

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



**“INCREMENTO EN EL CONTROL DE LA FORMACIÓN DE PLACA
EMPLEANDO CLORHEXIDINA INCORPORADA EN NANOPARTÍCULAS
POLIMÉRICAS: ESTUDIO CLÍNICO Y MICROBIOLÓGICO”**

POR

C.D FÁTIMA DEL ROSARIO GONZÁLEZ HINOJOSA

Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS EN EL ÁREA DE PERIODONCIA
CON IMPLANTOLOGÍA ORAL

Enero, 2018

APROBACIÓN DE TESIS DE MAESTRÍA POR COMITÉ DE TESIS

**INCREMENTO EN EL CONTROL DE LA FORMACIÓN DE PLACA
EMPLEANDO CLORHEXIDINA INCORPORADA EN NANOPARTÍCULAS
POLIMÉRICAS: ESTUDIO CLÍNICO Y MICROBIOLÓGICO**

COMITÉ DE TESIS

Dr. Sergio Arturo Galindo Rodríguez
Director de Tesis

Dra. Gloria Martínez Sandoval
Co-Directora de Tesis

Dr. Jesús Ramón Gavito Escobedo
Asesor interno

Dr. Gustavo Israel Martínez González
Asesor estadístico

APROBACIÓN DE TESIS DE MAESTRÍA POR COMITÉ ACADÉMICO

**INCREMENTO EN EL CONTROL DE LA FORMACIÓN DE PLACA
EMPLEANDO CLORHEXIDINA INCORPORADA EN NANOPARTÍCULAS
POLIMÉRICAS: ESTUDIO CLÍNICO Y MICROBIOLÓGICO**

COMITÉ ACADÉMICO DE MAESTRÍA

Presidente

Secretario

Vocal

DEDICATORIA

A Dios principalmente por caminar de la mano conmigo en cada paso, por recordarme que cada nuevo día es una nueva oportunidad para hacer mejor las cosas y para ser una mejor persona, por haberme permitido llegar hasta la culminación de esta etapa y porque aún en los momentos más difíciles me he sentido acompañada y amada por él. A Dios le agradezco por cada batalla que hemos luchado juntos, por su infinita paciencia, por siempre creer en mí, incluso más de lo que yo lo hago, porque gracias a él, confío en que no hay imposibles. Simplemente le agradezco por cada una de las bendiciones que me ha concedido, por su amor incondicional, y por ser quien siempre ha estado, está y estará siempre para mí.

A mis padres por siempre impulsarme a trabajar duro y soñar en grande, por ser mi motor e inculcarme las ganas de salir adelante, gracias de todo corazón por todos los sacrificios que han hecho por mí, por apoyarme día con día a cumplir mis metas y mis sueños, por siempre hacerme sentir especial y enseñarme valores, por cuidarme y protegerme como lo han hecho desde el primer momento en que llegué a este mundo, gracias por la familia que hemos formado junto con mi hermana, y por la cual me siento parte de algo maravilloso. Este camino no ha sido fácil, gracias por darme esa fuerza cuando he estado a punto de rendirme y sobre todas las cosas les agradezco el gran amor que siempre me han demostrado, todo lo que soy y seré, se los debo a ustedes.

°El éxito es la suma de pequeños esfuerzos repetidos día tras día°.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Sergio Galindo Rodríguez, por haber confiado en mí para el desarrollo de este proyecto, por todos sus consejos, paciencia y apoyo durante la realización de este. Muchas gracias por su dedicación y el tiempo que me dedicó a pesar de sus ocupaciones, por siempre recibirme con una sonrisa y estar siempre dispuesto a enseñarme la manera de mejorar para así poder dar lo mejor de mí.

Al Dr. Jesús Gavito Escobedo, por su tiempo, su asesoría y dedicación para trabajar siempre con calidad. Gracias por el gran maestro que ha sido para mí, por todas sus enseñanzas tanto en lo profesional como en lo personal y por realmente inculcarme esas ganas por salir adelante y sobresalir.

A Carolina Mejorado, por todo su apoyo durante la parte experimental de este proyecto, por su paciencia y gran dedicación para que todo saliera perfecto, muchas gracias por tu tiempo y sobretodo por tu entusiasmo durante este tiempo.

A todos mis compañeros y alumnos que participaron en la realización de esta investigación, muchas gracias por su tiempo y disposición para participar, por haberme ayudado cuando los necesité, a ustedes les debo los resultados obtenidos.

A mis compañeros y amigos de generación, Daniel, Victoria, Mario y Héctor por cada paso que hemos dado juntos dentro de este camino, por su paciencia, sus consejos, sus regaños, y su apoyo en cada momento. Gracias por todos los buenos y malos momentos que hemos vivido y de los cuales hemos aprendido tanto, gracias por las risas y carcajadas que hemos compartido y por la gran familia que hemos formado, sin duda no podría haber seleccionado mejores amigos.

Al CONACYT muchísimas gracias por la beca otorgada, por apoyar la investigación científica y así permitirnos seguir preparándonos día con día para obtener las armas necesarias para salir adelante.

A todas las personas que directa o indirectamente contribuyeron a que fuera posible la realización de este proyecto. Muchas gracias!

ÍNDICE

<u>Sección</u>	<u>Página</u>
AGRADECIMIENTOS	v
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABLAS	x
NOMENCLATURA	xi
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. HIPÓTESIS	2
3. OBJETIVOS	
3.1 Objetivo general	3
3.2 Objetivos específicos	3
4. ANTECEDENTES	
4.1 Biofilm Oral	4
4.1.1 Estructura	5
4.1.2 Exopolisacáridos	6
4.1.3 Adhesión bacteriana	7
4.1.4 Coagregación bacteriana	9
4.2 Composición microbiana del biofilm supragingival y subgingival	12
4.3 Biofilm y enfermedades orales	13
4.3.1 Caries Dental y Enfermedad Periodontal	13
4.3.2 Periimplantitis	14
4.3.3 Candidiasis	15
4.4 Control del Biofilm Oral	15
4.5 Agentes Antimicrobianos	16
4.6 Agentes Anti-placa	18
4.7 Clorhexidina	20

4.7.1	Aplicación de la Clorhexidina en Odontología	21
4.7.2	Sustantividad de la Clorhexidina	24
4.7.3	Efectos secundarios y toxicidad de la Clorhexidina	24
4.8	Sistema de fármacos de liberación local	25
4.8.1	Suministro de fármacos de liberación local en la mucosa oral	27
4.8.4	Aplicaciones clínicas del sistema de fármacos de liberación local	28
4.9	Sistema de Nanopartículas	30
4.9.1	Nanopartículas poliméricas	30
4.9.2	Importancia de la composición de las nanopartículas poliméricas	32
4.9.1	Incorporación de fármacos dentro de nanopartículas	32
4.10	Aplicación de las nanopartículas en Odontología	33
4.10.1	Antimicrobianos	33
4.10.2	Antibióticos	33
4.10.3	Regeneración Tisular en cirugía periapical	34
4.10.5	Apósitos biológicos en heridas	35
5.	MATERIALES Y MÉTODOS	
5.1	Diseño del estudio	37
5.2	Universo de estudio	37
5.3	Tamaño de muestra	37
5.4	Criterios de selección	
5.4.1	Criterios de Inclusión	37
5.4.2	Criterios de Exclusión	38
5.4.3	Criterios de eliminación	38
5.5	Descripción de procedimientos	38
5.5.1	Pruebas de diagnóstico para medir sensibilidad y especificidad	39
5.5.2	Pruebas para medir asociación	39
5.5.3	Índice de placa Turesky-Gilmore-Glickman	39

5.5.4 Índice de Placa O’Leary	39
5.5.5 Índice Gingival	40
5.5.6 Muestra de placa dentobacteriana	42
5.5.7 Formulaciones	42
5.5.8 Diseño y fabricación de formulaciones	43
5.5.9 Caracterización de formulaciones	43
5.5.10 Secuencia de procedimientos realizados	43
5.6 Consideraciones éticas	45
6. RESULTADOS	47
7. DISCUSIÓN	59
8. CONCLUSIONES	63
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
10. ANEXOS	
10.1 Hoja de consentimiento informado	68
10.2 Historia clínica	70
10.3 Formato de Recolección de datos	75
11. RESUMEN BIOGRÁFICO	78

LISTA DE FIGURAS

<u>Figura</u>		<u>Página</u>
1.	Formación y dispersión del biofilm.	5
2.	Estructura química de la Clorhexidina.	20
3.	Secuencia de procedimientos realizados.	45
4.	Evaluación del índice de placa (0 h) según la técnica empleada y grupo de estudio.	51
5.	Evaluación del índice de placa (4 h) según la técnica empleada y grupo de estudio.	52
6.	Evaluación del índice de placa (24 h) según la técnica empleada y grupo de estudio.	53
7.	Comparación de las CFU (4 y 24 h) según el grupo de estudio.	55
8.	Grupo A. Formulaciones de nanopartículas con CHX.	56
9.	Grupo A. Formulaciones de nanopartículas con CHX.	56
10.	Grupo B. Formulaciones de CHX libre.	57
11.	Grupo C. Formulaciones de Agua con PVA.	57
12.	Grupo D. Formulaciones de nanopartículas sin CHX.	58

LISTA DE TABLAS

<u>Tabla</u>	<u>Página</u>
1. Parámetros para evaluar el Índice de placa Turesky-Gilmore-Glickman.	41
2. Parámetros para evaluar el Índice de placa de Løe y Silness.	41
3. Parámetros para evaluar el intervalo del Índice gingival de Løe y Silness.	41
4. Programa de procedimientos realizados de acuerdo al grupo y período de tiempo	44
5. Evaluación del índice de placa (0 h) según la técnica empleada y grupo de estudio.	51
6. Evaluación del índice de placa (4 h) según la técnica empleada y grupo de estudio.	52
7. Evaluación del índice de placa (2p4 h) según la técnica empleada y grupo de estudio.	53
8. Comparación del índice de placa (4 y 24 h) según la técnica empleada y grupo de estudio.	54
9. Comparación de las CFU (4 h) según el grupo de estudio.	55
10. Comparación de las CFU (24 h) según el grupo de estudio.	55

NOMENCLATURA

ASA	American Society of Anesthesiologists
CHX	Clorhexidina
Cols	Colaboradores
pKa	Constante de acidez
Fig.	Figura
IG	Índice Gingival
IP	Índice de placa
>	Mayor que
<	Menor que
µm	Micrómetro
mg	Miligramo
mL	Mililitro
%	Por ciento
Ph	Potencial de Hidrógeno
RAR	Raspado y Alisado radicular
CFU	Unidades formadoras de colonias

RESUMEN

Introducción: La enfermedad periodontal afecta aproximadamente un 15-20% de la población adulta, su principal etiología es la placa dentobacteriana. Se han propuesto los agentes químicos para su control, dentro de los cuales destaca la Clorhexidina (CHX). Su eficacia a largo plazo depende de la duración de la exposición, por lo que se podría recurrir a las nanopartículas poliméricas como opción de vehículo farmacéutico para incrementar su efecto antiplaca en boca. **Objetivo:** El objetivo del presente ensayo clínico fue evaluar y comparar la eficacia de las formulaciones de CHX en solución y CHX encapsulada en nanopartículas poliméricas como agente anti-placa en un período de 24 horas sin control mecánico de la placa, mediante la evaluación clínica y microbiológica. **Materiales y métodos:** Se incluyó un total de 12 pacientes en un rango de edad entre 25 y 33 años, los cuales cumplían con los criterios de inclusión y exclusión establecidos. La población del estudio se dividió en 4 grupos: A: formulación de nanopartículas poliméricas que contenían 0.12% de CHX (experimental), B: formulación de CHX al 0.12% sin encapsulación (control positivo), C: agua con PVA (control negativo) y D: formulación de nanopartículas sin CHX (control negativo). Se evaluó el crecimiento de placa mediante Índice de placa (Turesky-Gilmore-Glickman y O'Leary), Índice gingival (Löe y Silness) a las 0, 4 y 24 horas, así como también se recolectó una muestra de placa supragingival de las superficies bucales de las piezas 16/26 a las 4 y 24 horas para su estudio microbiológico (CFU). **Resultados:** En comparación entre los grupos en el período de 24 horas, hubo un promedio de IP (Turesky-Gilmore-Glickman) de 0.70 para el grupo A, 1.04 (P=0.774), 1.83 (0.049) y 1.87 (P=0.049) para los grupos B, C y D respectivamente. Hubo un promedio de IP (O'Leary) de 41.66 para el grupo A, 56.79 (P=0.473), 81.24 (P=0.017) y 76.33 (P=0.034) para los grupos B, C y D, respectivamente. Hubo un IG promedio de 0.00 para el grupo A, 0.05 (P=0.925), 0.27 (P=0.049) y 0.16 (P=0.308) para los grupos B, C y D respectivamente. **Conclusión:** Se demostró que las nanopartículas poliméricas cargadas con 0.12% de CHX inhiben el recrecimiento de la placa dentobacteriana y reduce los recuentos bacterianos orales, lo que indica que podría recurrirse a las nanopartículas cargadas con CHX como un complemento al control mecánico de la placa en la prevención de placa y gingivitis.

ABSTRACT

Background: Periodontal disease affects approximately 15-20% of the adult population, its main etiology is the plaque. It has been proposed chemical agents for its control, among which it is Chlorhexidine (CHX). Its long-term effectiveness depends on the duration of exposure; therefore polymeric nanoparticles can be useful as a pharmaceutical vehicle option to increase its anti-plaque effect in mouth. **Aim:** The aim of our clinical trial was to assess the efficacy of a dispersion of polymeric nanoparticles containing 0.12% CHX as an anti-plaque agent in comparison with 0.12% CHX without encapsulation by clinical and microbiological evaluations over a period of 24 h without mechanical plaque control. **Materials and methods:** A total of 12 patients over a range between 25 and 35 who fulfilled the established inclusion and exclusion criteria were included. Prophylaxis and plaque control was done at the beginning of the study. The study population was divided into 4 groups: A: polymeric nanoparticles containing 0.12% CHX (experimental), B: 0.12% CHX formulation without encapsulation (positive control), C: water with PVA (negative control) D: nanoparticles without CHX (negative control). Plaque re-growth was assessed with Plaque index (Turesky-Gilmore-Glickman and O'Leary), Gingival index (Løe and Silness) at 0, 4 and 24 h, also supra-gingival plaque samples were collected from buccal surfaces of 16/26 at 4 and 24 h for microbiological study (CFU). **Results:** On comparison between groups in 24 h period, there was a mean PII (Turesky-Gilmore-Glickman) of 0.70 for group A, 1.04 (P=0.774), 1.83 (0.049) and 1.87 (P=0.049) for groups B, C and D respectively. There was a mean PII (O'Leary) of 41.66 for group A, 56.79 (P=0.473), 81.24 (P=0.017) and 76.33 (P=0.034) for groups B, C and D respectively. There was a mean GI of 0.00 for group A, 0.05 (P=0.925), 0.27 (P=0.049) and 0.16 (P=0.308) for groups B, C and D respectively. **Conclusions:** Polymeric nanoparticles containing 0.12% CHX was shown to inhibit plaque re-growth and reduce oral bacterial counts, indicating that it could be used as an adjunct to mechanical plaque control in prevention of plaque and gingivitis.

