

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**



**EVALUACIÓN ANTIMICROBIANA DEL AGUA OZONIZADA EN SALIVA.**

Por

**ANGEL TORRES MUÑOZ**

**Como requisito parcial para obtener el Grado de MAESTRIA EN CIENCIAS  
ODONTOLÓGICAS CON ESPECIALIDAD EN PERIODONCIA**

Diciembre, 2012

Los miembros del jurado aceptamos y aprobamos el documento EVALUACIÓN ANTIMICROBIANA DEL AGUA OZONIZADA EN SALIVA, realizado por C.D. ANGEL TORRES MUÑOZ como tesis para obtener el grado de MAESTRIA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS CON ESPECIALIDAD EN PERIODONCIA.

**Comité de Tesis**

---

Presidente

---

Secretario

---

Vocal

EVALUACIÓN ANTIMICROBIANA DEL AGUA OZONIZADA EN  
SALIVA.

C.D., Posgraduado en Ortodoncia MC Hilda H. H. Torre Martínez PhD.  
Director de Tesis.

ASESORES

MEP. María de los Angeles Andrea Carvajal Monte de Oca.  
Asesor en Periodoncia

C.D. Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis.  
Asesor en Microbiología

MSP. Gustavo Israel Martínez González.  
Asesor Estadístico.

COLABORADORES.

Q.B.P. Vilma Rosa Suarez Martínez.

## **AGRADECIMIENTOS**

Expreso mi más sincero agradecimiento a la Dr. en C. Hilda Torre Martínez, director de la tesis, por su valiosa colaboración; al igual que a mis asesores MEP. María de los Angeles Andrea Carvajal Monte de Oca, C.D. Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis, MSP. Gustavo Israel Martínez González y Q.B.P. Vilma Rosa Suarez Martínez por sus valiosas sugerencia e interés.

Al los siguientes departamentos de la Fac. de Odontología de la UANL:

- Biología Molecular.
- Microbiología Bucal.
- Periodoncia pregrado.
- Periodoncia posgrado.

A mi familia, amigos y compañeros por el apoyo que directa o indirectamente me brindaron.

---

**CD., Especialidad en Periodoncia., ME. Gloria Martínez Sandoval**  
**Coordinador del Posgrado de Periodoncia**

---

**CD., MEO. Sergio Eduardo Nakagoshi Cepeda**  
**Subdirector de Estudios de Posgrado**

## RESUMEN

**Tesista:** Angel Torres Muñoz.

**Facultad:** Odontología, UANL    **Posgrado:** Periodoncia.

**Fecha de graduación:** Diciembre 2012

**Candidato a:** Maestría en Ciencias Odontológicas con Especialidad en Periodoncia.

**Título:** Evaluación antimicrobiana del agua ozonizada en saliva.

**Área:** Periodoncia.

**Número de páginas:** 51.

**Propósito:** Comparar el efecto antimicrobiano en carga bacteriana en saliva de los enjuagues con agua ozonizada, clorhexidina al 0.12% y solución salina de cloruro de sodio al 0.9%.

**Métodos:** Se evaluó la capacidad que tiene el agua ozonizada para disminuir la carga bacteriana en saliva y se comparó con la clorhexidina al 0.12% como control positivo y solución salina al 0.9% como control negativo. Se estudiaron 31 sujetos de entre 19 y 20 años, estudiantes de la facultad de odontología de la UANL. Se tomaron muestras de saliva antes y después de los enjuagues, las cuales se procesaron mediante la siembra a estría cerrada realizando diluciones, posteriormente se realizó conteo de unidades formadoras de colonias a las 48 hrs.

Se utilizaron pruebas pareadas para variables cuantitativas con un 95% de confiabilidad.

Estudio: Comparativo, abierto, experimental, prospectivo, longitudinal.

**Resultado:** Se observó que los tres enjuagues lograban reducir la carga bacteriana en saliva, la clorhexidina en un 96.14%, solución salina en un 52.24% y agua ozonizada en un 25.78%.

**Conclusión:** El enjuague de clohexidina al 0.12% inmediatamente después de realizado, siguiendo las instrucciones del fabricante, logran disminuir la carga bacteriana en saliva en un 95%.

El agua ozonizada producida con un ozonificador con una capacidad de 300 mgO<sub>3</sub>/h y agua potable con un tiempo de producción de aproximadamente 8 minutos, logran disminuir la carga bacteriana en saliva en un 25%. Lo cual no es comparable con la clohexidina al 0.12%.

**Director de tesis:**

CD, Posgraduado en Ortodoncia MC Hilda H. H. Torre Martínez PhD. \_\_\_\_\_

## ABSTRACT

**Aim:** To compare the antimicrobial effect of 3 mouth-wash formulation (ozonized water, chlorhexidine 0.12%, sterile saline) on salivary bacterial counts after single rinse.

**Methods:** 31 healthy students of dentistry school of UANL, provided salivary samples immediately before and after rinsing. The samples were immediately processed for total anaerobic bacterial counts recorded after 48 h incubation.

**Results:** the 3 mouth-wash formulation produced reductions in salivary bacterial counts, chlorhexidine showed reductions of 96.14%, sterile saline of 52.24% and ozonized water of 25.78%.

**Conclusions:** Chlorhexidine 0.12% rinsed according to the respective manufacturers instructions produced reduction of 96.14% in salivary bacterial counts, which is significantly greater than ozonized water produced by 300 mgO<sub>3</sub>/h ozone machine generator.

## TABLA DE CONTENIDO.

Sección	página
1. Agradecimientos .....	iii
2. Resumen .....	iv
3. Abstract .....	v
4. Introducción .....	1
5. Hipótesis .....	5
6. Objetivos .....	7
7. Antecedentes	
7.1 Antisépticos en odontología. ....	10
7.2 Generalidades del ozono. ....	13
7.3 Ozono en odontología .....	16
8. Métodos	
8.1 Tamaño de la muestra. ....	21
8.2 Criterios de selección. ....	23
8.3 Definición de variables. ....	24
8.4 Descripción del procedimiento. ....	25
9. Resultados .....	28

10. Discusión	.....	32
11. Conclusiones y recomendaciones	.....	37
12. Apéndices		
Hojas de registro.	.....	40
Consentimiento informado.	.....	42
Descripción estadística.	.....	43
Figuras.	.....	46
13. Literatura citada	.....	48

# **INTRODUCCIÓN**

En la actualidad los antisépticos en odontología se han utilizado como desinfectante de heridas, para el control de placa bacteriana post-quirúrgico y como parte de la fase del mantenimiento periodontal, para prevenir septicemia haciendo un enjuague pre-operatorio, además de medida para disminuir la propagación de microorganismos presentes en el aerosol generado por instrumentos rotatorios, sónicos y ultrasónicos. Se ha recomendado la aplicación directa de los antisépticos en heridas y en algunos procedimientos periodontales, sin embargo hay estudios que indican efectos adversos.

Actualmente en el mercado se encuentran una gran variedad de antisépticos bucales para aplicación en enjuague, dentro de los cuales sobresalen aquellos derivados de compuestos fenólicos, del amoniocuaternario, extractos de hierbas, del Bis-biguanide, compuestos alógenos, aceites esenciales o bien agentes oxidativos.

En este caso se trabajó con enjugues derivados del Bis-biguanide, como lo es la Clorhexidina al 0.12% y soluciones oxidativas, al que pertenece al agua ozonizada; todo con el objeto de resolver el cuestionamiento de este estudio ¿El agua ozonizada y la clorhexidina disminuyen la carga bacteriana en saliva en sujetos de 19 y 20 años que estudien en la Fac. de Odontología de la UANL?

Desde finales de 1800 se han utilizado los enjugues bucales con ciertos antisépticos para prevenir o aminorar la formación de placa dento-bacteriana; se han realizado numerosos estudios que avalan su efectividad como única forma de higiene o bien junto con el cepillado dental, con un tiempo de duración de los estudios desde un par de semanas hasta los 6 meses; sin embargo este tipo de enjugues bucales también tiene sus desventajas, algunos de ellos causan ardor o irritación en la mucosa bucal durante los primeros días de uso, o bien alguno como los de hierbas medicinales encontramos resultados clínicos controvertidos.

Otros enjugues como la clorhexidina, que hasta ahora es uno de los que mayor efectividad clínica y microbiológica que encontramos en el mercado, también presenta efectos secundarios tales como la pigmentación marrón de dientes, lengua y

restauraciones dentales, además de crear resistencia bacteriana con el uso prolongado, de ahí que esté contraindicado como enjuague de uso diario.

Los antisépticos en enjuague se han utilizado para bajar la carga bacteriana como medida preventiva contra la septicemia, o bien para evitar la difusión de microorganismos dentro del aerosol generado durante la utilización de instrumentos rotatorios accionados por aire a presión, o los generados durante la utilización de instrumentos sónicos, ultrasónicos.

