



Gluconato de clorhexidina al 0.12% en la inhibición de la adherencia de *Streptococcus mutans* en restauraciones provisionales de polimetilmetacrilato *in vitro*

Mónica Poveda Romero,* Sergio Sánchez García,[§] Eduardo Medina García,^{||}
María Claudia Espinel Bermúdez,[§] Enrique Ríos Szalay,^{||} José Arturo Fernández Pedrero^{||}

RESUMEN

Objetivo: Evaluar *in vitro* el efecto del gluconato de clorhexidina al 0.12% en diferentes tiempos de exposición (8, 16, 24, 32, 40 y 48 horas) en la inhibición de la adherencia del *Streptococcus mutans* en el metil-metacrilato autopolimerizable. **Material y métodos:** Estudio de tipo experimental, por grupos de comparación. Se utilizaron 120 muestras de metil-metacrilato autopolimerizable divididas en seis grupos (subgrupo experimental y subgrupo control). **Resultados:** No se encontraron diferencias en las medias de los primeros cuatro grupos en sus dos modalidades ($p > 0.05$). En los grupos restantes existieron diferencias significativas entre el subgrupo control y el subgrupo experimental ($p < 0.001$). **Conclusiones:** Los resultados demuestran que la adherencia de *Streptococcus mutans* en el metil-metacrilato autopolimerizable *in vitro* se inhibe después de varias aplicaciones de gluconato de clorhexidina al 0.12%.

ABSTRACT

Objective: The purpose of the present study was to evaluate *in vitro* the effect of Chlorhexidine gluconate at 0.12% in the adherence inhibition of *Streptococcus mutans* with provisional restorative at different exposure times (8, 16, 24, 32, 40, 48 hours). **Material and methods:** The study was of experimental type, for comparison groups. Total of 120 samples of Autopolymerizing PMMA divided in six groups were used (experimental and control groups). **Results:** No significant differences were found in medias of the first four groups ($p > 0.05$). The others showed significant difference between the experimental and control subgroups. **Conclusion:** The results demonstrated that the adherence of *Streptococcus mutans* to Autopolymerizing PMMA *in vitro* is inhibited after several applications of Chlorhexidine gluconate at 0.12%.

Palabras clave: Gluconato de clorhexidina, *Streptococcus mutans*, metil-metacrilato autopolimerizable, restauración provisional.
Key words: Chlorhexidine gluconate, *Streptococcus mutans*, autopolymerizing PMMA, provisional restorative.

INTRODUCCIÓN

Las restauraciones provisionales son una alternativa de uso continuo en el desarrollo de procedimientos protésicos que requieren sustituir órganos dentales ausentes y en aquellos tratamientos en que no es posible realizar la restauración en una sola sesión. De igual manera resultan eficaces para evaluar las demandas estéticas de los pacientes antes de optar por una restauración definitiva.^{1,2} Sin embargo, el uso de restauraciones provisionales trae consigo un riesgo potencial de desarrollar gingivitis marginal, en especial durante la colocación de provisionales fabricadas en polimetil-metacrilato autopolimerizable (PMMA),^{3,4} en las cuales se origina mayor acumulación de placa bacteriana adherida a la superficie con una alta concentración de microorganismos^{1,5-7} entre los que se destaca el *Streptococcus mutans*.⁸⁻¹⁰

Durante décadas, el PMMA, ha sido la resina de primera elección en la fabricación de provisionales en prótesis, sustentada gracias a sus propiedades fisi-

cas, entre las que vale la pena citar la alta resistencia a la abrasión, biocompatibilidad y esterilidad,¹¹ cabe mencionar que al comparar el PMMA frente a otras resinas, se pone en evidencia sus limitaciones, en especial relacionadas con los diferentes grados de porosidad inherentes a este material que favorecen la adherencia de los microorganismos,^{1,3} ocasionando cambios en la consistencia de los tejidos¹² y en la textura de la superficie.

Bajo este escenario, la clorhexidina, se convierte en una alternativa a considerar como profiláctico en el tratamiento con restauraciones provisionales, ya que tiene un efecto supresor sobre el *Streptococcus mu-*

* Alumna de la Especialidad de Prótesis Bucal de la División de Estudios de Posgrado e Investigación, Facultad de Odontología, UNAM.