1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad periodontal es una de las principales causas de pérdida de dientes, afecta aproximadamente a un 15-20% de los adultos en edad media (36-44 años), su principal etiología es la placa dentobacteriana, la cual involucra la adherencia de bacterias y el desarrollo de *biofilms* en las restauraciones dentales o en la superficie dental. Se considera una infección bacteriana anaeróbica, causada por microorganismos del complejo rojo, endotoxinas y otros factores citotóxicos de estas bacterias.

En el tratamiento periodontal, los conceptos actuales se basan en la remoción mecánica del factor local con el fin de eliminar los depósitos bacterianos, placa dentobacteriana, cálculo y cemento contaminado por bacterias y endotoxinas. Desafortunadamente, la eficacia del desbridamiento, se ve afectada por diferentes factores como son la anatomía de los dientes, limitaciones mecánicas, invasión de patógenos periodontales en los tejidos blandos adyacentes y recolonización de las bolsas periodontales, entre otros.

Procedimientos complementarios, como el uso de antibióticos, han sido investigados, sin embargo, un uso excesivo de éstos puede llevar a la producción de organismos resistentes. Esto ha llevado a la búsqueda de enfoques alternativos, como la aplicación de agentes antisépticos, dentro de los cuales destaca la Clorhexidina (CHX) como agente antifúngico y antibacteriano.

La eficacia a largo plazo de la CHX depende de la duración de la exposición, por lo que se podría recurrir a las nanopartículas poliméricas como opción de vehículo farmacéutico para incrementar la sustentividad de dicho agente en boca. Las nanopartículas son coloides que poseen una estructura polimérica matricial que puede atrapar, encapsular o adsorber fármacos. En estos coloides pueden incorporarse diferentes tipos de fármacos y orientarlos hacia un tejido o una célula diana. La realización de este estudio tiene como finalidad probar a las nanopartículas poliméricas clínicamente y microbiológicamente como vehículos de liberación de CHX para incrementar su efecto anti-placa durante un período de 24 horas manteniendo un régimen de nula higiene oral.

2. HIPÓTESIS

Si la utilización de nanopartículas poliméricas como vehículo mejora el potencial de la clorhexidina (en comparación con la clorhexidina no encapsulada), en pacientes sanos en un período de 24 horas, entonces su efecto anti-placa se controlará adecuadamente durante este periodo.

3. OBJETIVOS

3.1 GENERAL:

Evaluar la eficacia de las formulaciones de clorhexidina en solución y clorhexidina encapsulada en nanopartículas poliméricas como agentes anti-placa en un período de 24 horas de nula higiene oral, mediante la evaluación clínica y microbiológica.

3.2 ESPECÍFICOS:

3.2.1 Preparar, por medio del método de nanoprecipitación, nanopartículas de 200 nm con clorhexidina incorporada.

3.2.2 Caracterizar las formulaciones de nanopartículas en función de su tamaño, índice de polidispersidad y porcentaje de encapsulación.

3.2.3 Determinar el efecto anti-placa y antiinflamatorio de la formulación de CHX encapsulada en nanopartículas en comparación con la CHX en solución, agua con PVA y formulación de nanopartículas sin CHX, a través de la obtención del índice de placa, índice gingival y análisis microbiológico.

4. ANTECEDENTES

4.1 Biofilm oral

Las comunidades microbianas dentro de la cavidad oral son polimicrobianas y existen principalmente como *biofilms* en las superficies dentales, prótesis y mucosas. Éstos *biofilms* de bacterias orales y levaduras pueden causar diversas enfermedades localizadas dentro de la cavidad oral, incluyendo caries dental, enfermedad periodontal, candidiasis, infecciones endodontales u ortodónticas, así como infecciones periimplantarias (Allaker R, 2010).

La microflora oral residente consiste en una gran diversidad de microorganismos, incluyendo virus, bacterias, hongos, microplasma y, en algunos casos, protozoarios. Las bacterias representan el componente principal de la microflora oral, y mediante el uso de tecnología de reacción en cadena de polimerasa, se estima que la microflora oral incluye arriba de 1000 especies bacterianas (Paster et al., 2001) (Baehni y Takeuchi, 2003) (Allaker R y Memarzadeg K, 2014)

A raíz de la colonización inicial (Fig. 1), las bacterias se multiplican y forman microcolonias, siempre y cuando las condiciones ecológicas sean las adecuadas. Si estas microcolonias no son incomodadas, éstas continúan proliferando hasta ser confluentes. Esto resultará eventualmente en el desarrollo de un *biofilm* en donde los microorganismos se asocian íntimamente entre ellos, embebidos en una matriz de exopolímeros de origen bacteriano y salivario. Conforme la masa de placa incrementa, la composición bacteriana en el *biofilm* cambia. Las condiciones ambientales dictarán la composición de la comunidad microbiana (Baehni y Takeuchi, 2003).

En fisuras y superficies proximales, la microbiota consistirá predominantemente en Gram-positivos, anaerobios facultativos y especies ácido-tolerantes. En el surco gingival, la composición de la placa se desplaza a una microflora más compleja, en la cual predominan especies anaerobias obligadas Gram-negativas. Por lo tanto, al hablar de placa dental, nos referimos a un *biofilm* adherente, el cual se forma sobre los tejidos intraorales blandos y duros, lo que representa el principal agente etiológico de la caries y de las enfermedades periodontales.

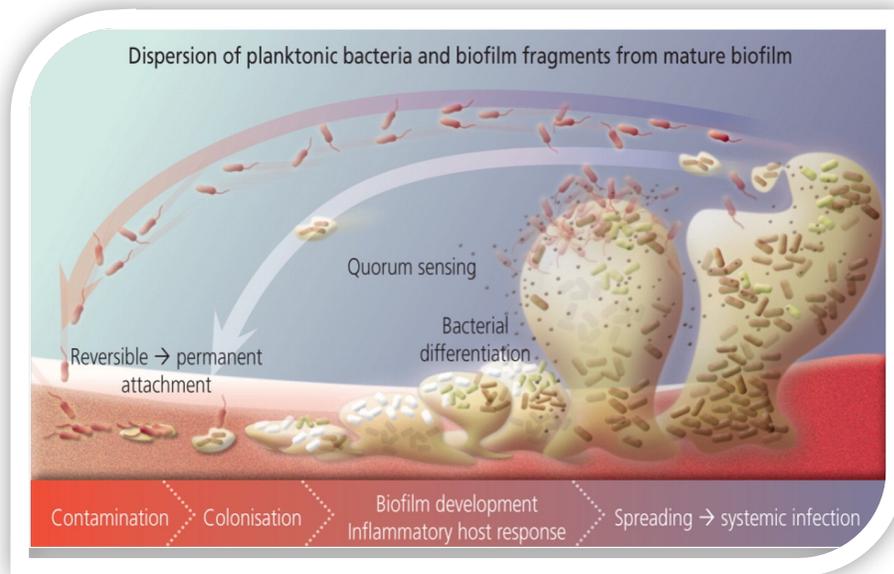


Figura 1. Formación y dispersión del *biofilm*.
(Adaptación de Forier K *et al.*, 2014)

La supervivencia de los microorganismos dentro de la cavidad oral depende de su capacidad para adherirse a las superficies y posteriormente a desarrollarse en un *biofilm*, un proceso influenciado por las propiedades físico químicas de la superficie subyacente (Hannig y Hannig, 2009). En la superficie dental, los colonizadores iniciales se adhieren a la película adherida, una capa proteica aceosa salivaria derivada de la dieta, la cual puede influir posteriormente en la colonización microbiana. Esta película media las interacciones entre las superficies dentales sólidas, fluidos orales y microorganismos (Allaker R, 2010).

El objetivo en la prevención de caries y enfermedades periodontales es mantener un equilibrio entre el huésped y la microflora residente. Las estrategias pueden ayudar a la reducción de la masa total del *biofilm* o los niveles de grupos patógenos específicos. Existen enfoques eficaces de prevención, los cuales incluyen la eliminación mecánica de la placa, el uso de los antimicrobianos y, para la caries, el control de la ingesta de azúcar y productos adicionados con fluoruro (Baehni y Takeuchi, 2003).

4.1.1 Estructura

Los *biofilms* se componen de microcolonias de células bacterianas (15-20% en volumen) que no se encuentran distribuidas al azar en una matriz conformada o glicocálix (75-80% en volumen). Estudios anteriores de *biofilms* gruesos (> 5 mm) que

se desarrollan en plantas de tratamiento de aguas residuales indicaron la presencia de huecos o canales de agua entre las microcolonias presentes en éstos *biofilms*. Los canales de agua permiten el paso de nutrientes y otros agentes a lo largo del *biofilm* actuando como un "sistema circulatorio" primitivo. Los nutrientes hacen contacto con las microcolonias sésiles por difusión desde el canal de agua a la microcolonia, en lugar de hacerlo, desde la matriz (Socransky y Haffajee, 2002).

Las microcolonias se producen en diferentes formas en los *biofilms*, las cuales se rigen por las fuerzas de corte debido al paso de flúidos hacia el *biofilm*. Las microcolonias individuales pueden constar de una sola especie, pero con mayor frecuencia se componen de varias especies diferentes (Socransky y Haffajee, 2002).

4.1.2 Exopolisacáridos

La mayor parte del *biofilm* es la matriz, la cual se compone predominantemente de agua y solutos acuosos. El material "seco" es una mezcla de exopolisacáridos, proteínas, sales y material celular. Los exopolisacáridos, los cuales son producidos por las bacterias en el *biofilm*, son los principales componentes del *biofilm*, el cual se compone de un 50-95% del peso seco. Los exopolisacáridos desempeñan un papel importante en el mantenimiento de la integridad del *biofilm* y confieren otras propiedades benéficas. Las bacterias pueden producir varios polisacáridos diferentes dependiendo del estado fisiológico de éstas bacterias y la presencia de sustratos específicos. Todos los *biofilms* contienen exopolisacáridos, aunque pueden variar notablemente en cuanto a la composición bacteriana y la composición de la matriz extracelular. Algunos exopolisacáridos son neutrales, tales como el de *Streptococcus mutans*, mientras que otros se encuentran altamente cargados por macromoléculas polianiónicas. Una carga iónica y concentraciones de exopolisacáridos diferentes alterarán la conformación y pueden causar rápidos cambios en la red de gel tridimensional de polisacáridos. También se pueden producir efectos similares mediante la provisión de sacarosa u otros azúcares. Los exopolisacáridos pueden ser degradados y utilizados por las bacterias dentro del *biofilm*. Una característica distintiva de los *biofilms* orales es que muchos de los microorganismos pueden tanto sintetizar, como degradar a los exopolisacáridos (Socransky y Haffajee, 2002).

Los exopolisacáridos pueden presentarse de dos formas: ordenadas o desordenadas. En altas temperaturas, y a menudo a concentraciones iónicas muy bajas, la forma desordenada predomina, aunque pocos *biofilms* exhiben ausencia total de una estructura ordenada. Las matrices biofilmicas son estructuras complejas que contienen masas de fibras de diferente tamaño, estructura, composición y rigidez, que interactúan unas con otras, con células y con matrices superficiales (Socransky y Haffajee, 2002).

Existe una amplia gama de posibles conformaciones, flexibilidades y configuraciones entre las diferentes clases de polisacáridos. La composición química y la estructura terciaria de los exopolisacáridos determina una adhesión eficaz. También afecta la naturaleza hidrofílica o hidrofóbica de la superficie. Los exopolisacáridos ayudan en la protección de las células microbianas dentro del *biofilm*, al evitar la desecación y el ataque de agentes nocivos. Además, pueden unirse a nutrientes esenciales, tales como cationes, con el fin de crear un ambiente local nutricionalmente rico, favoreciendo a microorganismos específicos. La matriz de exopolisacáridos también puede actuar como un amortiguador y ayudar a retener enzimas extracelulares (y sus sustratos), así como a mejorar la utilización de sustratos por las células bacterianas. Los exopolisacáridos son eficaces en el mantenimiento de la estructura del *biofilm*, a través de la formación de una red reticulada de macromoléculas lineales. En la mayoría de los *biofilms* mixtos, se encuentran numerosos tipos de polisacáridos, lo que complica la estructura de la red. La cantidad de exopolisacáridos en un *biofilm* no refleja necesariamente la proporción de las especies bacterianas que lo producen. La pérdida o eliminación de un tipo de exopolisacárido puede tener un efecto más drástico en la matriz de un *biofilm* que en otro, incluso si el polímero eliminado no es dominante (Socransky y Haffajee, 2002).

4.1.3 Adhesión bacteriana

La característica clave de un *biofilm*, es que las microcolonias dentro de éste, se adhieran a una superficie sólida, por lo tanto, la adhesión a una superficie es el primer paso en el desarrollo de un *biofilm*. En la boca, las bacterias pueden unirse a una amplia variedad de superficies, incluyendo a los tejidos blandos orales, los dientes y a otras bacterias. Muchas especies bacterianas poseen superficies estructurales, tales como

fimbrias y fimbrillas que ayudan a su adhesión a diferentes superficies. Las fimbrias son proteínicos similares a un cabello de 2-8 nm de diámetro, compuestos por subunidades proteicas llamadas fimbrillas. Algunas fimbrias también transportan adhesinas. Las fimbrias han sido detectadas en gran número de especies orales, incluyendo *Actinomyces naeslundii*, *Porphyromonas gingivalis*, y algunas cepas de estreptococos tales como *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus parasanguis* y miembros del grupo *Streptococcus mitis*. Las fimbrillas también pueden encontrarse en gran número de especies bacterianas orales, son morfológicamente diferentes y de menor tamaño que las fimbrias, y pueden estar distribuidas densamente o escasamente en la superficie celular. Las especies orales que poseen fimbrillas incluyen *Streptococcus salivarius*, el grupo de *Streptococcus mitis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* y *Streptococcus mutans* (Socransky y Haffajee, 2002).

