

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
POSGRADO DE ORTODONCIA



**TESIS**

**“EFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL GEL ANTISÉPTICO DE SUPEROXIDACIÓN VERSUS DIGLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12% EN LA FORMACIÓN DE BIOFILMS EN LA SUPERFICIE DE MINI-IMPLANTES ORTODÓNCICOS: ESTUDIO *in-vitro*”.**

Tesista:

**Evelyn Guadalupe Torres Capetillo.**

CIRUJANO DENTISTA

**UNIVERSIDAD VERACRUZANA**

**2008**

Como requisito parcial para obtener el grado de:

Maestría en Ciencias Odontológicas con Especialidad en Ortodoncia

**2011**



## **ASESORES:**

### ***DIRECTOR DE TESIS***

C.D. ESPECIALISTA EN ORTODONCIA ROBERTO CARRILLO GONZÁLEZ. PHD

### ***CO-DIRECTORES DE TESIS***

C.D. ROBERTO CARRILLO FUENTEVILLA MS.

C.D. M.C. MYRIAM ANGÉLICA DE LA GARZA RAMOS PhD.

### ***ASESORA METODOLÓGICA***

C.D. Posgraduado en Ortodoncia M. C. Hilda H.H. Torre Martínez PhD.

### ***ASESOR ESTADÍSTICO***

L.F.M., M.C. Roberto Mercado Hernández. PhD

***COORDINADOR DEL POSGRADO DE ORTODONCIA***

C.D. Especialista en Ortodoncia Roberto Carrillo González. PhD

***SUBDIRECTOR DE ESTUDIOS DE POSGRADO***

C.D.M.E.O. Sergio Eduardo Nakagoshi Cepeda. PhD

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**Los miembros del jurado aceptamos la investigación y aprobamos el documento que avala a la misma, que como opción a obtener el grado de Maestría en Ciencias Odontológicas con especialidad en Ortodoncia presenta la Cirujano Dentista Evelyn Guadalupe Torres Capetillo.**

**Honorables Miembros del Jurado:**

**PRESIDENTE**

**Dra. Myriam Angélica de la Garza Ramos**

**SECRETARIO**

**Dra. Hilda H.H. Torre Martínez**

**VOCAL**

**Dra. Rosalva González Melendez**

## **AGRADECIMIENTOS**

Gracias Dios y Padre Celestial por el regalo de vivir y por ser el motor que me impulsa; gracias por ser luz en mi oscuridad, mi camino, verdad y guía; por permitirme vivir esta hermosa experiencia llena de inolvidables momentos, aprendizaje y crecimiento en todos los aspectos de mi vida; por ser mi fortaleza en los momentos difíciles y por tu inmenso amor que ha hecho posible todos los éxitos en mi vida, éste es uno más y te lo dedico con todo mi corazón.

Amanda, gracias porque el amor que tú y yo compartimos en vida, llena por completo el gran vacío que me dejaste, estás y estarás siempre en mi corazón.

Mami, mi Ángel hecho mujer, dueña de mi corazón, la mejor mamá, amiga, consejera, mi mayor inspiración y ejemplo a seguir. Gracias por darme la vida y cuidarla con eterno amor, por educarme, por tu gran sacrificio, apoyo incondicional y comprensión siempre, pero en especial a lo largo de estos tres años de Posgrado; por estar a mi lado y jamás soltarme de tus brazos, sin ti no lo hubiese logrado. Lo que hoy soy, te lo debo a ti. Eres el amor más grande de mi vida. ¡Gracias por amarme tanto y estar a mi lado siempre! Te amo demasiado y te dedico esta tesis.

Papá, este es un logro que quiero compartir contigo, gracias por tu amor, comprensión, por creer en mí y apoyarme durante toda mi vida y en estos tres años de posgrado.

Mis hermanos, Cándido y Leonardo, gracias por estar siempre a mi lado, dándole sentido a mi vida, aprecio su sacrificio, son el regalo más grande que Dios me dio, los amo y les dedico este éxito.

Valentina, Gracias por iluminar mi mundo con tu llegada, te amo mi princesa.

Mis amigos Zio, Pepe, Víctor y Sylvia, como los cinco dedos de la mano, siempre unidos, los amo. Gracias por su amistad.

A mis compañeros de generación: Rita, Valerie, Raúl, Dulce, Lizeth, Rosamary, Jorge, Alejandra, Dra. Socorro Díaz y Dra. Sylvia Padilla, mis hermanos de vida durante este tiempo, por ser parte de mi vida durante estos tres años juntos, por crecer junto conmigo y aligerarme con su risa la carga del posgrado. Ocupan un lugar muy especial en mi corazón, los quiero y les dedico este logro.

Rita y Val, sí que hemos crecido juntas durante estos tres años de posgrado...El lazo de amistad y amor que hemos construido, perdurará por siempre. Llegó el momento de que cada una emprenda su camino, por todo lo que hemos vivido juntas, las amo, siempre las llevaré en mi mente y corazón sin importar la distancia.

Dulce y Lizeth, muchas gracias por abrirme sus corazones y ser parte del mejor año del Posgrado. Gracias por su risa, creo que Dios jamás se equivoca al poner a las personas en nuestra vida en el lugar y tiempo justos, gracias porque juntas crecimos y por demostrarme que también en los momentos difíciles, Diosito me premia con amigas como ustedes. Las quiero mucho.

Dra. Hilda gracias por ser mi amiga, consejera y maestra durante estos tres años, la quiero mucho. Dr. Pedro, lo quiero mucho, gracias por su paciencia para enseñarme, por compartir conmigo todos sus secretos profesionales. Dra. Cory gracias por abrirme las puertas de su corazón como amiga, mamá y maestra, son invaluable las cosas que me llevo de usted como ortodoncista, mujer y mamá. Dra. Sylvia muchas gracias por forzarme siempre a dar lo mejor de mi esfuerzo y por sus consejos que con gran cariño guardo en mi corazón, tanto profesionales, como de la vida. Dra. Rosalva, gracias infinitas por su gran paciencia y por apoyarme en este gran proyecto.

Mis hermanitas menores, Alejandra, Nichdally, Denisse, Evelyn, Perla, Sandra, Gabriela, Cynthia, María del Rosario y Adriana; muchas gracias por este tiempo que compartimos juntas, por brindarme su amistad y por robarme mil sonrisas a diario, las quiero.

Mis amigos Esther, Jorge, Julio y Ana Luisa, ustedes también fueron parte de mi crecimiento durante estos tres años, gracias por su paciencia, comprensión y amistad.

Gracias a todas las personas que de alguna manera colaboraron en la realización de este proyecto, sin su ayuda no hubiese sido posible, de manera especial agradezco a Dr. Roberto Carrillo González, Dr. Roberto Carrillo Fuentesvilla, Dra. Myriam de la Garza Ramos, Dra. Hilda Torre Martínez, Dr. Roberto Mercado.

Dr. Roberto Carrillo Fuentesvilla, de corazón le agradezco todas las atenciones que siempre tuvo conmigo, por las molestias que le di, por mi tesis, por las oportunidades de aprendizaje que gracias a usted tuve, por compartir sin reservas sus conocimientos y por exigirme ser mejor cada día en mi trabajo. Lo quiero mucho y le dedico este logro.

Dra. Myriam De La Garza, mil gracias por su apoyo, su energía positiva, por sus consejos y por hacer este proyecto posible.

A todos y cada uno de mis maestros e instructores de clínica, sin excluir a ninguno, no tengo palabras para agradecer el tiempo que compartieron conmigo y me permitieron aprender de ustedes, les debo parte de mi formación y me llevo un pedacito de cada uno. Siempre tendrán mi respeto, admiración y un lugar privilegiado en mi corazón.

Gracias a las empresas NEODENT® y EsteripHarma® por su apoyo en la realización de este proyecto.

# ÍNDICE

## CAPÍTULO

I. RESUMEN	<b>9</b>
II. INTRODUCCIÓN	<b>10-11</b>
III. ANTECEDENTES	<b>12-38</b>
III.1 Historia de los Implantes en la Ortodoncia.	
III.2 Inflamación y Mini-implantes.	
III.3 Definición de Clorhexidina y Antecedentes.	
III.4 Efectos de la Clorhexidina sobre la Inflamación del Tejido Peri-implantario.	
III.5 Efectividad de la Clorhexidina como Agente Antimicrobiano en la Superficie Peri-implantaria.	
III.6 El papel de la Clorhexidina en la Higiene Oral durante los Movimientos Ortodóncicos.	
III.7 La acción antimicrobiana de la Clorhexidina.	
III.8 Los implantes dentales.	
III.8.1 Características del Implante utilizado en Ortodoncia.	
III.8.2 Material del implante.	
III.8.3 Tamaño del implante	
III.8.4 Forma del implante.	
III.9 Indicaciones de los Mini-implantes en Ortodoncia.	
III.10 Microflora y su etiología en el desarrollo de inflamación.	
III.11 Características generales del Gel de Superoxidación.	
III.12 Mecanismo de acción del Gel de Superoxidación.	
III.13 Indicaciones del Gel de Superoxidación.	
III.14 Modo de empleo del Gel de Superoxidación.	
III.15 Biofilms.	

III.15.1 *Porphyromona gingivalis*.

III.15.2 *Streptococcus intermedius*.

III.16 Agua Electrolizada-Componente del Gel de Superoxidación.

III.17 Tipos de cultivos celulares.

III.18 Obtención de Récords.

III.18.1 Disgregación y cultivo primario.

III.18.2 Subcultivo.

III.18.3 Ciclo de crecimiento.

III.19 Citotoxicidad de la Clorhexidina.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS **39-46**

**IV.1. Población**

**IV.2. Criterios de inclusión y eliminación**

**IV.3. Captación de variables**

**IV.4. Método estadístico**

DISEÑO ESTADÍSTICO

V. RESULTADOS **47-53**

VI. DISCUSIÓN **54-58**

VII. CONCLUSIONES **59-62**

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS **63-69**

IX. ANEXOS **70-84**





Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Odontología

Subdirección de Estudios de Posgrado

Posgrado de Ortodoncia

C.D. Evelyn Guadalupe Torres Capetillo.

Candidato a: Maestría en Ciencias Odontológicas con Especialidad en Ortodoncia

**“EFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL GEL ANTISÉPTICO DE SUPEROXIDACIÓN VERSUS DIGLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12% EN LA FORMACIÓN DE BIOFILMS EN LA SUPERFICIE DE MINI-IMPLANTES ORTODÓNCICOS: ESTUDIO *in-vitro*”.**

No. de páginas: 84

## I. RESUMEN

**Propósito, Materiales y Métodos:** El objetivo de este estudio *in vitro* fue comparar la efectividad antimicrobiana de Estericide Gel Antiséptico de superoxidación (EsteripHarma®) contra Digluconato de Clorhexidina al 0.12% Perioxidín (Lacer®) en la formación de biopelículas alrededor de la superficie de mini-implantes ortodóncicos; así como comparar la citotoxicidad de ambos productos. Las bacterias empleadas fueron *Streptococcus intermedius*, *Porphyroma gingivalis* y mezcla bacteriana de *Streptococcus intermedius* y *Porphyroma gingivalis*; así como 30 mini-implantes ortodóncicos (ANCORAGEM ORTODÔNCICA, NEODENT®, Brasil). Se realizaron pruebas de PCR-Tiempo real consistente en extracción de DNA para identificar las colonias bacterianas; Prueba de Turbidez para determinar concentración y absorbancia bacteriana, así como Pruebas de Citotoxicidad de ambos productos.

**Resultados:** el Gel Antiséptico de superoxidación tuvo un menor efecto inhibitorio sobre las bacterias en comparación con el Digluconato de Clorhexidina al 0.12%. La viabilidad celular disminuyó notoriamente al emplear Digluconato de Clorhexidina en comparación con Estericide Gel Antiséptico de Superoxidación.

**Conclusiones:** Estericide Gel Antiséptico es un bacteriostático que actuó inhibiendo el crecimiento bacteriano alrededor del mini-implante, mientras que el Digluconato de Clorhexidina es un bactericida ya que no se observó crecimiento bacteriano en él. La Clorhexidina tuvo un mayor efecto citotóxico en comparación con Estericide Gel Antiséptico de Superoxidación.

Director de tesis: C.D. Especialista en Ortodoncia Roberto Carrillo González PhD.

# Introducción

## II. INTRODUCCIÓN

La ortodoncia actual ha sistematizado la colocación de los mini-implantes como parte del plan de tratamiento principalmente con el objetivo de obtener y/o mejorar el anclaje esquelético durante el mismo y con ello reducir la cooperación del paciente.

Factores como la contaminación por microorganismos, son asociados con la movilidad del mini-implante y por lo tanto, con su fracaso como técnica de anclaje, situación que se puede evitar mediante el uso de geles bacteriostáticos o bactericidas, mismos que al tener un bajo costo y fácil aplicación son muy viables.

Debido a ello, se consideró importante llevar a cabo esta investigación, la cual pretende evaluar la efectividad antimicrobiana del gel de superoxidación y de Digluconato de Clorhexidina al 0.12% en la formación de biopelículas. De esta manera, se podrá establecer un parámetro que le sea de ayuda al clínico para el mejoramiento de dicho procedimiento quirúrgico y sobre todo durante el periodo de recuperación, que permita al paciente gozar de una mejor calidad en el servicio que ofrece el ortodoncista.

La hipótesis planteada y que fue aceptada en este estudio fue que el gel de superoxidación inhibe la formación de biopelículas en la superficie de los mini-implantes ortodóncicos debido a sus propiedades bacteriostáticas.

Esta investigación consistió en un estudio *in vitro* prospectivo, experimental, longitudinal y comparativo, en el cual se tuvo el objetivo de determinar la efectividad antimicrobiana de Estericide Gel Antiséptico de superoxidación (**EsteripHarma®**) y de Digluconato de Clorhexidina al 0.12% Perioxidín (**Lacer®**) en la formación de biopelículas alrededor de la superficie de mini-implantes ortodóncicos, así como evaluar el grado de citotoxicidad de ambos productos.

# **Antecedentes**

### III.1 HISTORIA DE LOS IMPLANTES EN ORTODONCIA.

El uso de los implantes vitales y alambres de acero inoxidable para aplicar fuerzas ortodóncicas en mandíbulas de perros, data de 1945, cuando fueron empleados sin éxito por Gainsforth y Higley debido a que la cantidad fuerza aplicada, resultó en pérdida de los implantes.<sup>1</sup>

En 1960, Bränemark y cols<sup>1</sup> observaron un anclaje firme del titanio al hueso sin respuesta adversa del tejido. Así mismo, en 1969, Linkow colocó implantes de hoja como anclaje con bandas elásticas para retraer dientes, pero nunca presentó resultados a largo plazo. En ese mismo año, Branemark y cols<sup>1</sup> demostraron que los implantes de titanio eran estables por más de 5 años y que se oseointegraban. Desde entonces los implantes dentales han sido utilizados para reconstruir maxilares y mandíbulas humanas o como soporte para prótesis dentales. El éxito se ha atribuido al material, técnicas quirúrgicas y a la manera como los implantes son cargados, así como a la ausencia de inflamación en el tejido circundante al mismo.

No obstante, el uso de los implantes en el anclaje ortodóncico fue corroborado hasta 1984, cuando Roberts y cols colocaron implantes de titanio en fémur de conejo, los cuales fueron cargados con una fuerza de 100 g. durante 6-12 semanas. Cabe mencionar que en este estudio, todos, excepto 1 de los 20 implantes permanecieron rígidos, lo que llevó a concluir que los implantes de titanio, proveen un anclaje óseo firme para fuerzas ortodóncicas y ortopédicas.