Últimamente se han realizado estudios de biocompatibilidad de diferentes enjuagues pues su uso se extiende como antiséptico antes, durante y posterior a procedimientos quirúrgicos, donde los enjuagues a base de Iodo, Cloro y clorhexidina han sido los que han tomado el foco de atención, observando cierto retardo o inhibición en el crecimiento de fibroblastos, lo que da como resultado el retardo en los procesos de cicatrización o inclusive puede modificar el resultado de los procedimientos quirúrgicos.

Los enjuagues ozonizados tienen la ventaja de ser insípidos y de no causar irritación al contacto con la mucosa bucal, además su alta capacidad oxidativa del ozono lo hace un producto efectivo contra, bacteria, virus y hongos; con una seguridad mayor a otros productos comerciales pues no causan pigmentación en dientes, lengua y restauraciones, y no hay posibilidad de desarrollar cepas bacterianas resistentes aun y con el uso diario.

Además el uso de agua ozonizada no solo se limita aplicación como antiséptico bucal, pues se puede utilizar como agente hemostático y cicatrizal, ya que provee el oxígeno necesario para que células como los fibroblastos tengan un medio óptimo para su crecimiento. Lo que da la opción de utilizarlo como antiséptico bucal antes del procedimiento quirúrgico ó durante el procedimiento como irrigador dentro de los tejidos y después de este para prevenir formación de placa, además de favorecer el proceso de cicatrización.

El objetivo del presente estudio fue comparar el efecto antimicrobiano entre el agua ozonizada y clorhexidina al 0.12% en saliva de alumnos de entre 19 y 20 años de la Facultad de Odontología de la UANL.

De acuerdo a los resultados obtenidos se redacta lo siguiente:

Se acepta la hipótesis que sostiene: El agua ozonizada y la clorhexidina utilizados como enjuague, en alumnos de 19 y 20 años de la Facultad de Odontología de la UANL, disminuye la carga bacteriana en saliva.

Se rechaza la hipótesis que dice: El empleo del agua ozonizada como enjuague bucal disminuye de la carga bacteriana presente en saliva con resultados igual a la clorhexidina.

El diseño del estudio se clasifica como comparativo, abierto, experimental, prospectivo y longitudinal.

# **HIPÓTESIS**

El agua ozonizada y la clorhexidina utilizados como enjuague, en alumnos de 19 y 20 años de la Facultad de Odontología de la UANL, disminuye la carga bacteriana en saliva.

El empleo del agua ozonizada como enjuague bucal permite la disminución de la carga bacteriana presente en saliva con resultados igual a la clorhexidina.

## **OBJETIVOS**

El objetivo general:

Comparar el efecto antimicrobiano entre el agua ozonizada y clorhexidina al 0.12% en saliva de alumnos de entre 19 y 20 años de la Facultad de Odontología de la UANL.

Objetivos específicos:

Determinar la cantidad de microorganismos presentes en saliva antes de los procedimientos.

Evaluar la cantidad de microorganismos en saliva después de utilizar enjuagues con agua ozonizada, producida con un ozonificador de una capacidad de 300 mgO<sub>3</sub>/h y agua potable.

Medir la cantidad de microorganismos en saliva después de utilizar enjuagues con clorhexidina al 0.12%.

Valorar la cantidad de microorganismos en saliva después de utilizar enjuagues con solución inyectable estéril de cloruro de sodio 0.9%.

Relacionar los objetivos anteriores entre sí.

# **ANTECEDENTES**

Desde aproximadamente el año 3000 a. de C. los sumerios ya contaban con aditamentos para la higiene bucal, en aquella época ellos ya utilizaban el palillo de dientes y se puede decir que es este el utensilio para higiene bucal más antiguo. (MANDEL, 1988)

Sin embargo los enjuagues bucales también datan de tiempo atrás, se ha encontrado que por los años 2700 a. de C. en la cultura China se utilizaban enjuagues bucales medicinales a base de orina de niño para tratar la enfermedad en la encía; esta práctica se hizo muy popular inclusive en países de Europa y se mantuvo vigente hasta inicios del siglo XVII (MANDEL, 1988; FISCHMAN 1997).

Durante el periodo Romano la clase social alta seguía las recomendaciones de Plinio para la higiene bucal, el cual consistía en realizar limpieza mecánica de los dientes y enjuagues bucales de agua con sal, el recomendaba realizar 1, 2, 3 o 7 enjuagues pero sin tener un fundamento científico. Hipócrates recomendaba realizar una mezcla de sal, alumbre y vinagre. Otro antiguo enjuague consistía en mezclar miel, aceite y cerveza con pepinillo, semilla de anís y vino blanco puro.

Fue hasta 1530 cuando se realiza la primera publicación sobre enjuagues bucales, para el cuidado de los dientes el cual consistía en una mezcla de alumbre quemado con vinagre o mirra, todo hervido en vino para ser utilizado después de cada comida (MANDEL. 1988, FISCHMAN 1997).

A mediados del siglo XIX Joseph Lister comenzó a utilizar quimioterapéuticos, ácido carbónico, para prevenir la sepsis quirúrgica logrando bajar el índice de defunciones relacionada con procedimientos quirúrgicos del 50% al 15%. A finales del siglo XIX W.D. Miller se dedicó a estudiar el uso de antisépticos como tratamiento profiláctico en caries, fue él quien describió la dificultad de poder realizar un enjuague efectivo, pues decía que hay lugares en los dientes que permanecen sin hacer contacto con los antisépticos o si estos llegan a hacerlo, el antiséptico estaría a un tiempo y en una concentración mínima como para poder hacer un efecto significativo (MANDEL, 1988).

Por los años 50's los enjuagues bucales se enfocarían principalmente en prevenir la formación de caries dental. En los años 60's se le agregarían agentes anti sarro tales como el etidronato disódico, el cual se observó que reducía la formación de cálculo, pero no era efectivo en prevenir el desarrollo de la gingivitis. Durante los años 60's

diferentes trabajos enfatizaron el roll de la placa bacteriana en el desarrollo de gingivitis y la enfermedad periodontal, los enjuagues se enfocaron en evitar su formación pero utilizándolos después de cepillado manual (MANDEL, 1988).

En un inicio se utilizaron enjuagues bucales diarios a base de ciertos antibióticos como la vancomicina, tetraciclina y polimixina B, teniendo efectividad clínica durante los primeros días pero a la 3° semana demostraban tener el mismo efecto que el enjuague placebo (AINAMO, 1977) pronto la utilización de antibióticos en enjugues o en uso tópico cayó en desuso, por lo controvertido de los resultados en diferentes estudios y por los efectos secundarios, tales como crear cepas resistentes o bien problemas de hipersensibilidad a los antibióticos. Actualmente el uso de antibióticos tópicos se remite a aquellos que son muy tóxicos como para ser administrados sistémicamente, como la bacitracina, polimixina B y neomicina; o en aquellos antibióticos que son muy poco probables que desarrollen resistencia bacteriana, como lo es el caso del metronidazol (SLOTS, 2002).

Anteriormente el Dr. Miller había realizado varios trabajos utilizando antisépticos para el control de placa, dichos trabajos sentaron la base para el desarrollo de nuevos enjuagues bucales.

Un agente antiséptico es aquel que aplicado en tejidos vivos es capaz de prevenir o detener el crecimiento y acción de los microorganismos. Los antisépticos son considerados antimicrobianos con un espectro mayor que el de los antibióticos, ya que tienen múltiples receptores celulares, lo que reduce la posibilidad de crear resistencia bacteriana. Sin embargo los antisépticos son potencialmente tóxicos tanto para agentes infecciosos como para las células del huésped, es por ello que los antisépticos son de uso externo, se aplican en heridas infectadas, piel y mucosas (SLOTS, 2002).

Han sido varios los antisépticos que se han utilizado como substancia activa en los enjuagues bucales, dentro de los cuales se enumeran los siguientes:

1. Los derivados de los compuestos fenólicos en donde encontramos la mayoría de los enjuagues comerciales y donde el Triclosan es actualmente una de las substancias activas más prometedoras en el control de placa bacteriana.
2. Los derivados de amoniocuaternario.
3. Los extractos de hierbas donde la que mayormente se ha utilizado para el control de placa bacteriana es la Sanguinarine, son varios los estudios que avalan su efectividad sin embargo la utilización de esta hierba sigue siendo punto de controversia.
4. Los derivados del Bis-biguanides en donde se encuentra la clorhexidina, la cual se puede decir es el “Gold standar”.
5. Los compuestos alógenos en donde se encuentran todos los enjuagues a base de Iodo, Flúor y Cloro.
6. Los aceites esenciales.
7. Los enjuagues a base de agentes oxidativos como el peróxido y el ozono (MANDEL, 1988; FINE, 1995).