Una de las especies colonizadoras más importantes de las superficies dentales es *A. naeslundii*. Esta especie, junto con otros *Actinomyces*, comprenden un segmento importante de la microbiota unida al diente y puede ser considerada como parte de una estructura de tipo “andamiaje” de la placa dental (Socransky y Haffajee, 2002).

Las fimbrias mejor caracterizadas de las bacterias orales Gram-positivas son aquellas de *A. naeslundii*. Estas miden aproximadamente 3-4 μm de ancho y <1.5 μm de largo. Se han identificado dos tipos principales de fimbrias, sin embargo, no pueden ser distinguidas ultraestructuralmente una de la otra. Las fimbrias de Tipo 1, se asocian con la adherencia de *A. naeslundii* a las proteínas ricas en ácido salivario y a la estaterina depositada dentro de la película salival; el Tipo 2, se asocia con la unión de *A. naeslundii* a los receptores glicosídicos en las células epiteliales, leucocitos polimorfonucleares y estreptococos orales. Esta lectina como mecanismo de adhesión a estos sustratos es inhibida por galactosa y N-acetil galactosamina (Socransky y Haffajee, 2002).

Las fimbrias mejor caracterizadas de las bacterias orales Gram-negativas son aquellas de *P. gingivalis*. Las fimbrias parecen ser los principales factores determinantes de los mediadores de adherencia de *P. gingivalis*. El polipéptido de la fimbrilla se une a proteínas ricas en prolina, estaterina, lactoferrina, células epiteliales orales,

estreptococos orales, *A. naeslundii*, fibrinógeno y fibronectina. Las fimbrias de *P. gingivalis* tienen propiedades quimiotácticas y demuestran la inducción de citoquinas, ambas necesarias para que *P. Gingivalis* pueda invadir las células epiteliales y endoteliales (Socransky y Haffajee, 2002).

Son de importancia distintos factores de fimbrias o pilis en la unión inicial de otras especies bacterianas. El movimiento generador de fuerza se cree que es un primer paso importante en la formación de biopelículas por las bacterias Gram-negativas tales como *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* y *V. cholerae* (Socransky y Haffajee, 2002).

Aunque las fimbrias o pilis son importantes para la unión de ciertas especies a las superficies sólidas, no son los únicos medios de fijación inicial. Las proteínas de la superficie celular de *S. epidermidis* y *C. crescentus* son importantes en la unión inicial de estas especies a las superficies sólidas, así como también, una adhesina capsular; polisacárido de adhesión de *S. epidermidis*, también pueden regular la unión de esta especie a las superficies sólidas. Estudios recientes han sugerido que las adhesinas que intervienen en la unión inicial a las superficies sólidas son en muchos casos diferentes a las moléculas implicadas en la formación de una estructura de múltiples capas. Mientras que un conjunto de proteínas regula la unión de *S. epidermidis* a las superficies sólidas, un segundo grupo de proteínas o polisacáridos regula la unión célula a célula en la construcción de una estructura tridimensional. Del mismo modo, *E. coli* se adhiere a las superficies por medio de fimbrias Tipo 1, sin embargo, el desarrollo de una estructura tridimensional compleja parece ser a consecuencia de la producción de un exopolisacárido, el ácido colánico (Socransky y Haffajee, 2002).

4.1.4 Coagregación bacteriana

La asociación de bacterias dentro de los *biofilms* mixtos no es al azar, se ha demostrado que existen asociaciones específicas entre las bacterias en los *biofilms* dentales. Socransky y cols examinaron más de 13,000 muestras de placa subgingival de 185 sujetos adultos y demostraron la presencia de grupos microbianos específicos dentro de la placa dental. Fueron reconocidos seis grupos de especies bacterianas estrechamente asociadas. Estos incluyen los *Actinomyces*, un complejo amarillo

compuesta por miembros del género *Streptococcus*, un complejo verde que consiste en especies *Capnocytophaga*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens* y *Campylobacter concisus* y un complejo púrpura compuesto por *Veillonella parvula* y *Actinomyces odontolyticus*. Estos grupos de especies son los primeros colonizadores de la superficie dental, y su crecimiento por lo general precede a la multiplicación de los complejos naranja y rojo, predominantemente de Gram-negativos (Socransky y Haffajee, 2002).

Es muy poco probable encontrar especies del complejo rojo en la ausencia de los miembros del complejo de color naranja. Por el contrario, los miembros de los complejos de *Actinomyces*, complejos amarillo, verde y morado se observan a menudo sin que los miembros del complejo de color rojo o incluso los complejos rojo y naranja estén presentes.

Estos estudios de bacterias orales han indicado que el reconocimiento de célula a célula no es al azar, sino que cada cepa tiene un conjunto definido de patrones de coagregación. Además, adhesinas funcionalmente similares encontradas en las bacterias de diferentes géneros pueden reconocer los mismos receptores en otras células bacterianas. La mayoría de las bacterias orales humanas se adhieren a otras bacterias orales. Esta adherencia de célula a célula se conoce como coagregación (Socransky y Haffajee, 2002).

El primer paso en la formación de un *biofilm* es la fijación de un organismo a una superficie sólida. En la placa supragingival, la película adquirida que se forma sobre la superficie de un diente limpio dentro de unas pocas horas es derivada de la saliva y del fluido crevicular gingival. Este "acondicionamiento" proporciona varios receptores para conseguir la unión de las bacterias orales, tales como proteínas ácidas ricas en prolina, que se unen a *S. gordonii* y *A. naeslundii* con fimbrias Tipo 1. Otras especies que se unen a la película adquirida incluyen *Fusobacterium* a través de estaterina y especies de *Veillonella* y *S. mutans* a través de glucanos catalizados por glicosiltransferasas en presencia de sacarosa (Socransky y Haffajee, 2002).

Los estreptococos componen el 47-82% de la microbiota que coloniza la superficie de un diente limpio. La mayoría de *Streptococcus viridans* se adhieren a la hidroxiapatita recubierta de saliva, también ciertas cepas de *S. gordonii*, a diferencia de otras especies orales, muestran un alto grado de coagregación entre las cepas que pueden contribuir a su dominio como los colonizadores primarios. Esto en acuerdo con la descripción de un "complejo amarillo " que consiste en especies de *Streptococcus*, el cual parece ser un complejo de colonización temprana. Con el tiempo, los *biofilms* orales se hacen más complejos y están unidos o sustituidos por otras especies. La coagregación entre *Actinomyces* y *Veillonella* también se ha demostrado, a pesar de que las moléculas que regulan esta asociación son desconocidas. La coagregación entre *Capnocytophaga ochracea* y especies de *Streptococcus* depende de receptores diferentes de aquellos responsables de la coagregación entre los *Streptococcus*. Es interesante que los patrones *in vitro* de coagregación son similares a las relaciones entre *Actinomyces*, complejo amarillo, púrpura y verde encontrados *in vivo* (Socransky y Haffajee, 2002).

Las especies Gram-negativas más prominentes numéricamente en el *biofilm* dental, en una etapa posterior, están dominadas por *Fusobacterium nucleatum*. Esta especie coagrega con todas las bacterias orales ensayadas hasta ahora *in vitro*, incluyendo cepas de *P. gingivalis*, *Treponema denticola*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, especies de *Eubacterium*, *Selenomonas* y especies de *Actinomyces*; *F. nucleatum* también es capaz de unirse a la estaterina, una fosfoproteína encontrada en la película adquirida. La capacidad de esta especie para coagregar con varias especies diferentes, así como para unirse a la película salival pueden explicar su dominio en los *biofilms* dentales más complejos. Los complejos rojo y naranja contienen muchas de estas especies coagregantes como *F. nucleatum*, *P. intermedia*, *Eubacterium*, *P. gingivalis* y *T. denticola*.

Los *estreptococos* y *F. nucleatum* proporcionan ejemplos de similitud funcional. Siete especies de diferentes géneros reconocen los receptores en *S. oralis*, mientras que diez especies diferentes reconocen la misma adhesión sobre *F. nucleatum*. Es poco probable que estos dos ejemplos sean las únicas que existen en *biofilms* dentales. Por lo

tanto, la observación tanto *in vivo* como *in vitro* de la coagregación de muchas bacterias orales no es aleatoria podría explicarse por la similitud funcional de moléculas, asociadas con la coagregación encontrada en la superficie de una amplia gama de bacterias (Socransky y Haffajee, 2002).

4.2 Composición microbiana del Biofilm Supragingival y Subgingival

Las comunidades bacterianas iniciales encontradas dentro del *biofilm* de la placa supragingival se encuentran relativamente en menor diversidad en comparación con aquellas presentes en comunidades maduras, tanto de placa supragingival, como subgingival. Los colonizadores primarios incluyen: *S. oralis*, *S. sanguis* y *S. mitis*. Posteriormente, se coagregan las especies Gram-negativas predominantemente, las cuales incluyen: *E. corrodens*, *V. atypica* y *P. loeschei*. Es común encontrar puentes de coagregación entre estos colonizadores primarios y *F. nucleatum*, quien posteriormente se coagrega con numerosos colonizadores tardíos. Los colonizadores tardíos incluyen: *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, *T. denticola* y *P. gingivalis* (Allaker R, 2010).

Las interacciones entre las bacterias orales son esenciales para el desarrollo y la maduración del *biofilm*. Tales interacciones ocurren en varios niveles e incluyen contacto físico, intercambio metabólico, comunicación molecular e intercambio de material genético. Una característica clave de la interacción es la capacidad de coagregación (Kolenbrander, 1988), la cual está regulada por adhesinas y receptores específicos que se producen en las superficies de tipos celulares genéticamente distintos.

Las bacterias asociadas con enfermedades periodontales residen dentro de *biofilms* tanto por encima como por debajo del margen gingival. El *biofilm* supragingival se une a la superficie del diente y predominan las especies de *Actinomyces* en la mayoría de las muestras de placa.

Las especies de *Actinomyces* predominan tanto en la salud como en la enfermedad, independientemente del método de enumeración. La naturaleza de los *biofilms* subgingivales es más compleja cuando se asocia tanto un *biofilm* dental como de tejidos separados por células poco consolidadas o planctónicas. Al igual que en la

placa supragingival, las especies dominantes en la placa subgingival son los *Actinomyces*, pero en recuentos más altos, las proporciones y la prevalencia de las especies de los complejos rojo y naranja han sido encontradas en las muestras de sujetos con periodontitis (Socransky y Haffajee, 2002).

A medida que uno se mueve desde el ambiente supragingival al subgingival y de la salud a la enfermedad, hay una disminución significativa en las especies de *Actinomyces* y un aumento en la proporción de miembros del complejo rojo (*B. forsythus*, *P. gingivalis* y *T. denticola*). El conocimiento de las diferencias entre la salud y la enfermedad debe ayudar al terapeuta a definir los puntos finales microbianos en el tratamiento de las infecciones periodontales (Socransky y Haffajee, 2002).

4.3 Biofilm y Enfermedades Orales

4.3.1 Caries Dental y Enfermedad Periodontal

La caries dental es una condición destructiva de los tejidos duros dentales que puede progresar a una inflamación y muerte del tejido pulpar vital, y de no tratarse, puede conducir a la propagación de una infección periapical. El proceso de la enfermedad involucra bacterias acidógenas en la placa dentobacteriana, incluyendo *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* y *Lactobacillus* (Hardie, 1992), mientras que la enfermedad periodontal puede involucrar tanto a tejidos duros como a tejidos blandos, y es iniciada por componentes de la placa dentobacteriana que se desarrolla en las superficies radiculares adyacentes a los tejidos blandos del periodonto de soporte. La enfermedad periodontal puede limitarse a la encía (gingivitis) o extenderse a las estructuras de soporte más profundas, iniciando una destrucción del ligamento periodontal y el hueso alveolar (periodontitis). Esta pérdida de inserción, involucra la formación de una bolsa periodontal, la cual en última instancia puede conducir al aflojamiento y pérdida de los dientes (Allaker R, 2010). *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* y *Treponema denticola* son los patógenos mayormente asociados con la enfermedad periodontal avanzada.

La prevención de la caries dental, y las enfermedades periodontales, se encuentra tradicionalmente dirigida al control mecánico o no específico del *biofilm* de la placa, por

ser éste el factor desencadenante. Sin embargo, la respuesta individual del huésped y otros factores pueden influenciar en la iniciación y progresión de la enfermedad (Allaker R y Memarzadeh K, 2014).

El uso de agentes antimicrobianos representa un valioso complemento para el control mecánico de la placa (Baehni y Takeuchi, 2003). Tales estrategias idealmente deben prevenir la formación de *biofilms* en la placa sin afectar el equilibrio biológico dentro de la cavidad oral, que se encuentra habitada por más de 1000 especies diferentes de bacterias con 10^8 a 10^9 bacterias por ml de saliva ó mg de placa dental. El uso de nanotecnología ofrece la posibilidad de controlar la formación de éste y otros *biofilms* orales a través del uso de nanopartículas con capacidades biocidas, anti-adhesivas y de entrega (Allaker R y Memarzadeh K, 2014).

4.3.2 Periimplantitis

Los implantes dentales son utilizados actualmente con el fin de reemplazar dientes perdidos, y la mayoría se integran con el hueso sin complicaciones. Pequeñas cantidades de placa, compuestas principalmente de *Streptococcus* y *Actinomyces*, se acumulan en los implantes exitosos. Sin embargo, en la periimplantitis, predominan los microorganismos Gram-negativos anaeróbicos (Allaker y Hardie, 1998). Dicha infección es causa clave del fracaso de un implante dental, en la cual los cambios inflamatorios inducidos a los tejidos blandos que rodean los implantes conducen a una destrucción progresiva del hueso de soporte (periimplantitis, se observa en hasta un 43% de los individuos tratados con implantes) o tejidos blandos (mucositis, se observan en un 50% de los individuos tratados con implantes) (Zitzmann y Berglundh, 2008).

Las formas actuales de tratamiento a menudo son inadecuadas y pueden dar lugar a una infección crónica que requiera la eliminación del implante y procedimientos de resección y regeneración en un intento por restaurar y remodelar el soporte del implante (Zitzmann y Berglundh, 2008). La incorporación de nanopartículas en los recubrimientos de implantes puede ofrecer funcionalidades osteoconductoras y antimicrobianas útiles para evitar el fracaso de los implantes dentales (Allaker R, 2010).