Sin embargo, el uso de los implantes de titanio para anclaje ortodóncico fue introducido como tal, por Kanomi en 1997, quien en un principio los había utilizado para fijar placas óseas en cirugía plástica y reconstructiva.<sup>2</sup>

### III.2 INFLAMACIÓN Y MINIIMPLANTES.

La mucositis es una enfermedad infecciosa que resulta en un proceso inflamatorio reversible restringido alrededor del tejido blando alrededor de los implantes oseointegrados y la periimplantitis es una reacción irreversible que afecta el tejido blando y el hueso de soporte alrededor de un implante en función.<sup>3</sup>

La inflamación del tejido peri-implantar causa pérdida de hueso peri-implantar, permitiendo con ello la movilidad del implante.<sup>4</sup>

Los riesgos asociados con la colocación de Mini-implantes deben ser claramente entendidos por ambos, el clínico y el paciente. Las complicaciones que se pueden dar durante la colocación del mini-implante y después de cargarlos ortodónticamente pueden afectar su estabilidad y la seguridad del paciente. Mediante el entendimiento de una técnica de colocación adecuada, densidad de hueso, el tejido alrededor del mini-implante, las estructuras anatómicas regionales y los cuidados del paciente son imperativos para un óptimo y seguro éxito de los Miniimplantes.<sup>5</sup>

Como ya se mencionó, el tipo de tejido peri-implantario, su salud y grosor, pueden afectar el anclaje temporal proporcionado por el mini-implante. Es importante mencionar también, que los Mini-implantes colocados sobre tejido alveolar no queratinizado, tienen mayores índices de fracaso que aquellos colocados sobre tejido queratinizado. Esto se debe a que la mucosa alveolar movable, no queratinizada, es fácilmente irritable y la inflamación del tejido blando alrededor del mini-implante, está directamente asociada con el incremento de su movilidad. Por todo esto, el tejido delgado queratinizado localizado en la región dentoalveolar o media del paladar, es el lugar ideal para la colocación de Mini-implantes.<sup>5</sup>

Los criterios para el éxito de los Mini-implantes ortodónticos son: ausencia de inflamación, ausencia de movilidad clínicamente detectable y la capacidad para mantener el anclaje durante el curso del tratamiento de ortodoncia.<sup>6</sup>

### **III.3 DEFINICIÓN DE CLORHEXIDINA Y ANTECEDENTES.**

La clorhexidina ha sido estudiada durante un par de décadas como un potente agente antimicrobiano usado para el control químico de la placa dentobacteriana y la prevención de caries. Debido a sus propiedades, la clorhexidina es aceptada como el producto más efectivo en el control de la placa supragingival.<sup>7</sup>

La clorhexidina es una bisbiguanida positivamente ionizada capaz de absorber diferentes cargas negativas de sitio como: membrana mucosa, película salival en los dientes y superficies de titanio, así como de los diferentes componentes del biofilm en la superficie dental, por ejemplo: bacterias, polisacáridos extracelulares y glucoproteínas.<sup>8</sup>

El control de placa es esencial para la prevención de la inflamación en los tejidos periodontales. Aunque existen en el mercado varios productos químicos inhibidores de placa, los compuestos a base de bisbiguanida, son los agentes más efectivos. Dentro de este grupo, la clorhexidina es un catión de clorofenil bisbiguanida con propiedades bacterostáticas extraordinarias. Este medicamento fue sintetizado y reportado por primera vez en 1954 después de extensas investigaciones sobre sus propiedades biológicas y componentes polidiguanídicos. Inicialmente fue utilizada en odontología para desinfección oral prequirúrgica y en endodoncia. En un modelo experimental de gingivitis, Løe y Schiott estudiaron el desarrollo de la gingivitis bajo la influencia de clorhexidina en ausencia de limpieza dental mecánica. Ellos captaron el interés del mundo de la odontología cuando demostraron que durante un período mayor de 3 semanas, sin higiene oral practicada, la formación de placa dental y la prevención de gingivitis fueron prevenidas de manera efectiva haciendo 2 enjuagues diarios con solución al 0.2% de clorhexidina. Dicho producto ha sido reconocido como el más destacado antiséptico oral durante las últimas 3 décadas. Durante años, ha sido desarrollada clorhexidina en gel, sprays y enjuagues bucales. De éstos, el enjuague bucal es el más comúnmente utilizado.<sup>7</sup>

### **III.4 EFECTOS DE LA CLORHEXIDINA SOBRE LA INFLAMACIÓN DEL TEJIDO PERI-IMPLANTARIO.**

Para prevenir ulceración del tejido alrededor del mini-implante y mejorar la comodidad del paciente, se recomienda el uso de clorhexidina (0.12% 10 ml). Esto es importante, debido a que la presencia de ulceración, a pesar de que no parece ser un factor directamente relacionado con la estabilidad del mini-implante, su presencia puede alertar al clínico a cerca de gran inflamación del tejido.<sup>5</sup>

La clorhexidina es usada después de la colocación de Mini-implantes, debido a que además de sus propiedades antibacteriales que minimizan la inflamación del tejido, promueve una lenta epitelización y puede reducir la posibilidad de aumento de tejido blando alrededor del mini-implante.<sup>5</sup>

La salud del tejido peri-implantario juega un papel importante como barrera biológica contra las bacterias. Después de la colocación de un mini-implante, pueden tener lugar: inflamación del tejido, infección leve y periimplantitis.<sup>5</sup> La inflamación del tejido blando peri-implantario ha sido asociada con un 30% de incremento del nivel de fracaso.<sup>4</sup>

La peri-implantitis es la inflamación de la mucosa que rodea al implante con evidencia clínica y radiográfica de pérdida ósea, sangrado al sondeo, supuración, infiltración del epitelio y movilidad progresiva.<sup>5</sup>

Es imperativo mantener una higiene oral óptima para minimizar las complicaciones de los Mini-implantes. Clorhexidina (0.12%, 10 mL) debe ser usada como mínimo 2 veces al día y de preferencia después de cada comida. La naturaleza catiónica de la clorhexidina permite su sustantividad o adherencia persistente al esmalte y los tejidos blandos y provee un efecto bactericida y bacteriostático prolongado. Debido a que la clorhexidina mancha el esmalte, se recomienda al paciente, enjuagarse con clorhexidina y esperar 30 minutos antes del cepillado con pasta dental fluorada.<sup>5</sup>



### III.5 EFECTIVIDAD DE LA CLORHEXIDINA COMO AGENTE ANTIMICROBIANO EN LA SUPERFICIE PERI-IMPLANTARIA.

La presencia de bacterias en los tejidos adyacentes a un implante, puede crear un riesgo para un tratamiento exitoso. Es verdad que la presencia de un gran número de bacterias anaerobias Gram-negativas en el surco peri-implantario es asociada frecuentemente con mucositis peri-implantar, pérdida ósea y fracaso del implante. Para alcanzar el éxito a largo plazo de un implante, se requiere seguir los protocolos de control bacteriano durante el tratamiento con implantes y mantener dicho control.<sup>9</sup>

Se ha demostrado en estudios *in vitro* e *in vivo* que las bacterias pueden penetrar la cavidad interior de un implante como consecuencia de de la interfase abutment-implante o por atrapamiento durante la colocación del implante en implantes con abutment atornillado. Las bacterias asociadas, son a menudo del tipo de las periopatogénicas. Así mismo, la penetración de microorganismos en la cavidad interna del implante, produce un reservorio bacteriano asociado a su vez, con un área inflamada de tejido conectivo alrededor de la unión abutment- restauración, aún bajo condiciones clínicas de salud.<sup>10</sup>

En este sentido, han sido numerosos los intentos por reducir la colonización bacteriana alrededor del implante en un periodo corto.<sup>10</sup> La clorhexidina se ha empleado de manera efectiva como antiséptico durante cerca de 40 años en el tratamiento de enfermedad periodontal.<sup>9</sup> Esto es debido a su acción antimicrobiana y antifúngica. Solución de clorhexidina al 0.2% o en varniz, ha sido utilizada para prevenir la contaminación implantaria interna. Se han hecho investigaciones sobre el gel de clorhexidina, por su efectividad clínica y antimicrobiana después de su administración subgingival, mostrando efectos prolongados (mayor a 90 días) favorables cuando se usa en bolsas periodontales.<sup>10</sup>

### **III.6 EL PAPEL DE LA CLORHEXIDINA EN LA HIGIENE ORAL DURANTE LOS MOVIMIENTOS ORTODÓNICOS.**

La reacción de los tejidos periodontales y gingivales a las fuerzas de intrusión aplicadas a los dientes, así como la influencia de la higiene oral en las reacciones fisiológicas orales observadas fue analizada por Melsen B.<sup>11</sup> en 3 changos *Macaca fascicularis* cuyos incisivos superiores y cuatro primeros premolares fueron sometidos a fuerzas de erupción durante 8 semanas, seguidas por fuerzas de intrusión durante 12 semanas. Una técnica a boca abierta fue utilizada para estudiar la influencia de la higiene oral sobre la reacción del tejido.

En el lado derecho de su boca, los dientes fueron cepillados con Clorhexidina 3 veces por semana y en el lado izquierdo, no se practicó higiene oral. Melsen encontró que el programa de higiene oral podía limitar más no prevenir la inflamación gingival. Sin embargo, hubo una marcada diferencia en el nivel de hueso en ambos lados.

Por otro lado, en el lado de higiene, se observaron signos claros de que el depósito de hueso siguió presente después de las fuerzas de erupción aplicadas, lo que no fue el caso del lado de no higiene. Además, en el lado de higiene, sólo la porción periodontal de hueso alveolar se reabsorbió, en cambio, en el lado de no higiene, el margen gingival también sufrió reabsorción.

### **III.7 LA ACCIÓN ANTIMICROBIANA DE LA CLORHEXIDINA.**

Estudios *in vitro*<sup>8, 12, 13, 14</sup> demostraron que, en bajas concentraciones, la clorhexidina causa daño a la membrana celular y escape de moléculas de bajo peso molecular de los microorganismos. En cambio, en altas concentraciones, causa precipitación y coagulación de proteínas en el citoplasma de los microorganismos expuestos; estas propiedades, interfieren con la formación de biofilm y previenen su crecimiento.

Pietruska y cols<sup>47</sup> realizaron un estudio sustentado en el relativamente común uso del Digluconato de Clorhexidina como agente quimioterapéutico en

el tratamiento de periodontitis, debido a que exhibe una capacidad antimicrobiana contra bacterias gram-negativas y gram-positivas y hongos. En este sentido, el objetivo del estudio fue evaluar clínicamente del periodonto después del tratamiento con Digluconato de Clorhexidina en pacientes con periodontitis crónica. Los autores concluyeron que el Digluconato de Clorhexidina debe ser usado frecuentemente como medicación adjunta durante la terapia periodontal clásica, acentuando su aplicación en las bolsas periodontales.

En un estudio *in vitro*<sup>36</sup> realizado en 2008 con el fin de probar las propiedades antimicrobianas del Digluconato de Clorhexidina contra 7 muestras bacterianas diferentes, se encontró que dicho compuesto redujo el contenido bacteriano en 3 minutos de exposición y su efectividad se mantuvo.

En un estudio llevado a cabo por Paolantonio, Perinetti, D'Ercole, Graziani, Catamo, Sammartino y Piccolomini.<sup>16</sup> para evaluar la efectividad del gel de clorhexidina al 1% sobre el control bacteriano interno de los implantes con abutments atornillados y coronas, se observó una reducción significativa en el conteo total de bacterias en el grupo experimental tratado con gel de Clorhexidina al 1% con respecto al grupo control no tratado con dicho agente. Este efecto, pareció ser relevante aún después de 6 meses después de su aplicación. El conteo total de bacterias incluyó a las siguientes especies: *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*, *C. rectus*, *F. nucleatum*, *E. corrodens*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* y *T. denticola*. Con base en los resultados obtenidos, los autores concluyeron que la aplicación de gel de clorhexidina al 1% pareció ser un método efectivo para reducir la colonización bacteriana de la cavidad implantaria durante un período de 6 meses.

Las estrategias de tratamiento anti-infección demostraron tener efectos clínicos benéficos en el tratamiento de la peri-implantitis en humanos, permitiendo la resolución de la inflamación y la pérdida ósea alrededor del implante.<sup>9</sup> Con respecto a esto, estudios han demostrado que el ambiente subgingival proporcionado por el gel de clorhexidina, tiene un efecto antimicrobiano más prolongado que la solución de clorhexidina.<sup>10</sup>

Varias modalidades de descontaminación de distintos tipos de superficies implantares fueron comparadas por Dennison, Huerzaler, Quinones y Caffesse.<sup>15</sup> en un estudio In Vitro con el objetivo de determinar cuál de las superficies implantares fue mejor descontaminada y cuál de los tratamientos para descontaminar tuvo mayor efectividad para una superficie en particular. Los implantes utilizados se sometieron a tratamiento de la superficie con máquinas, spray de plasma y cubierta de hidroxiapatita. Se preparó una endotoxina radioactiva (125I-LPS) para *Porphyromonas gingivalis*. Los implantes se cubrieron con esta endotoxina y su superficie pulida con una punta de algodón embebida en agua, solución de ácido cítrico o clorhexidina al 0.12% o bien, tratada con polvo en aire-abrasivo. Los investigadores concluyeron que, el método de descontaminación más efectivo y la superficie más fácil de descontaminar son el aire abrasivo y la superficie maquinada, respectivamente.

Así mismo, encontraron que la Clorhexidina tuvo una pobre efectividad en la remoción de endotoxinas de la superficie de hidroxiapatita y que ésta podría estar relacionada con el efecto saponificante de los detergentes encontrados en ella. Por esta razón, la clorhexidina puede distribuir mejor las endotoxinas en la superficie del implante, en lugar de removerlas. El agua mostró menor efectividad en todos los casos. Con estos resultados, los autores corroboran la tendencia establecida por Zablotsky y cols a cerca de que la Clorhexidina tendía a funcionar pobremente cuando se le empleaba en la detoxificación de superficie implantares contaminadas.

El impacto en la microflora subgingival del enjuague intermitente con clorhexidina en 210 sujetos de una edad promedio de 71 años, 56.2% mujeres fue medido por Persson, Yeates, Persson, Hirschi-Imfeld, Weibel y Kiyak<sup>24</sup>. Ellos encontraron que el nivel de bacterias en el grupo tratado con clorhexidina fue significativamente menor en el grupo de pacientes tratados con clorhexidina; dentro de este grupo se encontraron las siguientes bacterias: *Lactobacillus acidophilus*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Treponema denticola*, *Eubacterium saburreum*.

Muchos estudios a corto plazo, mostraron que los enjuagues con clorhexidina tienen un efecto de amplio espectro antimicrobiano, reduciendo el

número de bacterias anaerobias facultativas u obligadas en la placa supragingival.<sup>16</sup>

Un sistema oral local controlado contiene 2.5 mg de gluconato de clorhexidina incorporada en una astilla bioabsorbible de gel hidrolizado ha sido introducido como tratamiento antimicrobiano subgingival.<sup>17</sup> Cuando es colocado dentro de una bolsa periodontal, la astilla libera lentamente clorhexidina al mismo tiempo que es bioabsorbida, se ha reportado que esto inhibe un 99% de la concentración bacteriana de las bolsas periodontales.<sup>10</sup>

En un estudio llevado a cabo por Paolantonio, D'Angelo, Felice, Perinetti, Piccolomini, Pizzo, Annunziata, D'Archivio, D'Ercole, Nardi y Guida<sup>10</sup> en 116 individuos sanos con periodontitis avanzada, se encontró que después de 15 días a un mes, el conteo total de bacterias de cultivo para el grupo experimental tratado con scaling y alisado radicular, fue significativamente menor que el grupo control, al cual sólo se trata con scaling y alisado radicular. Dicha investigación los llevó a concluir que, el uso conjunto de clorhexidina en una astilla, resulta en reducción de la enfermedad periodontal e inserción clínica comparado con el uso de scaling y alisado radicular sólo.

La susceptibilidad de varios tipos de muestras bacterianas a la Clorhexidina vario entre una cepa y otra. La más susceptible fue *A. naeslundii* seguida por bacterias anaerobias gran-negativas como *Prevotella nigrescens*, *Porphyromona gingivalis*, *Streptococcus mutans* y *S. sanguis*. Lo anterior fue demostrado en un estudio realizado por McBain y cols<sup>38</sup>.

El objetivo de un estudio llevado a cabo por Khan y cols.<sup>41</sup>, fue evaluar la eficacia de un barniz de clorhexidina sobre las condiciones gingivales, así como el conteo de *Streptococcus mutans* en pacientes con aparatología fija. Los resultados de este estudio, arrojaron que una sola aplicación de dicho producto, redujo significativamente el conteo bacteriano. Del mismo modo, mejoró la salud gingival significativamente en un periodo de evaluación de 1-3 meses. Con lo anterior, los autores concluyeron que la Clorhexidina es una buena opción para los pacientes de ortodoncia.

Karpanen y cols.<sup>42</sup>, encontraron que la Clorhexidina exhibió actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus epidermis* tanto en suspensión, como en biofilms.

El digluconato de clorhexidina se ha convertido en un reconocido agente antimicrobiano debido a su efectividad cuando se le utiliza en terapia periodontal por muchos años. La clorhexidina posee un amplio espectro antimicrobiano de acción y relativa ausencia de toxicidad. En este sentido, los resultados de un estudio llevado a cabo por Devi y Kamath<sup>45</sup>, indicaron que el Digluconato de Clorhexidina al 2% resultó en una reducción mayor de microflora oral cuando se le comparó con Hipoclorito de Sodio durante la irrigación de canales radiculares.

En una investigación llevada a cabo por Harvinen y cols.<sup>46</sup> en la cual se estudió la susceptibilidad del *Streptococcus mutans* a la Clorhexidina y otros seis agentes antibacterianos comúnmente utilizados como Amoxicilina, Cefuroxime, Penicilina, Sulfametoxazol, trimetoprim, tetracilina y eritromicina. Este estudio se llevó a cabo en 116 niños de una escuela. Se encontró que aunque la bacteria fue expuesta a varios agentes antimicrobianos, esta permaneció susceptible a todos ellos y de manera más importante a la Clorhexidina.