§ Unidad de Investigación Epidemiológica y en Servicios de Salud/Área Envejecimiento, IMSS.

|| Coordinación de Prótesis Bucal, División de Estudios de Posgrado e Investigación, Facultad de Odontología, UNAM.

tans,^{8,13-15} como lo demuestran diversas investigaciones en las que se ha comprobado que una mayor utilización de este antimicrobiano promueve la salud periodontal,¹⁷⁻¹⁹ además sus bondades se han evidenciado en pacientes tratados ortodóncicamente,^{20,21} para prevenir la acumulación de placa y aparición de gingivitis,²²⁻²⁵ en terapéutica posquirúrgica²⁶ y en pacientes que usan prótesis luego de una terapia periodontal no quirúrgica.^{27,28} Además vale la pena considerar que en 1985 la Asociación Dental Americana-ADM y la Junta de Terapéutica Dental aprobaron agentes quimioterapéuticos para el control de la gingivitis y de la placa supragingival. Solamente dos antimicrobianos fueron aceptados: el Listerine® compuesto de fenol y aceites esenciales de timo y eucalipto, mezclados con metilsalicilato en un vehículo hidroalcohólico al 26.9%⁶ y el gluconato de clorhexidina.²³

La efectividad de la clorhexidina ha sido demostrada ampliamente, al igual que los efectos adversos relacionados con su concentración^{21,29} como manchas en las superficies de los dientes y en la lengua;²⁶ para reducir estas complicaciones se usan agentes antioxidantes y se disminuye la dosis diaria,³⁰ pero ninguno de estos métodos ha logrado su objetivo, sólo han obtenido un éxito parcial.³¹ Otros efectos de igual importancia son: adormecimiento del sentido del gusto,^{23,24,27} lesiones descamativas gingivales,³² posible esfacelación de la mucosa e incremento en la formación de cálculo supragingival.^{32,33} Uno de los métodos para reducir estos efectos colaterales, es la combinación de la clorhexidina con otro agente antimicrobiano de tal manera que la formulación sea equivalente y con mayor actividad antibacteriana.²⁴ Por otra parte la implicación clínica demuestra que los efectos asociados a la clorhexidina se disminuyen ante la reducción de su concentración y tiempo de exposición.³⁴

Aunque se han realizado diversos estudios sobre las bondades y efectos de la CHX en las estructuras bucales, no se ha abordado suficientemente la relación de su acción como inhibidor de bacterias en el uso de restauraciones provisionales ante diferentes periodos de exposición, que permitan controlar los efectos adversos de la CHX, por lo cual se realiza la necesidad de evaluar la efectividad de agentes antimicrobianos que disminuyan los riesgos adversos para la salud dental de los pacientes y mejoren los resultados de la práctica protésica, es por ello que este estudio tiene como objetivo: Evaluar *in vitro* el efecto del gluconato de clorhexidina (CHX) al 0.12% en diferentes tiempos de exposición en la inhibición de la adherencia del *Streptococcus mutans* en el metil-metacrilato autopolimizable (PMMA).

MATERIAL Y MÉTODOS

Tipo de estudio: El estudio fue de tipo experimental, por grupos de comparación.

Selección y tamaño de la muestra: Por ser un estudio *in vitro* se utilizó un tipo de muestra no probabilística. Se utilizaron 120 muestras que fueron elaboradas con acrílico JET®, combinó 0.3 g de polímero y 0.14 mL de monómero y se elaboraron muestras con dimensiones similares para todos los grupos de 0.8 cm de ancho por 1.6 cm de largo, con una superficie aproximada de 2.76 cm², de acuerdo con el conformador IPS-CORUM SHADE TAB (Ivoclar), dichas muestras fueron divididas en seis grupos de diez especímenes cada uno (grupos experimental y control), con diferentes tiempos de exposición, (Grupo 1-8 horas, grupo 2-16 horas, grupo 3-24 horas, grupo 4-32 horas, grupo 5-40 horas y grupo 6-48 horas) (Figura 1).