En la actualidad los antisépticos en odontología se han utilizado como desinfectante de heridas, para el control de placa bacteriana post-quirúrgico y como parte de la fase del mantenimiento periodontal, para prevenir septicemia haciendo un enjuague pre-operatorio, además como una medida para disminuir la propagación de microorganismos presentes en el aerosol generado por instrumentos rotatorios, sónicos y ultrasónicos (RAHN Y COLS, 1995; HARREL Y COLS, 1998). Se ha recomendado la aplicación directa de los antisépticos en heridas y en algunos procedimientos periodontales, sin embargo hay estudios que indican efectos adversos (ALLEYN Y COLS, 1991; CLINE Y COLS, 1992; MARIOTTI Y COLS, 1999; FLEMINGSON Y COLS. 2008).

Una de las formas de evaluar la afectividad de los antisépticos utilizados en odontología en forma de enjuague, es por medio del conteo de la carga bacteriana en saliva. Este método se propuso en la década de los 70's para conocer y evaluar la capacidad antimicrobiana de la clorhexidina; para esto se requería de la toma de muestras de saliva antes y después del enjuague, seguido del procesamiento de las muestras por medio de diluciones seriadas para proceder a realizar la siembra en un medio anaeróbico en cajas petri con agar sangre y continuar con la incubación, para después de cierto periodo de tiempo realizar el conteo de unidades formadoras de colonias (ADDY & WRIGHT 1978).

A partir de este y otros métodos microbiológicos es que se pudieron conocer las propiedades de las clorhexidina al 0.12% en enjuague; ya que muestra reducir en más del 90% la carga bacteriana en saliva, además de mantener los niveles de supresión bacteriana hasta por 7 horas, dada la capacidad que tiene de mantenerse activo en las superficies intrabucales, de ahí que sea considerado como el “gold standar” (ADDY & WRIGHT 1978, ROBERTS & ADDY 1981, ADDY Y COLS 1991, MORAN Y COLS 1995, YATES Y COLS. 1997).

### **Generalidades del Ozono.**

El ozono comúnmente se le relaciona con un gas el cual se encuentra en la estratosfera y que se encarga de bloquear la excesiva radiación ultravioleta, también se le vincula con ciudades altamente contaminadas en donde la concentración de este puede llegar a causar daños en organismos vivos (MILLAR Y COLS, 2007; BOCCI 2007).

El ozono químicamente es una molécula compuesta por 3 átomos de Oxígeno el cual está constantemente formándose y destruyéndose a partir de moléculas de O<sub>2</sub>.

Christia Friedrich Schondem fue quien descubrió el ozono lo creo por primera vez en el laboratorio en 1939; sin embargo el Dr. Frish fue el primer dentista en usar el ozono en su práctica privada, y en 1950 lo utilizó para tratar a Ernst Payr, médico cirujano austriaco, quien inspirado en su caso inició trabajos de investigación sobre el ozono como medida alternativa en tratamiento médico (AZARPAZHOOH Y COLS, 2008).

El ozono fue utilizado con efectividad durante la primera guerra mundial en heridas infectadas, quemaduras por gas mostaza y gangrena post-traumática en soldados alemanes (AZARPAZHOOH Y COLS, 2008).

Gracias a las propiedades oxidativas, desinfectantes y bactericidas del ozono, se ha observado que inactiva bacterias y hongos en menor tiempo que el cloro. Durante la purificación de agua destruye virus y agentes carcinogénicos, lo que durante los procesos de purificación convencional no se logra. También se utiliza como desodorizante por su capacidad de destruir sustancias que creen mal olor. Desde inicios del siglo XX es utilizado como parte del procedimiento de potabilización de agua en ciudades como París (NAGAYOSHI Y COLS, 2004). Por su alto poder oxidativo el ozono es aplicado como blanqueador en la industria textil y de la celulosa, además de participar en la industria de los alimentos en la conserva de estos.

En el área médica hay varias alternativas de su uso, entre ellos están los siguientes:

1. Como antiséptico al utilizarse en concentraciones altas, en diferentes presentaciones.
2. Como anti-inflamatorio al oxidar los compuestos del Ac. Araquidónico y sus derivados.
3. Como analgésico al actuar en las terminales nerviosas de las fibras dañadas oxidando los productos de la albuminólisis, lo que determina la intensidad del dolor.
4. Como efecto desintoxicante en la aplicación parenteral.
5. Participa en los procesos dependientes de oxígeno.
6. Como agente hemostático a altas dosis en aplicación externa y en aplicación parenteral a dosis bajas favoreciendo la circulación e incrementando la capacidad fibrinolítica.
7. Actúa en la modulación inmunológica (MASLENNIKOV Y COLS, 2008).

La terapia con ozono, u ozonoterapia, tiene diferentes formas de aplicación dependiendo de la concentración del producto y del tiempo de tratamiento a realizar, enseguida se describirán brevemente las vías de administración.

Aplicación externa.

Se utiliza como antiséptico en solución salina, en ungüentos de aceite ozonizado, en bolsas plásticas airadas con ozono a baja presión o bien en balneoterapia.

Aplicación interna.

Autohemoterapia ozonizada mayor o menor.

Inyección subcutánea o intramuscular para-vertebrales con ozono en gas o solución fisiológica.

Infusiones intravenosas con solución fisiológica ozonizada.

Tratamiento entéricos, con agua destilada ozonizada para beber, irrigación directa intestinal durante procedimiento quirúrgicos o en insuflaciones rectales con una mezcla de oxígeno y ozono (MASLENNIKOV Y COLS, 2008).

La ozonoterapia para uso odontológico se puede aplicar en diferentes formas, en agua y o suero fisiológico ozonizado como enjuague bucal, irrigación subgingival o durante procedimientos quirúrgicos y en irrigación intraconductos. En aceite ozonizado para aplicación tópica directo en la mucosa en procesos irritativos o en heridas post-quirúrgicas. En forma de gas en cavidades cariosas o para blanqueamiento dental (AZARPAZHOOH Y COLS, 2008; LYNCH 2009).

La terapia con ozono se ha utilizado con éxito desde la primera guerra mundial, donde era una de las opciones para tratar quemaduras y heridas infectadas en los soldados alemanes. Actualmente se conoce la eficacia de esta terapia en diferentes padecimientos tales como: osteomielitis crónica, enfisema pleural, úlceras crónicas, gangrena inicial, pie diabético, en infecciones en la piel, boca, vagina además para el tratamiento de quemaduras; sin embargo hay muchos más padecimientos donde la ozonoterapia ofrece resultados exitosos (BUCCI, 2007). Inclusive en estudios

comparativos, como en el del tratamiento de tinea pedis se observa que la ozonoterapia es igual de efectiva que los tratamientos convencionales con diferentes antimicóticos, con la única diferencia es que los productos ozonizados son por mucho más económicos (MENÉNDEZ Y COLS, 2002).

Con el uso excesivo de antibióticos para tratar diferentes enfermedades infecciosas se han desarrollado cepas resistentes a diferentes antibióticos, por lo que actualmente se buscan nuevas opciones para combatir dichas cepas. La ozonoterapia en aceite ozonizado se ha visto tener actividad antibacteriana en estas cepas resistentes, ya que se han realizado estudios para evaluar la efectividad del producto en diferentes cepas bacterianas como *Micobacterium* y con cepas resistentes a diferentes antibióticos de enterococos, streptococos, stafilococos, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* con resultados exitosos (SECHI Y COLS, 2001).

La ozonoterapia también se utiliza en forma tópica para acelerar la cicatrización, pues en heridas cutáneas agudas, se ha observado una rápida cicatrización ya que mantiene el área libre de infección, además de proveer del oxígeno necesario para favorecer la proliferación de fibroblastos y la producción de colágeno (KIM Y COLS, 2009) al igual que en lesiones en piel secundarias a tratamiento de radiación donde las heridas suelen ser dolorosas y de lenta cicatrización, el ozono ayuda a aliviar el dolor y también a favorecer la cicatrización (JORDAN Y COLS, 2002).

### **Ozono en Odontología.**

En odontología el ozono se ha manejado en las presentaciones en gas, agua y aceite.

La presentación de gas ozonizado ha sido aplicada en odontología restauradora para remineralizar tejido dental, su utilización en el tratamiento de lesiones cariosas ha dado un giro en el campo de la operatoria dental al poder ofrecer tratamiento menos invasivos (LONCAR Y COLS, 2009). Gracias a la capacidad oxidativa del ozono se puede lograr remineralizar lesiones incipientes de caries dental, al neutralizar los fluidos de la placa dental. (LYNCH, 2009) en lesiones cariosas abiertas en donde se ha utilizado como opción de tratamiento en pacientes pediátricos ansiosos, donde se evaluó el éxito

según la dureza del tejido, además de facilitar el manejo de los pacientes. En otros estudios se ha evaluado su efectividad por medio del monitor eléctrico de caries en donde se comprueba si efectividad (AZARPAZHOOH Y COLS, 2008; LYNCH 2009; LONCAR Y COLS, 2009).

