutos.
8. Transcurrida esta última semana de uso de chicle, deberá volver para una 6º y final toma de muestra de saliva.

9. Debe recordar que está prohibido el uso de cualquier otro colutorio, pasta dentífrica o productos similares para el tratamiento e higiene dental. Cualquier tratamiento que necesite o decida tomar mientras participa en el estudio deberá consultarlo antes con los investigadores.
10. Del mismo modo, será necesario que las visitas odontológicas sean todas realizadas por sus investigadores en este estudio y, por lo tanto, no debe visitarse con otro odontólogo, a fin de no perder información ni que se vea interferido el estudio.
11. Ante cualquier duda o problema que se le presente, no dude en consultar con los odontólogos responsables del estudio.

Muchas gracias por su colaboración.

Próximas visitas:

Visita 1: __/__/____ Visita 2: __/__/____ Visita 3: __/__/____ Visita 4:
 __/__/____
 Visita 5: __/__/____ Visita 6: __/__/____ Visita 7: __/__/____

Anexo N°7

Tabla Distribución Aleatoria

Código Pacientes	Secuencia de tratamiento
1	1_2_3
2	2_1_3
3	3_2_1
4	2_3_1
5	1_2_3
6	2_3_1
7	3_1_2
8	2_1_3
9	2_3_1
10	1_2_3
11	2_3_1
12	1_2_3
13	2_1_3
14	1_3_2
15	3_1_2
16	1_3_2

17	1_3_2
18	3_2_1
19	3_1_2
20	3_2_1
21	2_1_3
22	1_3_2
23	3_2_1
24	3_1_2
25	1_2_3
26	2_3_1
27	2_3_1
28	1_3_2
29	3_2_1
30	3_1_2

Donde:

- | | |
|---|--------------------------------------------|
| 1 | P-Clorfenol Alcanfor Peróxido de Hidrógeno |
| 2 | Xilitol |
| 3 | Clorhexidina |

Anexo N°8**CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Título del estudio: *“Estudio piloto de valoración cruzada, doble ciego y con distribución aleatoria de tratamientos, del efecto químico y microbiológico en saliva antes y después del uso de tres chicles medicados con Clorhexidina, xilitol y un antiséptico en estudio”.*

Yo.....
(Nombre y apellidos del sujeto)

Habiendo entendido lo que los investigadores de este estudio me han explicado y habiendo leído la hoja de información que se me ha entregado, estoy suficientemente informado y comprendo que mi participación es voluntaria y que puedo retirarme cuando quiera del estudio, sin tener que dar ningún tipo de explicaciones y sin que esto repercuta en el trato y cuidados posteriores por parte de los investigadores.

Presto libremente mi consentimiento para participar en este estudio.

.....
(fecha) (Firma del sujeto)

.....
(fecha) (Firma del Investigador)

*Ubicación del estudio: Facultad de Odontología Universidad de Chile Olivos 943
Independencia.
Laboratorio de Química y Laboratorio de Microbiología.*