Elaboración de las muestras: Los materiales fueron mezclados en un godete de vidrio utilizando una espátula para cementos Hu-Friedy, la mezcla se pasó al conformador, se colocó encima un portaobjetos y se retiraron los excedentes. Pasado el tiempo de polimerización, se colocaron las muestras en cajas de Petri de vidrio, una por cada muestra, para posteriormente llevarlas al pulido, el cual se realizó con un motor de banco de baja velocidad, cepillo y tierra pómez, terminado este proceso se cambió el cepillo por manta y la tierra pómez por blanco de España, se enjuagaron y brillaron las muestras teniendo especial cuidado de no quemar el acrílico. Por último con una fresa de bola se perforaron las muestras y se les colocó un alambre de ortodoncia calibre 30, en el extremo de este alambre se fijaron los tapones de los tubos de ensayo, para iniciar las pruebas (Figura 2).

Tratamiento de las muestras: Los grupos experimentales fueron sumergidos por una hora en gluconato de clorhexidina (Oral B gingivitis, gillete Oral care, Inc. Mex). El grupo control no tuvo ningún tratamiento previo. Todos los grupos se inocularon con 25 µl de una suspensión de *Streptococcus mutans* (25.93 x 10³ UFC), que fue aislado de paciente e identificado con pruebas bioquímicas, y se sumergieron en 5 mL de caldo Mitis Salivarius (Difco), suplementado con 15% de sacarosa, 1 mL de telurito de potasio al 1%, y 1 mL bacitracina al 0.2 units/mL. Todas las muestras se incubaron a 37 grados centígrados por 8 horas y se realizaron los cambios del medio de cultivo por uno fresco cada ocho horas hasta completar su tiempo de exposición. Los grupos experimentales se bañaron con 1 mL de gluconato de clorhexidina y se reinocularon los grupos experimentales y controles con la suspensión de *Streptococcus mutans*. Transcurrido el