La aplicación de ozono en forma de aceite, por medio de aceites vegetales ozonizado ha sido muy utilizado en la última década, pues estos se pueden aplicar en forma tópica en lesiones de la mucosa bucal, como la estomatitis subprotésica, además se ha comparado este producto con el Alvogil mas antibiótico oral en el tratamiento de alveolitis, en donde se observó que el aceite ozonizado era igual de eficaz en el tratamiento de este padecimiento (LONCAR Y COLS, 2009).

El agua ozonizada es uno de las formas de aplicación más populares, dada su fácil preparación, manejo y seguridad. Se utiliza como un potente antiséptico, pues se ha visto que reduce el número de microorganismos tales como la *C. albicans* al utilizarlo como desinfectante de prótesis totales (ARITA Y COLS, 2005). En endodoncia se ha utilizado en irrigación intra-conductos teniendo resultado similares al NaOCl al 2.5%, en donde se observa la efectividad del agua ozonizada contra *C. albicans* en todos los estudios, pero no la de *E. faecalis*; la diferencia de la efectividad contra *E. faecalis* radica en la concentración del ozono y el tiempo de exposición del producto.(CARDOSO Y COLS, 2008; ESTRELA Y COLS, 2007) En la utilización de agua ozonizada a concentración 4 mg/l para desinfectar conducto radiculares se ha visto ser igual de efectiva que el NaOCl al 2.5%, sin embargo la toxicidad que muestra el NaOCl hacia los fibroblastos es mucho mayor comparado con el agua ozonizada (NAGAYOSHI Y COLS, 2004).

La toxicidad que tienen los diferentes antisépticos hacia las células de huésped ha sido otro punto a considerar al momento de seleccionar la substancia a utilizar.

Hay muchos agentes químicos disponibles en el mercado en forma de enjuagues bucales con efectos antiplaca. Los más conocidos son la clorhexidina al 0.12%, la marca Listerine y Iodio-Povidona al 1%, sin embargo estos han resultado tener efectos adversos en la proliferación de fibroblastos lo que trae consecuencia con la cicatrización. En un estudio donde se hace la comparación de estos tres enjuagues se observa que los

tres tienen efectos adversos en la proliferación de fibroblastos siendo el de mayor toxicidad la clorhexidina a concentraciones comerciales (FLEMINGSON Y COLS, 2008).

Inclusive se ha reportado que la clorhexidina el 0.12% inhibe la unión de los fibroblastos hacia las raíces tratadas. Lo que nos sugiere que la utilización de la clorhexidina se debe utilizar una vez que el proceso de cicatrización se ve avanzado, y evitar su utilización en procedimientos regenerativos o como sustancia para irrigar durante el procedimiento quirúrgico, pues el hecho de utilizarlo inclusive a concentraciones mas bajas de los normal, 0.00009%, a tiempos de exposición cortos puede afectar la proliferación de los fibroblastos reduciendo significativamente la producción de proteínas colágeno y no-colágeno (ALLEY Y COLS, 1991; MARIOTTI Y COLS, 1999).

Se ha visto que el ozono en gas activa el sistema NF- $\kappa$ B el cual participa en forma decisiva en el proceso inflamatorio/inmunitario y de apoptosis; lo que en patologías como la enfermedad periodontal y periodontitis apical exacerbaría la lesión. Sin embargo el agua ozonizada a concentración de 20 $\mu$ g/ml inhibe la actividad de NF- $\kappa$ B, lo que confirma el efecto anti-inflamatorio del producto (HUTH Y COLS, 2007).

## **MATERIAL Y MÉTODO**

Universo del estudio.

Alumnos de 19 y 20 años de la facultad de odontología de la UANL.

Diseño.

Comparativo, abierto, experimental, prospectivo, longitudinal.

Pruebas de diagnóstico.

Siembra por dilución.

## Tamaño de la muestra

Determinación del tamaño de la muestra.

Para determinar la cantidad de elementos que conformaron la muestra final para el presente estudio se pretendió que reunieran todas las condiciones o características de la población, específicamente las de aquellas variables mencionadas en el instrumento de recolección de datos, se requirió que la muestra fuera determinada de tal manera que fuera lo más pequeña posible sin sacrificar exactitud ni precisión, aplicando la variable del crecimiento bacteriano en los pacientes con referencia a los productos de higiene bucal.

Considerando que la variable a evaluar fue el crecimiento bacteriano en unidades formadoras de colonias (UFC) se consideró una determinación del tamaño del tipo cuantitativo, posterior a ello se aplicó la siguiente fórmula:

$$n = \frac{z^2 \alpha^2}{e^2}$$

Donde:

$n$  = número buscado de elementos de la muestra.

$z$  = nivel de confiabilidad.

$\alpha$  = desviación estándar.

Para el presente proyecto se han determinado los siguientes valores que fueron aplicados para determinar el tamaño de la muestra.

Ecuación.

$1-\alpha= 95\%$  nivel de confiabilidad.

$z = 1.96$

$\alpha = 0.24$

$e = 0.08$

$$n = \frac{(1.96)^2 (0.24)^2}{(0.085)^2} \quad n = 30.62 \approx 31 \text{ sujetos}$$

Elección de la muestra.

La población se eligió bajo un método probabilístico, que cumplió con la aleatoriedad y sistematicidad planeada para el presente estudio, fueron elegidos con base al listado de alumnos de cada uno de los grupos; se siguió la siguiente fórmula para pruebas pareadas para variables cuantitativas.

$$t = \frac{(\bar{y}_B - \bar{y}_A) - (\mu_B - \mu_A)}{s \sqrt{1/n_A + 1/n_B}}$$

Con 95% de confiabilidad.

Forma de asignación de los casos a los grupos de estudio.

Secuencial.

Características del grupo control.

1. Se realizaron enjuagues con solución inyectable de cloruro de sodio al 0.9%, durante 1 min.
2. Se realizaron enjuagues con clorhexidina al 0.12% durante 30seg.

Característica del grupo experimental.

1. Se realizaron enjuagues con agua ozonizada, durante 1min.

## **Criterios de selección**

### Criterios de inclusión.

1. Sujetos de 19 y 20 años.
2. Estudiantes de la Facultad de Odontología de la UANL.
3. Con mínimo 28 dientes presentes.
4. Ambos género.

### Criterios de exclusión.

1. Pacientes que estuvieran bajo tratamiento médico con antibióticos.
2. Que resultaron alérgicos a la formula de los enjuagues.
3. Que presentaron restauraciones fijas como puentes y coronas totales, o removibles.
4. Que tuvieron aparatos de ortodoncia.

### Criterios de eliminación.

1. Aquellos que iniciaron algún tratamiento odontológico durante el periodo de la toma de las muestras.
2. Aquellos que iniciaron con tratamiento de antibióticos durante el periodo de la toma de las muestras.
3. Aquellos que presentaron efectos secundarios indeseados durante el estudio.
4. Que no siguieron con el protocolo establecido.
5. Aquellos que no cumplieron con el total de las muestras.

### Definición de variables.

Independientes	Dependientes
Enjuague con gluconato de clorhexidina al 0.12%, PerioGard®	Carga Bacteriana.
Enjuague solución inyectable de Cloruro de sodio al 0.9%, PiSA®	
Enjuague agua ozonizada.	

Glucanato de clorhexidina al 0.12%, PerioGard®

- Enjuagues con 15ml de solución por 30 segundos.

Solución inyectable de Cloruro de sodio al 0.9%, PiSA®.

- Enjuagues con 15ml de solución por 1 minuto.

Agua ozonizada.

- Enjuagues con 15ml de solución por 1 minuto.

## Descripción del procedimiento

1. Se revisaron los sujetos de estudio.
2. Se explicaron los objetivos, duración, posibles riesgos del estudio y se pidió la firma del documento *consentimiento informado*.
3. Los sujetos se asignaron en forma secuencial a los grupos.
4. Se les pidió suspendieran el cepillado dental desde una noche antes y se continuó hasta terminadas las tomas de muestras.
5. El procedimiento se inició a las 8:00 am.
  - a. Las muestras se tomaron recolectando aproximadamente 1.5 ml de saliva sin estimular en tubos eppendorf estériles de 1.5ml, los cuales se llevaron inmediatamente a procesar al laboratorio.
6. Los enjuagues se realizaron con 15 ml de solución y de un 1 minuto de duración, con excepción del enjuague con clorhexidina al 0.12% el cual se dio por 30 segundos (indicaciones del fabricante).
  - a. Solución salina de cloruro de sodio al 0.9%
  - b. Clorhexidina al 0.12%
  - c. Agua ozonizada
    - Preparación de agua ozonizada.
      1. Se utilizó un ozonificador con capacidad de producción de 300 mgO<sub>3</sub>/h.
      2. Se dio un primer tiempo de 5 minutos para lograr la purificación del agua.
      3. Un segundo tiempo de 3 minutos para obtener un residual del O<sub>3</sub> en el agua, los cuales se llevaron a cabo inmediatamente antes del administrar el enjuague (protocolo sugerido por el fabricante)
7. Las muestras se tomaron de la siguiente manera.
  - a. Inmediatamente antes de realizar el enjuague.
  - b. Al minuto 1 después del enjuague.