Desde los tiempos de Luis Pasteur, la antisepsia ha sido utilizada para prevenir infecciones especialmente asociadas con procedimientos quirúrgicos, instrumentación y uso de equipos y aparatos en hospitales como tanques de oxígeno, respiradores, etc. Con el tiempo se han incorporado nuevos antisépticos al mercado, sin embargo un antiséptico ideal tiene las siguientes características: 1) Amplio espectro antimicrobiano, 2) Acción bactericida, 3) Largo efecto bactericida, 4) Fácil de usar, 5) Menos efectos adversos. La Clorhexidina posee todas estas propiedades. Ha sido utilizada en Europa especialmente en Inglaterra en investigaciones cuyos resultados han sido favorables. Apoyados en estos resultados, se realizó este estudio<sup>48</sup> en el que se pretendió probar su eficacia como bactericida en la desinfección de áreas críticas de un Hospital. Los resultados arrojaron que la Clorhexidina en concentraciones de entre 5% y 20% es bactericida para áreas críticas de los

hospitales. Concentraciones menores como 0.01% pueden ser usadas con confianza para erradicar microorganismos comunes de los Hospitales.

Puig y cols.<sup>49</sup> llevaron a cabo una investigación en la que se realizó una revisión sistemática de la literatura para descubrir los efectos clínicos de diferentes barnices de Clorhexidina a nivel periodontal. Los autores concluyeron que la aplicación de Clorhexidina parece tener efectos benéficos en pacientes con gingivitis crónica, mejorando el acúmulo de placa y niveles de sangrado así como también hubo una reducción en el índice gingival. Además, la aplicación subgingival de altas concentraciones de Clorhexidina dan un mejor resultado en el tratamiento de bolsas periodontales.

Dametto y cols.<sup>50</sup> llevaron a cabo un estudio en el que se tuvo por objetivo medir la efectividad antimicrobiana *in vitro* de Gel de Clorhexidina al 2% contra *Enterococcus faecalis* comparado con otros irrigantes endodónticos como hipoclorito de sodio al 5.25%. Los autores encontraron que el gel de Clorhexidina al 2% redujo significativamente el conteo bacteriano en el canal endodóntico en la muestra microbiológica postratamiento. A diferencia de ello, el Hipoclorito de Sodio redujo el conteo bacteriano pero no fue capaz de mantener el canal radicular libre de bacterias en la muestra final.

### **III.8 LOS IMPLANTES DENTALES.**

#### **Concepto de implante dental.**

Un implante dental es un aditamento utilizado para reemplazar el lugar de un diente ausente para su posterior restauración y también es usado en el tratamiento de ortodoncia, por ejemplo: para lograr anclaje absoluto.<sup>17</sup>

#### **Tipos de implantes.**

La clasificación de los implantes se base en su posición, material de construcción o su diseño:

- **Por su posición.** Un implante puede ser subperióstico, trans-óseo o endo-óseo, el último de éstos es el tipo más comúnmente utilizado para implantes dentales.
- **Por el material de construcción.** El titanio es aceptado como el material ideal para la fabricación de implantes. El implante puede ser rugoso o liso, y puede tener cubierta adicional de hidroxiapatita o spray de titanio.
- **Por su diseño.** Esta característica está dictada con base en la forma en que el implante beneficia su soporte alrededor del hueso. En este sentido el diseño cilíndrico liso del implante incrementa el soporte del mismo, cuando se le aplican fuerzas a través del hueso.<sup>17</sup>

### III.8.1 Características del implante utilizado en ortodoncia.

Una de las desventajas obvias de los implantes dentales en 2 pasos es que requieren de un período de cicatrización que abarca de 4 a 6 meses; lo cual aumentaría considerablemente el tiempo del tratamiento de ortodoncia. Además de ello, el nivel de hueso requerido para la colocación de un implante dental, restringiría su colocación en sitios en donde se necesita para el tratamiento de ortodoncia. Tomando en cuenta estas desventajas, se ha hecho un diseño especial de los implantes utilizados en ortodoncia, los cuales deben cumplir las siguientes características: Biocompatibilidad, bajo costo, fácil inserción y remoción bajo anestesia local y ser lo suficientemente pequeño para localizarlo en múltiples sitios de la boca. También se debe oseointegrar en pocos días y permanecer estable a las fuerzas ortodóncicas en todos los planos del espacios.<sup>17</sup>

Los Mini-implantes de titanio, que fueron originalmente utilizados para fijación ósea intermaxilar, tienen como ventajas las siguientes:

- Limitación anatómica mínima para su colocación.
- Bajo costo.
- Método quirúrgico simple.



- Menor incomodidad después de su implantación comparado con los implantes dentales para prótesis fija.<sup>18</sup>

### **III.8.2 Material del implante.**

Los materiales más comúnmente utilizados pueden dividirse en 3 categorías: biotolerantes (acero inoxidable y aleación de cromo-cobalto); bioinerte (titanio, carbón); bioactivo (hydroxyapatita, óxido de aluminio). Por las características del titanio (no provoca alergia, reacciones inmunológicas y no formador de neoplasias) es considerado un material ideal y ampliamente utilizado.<sup>19</sup>

### **III.8.3 Tamaño del implante.**

Existen varios tamaños de implantes. Los implantes para ortodoncia miden por lo regular 6 mm de largo por 1.2 mm de diámetro. Si su uso es como implantes dentales estándares miden de 6-15 mm de largo y de 3-5 mm de diámetro. Las dimensiones del implante deben ser congruentes con la cantidad de hueso disponible en el sitio quirúrgico y con el plan de tratamiento.<sup>19</sup>

### **III.8.4 Forma del implante.**

La forma más comúnmente utilizada es la cilíndrica o la cilíndrica-cónica con superficie lisa ó tratada.<sup>20</sup>

## **III.9 INDICACIONES DE LOS MINI-IMPLANTES EN ORTODONCIA.**

La introducción de los Mini-implantes ha cambiado los paradigmas en el mundo de la ortodoncia debido a que representan una herramienta de anclaje. Un ejemplo de ello, es el hecho de que los Mini-implantes permiten un mejor manejo de discrepancias transversales, comparado con el trato de biomecánicas convencionales, ya que la fuerza puede ser aplicada

directamente desde el hueso como unidad de anclaje. De igual forma, el uso de los Mini-implantes como anclaje esquelético es muy versátil ya que sirve de gran ayuda en varios casos, por ejemplo: corrección de maloclusiones enfocándose en los tres planos del espacio, como anclaje óseo en el uso de máscaras faciales de protracción en pacientes adolescentes con hipoplasia maxilar y oligodoncia, en el tratamiento ortodóncico en adultos comprometidos periodontalmente, tratamiento de dientes impactados, corrección de mordida abierta anterior y mordida cruzada posterior, intrusión de dientes sobre erupcionados antes de la rehabilitación protésica y camuflaje ortodóncico de maloclusiones que requieren corrección quirúrgica.<sup>21</sup>

El término anclaje en su aplicación ortodóncica, se define como la resistencia a un movimiento dental indeseado. El ortodoncista siempre construye o aplica un aparato para producir movimientos dentarios deseados ó planeados. El anclaje es la resistencia a fuerzas de reacción que proveen otros dientes, el paladar, la cabeza o el cuello por medio de fuerzas extraorales o implantes en el hueso.<sup>19</sup>

El tratamiento de ortodoncia depende del anclaje para mejorar los resultados. Existen muchas y diferentes formas de anclaje ortodóncico. Segmentos de dientes o toda la arcada han sido usadas como el medio de anclaje más común. Pero, en situaciones complejas, los ortodoncistas requieren suplementos extras para anclaje como headgear, máscara facial y elásticos intermaxilares. Muchos de ellos, requieren de la cooperación del paciente. Recientemente, se han utilizado Mini-implantes intraóseos temporalmente para mantener el anclaje. Al respecto de esto, muchos estudios han demostrado que los Mini-implantes son un método confiable de anclaje ortodóncico.<sup>22</sup>

Proffit<sup>25</sup> señala cuatro aplicaciones principales del anclaje esquelético en el tratamiento de ortodoncia:

- Intrusión de los dientes posteriores para cerrar una mordida abierta anterior.
- Movimiento a distal de los molares maxilares (y toda la arcada maxilar si es necesario).
- Retrusión e intrusión de incisivos superiores que protruyen.

- Colocación de un solo diente cuando no existe otro anclaje satisfactorio (habitualmente debido a que se han perdido otros dientes por enfermedad periodontal).

En muchos pacientes con mordida abierta anterior se ha producido alargamiento de los dientes posteriores, de manera que la mandíbula rota hacia abajo y hacia atrás. El segmento incisal suele estar razonablemente posicionado con respecto al labio superior. La extrusión de los incisivos para cerrar la mordida en un paciente como éste no es ni estéticamente aceptable ni estable, siendo la intrusión de los dientes posteriores el método de tratamiento ideal. Llevar a cabo esta intrusión fue imposible hasta que a principios de la década de 1970 se desarrolló la cirugía maxilar segmentaria de manera que podían intruirse los segmentos posteriores. El anclaje esquelético temporal ofrece en la actualidad una forma de aplicarla fuerza continua ligera necesaria para intruir los dientes posterosuperiores, lo cual permite tratar a algunos pacientes sólo con ortodoncia, cuando anteriormente habrían requerido cirugía ortognática. Los tornillos óseos en el alvéolo maxilar, ofrecen un anclaje que hace la retrusión e intrusión simultáneas mucho más fáciles y predecibles. La retrusión de los dientes anterosuperiores con implantes en el paladar fue una de las primeras aplicaciones del anclaje esquelético.<sup>23</sup>

### **III.10 MICROFLORA Y SU ETIOLOGÍA EN EL DESARROLLO DE INFLAMACIÓN.**

La placa dental es un tipo específico de biopelícula formada por la interacción del contenido salival y el depósito microbiano embebido en una matriz polisacárida extracelular. Estos microorganismos, se adhieren el uno al otro y también a las superficies como resultado del balance dinámico entre el proceso de unión microbiológica y las fuerzas mecánicas de separación en el interior de la cavidad oral. La acumulación y maduración de las bacterias biofilm en el margen gingival es ampliamente reconocido como factor etiológico primario en el desarrollo de la gingivitis crónica; sin embargo, la higiene oral cuidadosa puede restaurar la salud gingival.<sup>24</sup>

La evidencia científica ha demostrado que la infección por bacterias patogénicas juega el papel más importante en el fracaso tardío de los implantes dentales

La etiología infecciosa de la peri-implantitis es evidente. Algunos reportes indicaron un potencial cicatrizador del tejido peri-implantario seguido de la supresión de la microbiota peri-implantar.<sup>25</sup>

La penetración de microorganismos en la superficie interna de los implantes resulta en un reservorio bacteriano que puede ser asociado con un área de tejido conectivo inflamado en la unión del implante con la restauración fija.<sup>26</sup>

### **III.11 CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL GEL DE SUPEROXIDACIÓN.**

El Estericide Gel Antiséptico de superoxidación (**EsteripHarma®**) tiene como ingrediente activo, una solución de Superoxidación con pH neutro, con actividad antiséptica y desinfectante de alto nivel. Se produce a partir de agua ultra pura la cual se combina con micro partes de NaCl con un proceso de electrolisis, pasando a través de membranas de alta tecnología. Al final de este proceso se obtiene una Solución Electrolizada de Superoxidación con pH neutro con cantidades controladas de iones en forma estable.<sup>27</sup>

Dicho gel posee un amplio espectro antimicrobiano, el cual es eficaz contra bacterias, hongos y virus; su acción es rápida y eficaz en 30 segundos, aún en presencia de exudados. Es considerado ampliamente seguro debido a que no se han reportado efectos adversos de intolerancia, irritabilidad o toxicidad tisular. No causa pigmentación en órganos dentarios ni cambios en la percepción del gusto; no causa efectos por su ingestión. Así mismo, es un coadyuvante hemostático y modulador del proceso inflamatorio. Como una ventaja adicional, no crea resistencias bacterianas.<sup>27</sup>

### **III.12 MECANISMO DE ACCIÓN DEL GEL DE SUPEROXIDACIÓN.**

El mecanismo de acción del Gel de Superoxidación se atribuye al efecto de oxidación de los grupos sulfhidrilo (-sh) y aminoácidos, de la pared bacteriana, con lo que se afecta el proceso de respiración y nutrición de los microorganismos, produciéndose oxidación de los componentes respiratorios, inhibición de la síntesis de proteínas, alteración en el metabolismo celular con disminución de la producción de fosfatos de alta energía (adenosínfosfato), independientemente del rompimiento de las cadenas y represión de la síntesis de RNA.<sup>27</sup>

### **III.13 INDICACIONES DEL GEL DE SUPEROXIDACIÓN.**

- Abscesos dentales.
- Operatorio dental en cavidades y preparaciones.
- Endodoncias.
- Asepsia quirúrgica.
- Lechos quirúrgicos alveolar o quístico.
- Periodontitis.
- Gingivitis.
- Alveolitis.
- Candidiasis.
- Estomatitis.
- Queilitis.
- Lesiones herpéticas periorales.
- Cirugía maxilofacial.<sup>27</sup>

### **III.14 MODO DE EMPLEO DEL GEL DE SUPEROXIDACIÓN.**

Se recomienda aplicar el gel directamente en la herida o lesión postquirúrgica 3 ó 4 veces al día. En extracciones aplicar en un isopo y colocarlo en el lugar de la extracción a manera de guarda durante 15 minutos, renovarlo periódicamente.

### III.15 BIOFILMS

Los biofilms son comunidades de bacterias y otros organismos celulares aislados organizados en un depósito de lodo blando. Se les puede encontrar en placa dental, en muchas infecciones persistentes, o en rocas resbaladizas en ríos y en otros muchos lugares del día a día. Muchas de las infecciones que no ceden son causadas por comunidades bacterianas organizadas en fuertes biofilms.

Muchos biofilms se integran por una comunidad de especies bacterianas diferentes, por ejemplo la placa dental. Después de que el biofilm se forma, otros tipos de bacterias pueden adherirse y formar así una estructura de biofilm más compleja. Sus propios mecanismos de defensa, son la principal razón de que los biofilms causen infecciones persistentes.

Originalmente, cuando la bacteria invade a un huésped, los antibióticos, anticuerpos y fagocitos (como los leucocitos), destruirían a la bacteria antes de que causara algún daño en el organismo. Sin embargo, los biofilms son muy resistentes a este tipo de ataques por una razón, sus propiedades de transferencia. Los anticuerpos y antibióticos no pueden penetrar la matriz polimérica que los biofilms crean. Los productos químicos que destruirían las células plasmáticas (como clorina, peróxido de hidrógeno, etc), sólo matan las células superficiales, dejando células en el interior intactas. Aunado a esto, el uso de múltiples materiales, causa que las bacterias se hagan resistentes a ellos, haciéndolos menos efectivos en el futuro.

Los biofilms son comunidades de microbios que colonizan una superficie. La formación de los biofilms ha sido implicada como un factor que incrementa de forma significativa la dificultad en el tratamiento de un sin número de infecciones. Ejemplos clásicos de ello incluyen, infecciones pulmonares de pacientes con fibrosis quística, así como infecciones de la cavidad oral y aquellas asociadas con implantes médicos. Los biofilms han demostrado ser resistentes a los agentes antimicrobianos en numerosos estudios *in vitro*.<sup>44</sup>

Se podría pensar que los biofilms son completamente resistentes a los agentes antimicrobianos, sin embargo, no lo son. Cuando un fagocito ataca los biofilms, éstos excretan enzimas fagocíticas, las cuales destruyen la capa más externa de bacterias. Esto daña el biofilm pero no de manera severa, debido a que las células que están en el interior, permanecen sanas. Entonces, estas células, se pueden reproducir de una manera tal que reemplazan a las que se murieron. Si los fagocitos siguieran excretando estas enzimas, los biofilms morirían eventualmente, sin embargo, esto no ocurre.<sup>28</sup>

### III.15.1 *Porphyromona gingivalis*

La enfermedad periodontal es un padecimiento mediado por biofilms y la *Porphyromona gingivalis* es una bacteria anaerobia que reside dentro de la comunidad de biofilms en el surco subgingival de la cavidad oral y es reconocido como el mayor agente causal en el desarrollo y progreso de dicha enfermedad. Como un patógeno oral oportunista, su habilidad para proliferar y diseminarse en el biofilm subgingival es la parte central de su virulencia.

Existen una serie de conceptos generales sobre la formación de biofilms, los que a continuación se mencionan. Para formar un biofilm, la bacteria primero se adhiere a una superficie y se ajusta al estado de la misma. Si el ambiente es propicio para el crecimiento, la bacteria crecerá en la superficie y se desarrollará dentro de una matriz madura. Para completar el ciclo, la bacteria se disemina y coloniza una nueva superficie. Los estudios demuestran que la nutrición juega un papel crítico en el desarrollo de biofilms. Se ha encontrado que hay varios factores que afectan el desarrollo de biofilms, entre los cuales están: osmolaridad, pH, tensión de oxígeno y temperatura.<sup>29</sup>

Noiri y cols.<sup>30</sup>, examinaron en un estudio in vitro, los efectos del digluconato de clorhexidina, minociclina hidroclorehidrica y metronidazol sobre biofilms de *Porphyromona gingivalis*. Ellos encontraron que la matriz extracelular de *P. gingivalis* fue alterada en presencia de clorhexidina; la minociclina hidroclorehidrica también causó disminución en el contenido de ATP

y cambios morfológicos en *P. gingivalis*. El metronidazol no mostró diferencia significativa sobre los biofilms de *P. gingivalis*.