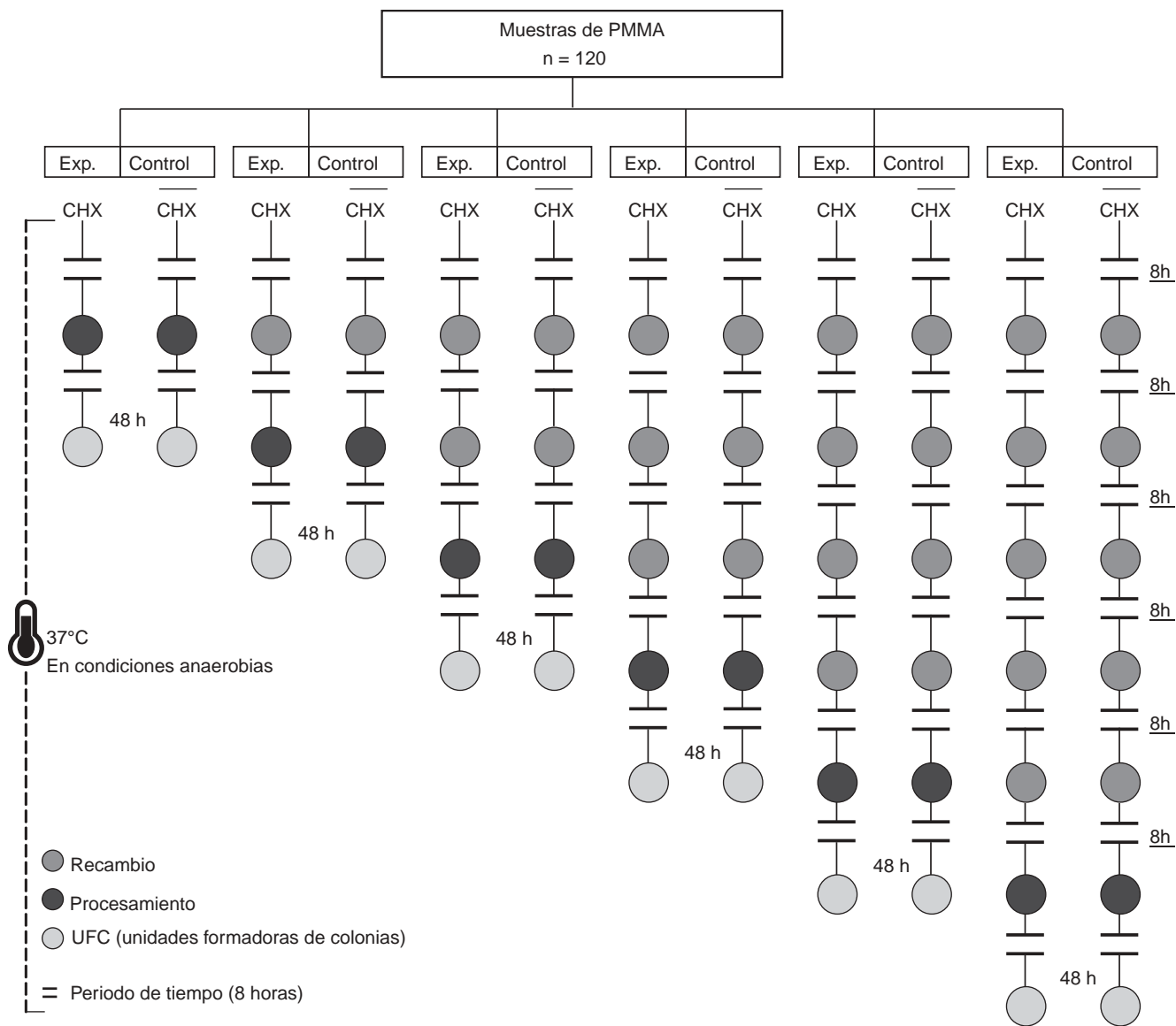


Figura 1. Conformación esquemática de grupos de estudio.

tiempo de exposición de cada grupo se transfirieron en 5 mL de caldo D/N Neutralizing Broth (Difco) y se agitaron en vortex por 30 segundos en el nivel cuatro, con la finalidad de neutralizar los efectos residuales del CHX y desprender a los microorganismos adheridos a la muestra obteniéndose una suspensión homogénea (Figura 3). Se realizaron diluciones con solución salina isotónica hasta 10 y se sembraron en agar Mitis Salivarius (Difco), suplemento con 15% de sacarosa, 1 mL de telurito de potasio al 1%, y 1 mL bacitracina al 0.2 unidades/mL, por 48 horas a 37 grados centígrados en una atmósfera al 95% de nitrógeno y 5% de CO₂. Después de la incubación, se mantuvieron en refrigeración hasta su conteo.

Análisis de la información: Se calculó el porcentaje de supervivencia bacteriana mediante Unidades Formadoras de Colonias/mL. Los resultados fueron analizados estadísticamente mediante la prueba de "Chi²" para establecer homogeneidad entre los subgrupos experimental y control, en los diferentes periodos de exposición al gluconato de clorhexidina al 0.12%. Para contrastar estadísticamente la presencia de diferencias entre las medias de cada periodo de exposición se aplicó la prueba de "U" de Mann-Whitney con un intervalo de confianza del 95% en virtud a que no se presentó una distribución normal en ninguno de los periodos de exposición al CHX al 0.12% de los subgrupos experimental y control. Las pruebas esta-



Figura 2. Muestra de PMMA con una superficie aproximada de 2.76 cm², de acuerdo con el conformador IPS-CORUM SHA-DE TAB (Ivoclar).

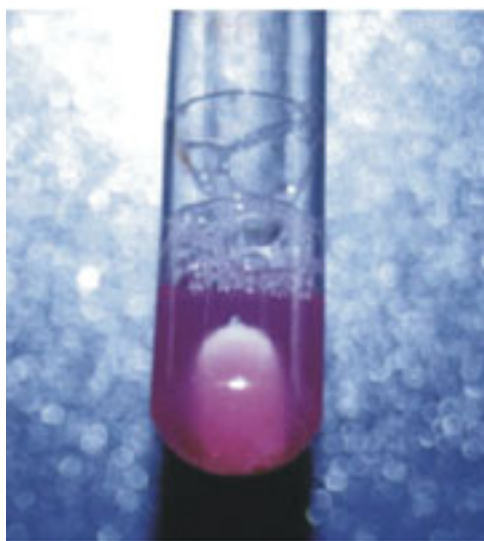


Figura 3. Neutralización de los efectos residuales del CHX y desprendimiento de los microorganismos adheridos a la muestra obteniéndose una suspensión homogénea.

dísticas se realizaron con el programa SPSS 10.0 para Windows (SPSS GMBH Software).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en los subgrupos experimental y control muestran que existe una homogenei-

dad en la distribución entre las Unidades Formadoras de Colonias/mL (Grupo experimental $\chi^2=19.3519$ $P = 0.0017$, grupo control $\chi^2 = 41.9051$ $P < 0.001$), indicando un comportamiento similar en la adherencia de microorganismos a las restauraciones provisionales según el tiempo de exposición de cada subgrupo (Cuadro I).