## Procesamiento de las muestras.

1. Todas las muestras se procesaron, en el departamento de biología molecular, inmediatamente después de haberse tomado, por la misma persona (AT).

2. Preparación de solución salina buffer de fosfato (PBS).

a. En 200 ml de agua destilada se colocó una tableta PBS.

b. Una vez disuelta la tableta se colocó en contenedor de vidrio con tapa para su esterilización en autoclave (Ritter M7).

3. Procesamiento de la muestra de saliva.

a. Las muestras de saliva se colocaron en el vortex (Termolyte) para homogenizarlas.

b. De los tubos de las muestras se tomó 1ml de saliva y se colocó en tubos nuevos previamente numerados y esterilizados, asegurando trabajar con 1 ml de muestra de cada uno de los sujetos.

c. Se colocaron los tubos en micro-centrifuga, hasta observar la separación de la saliva y el paquete celular.

d. La saliva se eliminó por decantación dejando el paquete celular en el fondo del tubo.

e. Al tubo con el paquete celular se le agregó 100µl de solución PBS (tubo Madre)

f. El tubo Madre se colocó en el vortex (Termolyte) para homogenizar la solución.

4. A partir del tubo madre se realizaron diluciones seriadas hasta  $1 \times 10^{-4}$  con solución PBS, es decir, se tomó con una pipeta estéril 100µl de la solución, y se transfirió al siguiente tubo con 900µl de solución PBS y se homogenizó la muestra, resultando la dilución de  $1 \times 10^{-1}$ , de esta primera dilución se continua hasta  $1 \times 10^{-4}$ .

5. Forma de la siembra.

a. Todas las siembras se realizaron en campana de anaerobiosis ( $N_2$  80%,  $H_2$  10%,  $CO_2$  10%).

b. De la última dilución se tomaron 100 $\mu$ l de muestra para realizar siembras en caja de petri con agar sangre de cordero al 5%, en forma de diseminación en superficie con espátula de Drigalsky.

c. Las cajas de petri se sellaron con parafilm y se colocaron dentro de bolsas (Zipplot) herméticamente cerradas para iniciar su incubación.

6. Incubación.

a. Los cultivos se incubaron dentro de las bolsas herméticas en ambiente anaerobio; en incubadora (ShellLab) a 37°C durante 48hrs.

7. Conteo de unidades formadoras de colonias (UFC).

a. Se colocó la caja de Petri a contra luz en un negatoscopio.

b. Se marcaron las colonias con plumón.

c. Se hizo conteo total de UFC.

## **RESULTADOS**

### Descripción.

Los resultados observados fueron obtenidos mediante el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) a partir de la toma de muestras de saliva antes y después de los enjuagues, los cuales fueron procesados y analizados según el protocolo descrito para este estudio, en la población seleccionada de la facultad de odontología de la UANL.

Tabla 1

Estadística descriptiva de las Unidades Formadoras de Colonias

Según tipo de enjuague, Posgrado de Periodoncia e Implantología, Marzo de 2012

		n	Media	Error típico	Mediana	Desviación estándar	Varianza	IC <sub>1-<math>\alpha</math>=0.95</sub>	Prueba t
CLORHEXIDINA 0.12%	Antes	31	577.73	101.76	476	566.59	321028.06	369.90 785.55	0.0000
	Después	31	22.31	10.77	0.5	59.95	3594.04	0.32 44.30	
AGUA OZONIZADA	Antes	31	455.24	76.34	376	425.06	180672.40	299.33 611.15	0.0172
	Después	31	337.90	49.63	278	276.34	76364.67	236.54 439.27	
SOLUCION CLORURO DE SODIO 0.9%	Antes	31	352.26	67.69	250	376.87	142031.00	214.02 490.50	0.0010
	Después	31	168.23	36.24	84	201.79	40718.58	94.21 242.24	

\*n= 31, p= 0.05

La tabla 1 se muestra la media de UFC de los diferentes enjuagues antes y después.

De acuerdo a lo arrojado por la prueba t donde se tomó un valor de  $p=0.05$ , se puede asegurar que en los tres grupos de estudio hubo una diferencia significativa entre los valores de UFC antes y después de realizado los enjuagues.

El grupo más bajo lo presentó el de la clorhexidina al 0.12%, con una media que va de 577.73 a 22.31, lo que corresponde a  $p=0.0000$ .

### Cuadro 1

Estadística descriptiva de la media de las Unidades Formadoras de Colonias mostrada en porcentajes de eliminación.

Según tipo de enjuague, Posgrado de Periodoncia e Implantología, Marzo de 2012.

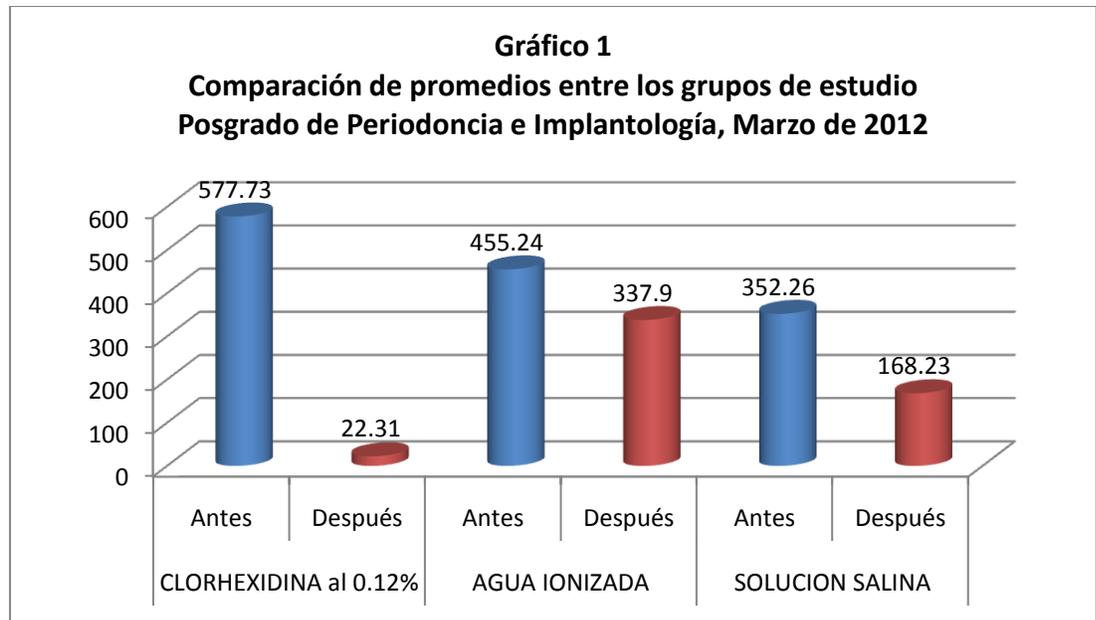
CHX			
	Media CFU	CFU en %	Porcentaje de eliminación bacteriana
Tiempo 0	557.73	100%	96.14%
Tiempo 1	22.31	3.86%	
SOL. CS			
	Media CFU	CFU en %	Porcentaje de eliminación bacteriana
Tiempo 0	352.26	100%	52.24%
Tiempo 1	168.23	47.76%	
O <sub>3</sub>			
	Media CFU	CFU en %	Porcentaje de eliminación bacteriana
Tiempo 0	455.24	100%	25.78%
Tiempo 1	337.9	74.22%	

En el cuadro 1 se observa la media en porcentaje de UFC de los diferentes enjuagues antes y después.

El grupo de clorhexidina al 0.12% presentó antes del enjuague una media de 577.73 UFC, y después del enjuague 22.31 UFC, lo que corresponde al 96.14% de eliminación de carga bacteriana.

En el grupo de agua Ozonizada se cuantificó una media de 455.24 UFC antes del enjuague y 337.9 UFC después de realizar el enjuague, lo que corresponde al 25.78% de eliminación de carga bacteriana.

Se observa que el grupo de clorhexidina al 0.12% fue el que mayor diferencia presentó en UFC antes y después del enjuague; seguido por la solución salina y el que menos el grupo de agua ozonizada.



En el grafico 1 se observa la comparación de promedios entre los grupos de estudio, observándose disminución de carga bacteriana en los tres grupo, siendo el de la clorhexidina al 0.12% el que menor UFC presentó después del enjuague.