Lo y cols.<sup>31</sup> realizaron un estudio en el que utilizaron extracción de DNA para comparar la expresión génica global del biofilm de *Porphyromona gingivalis* comparado con su homólogo plancton en un mismo cultivo; y encontraron que aproximadamente el 18% del genoma de *P. gingivalis* fue expresado diferencialmente cuando la bacteria fue cultivada como biofilm.<sup>31</sup>

### III.15.2 *Streptococcus intermedius*

Petersen y cols.<sup>32</sup>, realizaron un estudio en el que demuestran que existe una percepción o sensación quórum mediada por péptidos estimulantes de competencia y que ésta está asociada con el desarrollo de competencia para la transformación, lo que favorece el modo de crecimiento de biofilms de *Streptococcus intermedius* sin afectar el rango de crecimiento del cultivo.

Los *Streptococcus* comprenden un grupo muy diverso de bacterias gram-positivas, que van de un rango patógeno, hasta de iniciación que podría verse envuelto en infecciones oportunistas. En la cavidad oral, *Streptococcus* constituye aproximadamente un 60% del biofilm inicial de la microflora sobre la superficie de los dientes.

Miembros del grupo Anginosus, incluyendo a *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus anginosus* y *Streptococcus constellatus*, son incluso encontrados en tracto digestivo y genitourinario. Los grupos de Anginosus, están relacionados con serias infecciones purulentas.<sup>32</sup>

Las bacterias utilizan el detector de quórum para organizar su comportamiento monitoreando las concentraciones de señaladores bacterianos, referidos como autoinductores (AIs). La extensa detección de señalador AI-2 y su enzima sintetasa (LuxS) en las bacterias sugiere que AI-2 es un señalador de comunicación inter e intraespecies. Ya se ha mostrado en estudios previos que la susceptibilidad antibiótica es afectada por este señalizador en *Streptococcus anginosus*. Debido a que las infecciones crónicas



envuelven biofilms persistentes resistentes a tratamiento con antibióticos, Ahmed y cols realizaron un estudio en 2009, en el que exploraron el papel de AI-2/Lux en la formación y viabilidad celular del biofilm de *Streptococcus intermedius* cuando el organismo fue expuesto a sub-MICs de Ampicilina, ciprofloxacina o tetraciclina. Para ello un cultivo de *Streptococcus intermedius* fue expuesto a ampicilina, ciprofloxacina o tetraciclina y se formaron los biofilms en discos. Para medir viabilidad celular, se llevó a cabo un ensayo de viabilidad de ATP y se determinó el número de CFU (Unidad de Colonia Bacterianas). La expresión de LuxS fue medida por PCR tiempo-real. Se obtuvo que los tres antibióticos incrementaron la formación de biofilm en *Streptococcus intermedius*.<sup>33</sup>

### **III.16 AGUA ELECTROLIZADA-COMPONENTE DEL GEL DE SUPEROXIDACIÓN**

El agua electrolizada (también conocida como agua electrolizada oxidada, agua electroactivada ó solución acuosa electroquímicamente activada) es producida por el proceso de electrólisis ordinario del agua conteniendo cloruro de sodio.

#### **Proceso de creación**

La electrólisis ocurre en un reactor diseñado especialmente que permite la separación de soluciones catiónicas y aniónicas. En este proceso, se producen gas de hidrógeno y iones de hidróxido formados en el cátodo, creando una solución alcalina que consiste esencialmente en cloruro de sodio.

En el ánodo, los iones de cloro son oxidados a clorina elemental. Si algo de esta clorina se le permite combinarse con alguno de los iones hidróxido producidos en el cátodo, se desproporciona a ácido hipoclorhídrico, un ácido débil y agente oxidante. Esta agua ácido-electrolizada puede ser elevada en su pH mezclándola en la cantidad deseada de solución ionizada de hidróxido proveniente del cátodo, obteniendo así una solución de Hipoclorito de sodio NaOCl que es el componente principal del blanqueador ordinario de lavandería.

Una solución cuyo pH es de 7.3 contiene concentraciones iguales de ácido hipoclorhídrico y ion de hipoclorito; reduciendo el pH cambiaría el balance hacia el ácido.

### **Propiedades desinfectantes**

Tanto el hidróxido de sodio, como el ácido hipoclorhídrico con agentes desinfectantes eficientes ya que relativamente pocos microorganismos pueden tolerar las condiciones ácidas, la forma ácida del agua electrolizada es usualmente preferida para el aseo de superficies para preparar alimentos, frutas y vegetales. Los preparados para aplicación tópica son por lo regular un poco más alcalinos.<sup>34</sup>

### **III.17 TIPOS DE CULTIVOS CELULARES**

Freshney y cols.<sup>35</sup> establecen que cuando las células son aisladas del tejido donador, deben ser mantenidas en diferentes aspectos. Un simple fragmento de tejido que se adhiere a la superficie de crecimiento ya sea de manera espontánea o por métodos mecánicos un coágulo de plasma o compuesto de la matriz celular, como colágeno son elevados a un medio de crecimiento celular. Este tipo de cultivo se conoce como “Primario” y las células migratorias de afuera se conocen como “crecimiento en consecuencia”.

Las células en consecuencia son seleccionadas en primera instancia, por su habilidad para migrar a la superficie de crecimiento y subsecuentemente, si son vueltas a cultivar, por su habilidad para proliferar. Cuando una muestra de tejido es degradada ya sea mecánica o enzimáticamente, la suspensión de células y pequeños agregados que se generan contendrán una Porción de células capaces de adherirse a una superficie sólida formando una “monocapa”.

Por lo general, las células diferenciadas en un tejido tienen diferentes limitaciones de habilidad para proliferar, es por eso que las células

diferenciadas no contribuyen a la formación de cultivos primarios, a menos que sean empleadas condiciones especiales para promover su adhesión y preservación de los diferentes estratos. Usualmente se utiliza la proliferación de una porción de tejido precursor como fibroblastos de la dermis o de la capa basal del epitelio de la epidermis.

### **Substratos y matrices**

En un inicio, los cultivos eran preparados sobre cristal para facilitar la observación, pero las células pueden hacerse crecer en muchas superficies cargadas eléctricamente incluyendo metales y muchos polímeros. Tradicionalmente, una carga neta negativa era preferida, como la del cristal tratado con ácido o tratado con poliestireno mediante descarga eléctrica iónica, pero algunos plásticos estaban disponibles con una carga neta positiva, lo que se creía que le agregaba cierta selectividad celular. En cualquiera de los casos, es poco probable que las células se adhieran directamente a superficies sintéticas y más probable que las células secreten productos matriz que se adhieran al substrato y provean ligandos para la interacción de los receptores matriz como las integrinas. Por lo tanto es un paso lógico el tratar el substrato con productos matriz como son; colágeno tipo IV, fibronectina o laminina para promover la adhesión de las células que de otra manera no se adherirían.

### **III.18 OBTENCIÓN DE RÉCORDS**

Cuando las muestras llegan al laboratorio, éstas deben ser depositadas en un sistema de récords y se les debe de asignar un número. Éstos récords deben contener los detalles del donador y deben ser perfectamente identificados para evitar confusiones con los tejidos. Los datos que deben contener son: nombre del donador, sitio de donde se tomó la muestra de tejido, y toda la información correspondiente al medio de colección, tratamiento necesario a su llegada, disgregación primaria y detalles del cultivo.

#### **III.18.1 DISGREGACIÓN Y CULTIVO PRIMARIO**

El tejido va a pasar por estadios de disección y también disgregación mecánica o digestión enzimática en tripsina y/o colagenasa. Por lo regular, es deseable no tener una suspensión completa de una sola célula, es mejor tener pequeñas muestras de muchas células. Los tejidos disgregados, contendrán una variedad de diferentes tipos de células y es necesario someterlos a una técnica de separación como separación por gradiente de densidad (Pretlow and Pretlow, 1989) o selección inmunológica por medio de camas magnéticas, utilizando un polo positivo para seleccionar a las células de interés o por polos negativos para eliminar aquellas que no sean requeridas o mediante la utilización de células activadas por fluorescencia. La población celular puede ser enriquecida mediante la selección de un correcto medio, muchos de los cuales están ahora disponibles comercialmente y suplementando éstos con factores de crecimiento. La supervivencia y el enriquecimiento de las células debe ser mejorado cubriéndolas con sustratos con gelatina, colágeno, laminina o fibronectina.

### **III.18.2 SUBCULTIVO**

Con frecuencia, el número de células obtenidas en un cultivo primario puede ser insuficiente para crear cultivos útiles para injerto. Los subcultivos permiten expandir la población celular, aplicando presión selectiva con un medio selectivo, y logrando una fracción de crecimiento más amplia y permitiendo la generación de réplicas de cultivos para caracterización, preservación por congelación y experimentación.

Los subcultivos envuelven la disociación de células unas de otras y del sustrato para generar una suspensión única de células que puede ser cuantificada, dichos cultivos pueden a su vez, ser recultivados y así obtener cultivos secundario, terciarios, etc.<sup>35</sup>

### III.18.3 CICLO DE CRECIMIENTO

Se define como cada tiempo en que una línea celular es subcultivada y crece a la densidad celular que existía antes del subcultivo. Este proceso puede ser descrito como curva de crecimiento celular de muestras tomadas a intervalos a través de un ciclo de crecimiento, lo que demuestra que las células entran en un periodo latente de no crecimiento denominado **periodo lag** inmediatamente después del subcultivo. Este periodo tarda alrededor de 48 horas, pero también puede durar 12-24 horas y permite a las células ser cubiertas por tripsinización reconstruyendo su citoesqueleto y matriz de secreción lo cual le permite a la célula entrar en un ciclo celular nuevamente. Después de esto, las células entran en una fase exponencial de crecimiento que es conocida como *fase log*, durante la cual, la población celular es el del doble durante un periodo definido, conocido como *tiempo doble*. Después de esto, entran en una *fase estacionaria* en la cual el crecimiento comienza a caer hasta llegar a cero.<sup>35</sup>

### III.19 CITOTOXICIDAD DE LA CLORHEXIDINA

En un estudio realizado por Campos Rosseti y Cols.<sup>39</sup> se demostró que en todas las concentraciones, la Clorhexidina tuvo un alto efecto citotóxico directo sobre los cultivos celulares.

Los resultados de un estudio realizado por Bonacorsi y cols.<sup>37</sup> mostraron que la Clorhexidina no tiene actividad inmunoestimuladora y las concentraciones sub-tóxicas no afectaron la respuesta de los macrófagos.

Los resultados de una investigación llevada a cabo por Gianelli y cols.<sup>40</sup> arrojaron que la Clorhexidina afectó la viabilidad celular dependiendo del tiempo de exposición particularmente en osteoblastos. Su efecto tóxico consistió en la inducción de apoptosis y autofagocitosis de células necróticas muertas e implicó daños en la función mitocondrial, incremento de  $Ca^{+2}$  intracelular y oxidación celular. Lo anterior sugiere que la Clorhexidina es

altamente citotóxica *in vitro* e invita a tomar precauciones al utilizarla como antiséptico en procedimientos quirúrgicos de la cavidad oral.

# **Materiales y Métodos**

## MATERIALES Y MÉTODOS

### IV.1 POBLACIÓN

En este estudio prospectivo, experimental, longitudinal y comparativo, se llevaron a cabo 30 experimentos en 3 diferentes medios de cultivo bacteriano (*Streptococcus intermedius*, *Porphyromona gingivalis* y la mezcla bacteriana para *Streptococcus intermedius* y *Porphyroma gingivalis*), utilizando 30 mini-implantes ortodóncicos. El tamaño de la muestra y la metodología experimental en lo referente a la obtención de cultivos bacterianos, se tomó con base en experiencia previa de investigación con cultivos bacterianos realizado por Ferraz y cols<sup>51</sup>. así como también por Chin y cols<sup>52</sup>.

### IV.2 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y DE EXCLUSIÓN

Los criterios de inclusión fueron aquellos Mini-implantes ortodóncicos de Titanio (**ANCORAGEM ORTODÔNCICA, NEODENT®, Brasil**) estériles, así como Medio de cultivo (Trypticaseína) y ambos productos químicos estériles (Estericide Gel y Clorhexidina al 0.12%).

Los criterios de exclusión fueron aquellos Mini-implantes ortodóncicos de Titanio (**ANCORAGEM ORTODÔNCICA, NEODENT®, Brasil**) contaminados o dañados; Medio de cultivo (Trypticaseína) contaminado; Gel de Digluconato de Clorhexidina contaminado; Gel de Estericide contaminado.

### IV.3 CAPTACIÓN DE VARIABLES.

- Absorbancia bacteriana.
- Concentración celular bacteriana.
- Unidad de colonias bacterianas.
- Citotoxicidad.



Se realizaron los cultivos bacterianos para *Streptococcus intermedius*, *Porphyromona gingivalis* y la mezcla bacteriana para *Streptococcus intermedius* y *Porphyromona gingivalis*. Una vez teniendo los cultivos bacterianos activos, se procedió a realizar el experimento en el cual se utilizaron 50 tubos Eppendorf estériles. El experimento se dividió en 6 grupos además de los controles que a continuación se mencionan.

## MÉTODO DE CONTEO BACTERIANO

- a) Se pipeteó una suspensión bacteriana en el porta-objetos, en el borde del cubre-objetos, rellenando la cámara de recuento por capilaridad. En unos minutos sedimentaron las células en el fondo y se pudo empezar el recuento.
- b) Se contaron las células bacterianas de cada uno de los 25 recuadros de mayor tamaño, dibujados en el portaobjetos. En la práctica se contaron las bacterias de varios cuadrados grandes y se hizo la media. El número en el cuadrado grande multiplicado por 25 es el número de  $0.02\text{mm}^3$ . El número multiplicado por 50 es el número en  $1\text{mm}^3$ . Este número multiplicado por 1000 es el número en 1ml.
- c) Si se cuentan las células de un cuadro pequeño, el número se multiplica por un factor de 16. Ejemplo:  $(16 \times 25 \times 50 \times 1000 = 20\,000\,000)$ .

## GRUPO 1

Se partió de 5 tubos Eppendorf a los cuales se agregaron 50  $\mu\text{l}$  de caldo bacteriano de *Streptococcus intermedius*. Posteriormente, se depositó 1 mini-implante (**Anchorage®**) estéril en cada uno de los tubos durante 1 minuto para impregnarlos de bacterias cuya concentración conocida fue de 5.98/50 $\mu\text{l}$ . Seguido de esto, se procedió a impregnar los mini-implantes con Estericide Gel Antiséptico (**EsteripHarma®**) durante 1 minuto para después retirar cuidadosamente en gel irrigando agua bidestilada estéril. Finalmente se colocó cada uno de los mini-implantes en un tubo Eppendorf que contenía 1000  $\mu\text{l}$  de caldo de cultivo estéril y se incubaron las muestras a 37°C durante 16 h.

## GRUPO 2

Se partió de 5 tubos Eppendorf a los cuales se agregaron 50 µl de caldo bacteriano de *Porphyromona gingivalis*. Posteriormente, se depositó 1 mini-implante (**Anchorage®**) estéril en cada uno de los tubos durante 1 minuto para impregnarlos de bacterias cuya concentración conocida fue de 7.39/50µl. Seguido de esto, se procedió a impregnar los mini-implantes con Estericide Gel Antiséptico (**EsteripHarma®**) durante 1 minuto para después retirar cuidadosamente en gel irrigando agua bidestilada estéril. Finalmente se colocó cada uno de los mini-implantes en un tubo Eppendorf que contenía 1000 µl de caldo de cultivo estéril y se incubaron las muestras a 37°C durante 16 h.

## GRUPO 3

Se partió de 5 tubos Eppendorf a los cuales se agregaron 50 µl de caldo bacteriano de *Streptococcus intermedius* y *Porphyromona gingivalis*. Posteriormente, se depositó 1 mini-implante (**Anchorage®**) estéril en cada uno de los tubos durante 1 minuto para impregnarlos de bacterias cuya concentración conocida fue de 4.47/50µl. Seguido de esto, se procedió a impregnar los mini-implantes con Estericide Gel Antiséptico (**EsteripHarma®**) durante 1 minuto para después retirar cuidadosamente en gel irrigando agua bidestilada estéril. Finalmente se colocó cada uno de los mini-implantes en un tubo Eppendorf que contenía 1000 µl de caldo de cultivo estéril y se incubaron las muestras a 37°C durante 16 h.

## GRUPO 4

Se repitió el mismo procedimiento que para el grupo 1 utilizando Digluconato de Clorhexidina al 0.12%.

## GRUPO 5

Se realizó el mismo procedimiento que para el grupo 2 utilizando Digluconato de Clorhexidina al 0.12%.

## **GRUPO 6**

Se llevó a cabo el mismo procedimiento que para el grupo 3 utilizando Digluconato de Clorhexidina al 0.12%.

### **CONTROL NEGATIVO 1**

Se depositó en un tubo Eppendorf 1000µl de caldo de cultivo para probar esterilidad del mismo. La muestra se incubó a 37°C durante 24 hrs.

### **CONTROL NEGATIVO 2**

Se colocaron en un tubo Eppendorf 1000µl de caldo de cultivo y 1 mini-implante para probar la esterilidad del mini-implante. La muestra se incubó a 37°C durante 24 hrs.