No se encontraron diferencias en las medias de los primeros cuatro grupos con un tiempo de exposición de 8, 16, 24 y 32 horas, al compararlos en sus dos modalidades, subgrupo experimental y control ($P > 0.05$), la causa probable de este comportamiento es que el máximo efecto supresor de la clorhexidina sobre los agentes microbianos se produce por arriba de las 32 horas de exposición, por ello tiempos menores a éste no presentan cambios significativos.

En los grupos cinco y seis que corresponden a las 40 y 48 horas de inmersión, existieron diferencias significativas entre el subgrupo control y el subgrupo experimental ($p < 0.001$) hecho que se atribuyó al efecto residual de la concentración de clorhexidina ante un mayor número de veces que fueron expuestos (Cuadro I). Esto demuestra que después de ser sometidas a cuatro diferentes rociados con gluconato de clorhexidina al 0.12% se produce un efecto inhibitor en las cepas de *Streptococcus mutans*.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos *in vitro* al final del estudio demuestran que los microorganismos que forman parte de la placa bacteriana tal como el *Streptococcus mutans* se adhieren a las restauraciones provisionales de PMMA debido a la alta porosidad del material, como se ha demostrado en diversos estudios,^{3,8} por su parte, al analizar las propiedades antimicrobianas de la clorhexidina en diferentes periodos de tiempo se pudo constatar que antes de 32 horas de aplicación no se logra un efecto inhibitor de los microorganismos, resultado similar al obtenido en un estudio en el que se concluyó que no se lograron niveles de desinfección en periodos menores de 24 horas de exposición a la clorhexidina.³²

Los efectos secundarios provocados por el uso de este agente antiséptico,¹³ son controlados con tratamientos con agentes antioxidantes,²⁴ la dosificación,¹⁸ el tiempo adecuado de exposición, y la eliminación de su uso.⁸ Estas conclusiones se pudieron evidenciar en el presente estudio, ya que se estableció que manteniendo concentraciones bajas de clorhexidina durante un tiempo prologado se logró disminuir el porcentaje de Unidades Formadoras de Colonias.

Otros estudios sobre aplicaciones tópicas de la clorhexidina demostraron que al aumentar el tiempo

Cuadro I. Comparación de medias de unidades formadoras de colonias (UFC) entre grupo experimental y control según periodos de exposición de CHX al 0.12%.

Grupo	Horas	Experimental		Control		"U" de Mann-Whitney
		Media	(D.S.)*	Media	(D.S.)*	
1	8	140.00	(21.18)	6.00	(9.66)	0.5787
2	16	59.33	(97.04)	6.00	(9.66)	0.0524
3	24	8.00	(19.32)	2.00	(6.32)	0.6842
4	32	30.00	(26.66)	171.66	(389.76)	0.3150
5	40	6.00	(13.49)	577.00	(494.84)	< 0.001**
6	48	0.00	(0.00)	184.33	(267.23)	< 0.001**

* 10³ UFC/mL

** Diferencia significativa

de exposición se producen cambios relacionados con la disminución en la sensibilidad de los microorganismos anaerobios y facultativos de la placa,⁹ además de la inhibición química de éstos, control de la gingivitis y la reducción de la placa y cálculos de hasta 6 meses de formación.

CONCLUSIONES

En la actualidad los pacientes requieren que las técnicas protésicas mantengan excelentes cualidades estéticas y funcionales con un bajo riesgo de complicaciones, por ello es importante que en la práctica clínica se conozca la eficacia y efectos adversos del gluconato de clorhexidina en las restauraciones provisionales de PMMA, de manera que se protejan adecuadamente las estructuras dentarias y se permita optimizar la acción como agente inhibidor de los microorganismos formadores de placa convirtiéndose en una alternativa idónea a seguir para evitar futuras complicaciones.