4.3.3 Candidiasis

La formación de *biofilms* también es un evento crítico en el desarrollo de la candidiasis, incluida la estomatitis protésica, que puede afectar hasta un 65% de los individuos desdentados (Chandra et al., 2001). A pesar del uso de medicamentos antimicóticos para tratar la estomatitis protésica, la infección a menudo puede volver a establecerse. Chandra *et al.* (2001), utilizando un modelo de *biofilm* de poli (metilmetacrilato) (PMMA), demostraron que los *biofilms* de *C. albicans* son altamente resistentes a los agentes antifúngicos actualmente utilizados. También se demostró que la resistencia a los fármacos se desarrolla con el tiempo y se correlaciona con la maduración del *biofilm* (Allaker R, 2010).

4.4 Control del Biofilm Oral

Los problemas que influyen la captación y penetración de agentes antimicrobianos en un *biofilm* son considerados clave en la administración de productos terapéuticos (Stewart, 2003). Esto es de particular importancia dentro de la cavidad oral cuando estos agentes deben llegar a sitios poco accesibles o a través de placa dentobacteriana en el esmalte. Por lo tanto, se sigue teniendo interés en el desarrollo de medidas de control de placa que requieran de un mínimo compromiso por parte del paciente y de la intervención de un profesional de salud. En éste contexto, las nanopartículas antimicrobianas pueden ser de valor particular si se retienen en las superficies dentales interproximales y por debajo del margen de la encía (Allaker R y Memarzadeh K, 2014).

El potencial anti-caries del fluoruro y otros agentes antimicrobianos/anti-placa, los cuales principalmente se venden en presentación de enjuague bucal y pastas, han recibido la mayor atención hasta la fecha (Baehni y Takeuchi, 2003). El potencial de las nanopartículas como constituyente de agentes tópicos para controlar el *biofilm* oral a través de sus propiedades biocidas o antiadherentes actualmente se encuentra emergiendo como un área digna de consideración (Allaker R, 2010).

Los estudios de Robinson y colaboradores utilizando el modelo "*Leeds in situ*", un dispositivo para generar placa dental *in situ* sobre una superficie de esmalte, ha

ayudado en la evaluación de nuevos agentes antimicrobianos y tienen en cuenta la composición microbiana muy compleja y la arquitectura del *biofilm* de la placa (Watson et al., 2005). El uso de tales *biofilms* intactos en las superficies dentales naturales sería de particular valor para el estudio de la penetración de nanopartículas y de iones liberados *in situ*. El uso de este modelo ha demostrado que la placa contiene huecos y canales, que a veces se extienden completamente a través de la biomasa hacia el esmalte subyacente (Wood et al., 2000). Dichos canales pueden tener una influencia considerable en la transferencia de nanopartículas a través de *biofilms*. Por lo tanto, las principales consideraciones son las características fisicoquímicas de las nanopartículas particulares utilizadas, incluida la carga superficial y el grado de hidrofobicidad, la relación superficie-área-masa del *biofilm* de placa y la capacidad de las partículas para absorber o ser absorbido en la superficie del *biofilm*. En este contexto, las nanopartículas son potencialmente útiles debido a que es posible alterar su carga superficial, hidrofobicidad y otras características físicas y químicas (Nel et al., 2009).

4.5 Agentes Antimicrobianos

El uso de agentes antimicrobianos para prevenir las enfermedades orales se conoce desde hace siglos. Después de sus observaciones clásicas sobre la naturaleza infecciosa de la caries dental, W. D. Miller se convirtió en un activo promotor de antisépticos en la prevención de la caries dental. En la década de 1960, con el progreso en la comprensión de la etiología bacteriana de la caries y de las enfermedades periodontales, el interés por los antimicrobianos recobró impulso. En una serie de estudios, Løe y cols demostraron durante un período libre de higiene durante 21 días, que los enjuagues al 0.2% de clorhexidina en boca, dos veces al día, inhibía completamente el desarrollo de la placa y la gingivitis. Desde entonces una variedad de compuestos químicos han sido objeto de ensayos clínicos y experimentales controlados. Al día de hoy, el agente antimicrobiano más efectivo para el control de placa ha sido la clorhexidina (CHX) (Baehni y Takeuchi, 2003).

De acuerdo con Andersen y cols (1995), la prevención de las enfermedades se compone de varias etapas. La prevención primaria protege a los individuos contra agentes patógenos mediante la colocación de barreras entre un agente y un huésped.

Está dirigido a mantener una población saludable antes de que se produzca la enfermedad o lesión. La prevención secundaria limita el impacto de un proceso de la enfermedad, una vez que un agente y un huésped han interactuado de manera que un paciente pueda restaurar su salud. Su objetivo es curar la enfermedad en una etapa temprana. La prevención terciaria tiene por objeto la rehabilitación de un individuo que tiene alguna limitación funcional con el fin de limitar el alcance de la discapacidad. Por lo tanto, dependiendo del objetivo, se pueden considerar diferentes enfoques para el uso de agentes químicos para la prevención de enfermedades orales (Baehni y Takeuchi, 2003).

Las terapias periodontales, tienen un efecto benéfico en términos de alentar o detener la progresión de la enfermedad periodontal y mantener el periodonto.

Las terapias periodontales antimicrobianas en el presente, pueden agruparse en 3 categorías: aquellas que físicamente remueven microorganismos, frecuentemente llamadas desbridamiento mecánico, aquellas que intentan matar o afectar el metabolismo del organismo, tales como los antisépticos y antibióticos, y, por último, las que afectan el ambiente de los organismos.

El desarrollo de modelos de biopelículas orales *in vitro* representa un importante paso en el estudio y pruebas de los agentes antimicrobianos orales. Estos modelos se han utilizado para examinar los efectos de los agentes químicos sobre la formación y desarrollo de la placa, así como sobre los *biofilms* existentes. Con el uso de estos modelos *in vitro*, ha sido posible demostrar que las bacterias poseen diferentes propiedades en el *biofilm* en comparación con las condiciones planctónicas. Se ha demostrado, por ejemplo, que la susceptibilidad de los microorganismos a los antimicrobianos se reduce considerablemente en *biofilms*. También se ha mostrado, en *biofilms* establecidos, que el efecto de los agentes antimicrobianos en la vitalidad bacteriana se limita a las capas más superficiales. Las sustancias químicas pueden ser mejores en la prevención de la colonización bacteriana y el desarrollo de biopelículas. La CHX ha demostrado ser eficaz en la reducción de la viabilidad del *biofilm* cuando se aplica a la superficie antes de la exposición a las bacterias y posteriormente en el *biofilm* (Baehni y Takeuchi, 2003).

4.6 Agentes Anti-Placa

Los agentes clasificados como anti-placa generalmente funcionan mediante la remoción o interrupción de un *biofilm*; o bien mediante la prevención de la formación de un nuevo *biofilm*. Sin embargo, estos agentes no necesariamente matan a los microorganismos de un *biofilm*, como lo hacen los agentes antimicrobianos, los cuales inhiben el crecimiento o dan muerte a los microorganismos (Allaker R y Memarzadeh K, 2014).

Los agentes anti-placa se definen como químicos, los cuales tienen un efecto en la placa suficiente para el beneficio de gingivitis y/o caries. Conceptualmente, los agentes antiplaca pueden tener diferentes niveles de intervención: 1) interferir con la adhesión de las bacterias orales a superficies y prevenir la formación del *biofilm*, 2) interferir con los mecanismos de coagregación o para afectar la vitalidad bacteriana mediante la prevención del crecimiento de colonias, y 3) eliminar o interrumpir los *biofilms* existentes (Baehni y Takeuchi, 2003).

Los efectos del fluoruro en la actividad antibacterianas contra bacterias cariogénicas son bien conocidos. Hay pruebas de que el fluoruro puede interferir con la actividad enzimática y reducir la producción de ácido por las bacterias orales, inhibiendo de este modo el enriquecimiento de especies cariogénicas dentro de la placa dental. El fluoruro también tiene propiedades anti-placa, aunque los mecanismos no se conocen del todo. El fluoruro de amina y el fluoruro de estaño poseen actividad bactericida contra las bacterias orales. Además, el fluoruro de amina en una formulación de gel se ha demostrado que inhibe el crecimiento de las poblaciones bacterianas encontradas en la placa subgingival. Weiger y cols (1998), evaluaron el efecto de una amina/fluoruro de estaño en enjuague bucal, en la formación *in vivo* de placa. Embleton y cols (2001), utilizando un modelo *in vitro*, demostraron que los fluoruros de estaño y un fluoruro de amina, Steraflur, inhibieron la adherencia del *Streptococcus sanguis* al vidrio acondicionado, ya sea con saliva o albúmina de suero bovino. La solución que se encontró es que tenía un efecto antibacteriano corto, pero sin una clara actividad anti-adhesiva (Baehni y Takeuchi, 2003).

La CHX es uno de los compuestos más probados y sus propiedades anti-placa son bien conocidas. Las moléculas de CHX inicialmente son adsorbidas por la superficie del esmalte o la película salival de manera que se inhibe la adhesión bacteriana. La CHX también se sabe que es un agente bacteriostático contra la mayoría de las bacterias orales. En un modelo de *biofilm* supragingival, la CHX ha demostrado inhibir el crecimiento bacteriano y la formación de biopelículas. En altas concentraciones, es bactericida y actúa como un detergente al dañar la membrana celular bacteriana (Baehni y Takeuchi, 2003). También se han desarrollado barnices para la aplicación local de CHX en la superficie de los dientes (Marthijs y Adriaens, 2002). Las propiedades antibacterianas de estos productos se han demostrado *in vitro*, así como *in vivo* (Baehni y Takeuchi, 2003) (Veksler et al, 1991).

Guggenheim y cols (2001) y Shapiro y cols (2002), utilizando un modelo *in vitro* de *biofilm* supragingival, informaron que el triclosán reduce la carga microbiana total. Varios ensayos clínicos han demostrado que los dentífricos que contienen triclosán y citrato de zinc reducen significativamente la placa y las puntuaciones gingivales. Otros estudios han confirmado el efecto inhibitor del triclosán en el desarrollo de la placa. Se encontró que la combinación del fluoruro de amina-triclosán tiene propiedades antibacterianas y propiedades para reducir la placa. El triclosán también ha demostrado que reduce el número de bacterias anaerobias y especies de Actinomyces, además provoca un retraso en la maduración de la placa (Mali *et al*, 2012).

Años atrás se realizó un estudio donde se desarrolló un modelo de *biofilm* polimicrobiano incluyendo cinco especies bacterianas diferentes más una levadura y se evaluó el efecto de 12 enjuagues comerciales. Los principales ingredientes activos incluyeron CHX, hexetidina, octenidina, amina de fluoruro/fluoruro de estaño y compuestos botánicos o fenólicos. Todos los productos de enjuague bucal causaron una reducción en la formación total de unidades formadoras de colonias (CFU) en comparación con el grupo control (Killooy, 1998) (Baehni y Takeuchi, 2003).

El uso a largo plazo de los productos químicos favorece la elección de agentes con propiedades distintas a las de actividades bactericidas o bacteriostáticas, las cuales,

puede prevenir eficazmente la adherencia bacteriana y su colonización. El uso de tales compuestos preserva el entorno biológico de la cavidad oral. Los modelos futuros de *biofilm* en laboratorio pueden llegar a ser herramientas útiles para el estudio de los mecanismos de acción de los agentes químicos a nivel molecular y para ayudar en la selección de agentes para ensayos clínicos. Otra posibilidad para los agentes antiplaca, aunque provocativa, sería el mejorar las respuestas inflamatorias e inmunes locales de las bacterias en el *biofilm*. Los agentes que mejoran los mecanismos antibacterianos neutrales bien podrían ser eficaces contra el *biofilm*, con efectos mínimos sobre la ecología de este. (Baehni y Takeuchi, 2003)

4.7 Clorhexidina

La clorhexidina (Fig. 2) es una molécula bicatiónica simétrica consistente en dos anillos cuatro clorofenil y dos grupos bisguanida conectados por una cadena central de decametileno (clorofenil bisguanida) (Bascones A *et al.*, 2002).

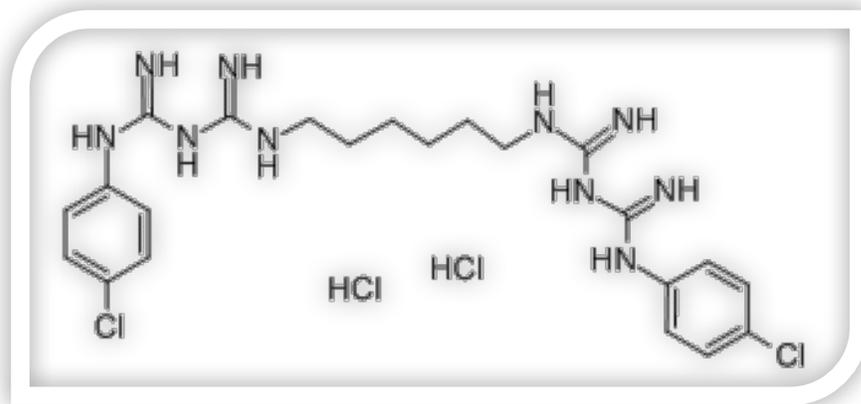


Figura 2. Estructura química de la clorhexidina.

Debido a sus propiedades catiónicas se une a la hidroxiapatita del esmalte, a la película adquirida y a las proteínas salivales. La CHX adsorbida se libera gradualmente, con lo que se evita la colonización bacteriana en ese tiempo (sustantividad). Químicamente, ésta molécula se presenta como cristales incoloros e inodoros solubles en agua y de aquí su uso mediante la fórmula de sal hidrosoluble. A un pH fisiológico la molécula de CHX se disocia, de esta forma, al cargarse positivamente, es capaz de unirse a la pared bacteriana, cargada negativamente, alterando de esta manera el equilibrio osmótico (Veksler AE *et al.*, 1991).

Se ha sugerido que la acción anti-placa de la CHX involucra distintos mecanismos:

- Reduce el número de bacterias en saliva.
- Bloquea los grupos ácidos de las glucoproteínas salivales, reduciendo así la adsorción de proteínas a la superficie dental.
- Se une a la superficie de bacterias salivales, incluyendo cubiertas de polisacáridos, lo cual sugiere una acción de interface en la adsorción de la bacteria a la superficie del diente.
- Precipita los factores de aglutinación en la saliva y desplaza al calcio, el cual es el principal factor para el efecto adhesivo de la placa.

Adicionalmente, la CHX actúa contra la pared celular de los microorganismos causando afectaciones en la movilidad electroforética de todo el microorganismo, alterando la integridad de la pared celular y facilitando la liberación de los componentes intracelulares.