## **DISCUSIÓN**

El presente estudio se llevó a cabo con el objetivo de realizar un comparativo entre la capacidad que tiene la clorhexidina al 0.12% y el agua ozonizada en enjuagues para disminuir la carga bacteriana en saliva.

### **Población**

Los estudios en los cuales se evalúa la propiedad antimicrobiana de los antisépticos en enjuagues realizados por Addy, Roberts, Wright, Moran y Yates consideraban una muestra de entre 10 y 20 sujetos, estudiantes de odontología, dado que en estos estudios se requería de realizar tomas de muestra de hasta 7 horas después de realizar el enjuague (ADDY & WRIGHT 1978, ROBERTS & ADDY 1981, ADDY Y COLS 1991, MORAN Y COLS 1995, YATES Y COLS. 1997).

Este estudio se realizó considerando una muestra aleatoria y representativa de la población de estudiantes los cuales tuvieran edad de entre 19 y 20 años, de ellos se determinó realizar la toma de las muestras en una población de 31 sujetos.

La selección de los sujetos para el estudio se llevó a cabo de acuerdo al protocolo descrito por Yates, Moran y Addy (ADDY Y COLS 1991, MORAN Y COLS 1995, YATES Y COLS. 1997) con la diferencia que en este caso se seleccionaron sujetos con por lo menos 28 dientes presentes.

### **Grupos de estudio.**

Se trabajó un grupo experimental con agua ozonizada, el grupo de control positivo con clorhexidina al 0.12%.

Tomando en cuenta las características de un grupo control y los estipulados bioéticos los cuales nos dicen que los tratamiento o pruebas diagnosticas nunca deben de ser de calidad inferior a la mejor alternativa disponible hasta el momento (gold standar)

(CARDOZO & COLS 2006) en el presente estudio se utilizó la clorhexidina al 0.12%, pues su efectividad clínica y microbiológica se encuentra respaldada por diferentes artículos del área odontológica (ADDY & WRIGHT 1978, ROBERTS & ADDY 1981, ADDY Y COLS 1991, MORAN Y COLS 1995, YATES Y COLS. 1997, SLOTS J. 2002).

## **Resultado**

Un antiséptico es un agente, el cual aplicado en tejido vivo, es capaz de prevenir y detener el crecimiento o acción de los microorganismos. Los antisépticos se caracteriza por ser de amplio espectro y que a diferencia de los antibióticos, la posibilidad de crear resistencia bacteriana es muy baja (SLOTS J. 2002)

El uso de la clorhexidina en odontología se ha observado tener la propiedad de sustentividad al presentar la capacidad de permanecer activa en las diferentes superficies de la boca y ser efectivo principalmente contra bacterias pues su acción contra los virus suele ser mínima. Sin embargo su efectividad se ve reducida al estar en un ambiente con pH ácido y al estar en contacto con material orgánico y, o proteico; de ahí que se utilice principalmente como enjuague para aplicación supragingival o en mucosas. A concentración de 0.12 al 0.2% se ha demostrado actividad contra bacterias presentes en saliva, más no para bacilos entéricos gram- (SLOTS J. 2002) e incluso a concentración del 2% es incapaz de inactivar *E. fecalis* las cuales vemos presentes en conductos dentales contaminados (ESTRELA Y COLS 2007).

En el presente estudio se encontró que la clorhexidina al 0.12% en enjuagues de 15 ml por 30 segundos, es capaz de disminuir la carga bacteriana en saliva hasta en un 96.14%; lo cual concuerda con lo reportado en diferentes estudios donde se observó que siguiendo este protocolo se obtiene una disminución en la carga bacteriana de más del 90%, además de que puede mantener el efecto de supresión de manera significativa hasta por 7 hrs (YATES Y COLS. 1997, MORAN Y COLS 1995, ADDY & WRIGHT 1978, ROBERTS & ADDY 1981, ADDY Y COLS 1991).

Así mismo también se evaluó la capacidad del agua ozonizada para disminuir la carga bacteriana en saliva, para lo cual se utilizó agua potable y un ozonificador con una capacidad de producción de 300 mgO<sub>3</sub>/h dando dos tiempos para la preparación del agua el primero de 5 minutos para lograr la carga de ozono del agua y el segundo de 3 minutos para obtener un residual del O<sub>3</sub>, los cuales se llevaron a cabo inmediatamente antes del administrar el enjuague (protocolo sugerido por el fabricante); obteniendo resultados poco alentadores, pues a diferencia de la clorhexidina, el agua O<sub>3</sub> logro disminuir la carga bacteriana en saliva en un 25.78%, similar a otros estudios donde se prueban diferentes enjuagues oxidativos como el peroxicarbonato y peroxiborato, encontrando ser menos efectivos que la clorhexidina (MORAN Y COLS. 1995)

Por otra parte vemos diferentes estudios que no coinciden con los resultados encontrados en el presente estudio, pues en ellos se observa que el agua ozonizada logra resultados similares, en cuanto eliminación de microorganismos, al hipoclorito de sodio (NaOCl) y clohexidina. Esta diferencia en los resultados lo podemos explicar con los siguientes puntos: en estos estudios se utiliza agua destilada estéril, un ozonizador que requiere de oxígeno puro para la producción de ozono, se asegura que la concentración de ozono en el agua sea de 4 mg/l o hasta 24 mg/l, además de ser todos estudios de modelo in vitro con especies bacterianas específicas (ESTRELA Y COLS 2007, ARITA Y COLS 2005, NAGAYOSHI Y COLS 2004, CARDOSO Y COLS 2008).

Por muchos ha sido corroborado el comportamiento que presentan los diferentes microorganismos al encontrarse inmersos en un biopelícula bacteriana, o en un cultivo puro bacteriano (medio plantónico); los primeros muestran cierta resistencia a los diferentes agentes antimicrobianos pues la biopelícula es una matriz que retarda o impide la difusión de los agentes antimicrobianos (NAGAYOSHI Y COLS 2004) de ahí que encontremos diferentes resultados con estudios in vivo e in vitro.

Los enjuagues de clorhexidina al 0.12%, agua ozonizada y solución de cloruro de sodio al 0.9%, logran disminuir la carga bacteriana en saliva, siguiendo el protocolo descrito en este estudio.

Con todo lo anterior se concluye que al realizar enjuagues de clorhexidina al 0.12% por 30 seg, se logra disminuir la carga bacteriana en saliva hasta en un 96.14%, lo cual es superior a lo obtenido con enjuagues con agua ozonizada producida con un ozonificador con capacidad de 300 mgO<sub>3</sub>/h y agua potable.

**CONCLUSIONES Y**  
**RECOMENDACIONES**

Se rechaza hipótesis nula, por lo tanto se asegura con un 95% de confiabilidad que existe diferencia estadísticamente significativa entre las varianzas de las unidades formadoras de colonias observadas en los 3 grupos de estudio después de realizado el enjuague.

Los valores más altos en UFC después de realizar el enjuague fueron observados en el grupo con agua ozonizada, seguidos por el grupo tratado con solución salina.

Los resultados más bajos en UFC después de realizar el enjuague fueron observados en el grupo tratado con clorhexidina al 0.12% las varianzas comparadas entre los grupos difieren entre ellos significativamente.

Los enjuagues de clohexidina al 0.12% inmediatamente después de realizado y siguiendo las instrucciones del fabricante, logran disminuir la carga bacteriana en saliva en un 96.14%, lo cual es superior a lo obtenido con enjuagues con agua ozonizada producida con un ozonificador con capacidad de 300 mgO<sub>3</sub>/h y agua potable.

Se recomienda realizar de nuevo el estudio con la variante de utilizar un generador de ozono que asegure la concentración de 4 mg/l de ozono en el agua.

# **APÉNDICES**

**Hojas de registro.**

**Registro de participantes y muestras.**

No	Nombre	Tel.	Correo.	Gpo.	M1	M2	M3	Perio
1.								
2.								
3.								
4.								
5.								
6.								
7.								
8.								
9.								
10.								
11.								
12.								
13.								
14.								
15.								
16.								
17.								
18.								
19.								
20.								
21.								
22.								
23.								
24.								
25.								
26.								
27.								
28.								
29.								
30.								
31.								
32.								
33.								
34.								
35.								
36.								
37.								
38.								

**Registro de UFC en los diferentes enjuagues y tiempos**

No	Sol. Salina		CHX		O <sub>3</sub>	
	0 min	1 min	0 min	1 min	0 min	1 min
1.						
2.						
3.						
4.						
5.						
6.						
7.						
8.						
9.						
10.						
11.						
12.						
13.						
14.						
15.						
16.						
17.						
18.						
19.						
20.						
21.						
22.						
23.						
24.						
25.						
26.						
27.						
28.						
29.						
30.						
31.						
32.						
33.						
34.						
35.						
36.						
37.						
38.						

## CONSENTIMIENTO INFORMADO.

### INFORMACIÓN PARA EL PACIENTE.

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento.