Los resultados de este estudio demuestran que después de realizar varias aplicaciones de clorhexidina al 0.12% se produce una inhibición de la adhesión del *Streptococcus mutans in vitro*. Al extrapolar estos datos a resultados clínicos y microbiológicos de los tratamientos periodontales *in vivo* se puede concluir que el uso de clorhexidina al 0.12% por un lapso superior a las 32 horas impide la acumulación de microorganismos en el material de restauración, evitando de esta forma que se produzca gingivitis marginal y posterior fracaso del tratamiento protésico.

La gingivitis marginal en los tratamientos protésicos se podrá controlar satisfactoriamente al disminuir la formación de placa dentobacteriana, si se combina la utilización de clorhexidina al 0.12% en la consulta profesional, con una concentración al 0.04% como tratamiento profiláctico seguido por el paciente en casa.

Finalmente este estudio pone de manifiesto que la eficacia de la clorhexidina ante el riesgo potencial de desarrollar gingivitis en el uso de restauraciones provisionales, requiere mayor estudio, por ello la información que se obtuvo en esta investigación podrá ser considerada para iniciar el desarrollo de nuevos estudios relativos a las restauraciones provisionales, factores asociados a los efectos adversos de estas técnicas y las alternativas de intervención dentro del campo profesional del cirujano dentista, este será un paso importante para establecer el éxito en los tratamientos protésicos manteniendo la salud bucal de nuestros pacientes.

REFERENCIAS

1. Donovan T, Cho G. Diagnostic provisional restorations in restorative dentistry: The blueprint for success. *J Can Dent Assoc* 1999; 65: g272-275.
2. Block M, Finger I, Castellon P, Lirettle D. Single tooth immediate provisional restoration of dental implants: Technique and early results. *J Oral Maxillofac Sur* 2004; 62: 1131-1138.
3. Boeckh C, Schumacher E, Podbielski A, Haller B. Antibacterial activity of restorative dental biomaterials *in vitro*. *Caries Res* 2002; 36: 101-107.
4. Genco R.J. *Periodoncia*. Primera edición. México, D.F. Editorial Interamericana Mc Graw-Hill 1993: 770.
5. Zubery Y, Moses O, Kozlovsky A. Agranulocytosis - periodontal manifestations and treatment of the acute phase: a case report. *Clin Prev Dent* 1991; 13: 5-8.
6. Lofthus J, Waki M, Jolkovsky D, Corgel O, Newman M, Fleming T, Nachnani S. Bacteremia following subgingival irrigation and scaling and root planning. *J Periodontol* 1999; 2: 02-607.
7. Pfeiffer P, Grube L. *In vitro* resistance of reinforced interim fixed partial dentures. *J Prosthet Dent* 2003; 9: 70-174.
8. Wallman C, Birkhed D. Effect of Chlorhexidine varnish and gel on mutans Streptococci in margins of restorations in adults. *Caries Res* 2002; 6: 06-365.
9. Rudney JD, Staikov RK. Simultaneous measurement of the viability, aggregation, and live and dead adherence of *Streptococcus crista*, *Streptococcus mutans* and *Actinobacillus*