Así mismo, la CHX tiene una acción antiinflamatoria por su poder detergente y antioxidante. En efecto, inhibe la capacidad de las bacterias de activar el metabolismo oxidativo de los neutrófilos impidiendo por lo mismo, la enorme liberación por estos últimos de enzimas que participan en el proceso inflamatorio. Simultáneamente, inhibe los efectos deletéreos de la producción excesiva de radicales libres (Betancourth M et al., 2006) en la inflamación gingival (Giuliana G *et al.*, 1997; Hunter y Addy, 1987; Veksler AE *et al.*, 1991).

4.7.1 Aplicación de la Clorhexidina en Odontología

El uso odontológico de la CHX como agente antifúngico y antibacteriano está bien documentado. Su principal aplicación ha sido para el control de la placa dental. Sin embargo, varios estudios han indicado que la CHX es también eficaz en la periodontitis. La CHX se utiliza principalmente en enjuagues bucales y se recomienda en la fase higiénica del tratamiento como complemento al cepillado dental.

También se ha usado durante las fases del tratamiento periodontal no quirúrgico, quirúrgico y post-operatorio. Llevando a cabo una acción bacteriostática, mejora la

curación de la herida, así los pacientes la prefieren como apósito en la fase inmediata post-quirúrgica; además, favorece un óptimo control de la placa inmediatamente después del tratamiento cuando el malestar puede impedir la limpieza dental (Schwach-Abdellaoui N *et al.*, 2000).

El estudio definitivo que introdujo la CHX en el mundo de la periodoncia fue el realizado por Løe y Schiott (1970), en el que se demostró que un enjuague de 60 segundos dos veces al día con una solución de gluconato de clorhexidina al 0.2 % en ausencia de cepillado normal, inhibía la formación de placa y consecuentemente el desarrollo de gingivitis. Otros estudios han demostrado que los dispositivos de liberación prolongada en la boca son aún más eficaces, especialmente para el tratamiento de bolsas periodontales (Garg S, 2015).

La eficacia a largo plazo de la CHX en la bolsa periodontal depende de la duración de la exposición. La irrigación de CHX dentro de la bolsa periodontal tiene sólo un efecto de corta duración. La liberación sostenida de CHX durante 3 días, mostró cambios significativos hasta por 14 días, mientras que 9 días de la exposición continuada a la CHX dio resultados significativos durante 11 semanas (Stabholz *et al.*, 1986).

La escasa eficiencia de la CHX en el área subgingival puede explicarse por el uso de concentraciones inefectivas y/o por la baja sustentividad subgingival de este fármaco (escasa adherencia a la superficie radicular) que dan como resultado concentraciones subterapéuticas poco tiempo después de su aplicación (Marc Quiryren *et al.*, 2003). Estudios refieren un aumento significativo de la actividad antimicrobiana (reducción del 99% en los patógenos periodontales) cuando se aplica repetidas veces (clorhexidina al 2%, 3 veces al día durante 10 minutos) (Oosterwaal PJ *et al.*, 1991).

Martin Addy y John Moran (1997) publicaron un artículo estableciendo las indicaciones de las formulaciones de CHX para el control de placa a nivel odontológico:

1. Como un complemento a la higiene mecánica, particularmente en la fase higiénica del tratamiento periodontal. Las alternativas a un enjuague bucal

podrían ser un aerosol de CHX, CHX en goma de mascar, pasta dental y otros productos comerciales disponibles.

2. Prevención después de un procedimiento quirúrgico, incluyendo el mantenimiento periodontal. También existe evidencia considerable acerca de su uso después de un raspado y alisado radicular (RAR), gingivectomía y después de una extracción dental. Se ha demostrado que la CHX reduce la incidencia de una alveolitis.
3. En pacientes con fijación intermaxilar, la CHX ha demostrado mejorar significativamente la higiene oral y reduce la carga bacteriana salival.
4. Diversos estudios han demostrado el valor de los productos de CHX, incluyendo el enjuague bucal y aerosol para el control de placa en pacientes con alguna discapacidad física o mental. Tal uso tiene la ventaja de la supervisión para el enjuague, en particular para los niños, para así garantizar su eficacia.
5. Los pacientes comprometidos médicamente tienen predisposición a infecciones orales, en particular, a candidiasis oral. En estos casos la CHX es efectiva como antiséptico, la cual en conjunto con un antifúngico ha demostrado gran eficacia. También es de ayuda en el manejo de estomatitis protésica, en la prevención de infecciones orales y sistémicas en pacientes inmunocomprometidos, incluyendo aquellos con enfermedades sanguíneas, pacientes que reciben quimioterapia y trasplantes de médula ósea.
6. En pacientes con alto riesgo cariogénico, parece demostrar sinergismo con el fluoruro en la prevención de caries.
7. En pacientes que sufren de úlceras aftosas recurrentes menores, se ha utilizado la CHX para su tratamiento.
8. En pacientes con aparatos removibles y fijos como es el caso de ortodoncia surgen dos problemas: un deterioro en la higiene oral y ulceraciones. La CHX se ha encontrado útil en las primeras fases del tratamiento de ortodoncia para estas dos indicaciones.
9. En pacientes hospitalizados de larga estadía, ancianos o pacientes terminales se han observado cambios bacterinos benéficos, incluyendo reducciones en *Streptococcus mutans*.

10. Limitar la bacteremia y contaminación operatoria por bacterias orales. Como tratamiento adjunto a la antibioticoterapia.

4.7.2 Sustantividad de la Clorhexidina

La sustentividad se define como la adherencia prolongada del antiséptico a las superficies orales (dientes y mucosas) a dosis eficaces que garanticen la persistencia de su actividad antimicrobiana (Manau N *et al.*, 2003). Existe evidencia que indica que la retención de las bisbiguanidas en boca es la base para la inhibición de la placa (Rölla G *et al.*, 1971).

La CHX adsorbida se libera gradualmente de 8-12 horas en su forma activa (Rölla G *et al.*, 1970). Después de 24 horas aún pueden recuperarse concentraciones bajas de CHX, lo que evita la colonización bacteriana durante ese tiempo. Además, la CHX tiene la ventaja de poseer una sustentividad subgingival prolongada, ya que se une a los tejidos blandos y duros (Bonesvoll P & Gjermo P, 1978).

Sin embargo, actualmente existen aspectos asociados a la actividad antibacteriana de la CHX que no están suficientemente investigados. Se ha demostrado que la retención de la CHX en la cavidad oral depende no sólo de la naturaleza del producto, sino también de factores intrínsecos asociados al antiséptico (como la concentración, el tiempo y la temperatura) y de factores extrínsecos (como la presencia de dientes, prótesis dentarias o materia orgánica, el pH salival, así como la ingesta de comida o bebida), lo que podría condicionar su actividad antibacteriana (Bonesvoll P *et al.*, 1974a; Bonesvoll P & Olsen I, 1974b; Tsuchiya *et al.*, 1999).

4.7.3 Efectos secundarios y toxicidad de la Clorhexidina

No se ha descrito toxicidad sistémica por aplicación tópica o ingestión de la CHX, ni hay evidencias teratógenas en el modelo animal. No se ha observado resistencia bacteriana, ni en los casos de uso prolongado en boca, ni hubo evidencias de sobreinfección por hongos, levaduras o virus. Sin embargo, el uso prolongado en boca produce un leve desplazamiento de la flora hacia microorganismos menos sensibles,

pero se revirtió rápidamente a la situación inicial al término del estudio de dos años. (Jones C, 1997)

Su efecto adverso más común es la pigmentación marrón de los dientes, de algunos materiales de restauración y de las mucosas, sobre todo del dorso de la lengua. La causa por la que la CHX produce tinción no es del todo clara, existiendo distintas teorías al respecto. Lo que sí parece claro es que se produce una interacción entre diversos participantes: la molécula bicatiónica de CHX se une a la superficie del diente a través de un grupo catiónico, y al mismo tiempo, el otro grupo catiónico, en vez de unirse a las bacterias se une a sustancias dietéticas ricas en taninos, produciéndose una pigmentación; así productos como el té, el vino tinto o el café potencian la pigmentación.

Otro efecto secundario frecuente es la alteración del gusto, que podría reducirse evitando enjuagarse con agua después de la aplicación de CHX. En un estudio de Straub y cols (2001), concluyen que el alcohol de los colutorios de CHX produce una mayor alteración del gusto que los colutorios en solución no alcohólica.

Se han descrito también lesiones descamativas en la mucosa alveolar después de buches al 0.2 %. La descamación de células epiteliales puede ocurrir más frecuentemente con alta concentración que con baja (Flotra L *et al.*, 1973).

Cabe destacar que si una CHX no tiñe los dientes no es efectiva, ya que significa que la segunda molécula catiónica ha reaccionado con algo en la formulación, haciéndola inviable tanto para un efecto beneficioso (unirse a la bacteria) como para uno indeseado (teñir) (Claydon N *et al.*, 2001).

4.8 Sistema de Fármacos de Liberación Local

Las enfermedades periodontales inflamatorias son causadas por bacterias asociadas con la placa dental. La naturaleza de la enfermedad periodontal depende de la interacción entre el agente bacteriano, el ambiente y la respuesta de los mecanismos de defensa del huésped hacia las bacterias, compuestas generalmente por Gram-negativas (Garg S, 2015).

La forma más común de periodontitis es la periodontitis crónica y ésta puede ser localizada o generalizada (más del 30% de los dientes) dependiente de la cantidad de pérdida de inserción clínica. El propósito de la terapia periodontal es la remoción de depósitos bacterianos de la superficie de los dientes y cambiar la microbiota patógena a una compatible con la salud periodontal. Las técnicas terapéuticas incluyen RAR, y en algunos casos, cirugía (Garg S, 2015).

Después del desarrollo de la hipótesis de la placa específica sugiriendo que las bacterias específicas causan formas específicas de enfermedades periodontales, se han desarrollado nuevas estrategias de tratamiento, con el objetivo principal de la supresión o eliminación de las enfermedades periodontales específicas. Patógenos putativos asociados con enfermedades periodontales son susceptibles a una variedad de antisépticos y antibióticos. Los agentes antimicrobianos pueden acceder a la bolsa periodontal a través de una vía de liberación sistémica y local. Los agentes antimicrobianos sistémicos entran en las bolsas periodontales siguiendo su absorción intestinal y el paso del flujo sanguíneo a los tejidos orales, el fluido del surco gingival y la saliva (Garg S, 2015).

La administración sistémica ha sido útil en el tratamiento de las bolsas periodontales, pero un repetido uso a largo plazo de antibióticos sistémicos puede provocar cepas resistentes e infecciones superpuestas. La administración local, por lo tanto, proporciona una respuesta útil a estos problemas. El requisito principal para la eficacia de esta forma de terapia es que el agente llegue a la base de la bolsa y se mantenga allí, como depósito, durante un tiempo adecuado para que el efecto antimicrobiano se produzca. Numerosos productos de liberación de fármacos locales han sido evaluados en varios estudios (Paderni *et al.*, 2012).

Goodson y cols (1979) propusieron por primera vez el concepto de la liberación controlada en el tratamiento de la enfermedad periodontal. En particular, se determinó que la vía local de liberación de fármacos puede alcanzar concentraciones 100 veces mayores de un agente antimicrobiano en sitios subgingivales, en comparación con un régimen farmacológico sistémico. Esto reduce la dosis total del paciente en más de 400 veces, lo que reduce los problemas potenciales con el uso de regímenes de antibiótico

sistémico y el desarrollo de cepas microbianas resistentes a los medicamentos. Además se pueden utilizar con seguridad en pacientes: (a) médicamente comprometidos, para quienes la cirugía no es una opción, (b) en pacientes con una hipersensibilidad conocida al antimicrobiano utilizado, (c) pacientes asmáticos y (d) condiciones infecciosas como SIDA y tuberculosis (Sankar *et al.*, 2011).

Los dispositivos de administración local pueden ser de 2 tipos de acuerdo con la duración de la medicación liberada: (a) formulaciones de liberación sostenida, las cuales siguen una cinética de primer orden, es decir, la velocidad de eliminación es directamente proporcional a la concentración del fármaco, proporcionando la administración de fármacos por menos de 24 horas, y (b) formulaciones de liberación controlada, en las que se deduce de orden cinético cero (lineal) es decir, la tasa de eliminación se mantiene constante independientemente de la concentración del fármaco, el aclaramiento disminuye con el aumento de la concentración; o una cantidad constante del fármaco se elimina por unidad de tiempo (Garg S, 2015).

Los dispositivos intrabolsas se pueden dividir en dos grandes categorías, en función de la degradabilidad. Dispositivos no degradables (primera generación) y dispositivos degradables (segunda generación). Los dispositivos no degradables tienen la ventaja de que el terapeuta controla la eliminación, y por lo tanto, tiene un mayor control sobre el momento de la exposición al medio ambiente de la bolsa al fármaco. El dispositivo degradable tiene la ventaja de requerir que el paciente sólo pague una sola visita al terapeuta para la inserción del dispositivo. Los sistemas de administración subgingival sostenida de fármacos, aplicados profesionalmente, puede alcanzarse con fármacos que poseen una alta sustentividad intrínseca para superficies de la raíz del diente. Sistemas de administración de fármacos locales utilizados en el tratamiento de la periodontitis crónica incluyen: fibras, inyectables, geles, tiras y compactos, además sistemas vesiculares, micropartículas, nanopartículas, entre otros (Garg S, 2015).

4.8.1 Suministro de fármacos de liberación local en la mucosa oral

La mucosa oral tiene muchas propiedades que la convierten en un lugar atractivo para la administración de fármacos, pero también proporciona varios desafíos para los

investigadores que estudian técnicas de administración novedosas que superar. Muchas formulaciones diferentes, incluyendo aerosoles, tabletas, enjuagues bucales, geles, pastas y parches se utilizan actualmente para la liberación en y/o a través de la mucosa oral. El sistema de administración utilizado depende de la aplicación para la cual se ha desarrollado el fármaco. Los sistemas diseñados para la entrega local a las enfermedades de las mucosas requieren diferentes comportamientos farmacocinéticos en comparación con la administración tópica para aplicaciones sistémicas (Hearnden V *et al.*, 2012).

4.8.2 Aplicaciones clínicas del sistema de fármacos de liberación local

La erradicación de microorganismos de las bolsas periodontales es el paso más importante en el tratamiento de la periodontitis. Los requisitos para el tratamiento de la enfermedad periodontal incluyen un medio para dirigir un agente anti-infeccioso a los sitios de infección y mantener su concentración localizada a niveles eficaces durante un tiempo suficiente, mientras que, al mismo tiempo provoca mínimos o nulos efectos secundarios. La limitación de los enjuagues bucales e irrigantes orales han llevado a los clínicos a favorecer una aplicación profesional de tetraciclina, clorhexidina, doxiciclina, minociclina y metronidazol, como un complemento para el tratamiento de la periodontitis crónica. La selección del sistema a utilizar dependerá de su eficacia, facilidad de uso y costo (Garg S, 2015).