### **CONTROL NEGATIVO 3**

Se vertió en un tubo Eppendorf 1000µl de Estericide Gel Antiséptico (**EsteripHarma®**) para probar la esterilidad del mismo. La muestra se incubó a 37°C durante 24 hrs.

### **CONTROL NEGATIVO 4**

En un tubo Eppendorf se depositaron 1000µl de Digluconato de Clorhexidina Perioxidín (**Lacer®**) para probar la esterilidad del mismo. La muestra se incubó a 37°C durante 24 hrs.

### **CONTROL POSITIVO 1**

Se ubicó en un tubo Eppendorf 1000µl de caldo de cultivo y 1 mini-implante inoculado previamente con caldo bacteriano de *Streptococcus intermedius* para probar que hubiese crecimiento de microorganismos. La muestra se incubó a 37°C durante 24 hrs.

### **CONTROL POSITIVO 2**

En un tubo Eppendorf se situaron 1000µl de caldo de cultivo y 1 mini-implante inoculado previamente con caldo bacteriano de *Porphyromona*

*gingivalis* para probar que hubiese crecimiento de microorganismos. La muestra se incubó a 37°C durante 24 hrs.

### **CONTROL POSITIVO 3**

Se colocaron en un tubo Eppendorf 1000µl de caldo de cultivo y 1 mini-implante inoculado previamente con caldo de mezcla bacteriana de *Porphyromona gingivalis* y *Streptococcus intermedius* para probar que hubiese crecimiento de microorganismos. La muestra se incubó a 37°C durante 24 hrs.

Después de 24 hrs, se realizaron pruebas de PCR Tiempo Real que consistió en la extracción de DNA para identificar colonias bacterianas, esto con el objetivo de probar que las bacterias que se habían inoculado de primera intención, estuvieran presentes al final del experimento. Así mismo se llevó a cabo una prueba de Espectrofotometría para identificar turbidez del medio de cultivo, esto con el fin de cuantificar la absorbancia y concentración de cada una de las muestras.

**PRUEBA PCR-TIEMPO REAL-** Se empleó el Aparato Light-Cycler®480II (ROCHE®) con el cual se realizó la extracción de DNA para identificar las dos colonias bacterianas (*Streptococcus intermedius* y *Porphyromona gingivalis*).

**PRUEBA DE TURBIDEZ POR ABSORBANCIA-** Se utilizó un Espectrofotómetro (Smart Spec™Plus; BIO-RAD), en el cual se colocó una celdilla con una concentración de 50µl de agua bidestilada estéril, por 45 µl de muestra bacteriana y con esto, se midió la absorbancia y la concentración, teniendo por objetivo corroborar la inhibición de crecimiento bacteriano alrededor del mini-implante al utilizar Estericide Gel Antiséptico de superoxidación (**EsteripHarma®**) y Digluconato de Clorhexidina Perioxidín (**Lacer®**).

**PRUEBA DE CITOTOXICIDAD MEDIDA EN FIBROBLASTOS.-** Para evaluar los efectos citotóxicos de Perioxidin y Estericide, se emplearon células humanas normales (Línea ATCC Hs68) para el estudio. Se colocaron 50,000 células por pozo en placas de 96 pocillos. Se aprecia una diferencia muy clara

en la toxicidad de la Clorhexidina. Sólo se realizó a 2 horas debido a que si se dejaba más tiempo no había células vivas para contar y hacer la comparación.

#### IV.4 MÉTODO ESTADÍSTICO

Con el propósito de cumplir con los objetivos mencionados, el análisis que se realizó fue el de regresión lineal simple: el cual relaciona la absorbancia con el logaritmo de la dilución, la concentración con la misma variable y el logaritmo de la UFC con el logaritmo de la dilución. Lo anterior está expresado en la tabla que se muestra a continuación.

Tratamiento	Función o Relación o Regresión	Condiciones	Significancia
1	Absorbancia = F ( Log de Dilución)	Con dilución = 0	NS
		Sin dilución = 0	*
	Concentración = F (Log de Dilución)	-----	NS
	Log de UFC = F (Log de Dilución)	-----	**
3	Absorbancia = F ( Log de Dilución)	Con dilución = 0	NS
		Sin dilución = 0	NS
	Concentración = F (Log de Dilución)	-----	NS
	Log de UFC = F (Log de Dilución)	-----	**
5	Absorbancia = F ( Log de Dilución)	Con dilución = 0	NS
		Sin dilución = 0	**
	Concentración = F (Log de Dilución)	-----	NS
	Log de UFC = F (Log de Dilución)	-----	**

**(NS = No significativo, \* = significativo (p < 0.05) y los dos \*\* = es altamente significativo (p < 0.01).**

# Resultados

## V. RESULTADOS

**PRUEBA PCR-TIEMPO REAL** - Se observó que el Gel de Estericide (EsteripHarma®) tuvo un mayor efecto inhibitorio sobre los cocos, pero no tuvo el mismo efecto inhibitorio sobre los bacilos gram (-) anaerobios (*Porphyromona gingivalis*).

En resumen, se logró registrar una disminución tanto en la absorbancia, como en la concentración de células al emplear Estericide Gel Antiséptico (**EsteripHarma®**), así como también la hubo con el gel de Digluconato de Clorhexidina, el cual no mostró crecimiento bacteriano. Lo anterior nos demostró que Estericide Gel Antiséptico (**EsteripHarma®**) es un bacteriostático que actuó inhibiendo el crecimiento bacteriano alrededor del mini-implante y que el Gel de Digluconato de Clorhexidina Perioxidín (**Lacer®**) es un bactericida ya que no se observó crecimiento en él.

### CITOTOXICIDAD

En la gráfica 1-A (Anexo 2) se puede observar que hubo una reducción porcentual significativa en la viabilidad celular al aplicar Clorhexidina, la cual se acentuó al aumentar la concentración de la misma con un rango de 14.66 entre la concentración mayor y la menor. Esto indica que a medida de que se incrementa la concentración de Digluconato de Clorhexidina, disminuye la probabilidad de supervivencia celular.

En la gráfica 2-A (Anexo 2) se observa que la cantidad de células vivas disminuyó en proporción inversa a la concentración de Digluconato de Clorhexidina en la cual fueron sumergidas, lo que significa que a mayor concentración de Clorhexidina, menor cantidad de células vivas, demostrando así su citotoxicidad.

En la gráfica 3-A (Anexo 2) se aprecia que no hubo reducción porcentual significativa en la viabilidad celular al aplicar Estericide Gel y dicha condición se mantuvo en las diferentes concentraciones con un rango de 5.00 entre la concentración mayor y la menor, lo que prueba su bajo grado de citotoxicidad.



En la gráfica 4-A (Anexo 2) se observa que no hubo una reducción significativa en el número de células vivas utilizando Estericide Gel; sin embargo, se puede apreciar que la muerte celular se acentuó al incrementar la concentración de dicho gel, como sucedió en el caso del Digluconato de Clorhexidina.

La gráfica 5-A (Anexo 2) establece la comparación en la viabilidad celular entre Clorhexidina y Estericide Gel. Se demuestra que la Clorhexidina es significativamente más citotóxica que Estericide Gel ya que hubo una reducción porcentual en la viabilidad celular utilizando Clorhexidina, comparada con Estericide Gel con un rango de 79.33 con respecto a la mayor concentración y de 69.67 con respecto a la menor concentración de ambos productos.

En la gráfica 6-A (Anexo 2) se puede apreciar claramente que la citotoxicidad de la Clorhexidina fue significativamente mayor que la de Estericide Gel al actuar sobre las células vivas, además se observa que esta condición se acentuó al incrementar la concentración de ambos productos.

### **ABSORBANCIA, CONCENTRACIÓN Y CONTEO DE UNIDADES DE COLONIAS BACTERIANAS**

Para determinar diferencias en la Absorbancia, Concentración y Conteo de Unidades Bacterianas respecto a la dilución entre tratamientos, se aplicó el Análisis de Regresión Lineal Simple y posteriormente se compararon las pendientes obtenidas para los tratamientos:

1= Si + Estericide Gel.

2= Si + Digluconato de Clorhexidina.

3= Pg + Estericide Gel.

4= Pg + Digluconato de Clorhexidina.

5= Si + Pg + Estericide Gel.

6= Si + Pg + Digluconato de Clorhexidina.

7= Si (Dilución máxima) + Estericide Gel.

8= Pg (Dilución máxima) + Estericide Gel.

9= Si + Pg (Dilución máxima) + Estericide Gel.

10= Si (Dilución máxima) + Digluconato de Clorhexidina.

11= Pg (Dilución máxima) + Digluconato de Clorhexidina.

12= Si + Pg (Dilución máxima) + Digluconato de Clorhexidina.

## RESULTADOS PARA ABSORBANCIA, CONCENTRACIÓN Y CONTEO DE UNIDADES DE COLONIAS BACTERIANAS EXPLICADOS POR TRATAMIENTO.

### Tratamiento 1

Para el tratamiento 1 que incluyó Si+ Estericide Gel, tomando en cuenta la dilución cero (Ver gráfica 1-B, Anexo 2) se encontró que aún cuando se registró un determinado crecimiento bacteriano, la absorbancia no fue estadísticamente significativa ( $P= 0.156$ ).

Al compararla con el mismo tratamiento eliminando la dilución cero (es decir, el experimento), visto en gráfica 2-B (Anexo 2), se encontró que hubo un crecimiento bacteriano suficiente que se reflejó en una absorbancia estadísticamente significativa ( $P=0.012$ ).

La concentración ( $p=0.318$ ) para este tratamiento, pese a que se registró cierto crecimiento bacteriano, no fue estadísticamente significativa (Ver gráfica 3-B, Anexo 2).

En cambio, el conteo de Unidades de Colonias Bacterianas resultó altamente significativo ( $p= 0.000$ ), lo que demuestra que Estericide Gel no fue efectivo en la inhibición de *Streptococcus intermedius* al emplear Estericide Gel (Ver gráfica 4-B, Anexo 2).

De lo anterior, se concluye que sí hubo crecimiento bacteriano de *Streptococcus intermedius* al utilizar Estericide Gel.

### Tratamiento 2

Para el Tratamiento 2 que consistió en Si+Clorhexidina se encontró que todas las variables a medir fueron cero, es decir, no hubo crecimiento bacteriano, lo que quiere decir que Digluconato de Clorhexidina tuvo un efecto bactericida contra *Streptococcus intermedius*.

### Tratamiento 3

Para el Tratamiento 3 que incluyó Pg + Estericide Gel, tomando en cuenta la dilución cero, se encontró que a pesar del crecimiento bacteriano observado, la absorbancia ( $p= 0.119$ ) no fue estadísticamente significativa (Ver gráfica 5-B, Anexo 2).

Así mismo, al compararla con el mismo tratamiento eliminando la dilución cero (es decir, el experimento), no se obtuvo una absorbancia ( $p=0.095$ ) estadísticamente significativa, esto deja ver que no hubo suficiente crecimiento de Pg empleando dicho gel (Ver gráfica 6-B, Anexo 2).

La concentración bacteriana ( $p= 0.680$ ) para este tratamiento, aun cuando mostró cierta cantidad de concentración de células, no fue estadísticamente significativa (Ver gráfica 7-B, Anexo 2).

Sin embargo, el conteo de Unidades de Colonias Bacterianas ( $p=0.000$ ) fue altamente significativo, lo cual demuestra que Estericide Gel no fue efectivo en la inhibición del crecimiento de *Porphyromona gingivalis* (Ver gráfica 8-B, Anexo 2).

### Tratamiento 4

Para el Tx 4 que incluyó Pg + Clorhexidina se encontró que todas las variables a medir fueron cero, es decir, que no hubo crecimiento bacteriano, lo que permite determinar que Diguconato de Clorhexidina es efectivo en la inhibición de proliferación de *Porphyromona gingivalis* actuando como bactericida (Ver gráfica 9-B, Anexo 2).

### Tratamiento 5

Para el Tratamiento 5 que incluyó Si+Pg+Estericide Gel, tomando en cuenta la dilución cero, se encontró que, no obstante el crecimiento bacteriano determinado, la absorbancia ( $p= 0.083$ ) no fue estadísticamente significativa (Ver gráfica 10-B, Anexo 2).

Al compararla con el mismo tratamiento eliminando la dilución cero (es decir, el experimento), se encontró que el crecimiento de la mezcla bacteriana

fue tal, que arrojó una absorbancia ( $p= 0.003$ ) altamente significativa (Ver gráfica 11-B, Anexo 2).

La concentración ( $p= 0.639$ ) para este tratamiento, a pesar del crecimiento bacteriano observado, no fue estadísticamente significativa.

Sin embargo, el Conteo de Unidades de Colonias Bacterianas ( $p= 0.000$ ) fue altamente significativo, lo que supone que existe un déficit en la efectividad de Estericide Gel al actuar sobre mezclas bacterianas (Ver gráfica 12-B, Anexo 2).

### **Tratamiento 6**

Para el tratamiento 6 que incluyó Si+ Pg+ Clorhexidina se encontró que todas las variables a medir fueron de cero, es decir, que no hubo crecimiento bacteriano, lo que expresa que una recomendación en el manejo de los mini-implantes es la aplicación de Gel de Clorhexidina gracias a su efectividad como bactericida.

# Discusión

## VI. DISCUSIÓN

### Concentración y Absorbancia Celular Bacteriana alrededor del Mini-implante

Kravitz N y Kusnoto B<sup>5</sup>, determinaron que para prevenir ulceración del tejido alrededor del mini-implante y mejorar la comodidad del paciente, se recomienda el uso de clorhexidina (0.12% 10 ml). Esto es importante, debido a que la presencia de ulceración puede ser causante de gran inflamación del tejido. Por lo tanto la clorhexidina es usada después de la colocación de Mini-implantes, debido a que además de sus propiedades antibacteriales que minimizan la inflamación del tejido, promueve una lenta epitelización y puede reducir la posibilidad de aumento de tejido blando alrededor del mini-implante. Tomando en cuenta dichos hallazgos, en este estudio se empleó Digluconato de Clorhexidina al 0.12% alrededor de la superficie de los mini-implantes y se demostró que sus propiedades antibacteriales fueron significativamente mayores (UFC= 0) al compararlas con Estericide Gel, sin embargo dicho Gel demostró ser menos citotóxico.

Estudios *in vitro* e *in vivo* llevados a cabo por Paolantonio y cols.<sup>10</sup>, demostraron que las bacterias pueden penetrar la cavidad interior de un implante como consecuencia de la interfase abutment-implante o por atrapamiento durante la colocación del mismo. La penetración de microorganismos en la cavidad interna del implante, produce un reservorio bacteriano asociado con un área inflamada de tejido conectivo peri-implantario. En este sentido, en el presente estudio se cubrió el 100% de la superficie del mini-implante con los diferentes preparados bacterianos sin embargo, no se analizaron las superficies de los mismos por lo que fue imposible identificar exactamente en qué zonas del aditamento se acumularon más bacterias.

En el presente estudio, los resultados obtenidos en cuanto a las propiedades antimicrobianas de la Clorhexidina sobre la superficie peri-implantaria fueron entusiastas en cuanto a que no hubo crecimiento bacteriano en ninguno de los mini-implantes utilizados, por el contrario, en otro estudio

llevado a cabo por Dennison y Cols.<sup>15</sup> se encontró que la Clorhexidina tuvo una pobre efectividad en la remoción de bacterias de la superficie de implantes tratados con hidroxyapatita en su superficie.

Harvinen y cols.<sup>46</sup> realizaron un estudio en el que demostraron la susceptibilidad del *Streptococcus mutans* a la Clorhexidina y otros seis agentes antibacterianos comúnmente utilizados como Amoxicilina, Cefuroxime, Penicilina, Sulfametoxazol, Trimetoprim, Tetracilina y Eritromicina. Se encontró que aunque la bacteria fue expuesta a varios agentes antimicrobianos, esta permaneció susceptible a todos ellos y de manera más importante a la Clorhexidina. De este modo, los resultados aquí obtenidos, al igual que en estudios mencionados con anterioridad, coinciden con los obtenidos en nuestro estudio, aunque Harvinen y cols emplearon más variables (agentes antibacterianos).

### **Conteo Bacteriano por Unidad de Colonias Bacterianas**

Con respecto a la efectividad antimicrobiana, se logró registrar una disminución tanto en la absorbancia, como en la concentración de células al emplear Estericide Gel Antiséptico (**EsteripHarma®**), sin embargo esta situación se acentuó significativamente al emplear el gel de Digluconato de Clorhexidina, el cual no mostró crecimiento bacteriano. Lo anterior nos demuestra que Estericide Gel Antiséptico (**EsteripHarma®**) es un bacteriostático que actúa inhibiendo el crecimiento bacteriano alrededor del mini-implante y que el Gel de Digluconato de Clorhexidina Perioxidín (**Lacer®**) es un bactericida ya que no se observó crecimiento en él.

En un estudio *in vitro* realizado por De Baun<sup>36</sup> con el fin de probar las propiedades antimicrobianas del Digluconato de Clorhexidina contra 7 muestras bacterianas diferentes, se encontró que dicho compuesto redujo el contenido bacteriano en 3 minutos de exposición y su efectividad se mantuvo. En este estudio solo se comparó la efectividad antimicrobiana del Digluconato de Clorhexidina contra Estericide Gel que es un compuesto de Superoxidación y los resultados arrojaron que la Clorhexidina tuvo mejor respuesta al disminuir



el conteo bacteriano significativamente alrededor de la superficie del mini-implante.