- actinomycetemcomitans* in human saliva in relation to indices of caries, dental plaque and periodontal disease. *Archives of Oral Biology* 2002; 47: 47-59.
10. Ahn S et al. Adhesion of oral streptococci to experimental bracket pellicles from glandular saliva. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2003; 124: 198-205.
 11. Young H, Smith C, Morton D. Comparative *in vitro* evaluation of two provisional restorative materials. *J Prosthet Dent* 2001; 85: 129-132.
 12. Huang Fu-Mei, Chang Y. Cytotoxicity of resin-based restorative materials on human pulp cell cultures. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Radiol Endod* 2002; 94: 361-365.
 13. Fardal O, Turnbull RS. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *J Am Dent Assoc* 1986; 112: 863-869.
 14. Brightman LJ, Terezhalmay GT, Greenwell H, Jacobs M, Enlow DH. The effects of a 0.12% chlorhexidine gluconate mouthrinse on orthodontic patients aged 11 through 17 with established gingivitis. *Am J Orth Dentofac Orthoped* 1991; 100: 324-329.
 15. Keltjens H, Schaeken M, Van der Hoeven J, Hendriks J. Effects of chlorhexidine gel on periodontal health of abutment teeth in patients with overdentures. *Clin Oral Implants Res* 1991; 2: 71-74.
 16. Carranza F, Kenney B. Cirugía periodontal reconstructiva. *Clínicas Odontológicas de Norteamérica*. Interamericana 1991: 3.
 17. Stabholz A, Soskolne A, Friedman M, Sela M. The use of sustained release delivery of chlorhexidine for the maintenance of periodontal pockets: 2-year clinical trial. *J Periodontol* 1991; 62: 429-433.
 18. Albandar J, Gjermo P, Preus H. Chlorhexidine use after two decades of over the counter availability. *J Perodont* 1994; 65: 109-112.
 19. Gjermo P. Chlorhexidine and related compounds. *J Dent Res* 1989; 68: 1602-1608.
 20. Jolkovsky D, Waky M, Newman G, Corgel JO, Madison M, Fleming T, Nachnani S, Nowzari H. Clinical and microbiological effects of subgingival and gingival marginal irrigation with chlorhexidine gluconate. *J Periodontol* 1990; 61: 663-669.
 21. Greenstein G, Berman C, Jaffin R. Chlorhexidine. In adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol* 1986; 57: 370-377.
 22. Alleyn C, O Neal R, Strong S, Scheidt M, Van Dyke T, McPherson J. The effect of chlorhexidine treatment of root surfaces on the attachment of human gingival fibroblasts *in vitro*. *J Periodontol* 1991; 62: 434-438.
 23. Seymour K, Watts T, Addison Y, Johnson B. An *in vivo* study of neutrophil locomotion in relation to periodontal disease status and local chlorhexidine. *Oral Microbiol Immunol* 1990; 5: 95-97.
 24. Wilson M, Bansal g, Stanley A, Newman HN. Susceptibility of oral bacteria to phenoxyetanol and phenoxyethanol/Chlorhexidine combinations. *J of Periodontol* 1990: 536-541.
 25. Newman M, Flemming T, Nachnani S, Rodriguez A, Calcina G, Lee Y, Camargo P, Doherty M, Bakdash B. Irrigation with 0.06% chlorhexidine in naturally occurring gingivitis. II. 6 months microbiological observations. *J Periodontol* 1990; 61: 427-433.
 26. Brex M, Netuschil L, Reicher B, Schreil G. Efficacy of Listerine, Meridol and Chlorhexidine mouthrinses on plaque gingivitis and plaque bacteria vitality. *J Clin Periodontol* 1990; 17: 292-97.
 27. Lang N, Catalanotto F, Knopfli R, Antczak A. Quality-specific taste impairment following the application of chlorhexidine digluconate mouthrinses. *J Clin Periodontol* 1988; 15: 43-48.
 28. Alleyn C, O Neal R, Strong S, Scheidt M, Van Dyke T, McPherson J. The effect of chlorhexidine treatment of root surfaces on the attachment of human gingival fibroblasts *in vitro*. *J Periodontol* 1991; 62: 434-438.
 29. Ellingsen J, Rolla G, Eriksen H. Extrinsic dental stain caused by chlorhexidine and other denaturing agents. *J Clin Periodontol* 1982; 9: 317.
 30. Herrera D, Roldán S, Santacruz I, Santos S, Masdevall M, Sanz M. Differences in antimicrobial activity of four commercial 0.12% Chlorhexidine mouth rinse formulations: an *in vitro* contact test and salivary bacterial counts study. *J Clin Periodontol* 2003; 30: 307-314.
 31. Greenstein G, Berman C, Jaffin R. Chlorhexidine. In: adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol* 1986; 57: 370-377.
 32. Zamany A, Safavi K, Spangberg L. The effect of Chlorhexidine as an endodontic disinfectant. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol, Endod* 2003; 96: 578-581.
 33. Saravia ME, Svirsky JA, Friedman R. Chlorhexidine as an oral hygiene adjunct for cyclosporine-induced gingival hyperplasia. *J Dent Child* 1990: 360-370.
 34. Attin R, Tuna A, Attin T, Brunner E, Noack MJ. Efficacy of differently concentrated Chlorhexidine varnishes in decreasing Mutans streptococci and lactobacilli counts. *Arch Oral Biol* 2003; 48: 503-509.

Dirección para correspondencia:

MC. Sergio Sánchez García

José Vasconcelos Núm. 172 Int. 26-D,

Col. Condesa México D.F. 06140

Correo electrónico: ssanchez@servidor.unam.mx

Tel. 5627-6900 ext. 21077.