La inserción de fibras que contienen tetraciclina consumen mucho tiempo y se recomiendan dos aplicaciones de 25% de gel con metronidazol, mientras que una colocación de chips de CHX es más rápida. Con el fin de combatir las infecciones antimicrobianas, deben probarse diferentes antimicrobianos en una variedad de concentraciones frente a un panel de presuntos agentes patógenos. En la actualidad, la mejor manera de determinar las concentraciones ideales de fármacos es comparar *in vitro* e *in vivo* los resultados de diversos trabajos de investigación que se han hecho hasta la fecha (Garg S, 2015).

Los sistemas de liberación local de fármacos no han mostrado mejores resultados en comparación con el RAR por sí solo, sin embargo, parecen ser igual de

efectivos que el RAR con respecto a la reducción de los signos de la enfermedad inflamatoria periodontal, enrojecimiento, sangrado al sondaje, profundidad de sondaje y pérdida de inserción clínica. Estos sistemas de liberación local de fármacos deben utilizarse como terapia adjunta al RAR para tratar sitios localizados que no responden al raspado, en sitios con periodontitis recurrente durante la terapia periodontal de soporte. Una dosis individual de fármacos de liberación local es conveniente para el tratamiento de bolsas únicas o un número limitado de sitios infectados (Garg S, 2015).

Hasta la fecha no existe información suficiente para indicar que un sistema de liberación local induce resistencia bacteriana a los agentes antimicrobianos. Se necesitan estudios a largo plazo para hacer frente a esta importante cuestión. Los datos actuales sugieren que la administración local de agentes antimicrobianos en una bolsa periodontal puede mejorar la salud periodontal. Sin embargo, estos sistemas de fármacos no ofrecen un resultado superior en comparación con el RAR o como terapia para las formas agresivas de periodontitis que pueden requerir antibióticos sistémicos para erradicar la enfermedad. Por lo tanto, los beneficios de utilizar estos sistemas como una monoterapia son cuestionables (Garg S, 2015).

En conjunto con el RAR, el uso complementario de la administración local de fármacos puede mejorar los resultados en los sitios que no responden a la terapia convencional. Algunas lesiones persistentes localizadas en pacientes por lo demás bien controlados pueden ofrecer las mayores posibilidades de éxito con esta modalidad de tratamiento. El suministro local tiene ventaja sobre la terapia sistémica con la posibilidad de lograr mayores concentraciones de fármaco en el sitio de acción deseado usando una dosis menor con una reducción asociada de efectos secundarios y tóxicos. Estos sistemas de suministro con propiedades de liberación controlada tienen el potencial para ser utilizados como un componente terapéutico en el tratamiento de las enfermedades periodontales. Sin embargo, se necesitan estudios adicionales aleatorios controlados para ayudar a delinear los tipos de lesiones, enfermedades periodontales, o situaciones específicas en las que los sistemas de suministro local serían más beneficiosos (Garg S, 2015).

4.9 SISTEMA DE NANOPARTÍCULAS

Las nanopartículas (incluyendo nanoesferas y nanocápsulas de un tamaño de 10-300 nm) se encuentran en estado sólido y pueden ser amorfas o cristalinas. Son capaces de adsorber y/o encapsular un fármaco, protegiéndolo así contra la degradación química y enzimática. El sistema de nanopartículas proporciona varias ventajas en comparación con las microesferas, micropartículas y sistemas de entrega basados en emulsión, incluyendo alta dispersabilidad en un medio acuoso, velocidad de liberación controlada y una mayor estabilidad. Estos sistemas reducen la frecuencia de administración y proporcionan además una distribución uniforme del agente activo durante un período prolongado de tiempo. Las nanopartículas biocompatibles compuestas de metacrilato de 2-hidroxietilo (HEMA) y dimetacrilato de polietilenglicol (EGDMA) pueden ser utilizadas como un sistema de administración de fármacos para aplicaciones dentales (Garg S, 2015).

4.9.1 Nanopartículas poliméricas

En particular, las nanopartículas poliméricas han resultado una opción prometedora para la liberación local de fármacos y podrían funcionar como excelentes vectores de antibióticos en enfermedades periodontales (Kurmar *et al.*, 2010).

La manipulación de la materia a nivel nanométrico y su aplicación en alguna rama de la medicina se denomina nanomedicina. Las principales aplicaciones que se estudian en el área odontológica van orientadas al diseño de biosensores, sistemas de diagnóstico, creación de nuevos materiales (i.e. poliméricos y compositos) y vehículos acarreadores de fármacos. Esta última aplicación, la vectorización de principios activos, tiene un gran potencial en odontología debido a que podría solucionar las principales limitantes de la aplicación local de fármacos: la poca residencia y la baja disponibilidad del fármaco.

Las nanopartículas poliméricas son sistemas coloidales que poseen una estructura matricial o capsular polimérica que puede atrapar, encapsular o adsorber fármacos y orientarlos hacia un tejido o una célula diana. Están formados por macromoléculas y presentan, preferentemente, tamaños de 10 a 300 nm. Según su

estructura, las nanopartículas pueden ser nanoesferas o nanocápsulas. Las nanoesferas son de tipo matricial y en este caso el principio activo puede ser absorbido o incorporado en la partícula. Las nanocápsulas son sistemas vesiculares que consisten en un núcleo líquido rodeado por una membrana polimérica; la molécula de interés puede estar disuelta o dispersa en el núcleo de la partícula (Galindo- Rodríguez *et al.*, 2005).

Las nanopartículas se han utilizado como acarreadores potenciales para proteger al principio activo de la degradación, biodireccionarlo a su sitio de acción y reducir la toxicidad o efectos secundarios que pudiera causar el mismo activo administrado en una forma convencional. Esto lo pueden lograr gracias a que protegen al activo de su degradación prematura y lo pueden liberar de manera controlada. Principalmente, la liberación del fármaco depende de la composición química de la matriz polimérica que forma a las nanopartículas.

Las nanopartículas pueden estar preparadas de distintos materiales como proteínas, polisacáridos y polímeros sintéticos. La selección de la matriz de estos materiales es dependiente de algunos factores tales como: 1) el tamaño requerido de las nanopartículas, 2) las propiedades inherentes del fármaco encapsulado, por ejemplo su solubilidad y estabilidad, 3) las características superficiales deseadas en las nanopartículas, como carga y permeabilidad, 4) el desempeño deseado durante la aplicación y la administración incluyendo la degradación, biocompatibilidad y antigenicidad del producto (Mohanraj VJ y Chen Y, 2006).

La aplicación local de nanopartículas ofrece la ventaja de mantener la concentración local del fármaco, permitiendo que la dosis se mantenga dentro del intervalo terapéutico. Esto reduce el riesgo de efectos colaterales y la posible aparición de resistencia bacteriana (Nagpal K *et al.*, 2010; Galindo- Rodríguez *et al.*, 2005).

Por otra parte, las nanopartículas también han sido usadas para ser direccionadas a superficies de mucosas, por ejemplo, De Campos y cols (2001), emplearon nanopartículas de quitosán para liberación de fármacos en la región extraocular (córnea y conjuntiva) y demostraron que las nanopartículas cargadas con fármaco permanecen asociadas a las estructuras extraoculares por un periodo de 48 h. Los investigadores

concluyeron que la formulación de nanopartículas proporcionaba una mejor entrega del fármaco debido a que se promueve la liberación del mismo, esto al ser comparadas con los tratamientos convencionales administrados en la región extraocular.

4.9.2 Importancia de la composición de las nanopartículas poliméricas

Diferentes materiales poliméricos pueden ser usados para la preparación de nanopartículas, los cuales permiten la modulación de sus características fisicoquímicas, la liberación de fármacos de distinta naturaleza y la modulación de su comportamiento biológico. Los materiales poliméricos usados para la formulación de nanopartículas incluyen polímeros sintéticos como el ácido poliláctico, el ácido poli (láctico-*co*-glicólico), los derivados del ácido polimetacrílico y los policianoacrilatos, así como polímeros naturales como la albúmina, la gelatina, el alginato y el quitosán. Mientras los polímeros naturales generalmente proporcionan una duración de liberación relativamente corta, los polímeros sintéticos permiten una liberación prolongada de los agentes terapéuticos encapsulados en periodos de días a semanas (Anderson JM y Shive MS, 2012).

Por otro lado, las nanopartículas diseñadas con polímeros mucoadhesivos pueden ofrecer ventajas adicionales cuando son administradas localmente en la cavidad oral debido a que pueden prolongar su residencia y con ello la del fármaco transportado.

4.9.3 Incorporación de fármacos dentro de nanopartículas

Las nanopartículas poliméricas son de gran interés desde el punto de vista farmacéutico. Dependiendo del método usado para la preparación, los fármacos ya sea hidrofílicos o hidrofóbicos pueden ser asociados a esos transportadores coloidales. De hecho, la sustancia activa puede ser encontrada encapsulada en el núcleo de las nanopartículas (compuestos aceitosos o fármacos solubles en un aceite), adsorbida en la nanopartícula (fármacos tanto hidrofílicos como lipofílicos) o dispersada en la matriz polimérica (fármacos hidrofóbicos como hidrofílicos) (Niwa T *et al.*, 1993; Sakuma S *et al.*, 2009; Galindo Rodríguez S *et al.*, 2005).

4.10 APLICACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS EN ODONTOLOGÍA

En los últimos años, las nanopartículas poliméricas han resultado una opción prometedora para la liberación local de fármacos ya que podrían funcionar como excelentes vectores de antibióticos en enfermedades periodontales (Nagpal K *et al.*, 2010).

4.10.1 Antimicrobianos

Segundo-Piñon E y cols (2000), prepararon nanopartículas de 500 nm cargadas con triclosán destinadas al tratamiento de la enfermedad periodontal. Se encontró que la formulación de nanopartículas-triclosán reducían significativamente la inflamación en donde fue aplicada. Para mejorar la terapia farmacológica contra infecciones y evadir la resistencia del agente infeccioso se ha propuesto el uso de acarreadores nanoparticulados como sistemas de liberación, los cuales, además de aumentar la eficacia del activo, pueden disminuir sus efectos adversos y/o mantener una liberación controlada.

4.10.2 Antibióticos

Las nanopartículas poliméricas pueden adaptarse para controlar la velocidad y duración de la administración del fármaco. Esto puede ser útil para mantener altos niveles de agentes antimicrobianos dentro de las biopelículas, incrementando el efecto anti-*biofilm* de la formulación.

Se desarrollaron nanopartículas PLGA cargadas con gentamicina para el tratamiento de infecciones por *P. Aeruginosa*. La formulación y el fármaco libre se probaron contra biopelículas *in vitro*. Estas partículas de PLGA proporcionaron una liberación controlada de gentamicina, logrando un efecto anti-*biofilm* significativamente mayor, comparado con el fármaco solo. En el modelo *in vivo*, la gentamicina libre y encapsulada en PLGA fue igualmente potente para eliminar la infección, sin embargo, 96 horas después de la administración de las formulaciones, el efecto anti-*biofilm* de la gentamicina libre fue reducido significativamente, mientras que la formación de biofilm fue inhibida durante un tiempo mayor por la nanoformulación. Experimentos control

mostraron que las nanopartículas PLGA sin cargar con gentamicina, exhibieron nulo efecto antimicrobiano contra *P. Aeruginosa* (Forier K *et al.*, 2014).

Cheow et al, compararon la actividad de una nanoformulación de polímero y una nanoformulación híbrida lípido-polímero (LPH) con encapsulación de levofloxacina contra *P. Aeruginosa*. Las nanopartículas poliméricas consistían en PLGA, mientras que la formulación de LPH consistía en un núcleo de PLGA cubierto con una capa lipídica de fosfatidilcolina (PC). Las partículas LPH cargadas con levofloxacina tenía una mayor eficacia anti-*biofilm* en comparación con las partículas de polímero después de 24 horas de exposición a antibióticos. Se demostró que la velocidad y liberación no es la causa de la superioridad observada de la nanoformulación de LPH. Se cree que la diferencia proviene de una mejor penetración en la matriz de la biopelícula (Cheow WS *et al.*, 2011).

El tratamiento de periimplantitis a menudo es quirúrgico; sin embargo, se ha documentado un enfoque alternativo usando una combinación de desbridamiento no quirúrgico con una liberación controlada local de doxiciclina mediante nanoesferas bioreabsorbibles en el defecto periimplantario. Después de 15 meses, se observó la remisión de los parámetros inflamatorios clínicos de hemorragia y supuración al sondeo, así como la reducción de las profundidades de bolsa. Este enfoque alternativo puede incrementar las mejoras de los parámetros clínicos en algunos casos de periimplantitis sin la necesidad de un enfoque quirúrgico para la descontaminación de los implantes (Moura LA *et al.*, 2012).

4.10.3 Regeneración Tisular en cirugía periapical

En cuanto al tema referente a la regeneración tisular en cirugía periapical mediante el uso de membranas como barrera, se ha demostrado que la contaminación bacteriana de la membrana es una principal falla. Recientemente en 2016 se probaron diferentes marcas de CHX, una combinación de nanopartículas de quitosán que contenían CHX contra *Enterococcus faecalis* en cultivos de agar y membranas de colágeno infectadas, obteniendo como resultados que las nanopartículas de quitosán actuaron de forma sinérgica con la CHX, inhibiendo y eliminando significativamente

una mayor cantidad de CFU en ambos cultivos de agar y membranas de colágeno infectadas. Estos resultados sugieren que las nanopartículas cargadas con quitosán pueden ser útiles para incrementar el éxito de los procedimientos regenerativos en la cirugía periapical (Barreras US *et al.*, 2016).

4.10.4 Apósitos biológicos en heridas

Los apósitos biológicos para cobertura y cicatrización de heridas que contienen componentes derivados de animales como es el colágeno y proteínas de matriz extracelular, representan un importante avance en el cuidado de las heridas, así como también han demostrado tasas de cicatrización más altas (Rizzi SC *et al.*, 2010) (Shores JT *et al.*, 2007). Éstos materiales se integran a lechos receptores preparados quirúrgicamente, minimizando el espacio muerto que puede dar lugar a la proliferación bacteriana, actuando temporalmente como sustitutos de tejidos.