Dametto y cols.<sup>50</sup> llevaron a cabo un estudio en el que se tuvo por objetivo medir la efectividad antimicrobiana *in vitro* de Gel de Clorhexidina al 2% comparado con Hipoclorito de Sodio en la irrigación de canales endodónticos, encontrando que dicho gel redujo significativamente el conteo bacteriano. Esto va de acuerdo con los hallazgos encontrados en nuestro estudio.

Por otro lado, en estudios *in vivo* llevados a cabo por Persson y Cols.<sup>24</sup>, así como por Paolantonio y Cols.<sup>10</sup>, se ha encontrado que la Clorhexidina tiene propiedades antimicrobianas importantes al inhibir el crecimiento de dichos microorganismos.

Noiri y Cols.<sup>30</sup>, llevaron a cabo un estudio *in vitro* en el que examinaron los efectos de la Clorhexidina sobre biofilms de *Porphyromona gingivalis* encontrando que la matriz extracelular de ésta última, fue alterada en presencia de dicha sustancia. Esto coincide con los resultados encontrados en esta investigación aunque al aplicar Estericide Gel Antiséptico esta bacteria fue la que presentó mayor resistencia.

La susceptibilidad de varios tipos de muestras bacterianas a la Clorhexidina vario entre una cepa y otra. La más susceptible fue *A. naeslundii* seguida por bacterias anaerobias gram-negativas como *Prevotella nigrescens*, *Porphyromona gingivalis*, *Streptococcus mutans* y *S. sanguis*. Lo anterior fue demostrado en un estudio realizado por McBain y cols.<sup>38</sup>. Los resultados de esta investigación coinciden con los obtenidos en el presente estudio en el cual la Clorhexidina demostró su efecto bactericida sobre los microorganismos empleados.

Melsen B<sup>11</sup> realizó una investigación en donde midió la reacción de los tejidos periodontales y gingivales a las fuerzas de intrusión aplicadas a dientes, así como la influencia de la higiene oral en changos *Macaca fascicularis*, para lo cual utilizó Clorhexidina. Los resultados arrojaron que en el lado de higiene, se observaron signos claros de que el depósito de hueso siguió presente

después de las fuerzas de erupción aplicadas, lo que no fue el caso del lado de no higiene. Lo anterior nos hace suponer que la Clorhexidina inhibe la proliferación bacteriana, como se demuestra en nuestro estudio *in vitro*.

### **Citotoxicidad**

Los resultados encontrados en este estudio en lo que a Citotoxicidad se refiere, coinciden con estudios llevados a cabo por Zanatta y Cols.<sup>8</sup>; así como también con el de Kozlovsky y cols.<sup>14</sup>, mismos en los que se encontró que la Clorhexidina utilizada en bajas concentraciones causa daño a la membrana celular y escape de moléculas de bajo peso molecular de los microorganismos.

En cuanto a citotoxicidad se refiere, existe cierta contradicción en la literatura encontrada, así Campos y Cols.<sup>39</sup> demostraron que en todas las concentraciones, la Clorhexidina tuvo un alto efecto citotóxico directo sobre los cultivos celulares; lo cual coincide con los resultados obtenidos en este estudio, ya que la Clorhexidina mostró ser citotóxica a medida que aumentó su concentración, condición que se vio reflejada en la viabilidad y el conteo celular. En cambio, Bonacorsi y Cols.<sup>37</sup> obtuvieron que la Clorhexidina no tuvo actividad inmunoestimuladora y que las concentraciones subtóxicas no afectaron la respuesta de los macrófagos, condición que no fue analizada en este estudio.

Definitivamente uno de los estudios cuyos resultados más se acercan a los obtenidos en la presente investigación es el de Gianelli y cols.<sup>40</sup>, quienes encontraron que la Clorhexidina afectó la viabilidad celular dependiendo del tiempo de exposición particularmente en osteoblastos, en nuestro estudio, dicha condición fue analizada en fibroblastos. Dichos autores incluso explicaron la causa del efecto citotóxico como la inducción de apoptosis y autofagocitosis de células necróticas muertas e implicó daño en la función mitocondrial, así como incremento de  $Ca^{+2}$  intracelular y oxidación celular. En este estudio al igual que en el de Gianelli<sup>40</sup> se concluye que la Clorhexidina es altamente citotóxica *in vitro* y exhorta a tomar precauciones al utilizarla en los procedimientos de la cavidad oral.

# Conclusiones

## VII. CONCLUSIONES

Al observar los resultados obtenidos y analizar los mismos, se formularon las siguientes conclusiones:

- 1) Se confirma la hipótesis de trabajo al haber encontrado que el gel de Superoxidación Estericide inhibió la formación de biopelículas alrededor de la superficie de los mini-implantes ortodóncicos debido a sus propiedades bacteriostáticas en comparación con Digluconato de Clorhexidina al 0.12% cuya acción fue bactericida.
- 2) Al determinar la concentración celular de *Streptococcus intermedius* alrededor de la superficie de los mini-implantes ortodóncicos utilizando gel de Superoxidación, se encontró que ésta no fue estadísticamente significativa lo que indica que no hubo un crecimiento bacteriano importante en presencia de dicho gel.
- 3) Al analizar la concentración celular de *Porphyromona gingivalis* alrededor de la superficie de los mini-implantes ortodóncicos utilizando gel de Superoxidación, se encontró que ésta no fue estadísticamente significativa, lo que quiere decir que no hubo crecimiento bacteriano importante de esta bacteria en presencia del gel de Estericide.
- 4) Al efectuar la medición de la concentración celular de la mezcla de *Porphyromona gingivalis* y *Streptococcus intermedius* alrededor de la superficie de los mini-implantes ortodóncicos utilizando gel de Superoxidación, se encontró que ésta no fue estadísticamente significativa por lo que podemos decir que el crecimiento bacteriano no fue suficientemente grande en presencia de dicho gel.
- 5) Al determinar la concentración celular de de *Streptococcus intermedius* alrededor de la superficie de los mini-implantes ortodóncicos utilizando Digluconato de Clorhexidina al 0.12% se encontró que ésta fue de cero, lo que nos demuestra que hubo un efecto bactericida al aplicar dicho gel.
- 6) Al comprobar cuál es la concentración celular de *Porphyromona gingivalis* alrededor de la superficie de los mini-implantes ortodóncicos utilizando Digluconato de Clorhexidina al 0.12%, se

encontró que ésta fue de cero, lo que significa que hubo un efecto bactericida al aplicar el Gel sobre la cepa bacteriana.

- 7) Al estipular cuál es la concentración celular de la mezcla de *Porphyromona gingivalis* y *Streptococcus intermedius* alrededor de la superficie de los mini-implantes ortodóncicos utilizando Digluconato de Clorhexidina al 0.12%, se obtuvo que ésta fue de cero, lo que corrobora la eficacia de dicho Gel en la inhibición de crecimiento bacteriano al actuar como bactericida.
- 8) Al efectuar las pruebas de citotoxicidad sobre Fibroblastos en presencia de gel de Superoxidación se encontró que no hubo una reducción porcentual en la viabilidad celular, condición que se mantuvo en las diferentes concentraciones, lo que nos lleva a concluir que el Gel de Estericide posee un bajo grado de citotoxicidad.
- 9) Al registrar cuál es el efecto citotóxico de Digluconato de Clorhexidina al 0.12% en presencia de Fibroblastos se pudo observar que hubo una reducción porcentual significativa en la viabilidad celular que se acentuó al incrementar la concentración de la misma. Con lo anterior se demuestra que dicho producto fue altamente citotóxico.
- 10) Al establecer la comparación entre los dos productos, se demostró que la Clorhexidina fue más citotóxica que Estericide Gel ya que hubo una reducción porcentual en la viabilidad celular utilizando Clorhexidina, comparada con Estericide Gel.
- 11) En resumen, el Gel de Superoxidación ofrece un beneficio inhibitorio no irritante en las células permitiendo que el efecto terapéutico regenerativo propio de las mismas, sea más saludable ya que este promueve su recuperación interna.
- 12) Estericide Gel Antiséptico (**EsteripHarma®**) (gel de Superoxidación) tuvo un efecto bacteriostático en presencia de cepas aisladas, así como en mezcla bacteriana. Esto sugiere que puede ser de utilidad en la prevención de infecciones ocasionadas por microorganismo orales en un periodo de aplicación efectivo de 24 horas. Mientras que Digluconato de Clorhexidina tuvo un efecto bactericida, lo cual permite sugerir su uso en la desinfección de la superficie peri-

implantaria, así como en la prevención de infecciones postquirúrgicas.

# **Referencias Bibliográficas**

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Huang L., Lynn J., Wang H. (2005) Dental implants for orthodontic anchorage. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* (127): 713-22.
2. Viwattanatipa N., Thanakitcharu S., Uttraravichien A., Pitiphat W. (2009) Survival analyses of surgical miniscrews as orthodontic anchorage. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* (136): 29-36.
- 3.- Mendes D, Cutrim A, Braz M, Santos V, Ferreira M y Nociti F. (2009) Effect of anti-infective mechanical therapy on clinical parameters and cytokine levels in human peri-implant diseases. *J Periodontol.* (80): 234-242.
- 4.- Miyawaki S, Koyama I, Inoue M, Mishima K, Sugahara T, Takano-Yamato T. (2003). *Factors associated with the stability of titanium screws placed in the posterior region for orthodontic anchorage.* *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* (124): 373-8.
- 5.- Kravitz N., Kusnoto B. (2007) Risks and complications of orthodontic miniscrews. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 131:00.
- 6.- Cheng S., DDS, MS, Tseng I., DDS, MS, Lee J., DDS, MS, Kok S., DDS, PhD. (2004) A prospective study of the risk factors associated with failure of mini-implants used for orthodontic anchorage. *Int Oral Maxillofac Implants.* (19): 100-106.
- 7.- Stoeken J, Versteeg P, Rosema N, Timmerman M, van der Velden U, van der Weijden G. (2007) Inhibition of "De Novo" plaque formation with 0.12% Chlorhexidine spray compared to 0.2% spray and 0.2 % Chlorhexidine Mouthwash. *J Periodontol.* (78): 899-904.
8. Zanatta F., Antoniazzi R., Rösing Cassiano K. (2007) The effect of 0.12% Chlorhexidine Gluconate Rinsing on previously plaque-free and plaque-covered surfaces: A randomized, controlled clinical trial. *J Periodontol.* (78): 2127-2134.



- 9.- Renvert S., Lessem J., Dahlén G., Renvert H. y Lindahl C. (2008) Mechanical and repeated antimicrobial therapy using a local drug delivery system in the treatment of peri-implantitis: a Randomized clinical trial. *J Periodontol.* (79): 836-844.
- 10.- Paolantonio M, Perinetti G, D'Ercole S, Graziani F, Catamo G, Sammartino G, Piccolomini R. (2008) Internal decontamination of dental implants: an in vitro randomized microbiologic 6-month trial on the effects of a chlorhexidine gel. *J Periodontol.* (79): 1419-1425.
- 11.- Melsen B. (1986) Tissue reaction following application of extrusive and intrusive forces to teeth in adult monkeys. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* (89): 469-475.
- 12.- Longworth AR. (1964) Some aspects of the mode of action of chlorhexidine. *J Pharmacol.* (16): 655-662.
- 13.- Xie H, Cook GS, Costerton JW, Bruce G, Rose TM, Lamont RJ. (2000) Intergeneric communication in dental plaque biofilms. *J bacterial.* (182): 7067-7069.
- 14.- Kozlovsky A, Artzi Z, Moses O, Kamin-Belsky N, Greenstein RB. (2006) Interaction of chlorhexidine with smooth and rough types of titanium surfaces. *J Periodontol.* (77): 1194-1200.
- 15.- Dennison D., Herzeler M., Quinones C., Caffesse R. (1994) Contaminated implant surfaces: an In vitro comparison of implant surface coating and treatment modalities for decontamination. *J Periodontol.* (65): 942-948.
- 16.- Ahmed N, Petersen F, Schei A. (2009) Al-2/LuxS is involved in Increased Biofilm formation by *Streptococcus intermedius* in the presence of antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (53): 4258-4263.
- 17.- Ismail S, Johal A. (2002) Current products and practice section. The role of implants in orthodontics. *JO.* (29): 239-245.

- 18.- Miyawaki S, Koyama I, Inoue M, Mishima K, Sugahara T, Takano-Yamato T. (2003) Factors associated with the stability of titanium screws placed in the posterior region for orthodontic anchorage. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* (124): 373-8.
- 19.- Tat-Chi Leung M., BDS MOrth, Cheuk-Kit Lee T., BDS, MOrth, Rabie A. B. M., PhD, MSc, Wing-Kit Wong R., BDS, MOrth, PhD, MOrth RCS. (2008) Use of miniscrews and Miniplates in Orthodontics. *J Oral Maxillofac Surg.* (66): 1461-1466.
- 20.- Jae Cho, DDS, MS, PhD. (2006) Clinical applications of Mini-implants as Anchorage and the Peri-implant Tissue Reaction Upon Loading. *CDA Journal.* 34(10):813-19.
21. Mendes P, Figueiredo A, Moreira P, Ota-Tsuzuki C. (2009). Bacterial Adhesion on Smooth and Rough Titanium Surfaces After Treatment With Different Instruments. *J Periodontol.* (80): 1824-1832.
22. Schwarz F, Sculean A, Romanos G. (2005) Influence of different treatment approaches on the removal of early plaque biofilms and the viability of SAOS2 osteoblasts grown on titanium implants. *Clin Oral Investig.* (9): 111-117.
- 23.- Proffit W. (2003) Mechanical principles in orthodontic force control. In: Proffit W., Fields HW, editors. *Contemporary orthodontics.* 2nd ed. Saint Louis: Mosby. P. 289-315.
- 24.- Persson R., Yeates J., Persson E., Hirschi-Imfeld R., Weibel M., Kiyak A. (2007) The impact of a Low-Frequency Chlorhexidine Rinsing Schedule on the Subgingival Microbiota (The TEETH clinical trial). *J Periodontol* (78): 1751-1758.
- 25.- Renvert S., Lessem J., Dahlén G., Renvert H. y Lindahl C. (2008) Mechanical and repeated antimicrobial therapy using a local drug delivery system in the treatment of peri-implantitis: a Randomized clinical trial. *J Periodontol.* (79): 836-844.
- 26.- Paolantonio M, Perinetti G, D'Ercole S, Graziani F, Catamo G, Sammartino G, Piccolomini R. (2008) Internal decontamination of dental

implants: an in vitro randomized microbiologic 6-month trial on the effects of a chlorhexidine gel. *J Periodontol.* (79): 1419-1425.

27.- Información Técnica de laboratorio Esteripharma.

28.- Costerton, J. W., Stewart, Philip S., and Greenberg, E.P. (199) Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections. *Science.* 1318-1322.

29.- Davey M. (2006) Techniques for the growth of *Porphyromonas gingivalis* biofilms. *Periodontology* 2000. (42): 27-35.

30.- Noiri Y, Okami Y, Narimatsu M, Takahashi Y, Kawahara T, Ebisu S. (2003) Effects of Chlorhexidine, Minocycline, and Metronidazole on *Porphyromonas gingivalis* Strain 381 in Biofilms. *J Periodontol.* (74):1647-1651.

31.- Lo A, Seers C, Boyce J, Dashper S, Slakeski N, Lissel P, Reynolds E. (2009) Comparative transcriptomic analysis of *Porphyromonas gingivalis* biofilm and planktonic cells. *BMC Microbiology.* (9):18-25.

32.- Petersen F, Pecharki D, Scheie A. (2004) Biofilm Mode of Growth of *Streptococcus intermedius* Favored by a Competence-Stimulating Signaling Peptide. *Journal of Bacteriology.* (18): 6327-6331.

33.- Ahmed N, Petersen F, Schei A. (2009) AI-2/LuxS is involved in Increased Biofilm formation by *Streptococcus intermedius* in the presence of antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* (53): 4258-4263.

34.- Lin C, Wu C, Wu C, Yeh J, Saalia F. (2005) The evaluation of electrolysed water as an agent for reducing micro-organism on vegetables. *International Journal of Food Science and Technology.* (40): 495-500.

35.- Freshney I, Vunjak-Novakovic G. (2006) Culture of Cells for Tissue Engineering. John Wiley & Sons, Inc. 78-82.

36. De Baun B. (2008) Evaluation of the antimicrobial properties of an alcohol-free 2% Chlorhexidine gluconate solution. *AORN J.* 87(5):925-33.