La enfermedad periodontal (EP) afecta a los tejidos de soporte de los dientes: encía, hueso, cemento y ligamento periodontal. Se caracteriza por enrojecimiento y sangrado de la encía, merma progresiva de hueso, posible movilidad de los dientes y en algunos casos la pérdida de los dientes.

Partiendo de que la EP se desarrolla por la presencia de microorganismos periodonto-patógenos que producen inflamación (responsable de la EP); en el mercado se encuentra una gran cantidad de enjuagues bucales como auxiliar en el tratamiento de la EP, en el presente estudio se pretende establecer una relación entre el tipo de enjuague bucal y la carga bacteriana en boca.

Se realizará un examen bucal además de tomar una muestra de saliva seriadas posterior a la utilización de los enjuagues, y se reportará al interesado la necesidad de tratamiento periodontal si la hubiere.

- Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.
- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.
- Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, aun cuando el investigador responsable no se lo solicite, informando las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad.
- No recibirá pago por su participación.
- En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable.
- La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.

Yo, \_\_\_\_\_ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación.

\_\_\_\_\_

#### Firma del participante

Esta parte debe ser completada por el Investigador (o su representante):

He explicado al **Sr(a)**. \_\_\_\_\_ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normativa correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella.

\_\_\_\_\_

#### Firma del investigador

## Descripción estadística.

### Análisis de varianza (ANOVA)

#### Descripción de las variables

V. Independiente		n	Media	Desviación estándar
CLORHEXIDINA 0.12%	Antes	31	577.73	566.59
	Después	31	22.31	59.95
AGUA OZONIZADA	Antes	31	455.24	425.06
	Después	31	337.9	276.34
SOLUCION CLORURO DE SODIO	Antes	31	352.26	376.87
	Después	31	168.23	201.79

#### Planteamiento de las hipótesis

$$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2$$

$$H_1: \sigma_1^2 \neq \sigma_2^2 \neq \sigma_3^2$$

#### Estadística de prueba

$$RV = \frac{CM_{Entre}}{CM_{Dentro}}$$

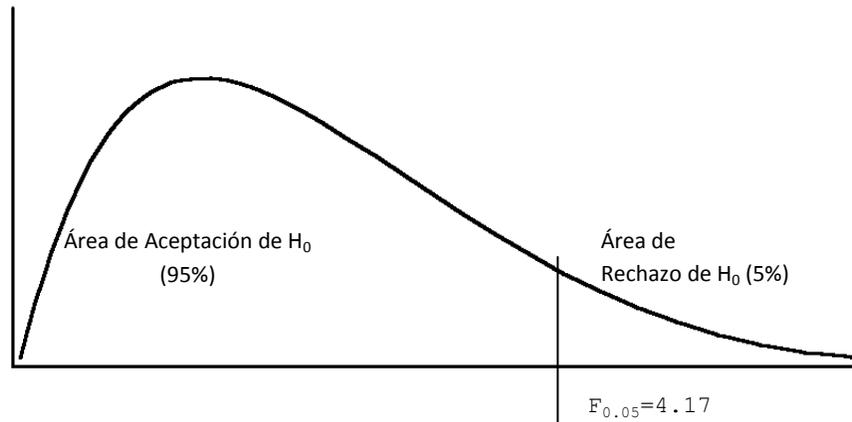
donde:

$CM_{entre}$ : Cuadrado medio entre los grupos

CM<sub>dentro</sub>: Cuadrado medio dentro de los grupo

### Distribución o presentación de la prueba

$$F_{1-\alpha=0.95}(2,30) = 4.17$$



### Criterio de decisión

Se acepta hipótesis nula si el valor de RV es menor a 4.17, se rechaza hipótesis nula si el valor de RV es igual o mayor a 4.17

### Estadística de prueba calculada

ANOVA

Antes

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática F		Sig.
Inter-grupos	789918.016	2	394959.008	1.841	.165
Intra-grupos	1.931E7	90	214577.153		
Total	2.010E7	92			

## ANOVA

Después

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1546736.823	2	773368.411	19.226	.000
Intra-grupos	3620318.968	90	40225.766		
Total	5167055.790	92			

## Comparaciones múltiples

Después Scheffé

Variable 1	Variable 2	Diferencia de medias (I-J)	Sig.	Intervalo de confianza al 5%	
				Límite inferior	Límite superior
Clorhexidina	Agua Ozonizada	-315.5968*	0	-331.918	-299.275
	Solución salina	-145.9194*	0.02	-162.241	-129.598
Agua Ozonizada	Clorhexidina	315.5968*	0	299.275	331.918
	Solución salina	169.6774*	0.005	153.356	185.999
Solución cloruro de sodio	Clorhexidina	145.9194*	0.02	129.598	162.241
	Agua Ozonizada	-169.6774*	0.005	-185.999	-153.356

## Imágenes del procedimiento



Fig. 1 Preparación del agua ozonizada con generador de ozono de de 300 mgO<sub>3</sub>/h y agua potable.

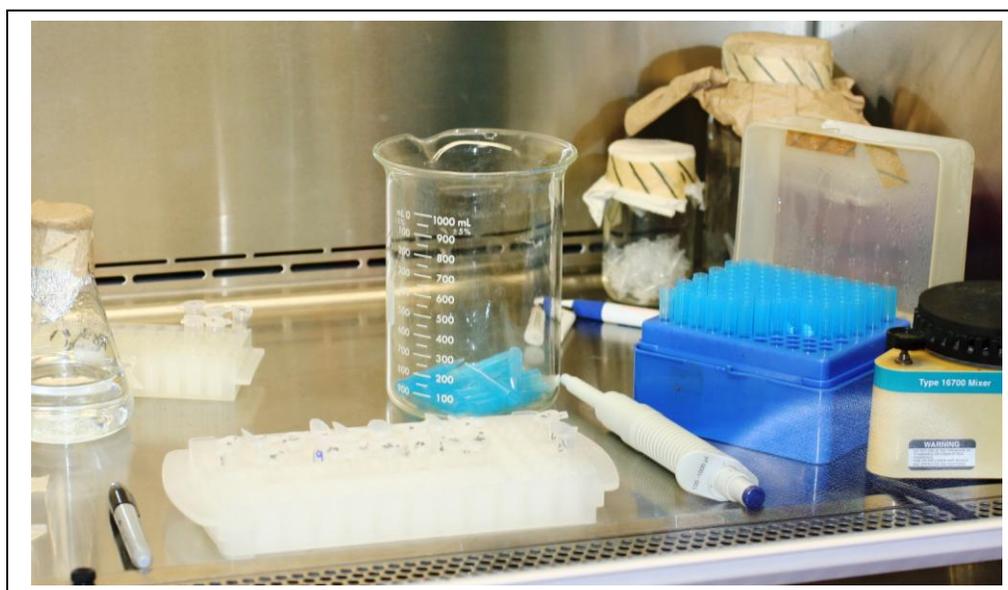


Fig. 2 Procesamiento de las muestras en campana de flujo laminar.

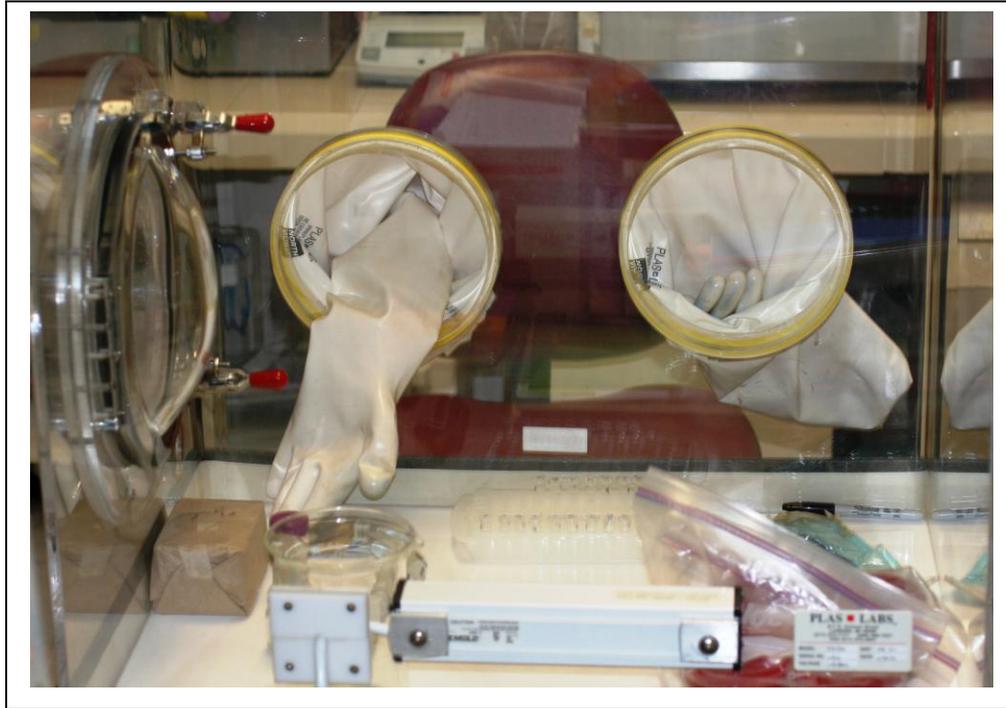


Fig. 3 Siembra en caja peri con agar sangre de cordero al 5% en cámara de anaerobiosis (N<sub>2</sub> 80%, H<sub>2</sub> 10%, CO<sub>2</sub> 10%).