Los apósitos biológicos proporcionan un andamio para la regeneración de los tejidos y una barrera para las bacterias exógenas, al mismo tiempo que calman las terminaciones nerviosas para así reducir el dolor. Sin embargo, incluso niveles bajos de colonización bacteriana bajo estos apósitos, conducen frecuentemente a infecciones, lo cual resulta en una tasa alta de pérdida de apósitos quirúrgicos (10-20%) (Kearney JN, 2001) (Lal S *et al.*, 2000).

Para abordar éste problema, se ha reportado un enfoque que permite la incorporación de niveles no tóxicos de pequeñas moléculas de CHX en los apósitos quirúrgicos. Éste enfoque se basa en la fabricación de una multicapa de películas polielectrolíticas (PEM) que contienen láminas de poli (clorhidrato de alilamina) (PAH), ácido poli (acrílico) (PAA), y acetato de CHX en una capa de poli (dimetilsiloxano) elastomérico (PDMS). Se demostró que la integración de CHX en PEM en la superficie de contacto de la herida con el apósito quirúrgico puede proporcionar una liberación localizada de CHX lo cual favorece a la reducción de la carga bacteriana y prevenir infecciones en la herida (Aharwal A *et al.*, 2012).

La incorporación de agentes antimicrobianos de amplio espectro en los apósitos quirúrgicos, diseñados para producir una liberación localizada de agentes

antimicrobianos a un nivel no tóxico en heridas, al mismo tiempo que se logra un control adecuado de la carga microbiana, puede reducir la incidencia de infecciones microbianas (Aharwal A *et al.*, 2012).

La CHX es un agente antimicrobiano prometedor para su incorporación en apósitos quirúrgicos. Se considera un antiséptico eficaz que es activo contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, anaerobios y aerobios facultativos, levaduras y virus. Exhibe un excelente efecto residual, el cual previene el reestablecimiento de microorganismos. La CHX ejerce actividad antimicrobiana a través de su carga positiva a pH fisiológico, lo que provoca una desestabilización en las paredes celulares bacterianas y altera el equilibrio osmótico bacteriano. Estos eventos resultan en una precipitación del contenido citoplasmático y desencadena la muerte de células microbianas (Aharwal A *et al.*, 2012).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio comparativo, abierto, experimental, prospectivo, transversal acerca de la utilización de nanopartículas poliméricas como vehículo para mejorar la sustentividad de la clorhexidina (en relación con la clorhexidina no encapsulada), en pacientes sanos en un período de 24 horas sin cepillado dental, con el fin de evaluar su efecto anti-placa.

5.2 UNIVERSO DE ESTUDIO

Se trataron pacientes adultos mayores a 18 años, quienes eran alumnos de la Facultad de Odontología, de la UANL y que presentaron buen nivel de higiene bucal y salud gingival. La población del estudio se dividió en 4 grupos: A. Formulaciones de nanopartículas con CHX (grupo experimental), B: Formulaciones de CHX libre (control positivo), C: Formulaciones de Agua con PVA (control negativo 1) y D: Formulaciones de nanopartículas blanco sin CHX (control negativo 2). Se les explicó el objetivo del estudio y las instrucciones que debían seguir durante el tiempo del estudio; además se firmó un consentimiento informado acerca de su participación.

5.3 TAMAÑO DE MUESTRA

Se incluyó un total de 12 pacientes en edades entre 25-33 años, alumnos de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León, que presentaron buen nivel de higiene bucal y salud gingival. La población del estudio se dividió en 4 grupos: A. Formulaciones de nanopartículas con CHX (grupo experimental), B: Formulaciones de CHX libre (control positivo), C: Formulaciones de Agua con PVA (control negativo) y D: Formulaciones de nanopartículas blanco sin CHX (control negativo).

5.4 CRITERIOS DE SELECCIÓN

5.4.1. Criterios de inclusión, voluntarios:

- 1) En edad de 18 años en adelante,

- 2) ASA I,
- 3) Periodontalmente sanos,
- 4) Con un mínimo de 20 dientes para evaluar,
- 5) Con no más de una restauración de cobertura total.

5.4.2. Criterios de exclusión, voluntarios:

- 1) ASA II, III y IV,
- 2) Embarazadas o en lactancia,
- 3) Que hayan recibido terapia con antibióticos en los 3 últimos meses,
- 4) Respiradores bucales,
- 5) Con ortodoncia,
- 6) Fumadores,
- 7) Bajo tratamiento con algún agente antiplaca,
- 8) Pacientes que no acepten entrar al protocolo de investigación.

5.4.3 Criterios de eliminación, voluntarios:

- 1) Que no cumplan con los criterios de inclusión,
- 2) Que no cumplan con las indicaciones y los horarios establecidos,
- 3) Que presenten reacciones alérgicas durante alguna prueba.

5.5 DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTOS

Se incluyó un total de 12 pacientes en edades entre 25-33 años, que presentaron buen nivel de higiene bucal y salud gingival. La población del estudio se dividió en 4 grupos: A. Formulaciones de nanopartículas con CHX (grupo experimental), B: Formulaciones de CHX libre (control positivo), C: Formulaciones de Agua con PVA (control negativo) y D: Formulaciones de nanopartículas blanco sin CHX (control negativo).

5.5.1 Pruebas de diagnóstico para medir sensibilidad y especificidad

- I. Índice de placa (Turesky-Gilmore-Glickman),
- II. Índice de placa (O'Leary),
- III. Índice Gingival (Løe y Silness),
- IV. Unidades formadoras de colonias (CFU).

5.5.2 Pruebas para medir asociación

Estadísticas de comparación entre grupo control y experimental. Prueba de *chi* cuadrada y prueba T de diferencia de medias (T-student).

5.5.3 Índice de Placa Turesky-Gilmore-Glickman

El índice de placa de Quiqley & Hein (Modificado por Turesky, Gilmore y Glickman), llamado también índice de placa *Turesky-Gilmore-Glickman* (Tabla 1) consiste en valorar la placa en las superficies vestibulares y linguales de la dentición luego de usar un agente revelador. Se tomarán en cuenta las superficies de 8 piezas para la evaluación, incluyendo: la superficie vestibular del primer molar superior derecho (1.6), la superficie vestibular del incisivo central superior derecho (1.1), la superficie vestibular del incisivo central superior izquierdo (2.1), la superficie vestibular del primer molar superior izquierdo (2.6), la superficie lingual del primer molar inferior izquierdo (3.6), la superficie lingual del incisivo central inferior izquierdo (3.1), la superficie lingual del incisivo central inferior derecho (4.1) y la superficie lingual del primer molar inferior derecho (4.6). El IP se obtendrá sumando las puntuaciones y dividiendo el resultado entre el número de dientes evaluados (8). Este resultado final corresponderá al IP del paciente.

5.5.4 Índice de Placa de O'Leary

El índice de placa de *O'Leary*, indica el porcentaje de superficies teñidas después de la aplicación de un agente revelador sobre el total de superficies dentarias presentes. En este caso, se valora solo la presencia o ausencia de placa, sin hacer una cuantificación de la misma. Cada diente se considera constituido por cuatro superficies.

En un odontograma, se marcan las superficies en las que se encuentre placa bacteriana, para a continuación realizar un conteo global. De este modo, el índice se calcula del siguiente modo: Número de caras con placa dentobacteriana sobre el número total de caras multiplicado por 4 (mesial, distal, vestibular y lingual/ palatino) y el resultado se multiplica por 100.

5.5.5 Índice Gingival

Se evaluará y registrará el índice gingival de cada paciente al inicio del estudio, basándose en el Índice Gingival (IG) de Løe y Silness. (Tabla 2)

Este índice evalúa dos aspectos importantes de la enfermedad gingival: edema y sangrado, lo que confiere mayor precisión; además, se limita al registro de gingivitis, no considera signos de periodontitis, evitando así crear confusión entre ambas alteraciones.

Para su obtención, los tejidos que rodean cada diente son divididos en cuatro unidades de medición gingival: la papila distovestibular, el margen gingival vestibular, la papila mesiovestibular y el margen gingival lingual completo.

Se examinan exclusivamente 6 dientes representativos, estos son: primer molar superior derecho (1.6) sustituible por segundo molar superior derecho (1.7), incisivo lateral superior derecho (1.2) sustituible por central superior derecho (1.1), primer premolar superior izquierdo (2.4) sustituible por segundo premolar superior izquierdo (2.5), primer molar inferior izquierdo (3.6) sustituible por segundo molar inferior izquierdo (3.7), incisivo lateral inferior izquierdo (3.2) sustituible por central inferior izquierdo (3.1), primer premolar inferior derecho (4.4) sustituible por segundo premolar inferior derecho (4.5).

A cada uno de los dientes examinados se le asigna un valor, el cual se obtiene sumando los cuatro valores identificados en cada una de las cuatro zonas establecidas para el levantamiento del índice, posteriormente, se suman y el total es dividido entre 4. El resultado final será el valor del índice para ese diente. Así, al finalizar el recuento se debe llevar a cabo la sumatoria del resultado obtenido para cada uno de los seis dientes examinados y el resultado de esta suma se divide entre el número total de dientes

examinados. Dicho resultado representa el valor del IG para el sujeto en cuestión (Tabla 3).

Nivel	Descripción
0	Ausencia de placa.
1	Depósitos separados de placa en el margen cervical del diente.
2	Una delgada y continua banda de placa (hasta 1 mm) en el margen cervical del diente.
3	Una banda de placa con un espesor mayor a 1 mm pero que cubre menos de 1/3 de la corona del diente.
4	La placa cubre al menos 1/3 pero menos de 2/3 de la corona del diente.
5	La placa cubre 2/3 o más de la corona del diente.

Tabla 1. Parámetros para evaluar el Índice de placa de Turesky-Gilmore-Glickman.

Código	Criterio
0	Encía normal, de color rosa pálido, textura con aspecto de cáscara de naranja, firme y resistente.
1	Inflamación leve, se observa con ligero enrojecimiento gingival, sin hemorragia al sondeo.
2	Inflamación moderada, color rojo y aspecto brillante, con hemorragia al sondeo.
3	Inflamación severa, marcado enrojecimiento, edema y ulceraciones, tendencia a sangrar espontáneamente.

Tabla 2. Parámetros para evaluar el Índice de placa de Løe y Silness

Intervalos	Interpretación
0.0	No hay inflamación
0.1-1.0	Inflamación leve
1.1-2.0	Inflamación moderada
2.1-3.0	Inflamación severa

Tabla 3. Parámetros para evaluar el intervalo del Índice gingival de Løe y Silness.

5.5.6 Muestra de placa dentobacteriana

Se tomó una muestra de placa dentobacteriana para analizar el conteo de unidades formadoras de colonias (CFU). La muestra de placa supragingival se tomó de la superficie vestibular del primer molar superior derecho con un hisopo de algodón estéril y se introdujo en un tubo de ensayo con agua destilada estéril durante 5-10 segundos asegurándonos de recorrer las paredes del tubo; (al momento de abrir el tubo de ensayo se realizó siempre bajo mechero para reducir la contaminación de la muestra). La muestra se recolectó a las 4 h, después del detartraje y pulido, así como a las 24 h.

5.5.7 Formulaciones

Formulación 1: Nanopartículas con clorhexidina al 0.12% (Experimental)

Nanopartículas poliméricas con clorhexidina al 0.12 % obtenidas mediante el método de nanoprecipitación.

Dosis: Enjuague con 15 ml de la dispersión acuosa de nanopartículas al 0.12 %. – Los 15ml al 0.12% contienen 18 mg de clorhexidina.

Formulación 2: Clorhexidina no encapsulada(Control positivo)

Solución de Clorhexidina al 0.12%.

Dosis: Enjuague con 15 ml de la solución al 0.12%. – Los 15ml al 0.12% contienen 18 mg de clorhexidina.

Formulación 3: Agua con PVA (Control negativo 1)

Agua Estéril con PVA

Dosis: Enjuague con 15 ml de agua estéril

Formulación 4: Nanopartículas Blanco sin CHX (Control negativo 2)

Nanopartículas Blanco sin CHX

Dosis: Enjuague con 15 ml de la dispersión acuosa de nanopartículas sin CHX

5.5.10 Secuencia de procedimientos realizados

Una vez reunida la población del estudio, se procedió a realizar la fase diagnóstica en cada uno de los pacientes y la firma de autorización en el consentimiento informado (Anexo I, 9.1 Hoja de consentimiento informado) para su participación en el estudio.

Se les pidió a los pacientes no utilizar ningún producto que tuviera CHX, ni algún otro agente para el control de la placa previo al inicio del estudio. Se les proporcionó a los participantes un cuestionario médico (Anexo I, 9.2 Historia Clínica) para ser llenado por el mismo, donde se investigó su estado de salud general, antecedentes de enfermedades sistémicas, así como su condición oral. Durante la primera visita el paciente fue identificado con una clave en un documento de recolección de datos. (Tabla 4)

Se realizó examinación de tejidos blandos y duros, así como detarraje y pulido con pasta profiláctica con el fin de remover cálculo visible, placa dentobacteriana y manchas extrínsecas en las superficies de los dientes. Después de aplicar solución reveladora de placa, se registró el IP (Turesky-Gilmore-Glickman, O'Leary), e IG (Löe y Silness) lo que correspondió al tiempo de 0 h, además se tomaron fotografías clínicas al inicio y después del detarraje y pulido. Después de 4 h, se tomaron fotografías clínicas con solución reveladora y se realizaron nuevamente pruebas de diagnóstico para evaluar IP e IG (Löe y Silness) y se tomó una muestra de placa dentobacteriana de la superficie vestibular de la pieza 1.6 para analizar el conteo bacteriano mediante un análisis microbiológico de Unidades Formadoras de Colonias (CFU).