37. Bonacorsi C, Raddi M, Carlos I. (2004) Cytotoxicity of Chlorhexidine digluconate to murine macrophages and its effect on hydrogen peroxide and nitric oxide induction. *Braz J Med Biol Res.* 37(2): 207-212.
38. McBain A, Bartolo R, Catrenich C, Charbonneau D, Ledder R, Gilbert P. (2003) Effects of a Chlorhexidine Gluconate-Containing Mouthwash on the Vitality and Antimicrobial Susceptibility of In Vitro Oral Bacterial Ecosystems. *Appl Environ Microbiol.* 69(8): 4770–4776.
39. Campos F, Fabio A, Nogueira I, Aparecida E, Hebling J, De Souza C. (2010) Toxicity of Chlorhexidine on odontoblast-like cells. *J Appl Oral Sci.* 18 (1): 1-14.
40. Giannelli M, Chellini F, Margheri M, Tonelli P, Tani A. (2008) Effect of Chlorhexidine digluconate on different cell types: A molecular and ultrastructural investigation. *Toxicol in Vitro.* 22 (2): 308-317.
41. Khan R, Antony V. (2010) A Randomized Clinical Trial Evaluating the Efficacy of Chlorhexidine Varnish on *Streptococcus mutans* in Plaque and the Gingival Status in Patients Undergoing Orthodontic Treatment. *The Orthodontic Cyber Journal.* 2-14.
42. Karpanen T, Worthington T, Hendry E, Conway B, Lambert P. (2008) Antimicrobial efficacy of chlorhexidine digluconate alone and in combination with eucalyptus oil, tea tree oil and thymol against planktonic and biofilm cultures of *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* (62): 1031–1036.
43. Soskolne W. (2003) Probing depth changes following 2 years of periodontal maintenance therapy including adjunctive release of Chlorhexidine. *J Periodontol.* (74): 420-427.
44. Suci P, Tyler B. (2002) Action of Chlorhexidine Digluconate against Yeast and Filamentous Forms in an Early-Stage *Candida albicans* Biofilm. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 46 (11): 3522-3531.

45. Devi L, Kamath P. (2001) Antimicrobial efficacy of 0.2% Chlorhexidine and Sodium hypochlorite as root-canal irrigants: An in-vivo study. *Endodontol.* (13): 57-62.
46. Jarvinen H, Tenovou J, Huovinen P. (1993) *In Vitro* Susceptibility of *Streptococcus mutans* to Chlorhexidine and Six Other Antimicrobial Agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 37 (5): 1158-1159.
47. Pietruska M, Paniczko A, Waszkiel D, Pietruski J, Bernaczyk A. (2006) Efficacy of local treatment with chlorhexidine gluconate drugs on the clinical status of periodontium in chronic periodontitis patients. *Advances in Medical Sciences.* 51(1): 162-165.
48. Cecilio R, Pine F, Palileo E, Rasco B, Isaac C, Siasoco R. (1983) Microbiological efficacy of Chlorhexidine: An *In Vitro* Study on 400 Bacterial Isolates from Four Metro Manila Hospitals. *Phil J Microbiol Infect Dis.* 12 (1): 7-13.
49. Puig M, Montiel J, Americh J. (2008) Use of chlorhexidine varnishes in preventing and treating periodontal disease. A review of the literature. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 13 (4): 257-60.
50. Dametto R, Randi C, Figueiredo B, Zaia A, Batista F, De Souza-Filho F. (2008) *In vitro* assessment of the immediate and prolonged antimicrobial action of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant against *Enterococcus faecalis*. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 13 (4): 257-60.
51. Ferraz C, Gomes B, Zaia A, Teixeira F, Souza-Filho F (2007). Comparative Study of the Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine Gel, Chlorhexidine Solution and Sodium Hypochlorite as Endodontic Irrigants. *Braz Dent J* 18(4):294-298.
52. Chin M, Sandham A, De Vries J, Van der Mei H, Busscher H (2007). Biofilm formation on surface characterized micro-implants for skeletal anchorage in orthodontics. *Biomaterials* 28(11): 2032-2040.

# Anexos

# Anexo 1

# Tablas

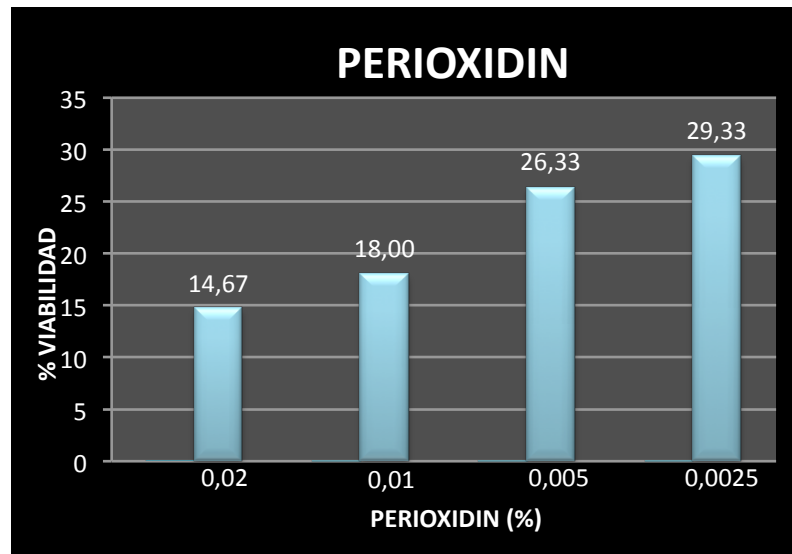
**TABLA 1-A. Efecto de Perioxidín (Digluconato de Clorhexidina 0.12%) y Estericide sobre Viabilidad Celular (Hs 68).**

<b>Efecto de Perioxidín (Digluconato de Clorhexidina 0.12%) y Estericide sobre Viabilidad Celular (Hs68)</b>					
		2 horas	dic-10		
Perioxidín (%)	No. Celulas	No. Celulas	No. Celulas	X	DS
0,02	15	11	18	14,67	3,51
0,01	11	20	23	18,00	6,24
0,005	25	25	29	26,33	2,31
0,0025	30	25	33	29,33	4,04
Estericide (%)	No. Celulas	No. Celulas	No. Celulas		
0,02	93	98	91	94,00	3,61
0,01	95	99	96	96,67	2,08
0,005	100	99	98	99,00	1,00
0,0025	99	98	100	99,00	1,00
Control	No. Celulas	No. Celulas	No. Celulas		
	100	100	100	100,00	0,00

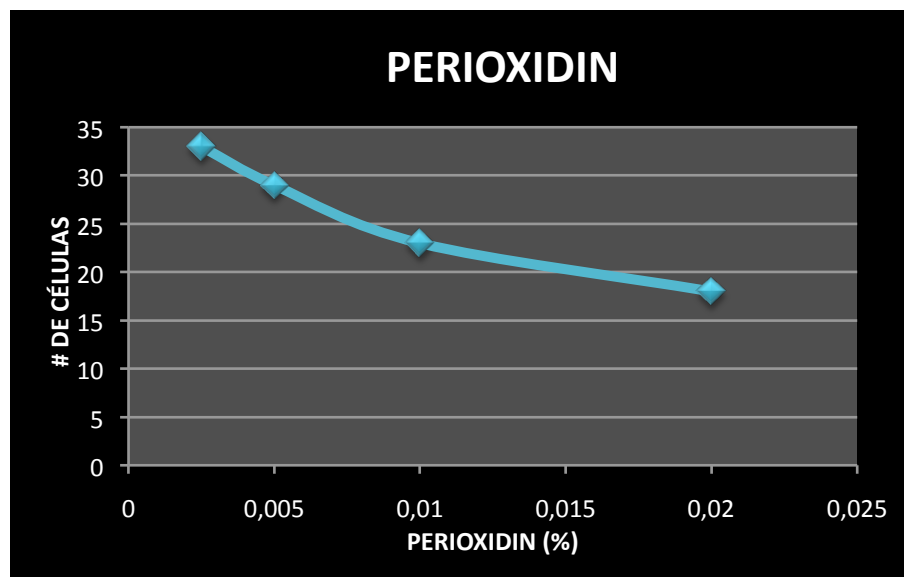


# **Anexo 2**

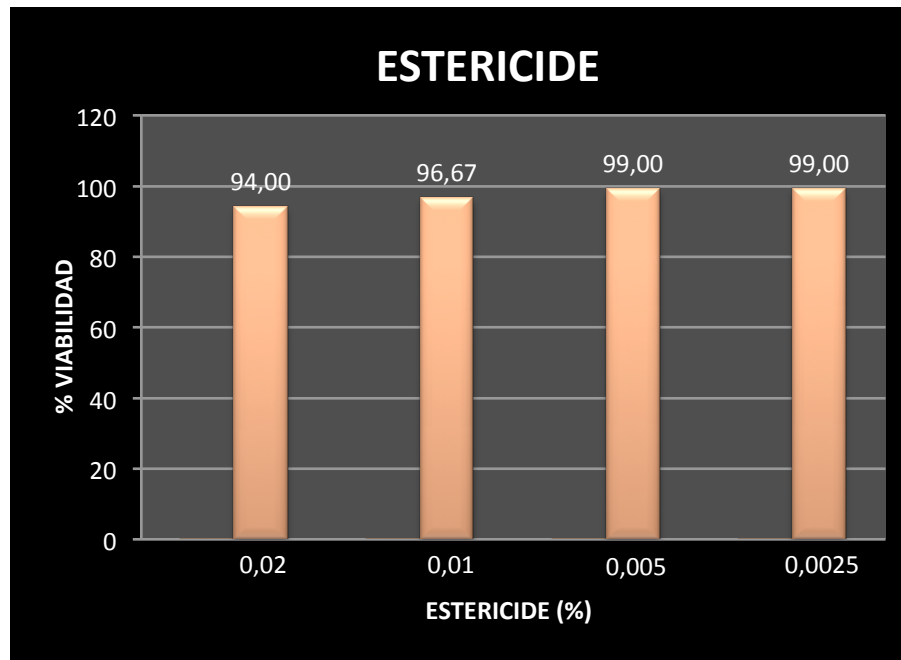
# **Figuras**



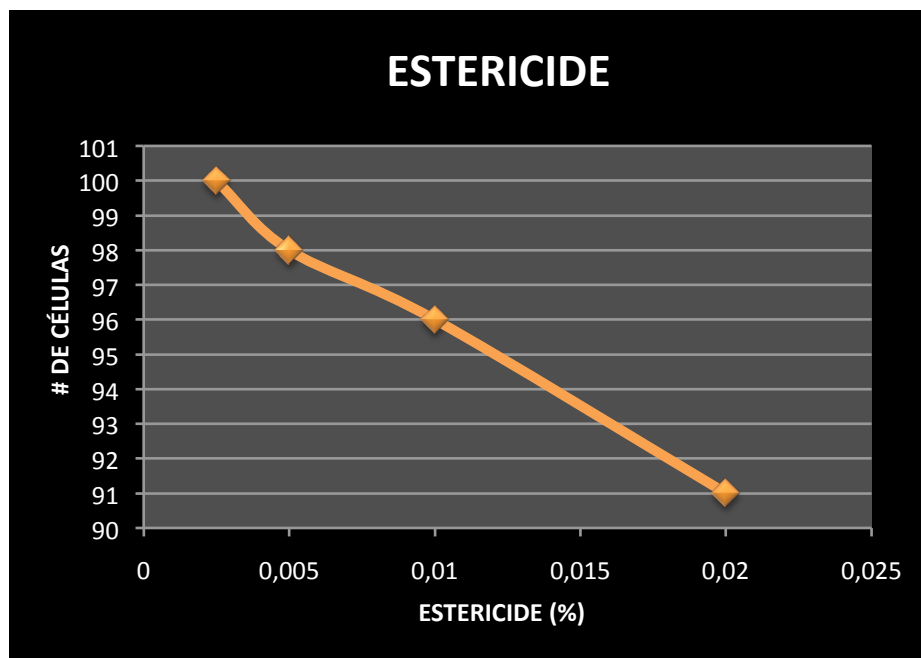
**GRÁFICA 1-A.- Prueba de Citotoxicidad para determinar Viabilidad Celular con Peroxidín medida en Fibroblastos humanos.**



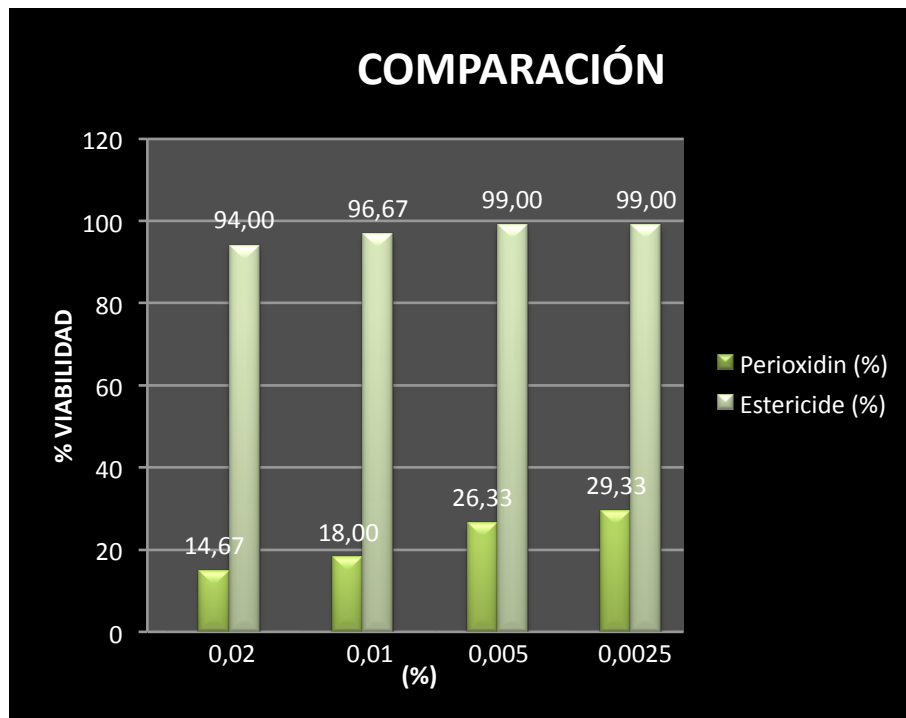
**GRÁFICA 2-A.- Prueba de Citotoxicidad para determinar Número de Células Vivas con Peroxidín medida en Fibroblastos Humanos.**



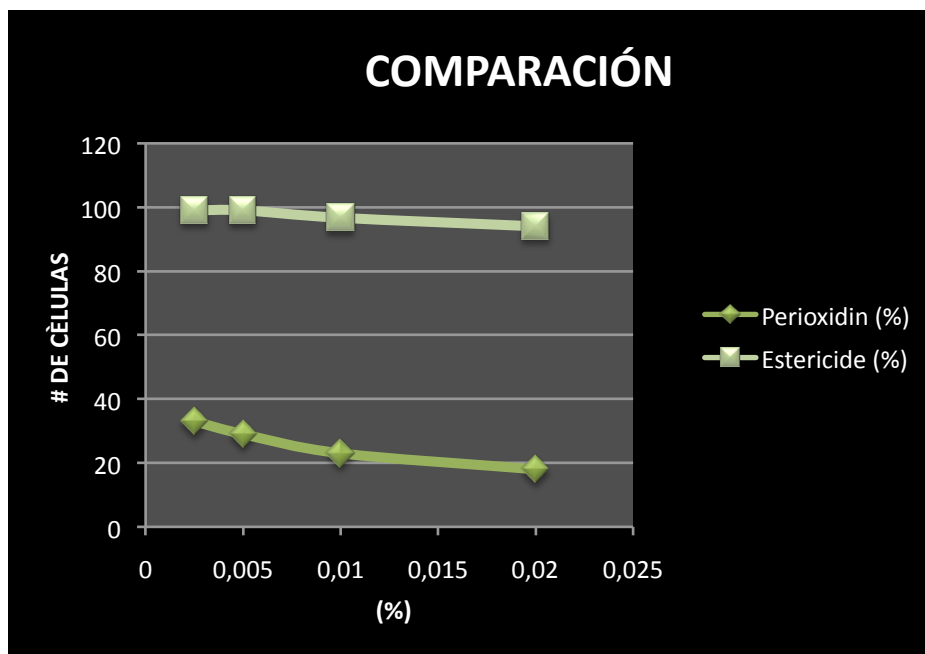
**GRÁFICA 3-A.- Prueba de Citotoxicidad para determinar Viabilidad Celular con Estericide medida en Fibroblastos Humanos.**



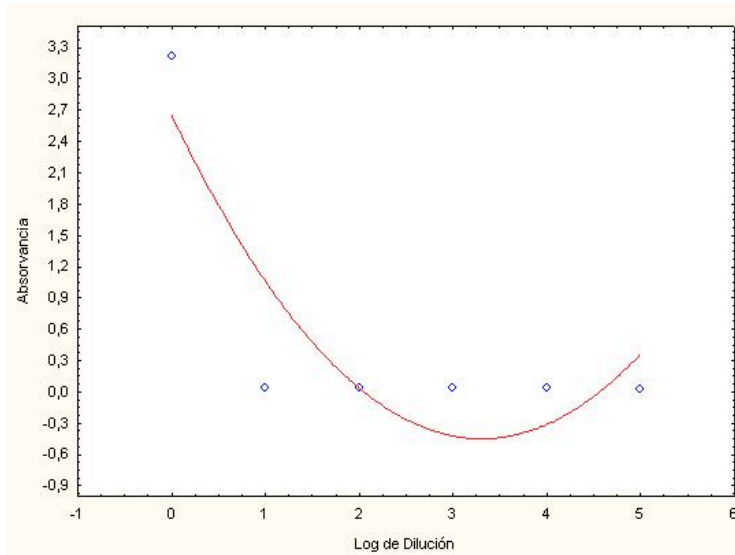
**GRÁFICA 4-A.- Prueba de Citotoxicidad para determinar Número de Células Vivas con Peroxidín medida en Fibroblastos Humanos.**