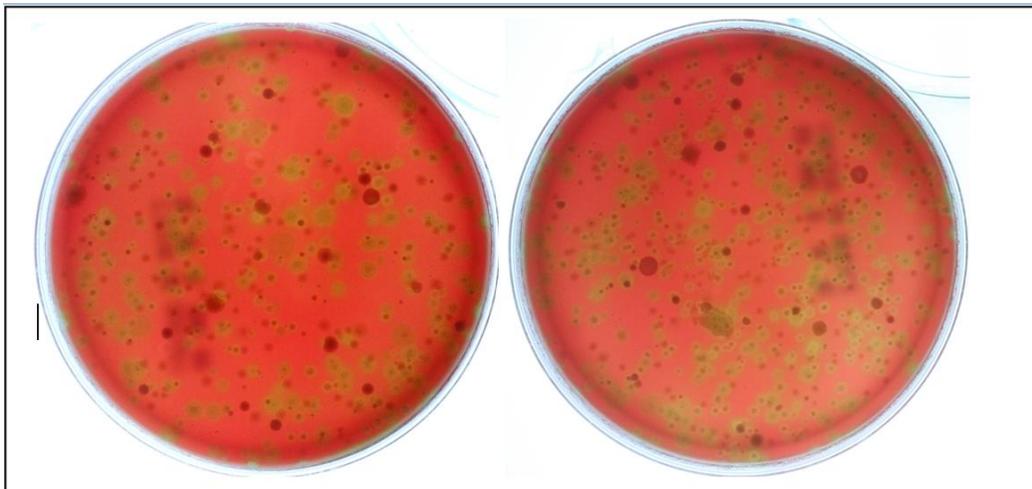


Fig. 4 Conteo de UFC después de 48 horas de incubación en medio anaerobio.

## **REFERENCIAS**

Addy M, Jenkins S, Newcombe R. 1991. The effect of some chlorhexidine-containing mouthrinses on salivary bacterial counts. *J Clin Periodontol* Feb;18: 90-3.

Addy M, Wright R. 1978. Comparison of the in vivo and in vitro antibacterial properties of providone iodine and chlorhexidine gluconate mouthrinses. *J Clin Periodontol* Aug;5: 198-205.

Ainamo J. 1977. Control of plaque by chemical agents. *J Clin Periodontol* Dec;4:23-35.

Alleyn CD, O'Neal RB, Strong SL, Scheidt MJ, Van Dyke TE, McPherson JC. 1991. The effect of chlorhexidine treatment of root surfaces on the attachment of human gingival fibroblasts in vitro. *J Periodontol* Jul;62:434-8.

Arita M, Nagayoshi M, Fukuizumi T, Okinaga T, Masumi S, Morikawa M, Kakinoki Y, Nishihara T. 2005. Microbicidal efficacy of ozonated water against *Candida albicans* adhering to acrylic denture plates. *Oral Microbiol Immunol* Aug;20:206-10

Azarpazhooh A, Limeback H. 2008. The application of ozone in dentistry: a systematic review of literature. *J Dent* Feb;36:104-16.

Bocci VA. Tropospheric ozone toxicity vs. usefulness of ozone therapy. 2007. *Arch Med Res* Feb;38:265-7.

Cardoso MG, de Oliveira LD, Koga-Ito CY, Jorge AO. 2008. Effectiveness of ozonated water on *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, and endotoxins in root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* Mar;105:e85-91.

Cline NV, Layman DL. 1992. The effects of chlorhexidine on the attachment and growth of cultured human periodontal cells. *J Periodontol* Jul;63:598-602.

Estrela C, Estrela CR, Decurcio DA, Hollanda AC, Silva JA. 2007. Antimicrobial efficacy of ozonated water, gaseous ozone, sodium hypochlorite and chlorhexidine in infected human root canals. *Int Endod J* Feb;40:85-93.

Fine DH. 2000. Chemical agents to prevent and regulate plaque development. *Periodontol* 2000 Jun;8:87-107.

Fischman SL. 1997. The history of oral hygiene products: how far have we come in 6000 years? *Periodontol* 2000 Oct;15:7-14.

Flemingson, Emmadi P, Ambalavanan N, Ramakrishnan T, Vijayalakshmi R. 2008. Effect of three commercial mouth rinses on cultured human gingival fibroblast: an in vitro study. *Indian J Dent Res* Jan-Mar;19:29-35.

Harrel SK, Barnes JB, Rivera-Hidalgo F. 1998. Aerosol and splatter contamination from the operative site during ultrasonic scaling. *J Am Dent Assoc* Sep;129:1241-9.

Huth KC, Saugel B, Jakob FM, Cappello C, Quirling M, Paschos E, Ern K, Hickel R, Brand K. 2007. Effect of aqueous ozone on the NF-kappaB system. *J Dent Res* May;86:451-6.

Jordan L, Beaver K, Foy S. 2002. Ozone treatment for radiotherapy skin reactions: is there an evidence base for practice? *Eur J Oncol Nurs* Dec;6:220-7.

Kim HS, Noh SU, Han YW, Kim KM, Kang H, Kim HO, Park YM. 2009. Therapeutic effects of topical application of ozone on acute cutaneous wound healing. *J Korean Med Sci* Jun;24:368-74.

Loncar B, Stipetic MM, Matosevic D, Tarle Z. 2009. Ozone application in dentistry. *Arch Med Res* Feb;40:136-7.

Lynch E. 2009. Comment on "The application of ozone in dentistry: A systematic review of the literature". *J Dent* May;37:406-10; author reply 411-2.

Mandel ID. 1988. Chemotherapeutic agents for controlling plaque and gingivitis. *J Clin Periodontol* Sep;15:488-98.

Mariotti AJ, Rumpf DA. 1999. Chlorhexidine-induced changes to human gingival fibroblast collagen and non-collagen protein production. *J Periodontol* Dec;70:1443-8.

Maslennikov OV, Kontorshchikova CN, Gribkova IA. 2008. Ozone therapy in Practice. Health Manual. - Nizhny Novgorod, Russia.

Menéndez S, Falcón L, Simón DR, Landa N. 2002. Efficacy of ozonized sunflower oil in the treatment of tinea pedis. *Mycoses* Oct;45:329-32.

Millar BJ, Hodson N. 2007. Assessment of the safety of two ozone delivery devices. *J Dent* Mar;35(3):195-200.

Moran J, Addy M, Wade W, Milson S, McAndrew R, Newcombe RG. 1995. The effect of oxidising mouthrinses compared with chlorhexidine on salivary bacterial counts and plaque regrowth. *J Clin Periodontol* Oct;22:750-5.

Nagayoshi M, Fukuizumi T, Kitamura C, Yano J, Terashita M, Nishihara T. 2004. Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms. *Oral Microbiol Immunol* Aug;19:240-6.

Nagayoshi M, Kitamura C, Fukuizumi T, Nishihara T, Terashita M. 2004. Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. *J Endod* Nov;30:778-81.

Rahn R, Schneider S, Diehl O, Schäfer V, Shah PM. 1995. Preventing post-treatment bacteremia: comparing topical povidone-iodine and chlorhexidine. *J Am Dent Assoc* Aug;126:1145-9.

Roberts WR, Addy M. 1981. Comparison of the in vivo and in vitro antibacterial properties of antiseptic mouthrinses containing chlorhexidine, alexidine, cetyl pyridinium chloride and hexetidine. Relevance to mode of action. *J Clin Periodontol* Aug;8:295-310.

Sechi LA, Lezcano I, Nunez N, Espim M, Duprè I, Pinna A, Molicotti P, Fadda G, Zanetti S. 2001. Antibacterial activity of ozonized sunflower oil (Oleozon). *J Appl Microbiol* Feb;90:279-84.

Slots J. 2002. Selection of antimicrobial agents in periodontal therapy. *J Periodontal Res* Oct;37:389-98. Review.

Yates R, Moran J, Addy M, Mullan PJ, Wade WG, Newcombe R. 1997. The comparative effect of acidified sodium chlorite and chlorhexidine mouthrinses on plaque regrowth and salivary bacterial counts. *J Clin Periodontol* Sep;24:603-9.