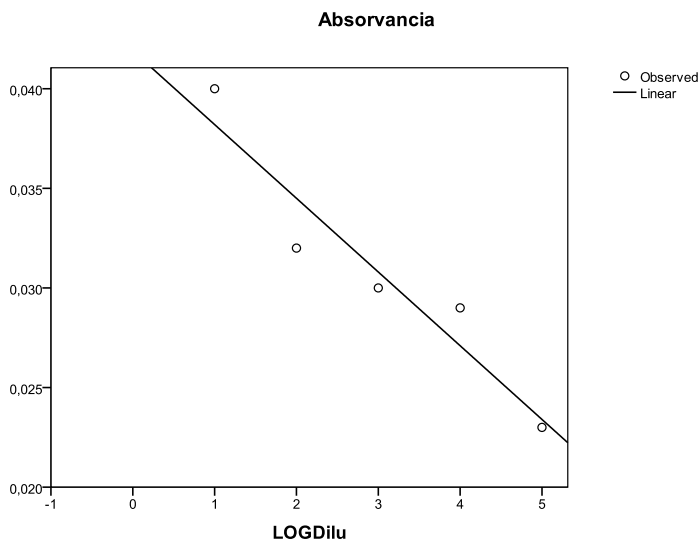
**GRÁFICA 5-A.- Comparación de Viabilidad Celular medida en Fibroblastos Humanos entre Peroxidín y Estericide.**



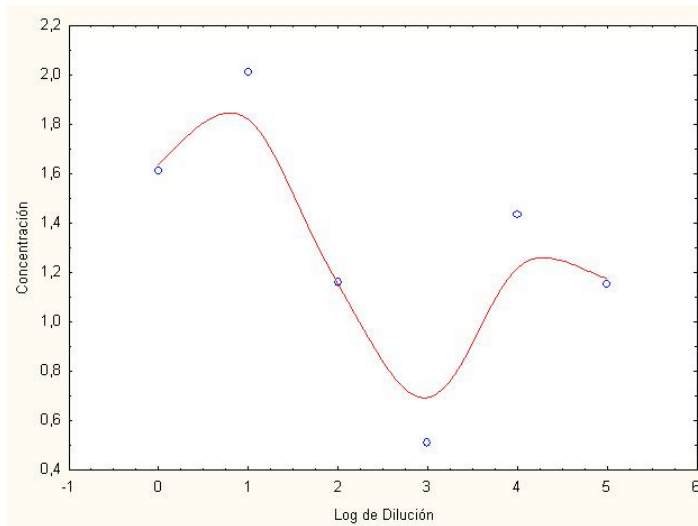
**GRÁFICA 6-A.- Comparación de Número de Células Vivas medida en Fibroblastos Humanos entre Peroxidín y Estericide.**



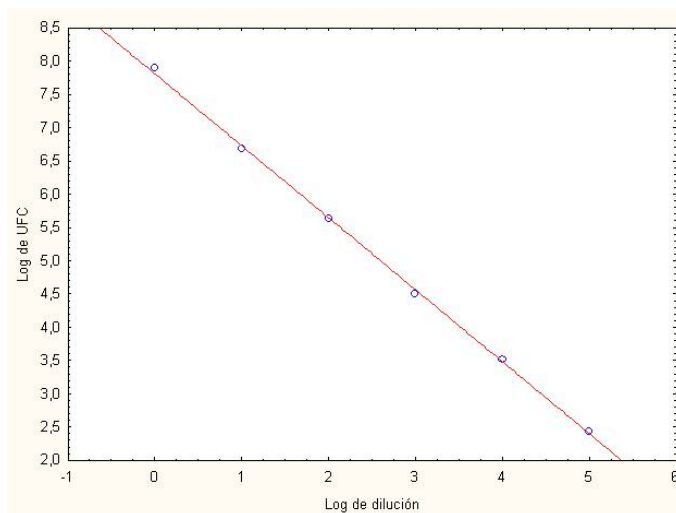
**GRÁFICA 1-B.- Resultados de Absorbancia para el Tratamiento 1 (Con el Log de la Dilución). Se incluye la dilución cero. La ecuación:  $Abs = 1.705 - 0.457(\text{LogDIL})$   $F = 3.049$   $p = 0.156$  (No significativa)**



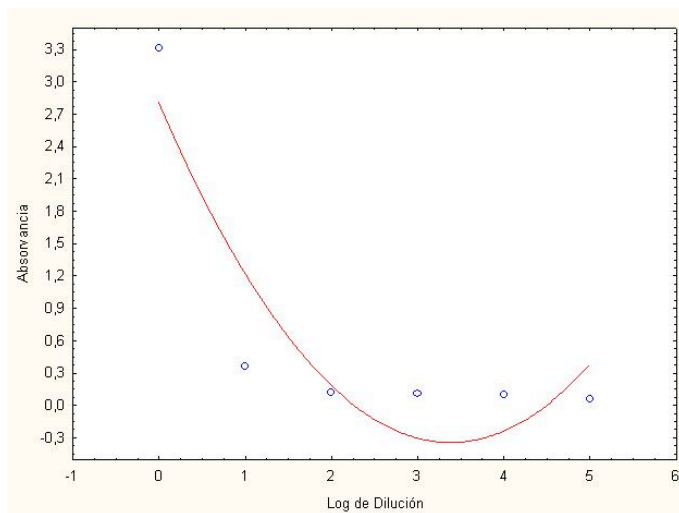
**GRÁFICA 2-B.- Resultados de Absorbancia para el Tratamiento 1 eliminando la dilución cero. La ecuación:  $Abs = 0.042 - 0.004(\text{LogDil})$   $F = 29.547$   $p = 0.012$  (Si es significativa).**



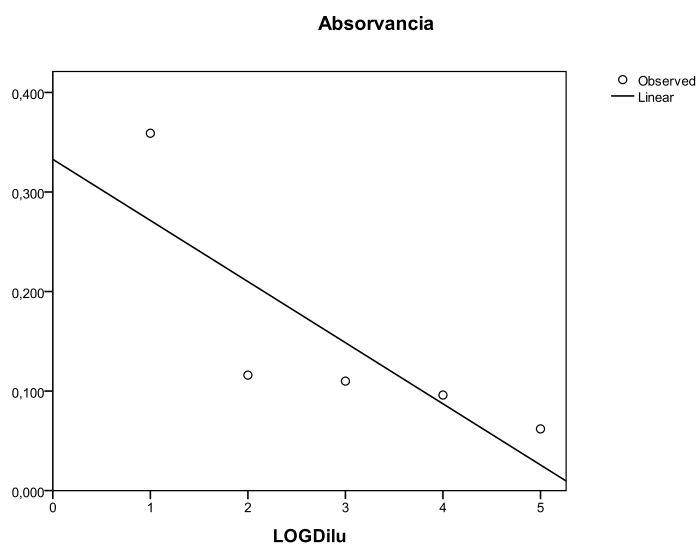
**GRÁFICA 3-B.- Resultados de Concentración Celular para el Tratamiento 1.**  
**Ecuación:  $\text{Conc} = 1.647 - 0.134(\text{LogDil})$   $F = 1.298$   $p = 0.318$  (No es significativa).**



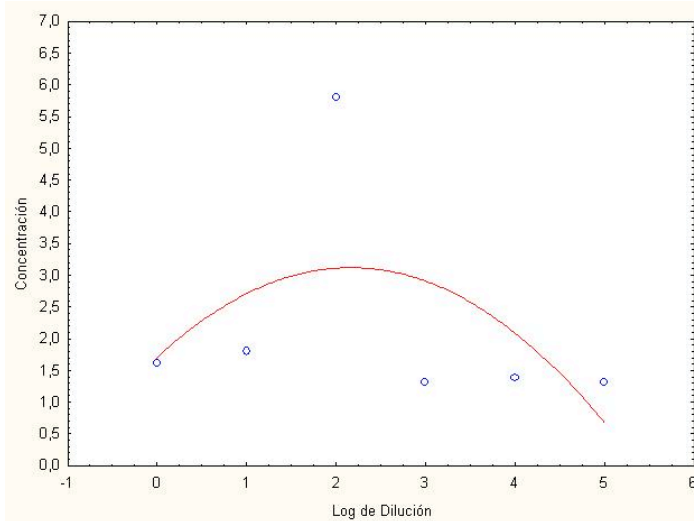
**GRÁFICA 4-B.- Resultados de Conteo de Unidad de Colonias Bacterianas para el Tratamiento 1.**  
**Ecuación:  $\text{LogUFC} = 7.810 - 1.082(\text{LogDil})$   $F = 4854.898$   $p = 0.000$  (Es altamente significativa).**



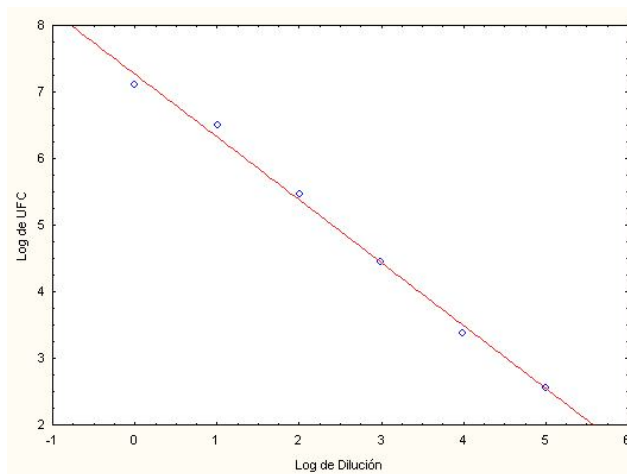
**GRÁFICA 5-B.- Resultados de Absorbancia para el Tratamiento 3 (con el Log de la Dilución). Aquí se incluye la dilución cero. Ecuación:  $Abs = 1.889 - 0.486(LogDil)$   $F = 3.913$   $p = 0.119$  (No es significativa).**



**GRÁFICA 6-B.- Resultados de Absorbancia para el Tratamiento 3 eliminando la Dilución cero. Ecuación:  $Abs = 0.333 - 0.061(LogDil)$   $F = 5.834$   $p = 0.095$  (No es significativa).**

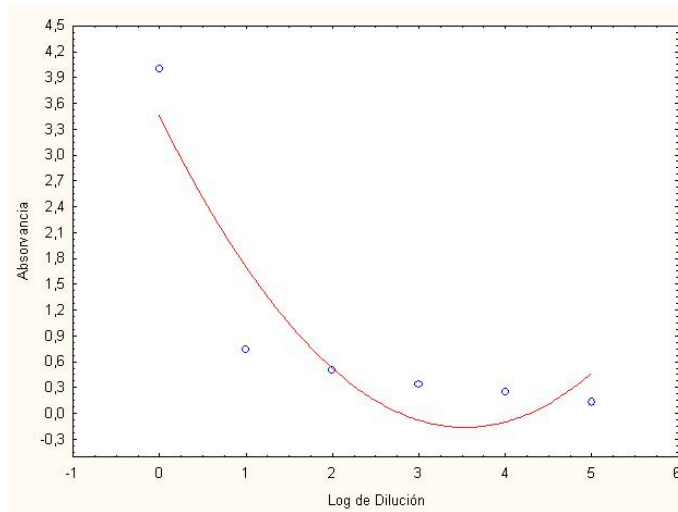


**GRÁFICA 7-B.- Resultados de Concentración para el Tratamiento 3. Ecuación:  $\text{Conc} = 2.711 - 0.206(\text{LogDil})$   $F = 0.197$   $p = 0.680$  (No es significativa)**

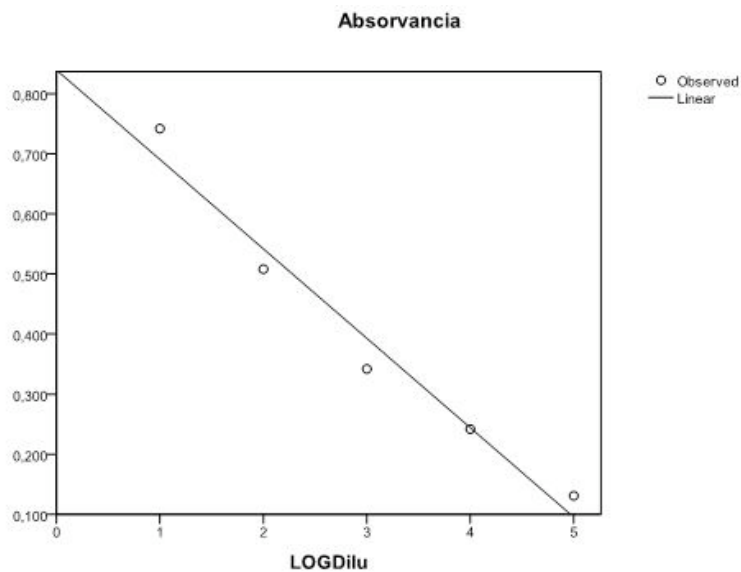


**GRÁFICA 8-B.- Resultados del Conteo de Unidad de Colonias Bacterianas para el Tratamiento 3. Ecuación:  $\text{LogUFC} = 7.268 - 0.945(\text{LogDil})$   $F = 811.446$   $p = 0.000$  (Es altamente significativa).**

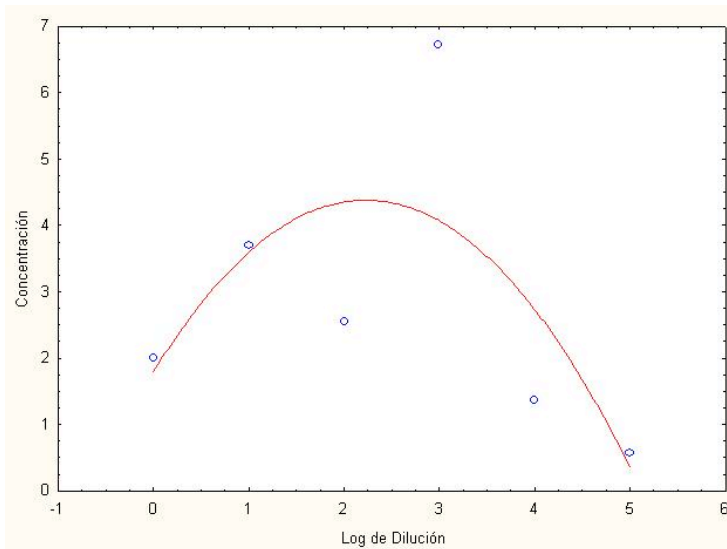




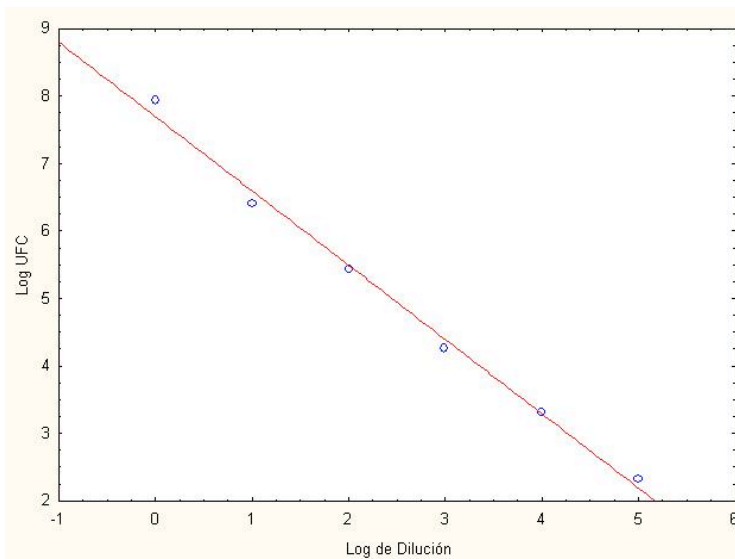
**GRÁFICA 9-B.- Resultados de Absorbancia para el Tratamiento 5 (con el Log de la Dilución). Aquí se incluye la dilución cero. Ecuación:  $Abs = 2.495 - 0.600(LogDil)$   $F = 5.295$   $p = 0.083$  (No es significativa)**



**GRÁFICA 10-B.- Resultados de Absorbancia para el Tratamiento 5 eliminando la Dilución cero. Ecuación:  $Abs = 0.839 - 0.149(LogDil)$   $F = 86.743$   $p = 0.003$  (es altamente significativa).**



**GRÁFICA 11-B.- Resultados de Concentración Celular para el Tratamiento 5.**  
Ecuación:  $\text{Conc} = 3.533 - 0.287(\text{LogDil})$   $F = 0.256$   $p = 0.639$  (No es significativa).



**GRÁFICA 12-B.- Resultados de Conteo de Unidad de Colonias Bacterianas para el Tratamiento 5.** Ecuación:  $\text{Log UFC} = 7.695 - 1.101(\text{LogDil})$   $F = 626.035$   $p = 0.000$  (es altamente significativa).