Posteriormente, se les dió instrucciones a los pacientes para realizar enjuague bucal (primera dosis) durante 1 minuto con 15 ml de la solución correspondiente: A: formulaciones de nanopartículas con CHX (grupo experimental), B: formulaciones de CHX libre (control positivo), C: formulaciones de Agua con PVA (control negativo 1) y D: formulaciones de nanopartículas blanco sin CHX (control negativo 2). Al terminar la aplicación no se enjuagó con agua. No hubo restricciones en cuanto al consumo de comidas y bebidas después de la aplicación de la solución. Así mismo, se dieron

indicaciones de mantenimiento de nula higiene oral en casa e indicaciones para realizar enjuague bucal (segunda dosis) dentro de 8 h con la solución asignada. A las 24 h se reevaluó a los pacientes con IP, IG y toma de muestra de placa dentobacteriana. (Fig. 3)

Descripción de procedimientos realizados					
Grupo	Formulación probada	0 h	4 h	8 h	24 h
A	Formulaciones de nanopartículas con CHX (grupo experimental)				
B	Formulaciones de CHX libre (control positivo)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Consentimiento informado e Historia Clínica 2. Fotografías clínicas y toma de índices (Turesky-Gilmore-Glickman, O'Leary, Loe y Silness) 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Fotografías clínicas y toma de índices (Turesky-Gilmore-Glickman, O'Leary, Loe y Silness) 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Segunda dosis de enjuague durante 1 minuto 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Fotografías clínicas y toma de índices (Turesky-Gilmore-Glickman, O'Leary, Loe y Silness)
C	Formulaciones de Agua con PVA (control negativo 1)	<ol style="list-style-type: none"> 3. Detartraje y pulido con pasta profiláctica 4. Fotografías clínicas después de detartraje 	<ol style="list-style-type: none"> 2. Toma de primera muestra de placa dentobacteriana 	<ol style="list-style-type: none"> 3. Primera dosis de enjuague durante 1 minuto 	<ol style="list-style-type: none"> 2. Toma de segunda muestra de placa dentobacteriana
D	Formulaciones de nanopartículas blanco sin CHX (control negativo 2)				

Tabla 4. Programa de procedimientos realizados de acuerdo al grupo y periodo de tiempo



Figura 3. Secuencia de procedimientos realizados. A) Examinación inicial de tejidos blandos y selección de pacientes mediante los criterios de inclusión y exclusión seleccionados. B) Detartraje y pulido mediante pasta profiláctica a baja velocidad. C) Recolección de datos clínicos: PI y GI. D) Solución reveladora de placa dentobacteriana RED-COTE. E) Formulaciones a probar y tubos de ensayo para recolección de las muestras debidamente marcado con la clave del participante.

5.6 CONSIDERACIONES ÉTICAS.

"Todos los procedimientos estarán de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud":

- Título segundo, capítulo I, Artículo 17, Sección II, investigación con riesgo mínimo, se anexa hoja de consentimiento informado.

- Título tercero. De la investigación de nuevos **recursos profilácticos**, de **diagnóstico, terapéuticos y de rehabilitación**. Capítulo I Artículos 61-64 Cuando se realice investigación en seres humanos sobre nuevos (o se modifiquen) recursos profilácticos, dx, terapéuticos o rehabilitación, además deberán solicitar autorización de la Secretaría presentando documentación requerida.

El presente estudio fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

6. RESULTADOS

Un total de 12 sujetos fueron finalmente incluidos para los estudios clínico y microbiológico. La población del estudio fue dividida en 4 grupos, cada uno con un total de 3 participantes: **Grupo A.** Formulaciones de nanopartículas con CHX (Grupo Experimental), **Grupo B:** Formulaciones de CHX libre (Control Positivo), **Grupo C:** Formulaciones de Agua con PVA (Control Negativo 1) y **Grupo D:** Formulaciones de nanopartículas blanco sin CHX (Control Negativo 2).

A línea base (0 h), no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los 4 grupos con respecto al índice de placa e índice gingival. (Tabla 5) (Fig. 4)

Índice de placa Turesky-Gilmore-Glickman

Se observó que el IP tuvo una reducción significativa a las 4 h posterior al detartraje y pulido en los 4 grupos estudiados. (Tabla 6) (Fig. 5)

Grupo A. Formulaciones de nanopartículas con CHX: El promedio de IP fue de 1.75 a las 0 h, antes de realizar detartraje y pulido a los participantes, 0.75 a las 4 h, y 0.70 en el período de 24 h. (Tabla 7) (Fig. 6)

Se observó una disminución en el promedio de IP entre 0-4 h de 1, así como una disminución de 0.05 en el período de 4-24 h.

Grupo B: Formulaciones de CHX libre: El promedio de IP fue de 1.75 a las 0 h antes de realizar detartraje y pulido a los participantes, 0.58 a las 4 h, y 1.04 en el período de 24 h.

Se observó una disminución en el promedio de IP entre 0-4 h de 1.17, así como un aumento de 0.46 en el período de 4-24 h.

Grupo C: Formulaciones de Agua con PVA: El promedio de IP fue de 1.87 a las 0 h, antes de realizar detartraje y pulido a los participantes, 0.91 a las 4 h, y 1.83 en el período de 24 h.

Se observó una disminución en el promedio de IP entre 0-4 h de 0.96, así como un aumento de 0.92 en el período de 4-24 h.

Grupo D: Formulaciones de nanopartículas blanco sin CHX: El promedio de IP fue de 1.58 a las 0 h, antes de realizar detartraje y pulido a los participantes, 0.41 a las 4 h, y 1.87 en el período de 24 h.

Se observó una disminución en el promedio de IP entre 0-4 h de 1.17, así como un aumento de 1.46 en el período de 4-24 h.

Índice de placa O'leary

Se observó que el índice de placa (IP) tuvo una reducción significativa a las 4 h posterior al detartraje y pulido en los 4 grupos estudiados.

Grupo A. Formulaciones de nanopartículas con CHX: El promedio de IP fue de 66.06% a las 0 h, antes de realizar detartraje y pulido a los participantes, 33.92% a las 4 h, y 41.66% en el período de 24 h.

Se observó una disminución en el promedio de IP entre 0-4 h de 32.14%, así como un aumento de 7.74% en el período de 4-24 h.

Grupo B: Formulaciones de CHX libre: El promedio de IP fue de 73.61% a las 0 h, antes de realizar detartraje y pulido a los participantes, 35.96% a las 4 h, y 56.79% en el período de 24 h.

Se observó una disminución en el promedio de IP entre 0-4 h de 37.65%, así como un aumento de 20.83% en el período de 4-24 h.

Grupo C: Formulaciones de Agua con PVA: El promedio de IP fue de 74.99% a las 0 h antes de realizar detartraje y pulido a los participantes, 45.53% a las 4 h, y 81.24% en el período de 24 h.

Se observó una disminución en el promedio de IP entre 0-4 h de 29.46%, así como un aumento de 35.71% en el período de 4-24 h.

Grupo D: Formulaciones de nanopartículas blanco sin CHX: El promedio de IP fue de 64.57% a las 0 h, antes de realizar detartraje y pulido a los participantes, 31.31% a las 4 h, y 76.33% en el período de 24 h.

Se observó una disminución en el promedio de IP entre 0-4 h de 33.26%, así como un aumento de 45.02% en el período de 4-24 h.

Índice gingival

Se tomó como referencia el índice gingival de Løe y Silness. Se observó que el Índice gingival (IG) tuvo una reducción, sin embargo, no estadísticamente significativa de 0.145 en el grupo de Formulaciones de nanopartículas con CHX (grupo experimental) en comparación con los 3 grupos restantes los cuales permanecieron sin cambios durante el período de 0-4 h y de 4-24 h.

Grupo A. Formulaciones de nanopartículas con CHX: El promedio de IG fue de 0.27 a las 0 h, antes de realizar detartraje y pulido a los participantes, 0.16 a las 4 h, y 0.0 en el período de 24 h.

Se observó una disminución en el promedio de IG entre 0-4 h de 0.11, así como una disminución de 0.16 en el período de 4-24 h.

Grupo B: Formulaciones de CHX libre: El promedio de IG fue de 0.11 a las 0 h antes de realizar detartraje y pulido a los participantes, 0.11 a las 4 h, y 0.05 en el período de 24 h.

No se observaron diferencias en el promedio de IG en el período de 0-4 h, sin embargo, hubo una disminución de 0.06 en el período entre 4-24 h.

Grupo C: Formulaciones de Agua con PVA: El promedio de IG fue de 0.27 a las 0 h, antes de realizar detartraje y pulido a los participantes, 0.27 a las 4 h, y 0.27 en el período de 24 h.

No se observaron diferencias en el promedio de IG en los períodos de 0-4 h y 4-24 h.

Grupo D: Formulaciones de nanopartículas blanco sin CHX: El promedio de IG fue de 0.16 a las 0 h, antes de realizar detartraje y pulido a los participantes, 0.16 a las 4 h, y 0.16 en el período de 24 h.

No se observaron diferencias en el promedio de IG en los períodos de 0-4 h y 4-24 h.

En comparación entre los grupos en el período de 4 a 24 h, hubo un promedio de IP (Turesky-Gilmore-Glickman) de 0.70 para el grupo A, 1.04 (P=0.774) para el grupo B, 1.83 (P=0.049) para el grupo C y 1.87 (P=0.049) para el grupo D. (Tabla 8) (Fig. 7)

Se obtuvo un promedio de IP (O'Leary) de 41.66 para el grupo A, 56.79 (P=0.473) para el grupo B, 81.24 (P=0.017) para el grupo C y 76.33 (P=0.034) para el grupo D.

Se obtuvo un IG (Løe y Silness) promedio de 0.00 para el grupo A, 0.05 (P=0.925) para el grupo B, 0.27 (P=0.049) para el grupo C y 0.16 (P=0.308) para el grupo D.

	Grupo	Media	DE	Min	Max	Prueba t	Valor p
Turesky	Nanopartículas cargadas con CHX	1.75	0.38	1.37	2.12		
	Clorhexidina libre	1.75	0.25	1.50	2.00	0.00	1.0000
	Agua con PVA	1.87	0.69	1.25	2.62	-0.13	0.9866
	Nanopartículas blancas sin CHX	1.58	0.44	1.12	2.00	0.17	0.9706
Löe	Nanopartículas cargadas con CHX	0.27	0.34	0.00	0.66		
	Clorhexidina libre	0.11	0.09	0.00	0.16	0.17	0.7494
	Agua con PVA	0.27	0.10	0.16	0.33	0.00	1.0000
	Nanopartículas blancas sin CHX	0.16	0.17	0.00	0.33	0.11	0.9071
O'Leary	Nanopartículas cargadas con CHX	66.06	18.45	45.53	81.25		
	Clorhexidina libre	73.61	8.42	64.58	81.25	-7.54	0.942
	Agua con PVA	74.99	12.37	67.85	89.28	-8.92	.9100
	Nanopartículas blancas sin CHX	64.57	23.29	38.39	83.00	1.49	0.999

Tabla 5. Evaluación del índice de placa (0 h) según la técnica empleada y grupo de estudio.

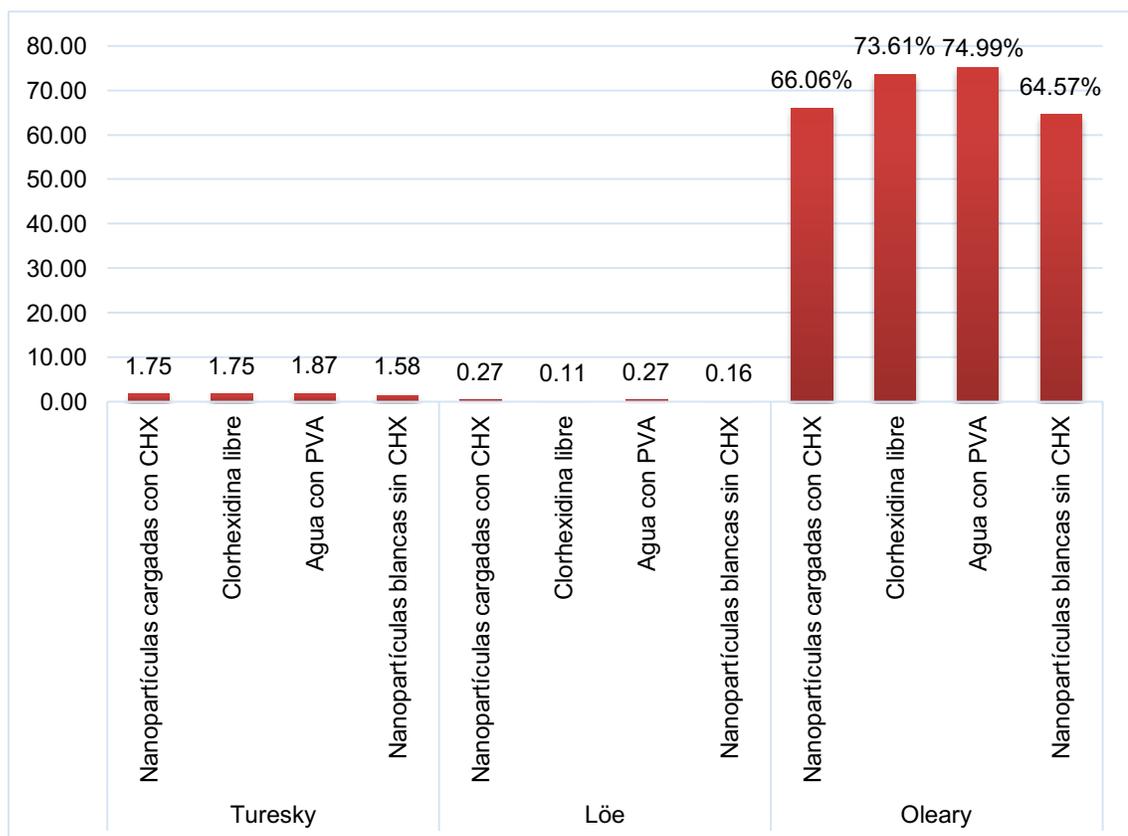


Figura 4. Evaluación del índice de placa (0 h) según la técnica empleada y grupo de estudio.

	Grupo	Media	DE	Min	Max	Prueba t	Valor p
Turesky	Nanopartículas cargadas con CHX	0.75	0.43	0.50	1.25		
	Clorhexidina libre	0.58	0.38	0.25	1.00	0.17	0.9301
	Agua con PVA	0.91	0.36	0.50	1.12	-0.16	0.9337
	Nanopartículas blancas sin CHX	0.41	0.08	0.37	0.50	0.34	0.6399
Löe	Nanopartículas cargadas con CHX	0.16	0.17	0.00	0.33		
	Clorhexidina libre	0.11	0.09	0.00	0.16	0.06	0.9531
	Agua con PVA	0.27	0.10	0.16	0.33	-0.11	0.7540
	Nanopartículas blancas sin CHX	0.16	0.17	0.00	0.33	0.00	1.0000
O'Leary	Nanopartículas cargadas con CHX	33.92	8.18	26.78	42.85		
	Clorhexidina libre	35.96	15.22	22.91	52.67	-2.03	0.9932
	Agua con PVA	45.53	6.25	38.39	50.00	-11.61	0.4812
	Nanopartículas blancas sin CHX	31.31	4.79	25.89	35.00	2.62	0.9858

Tabla 6. Evaluación del índice de placa (4 h) según la técnica empleada y grupo de estudio.

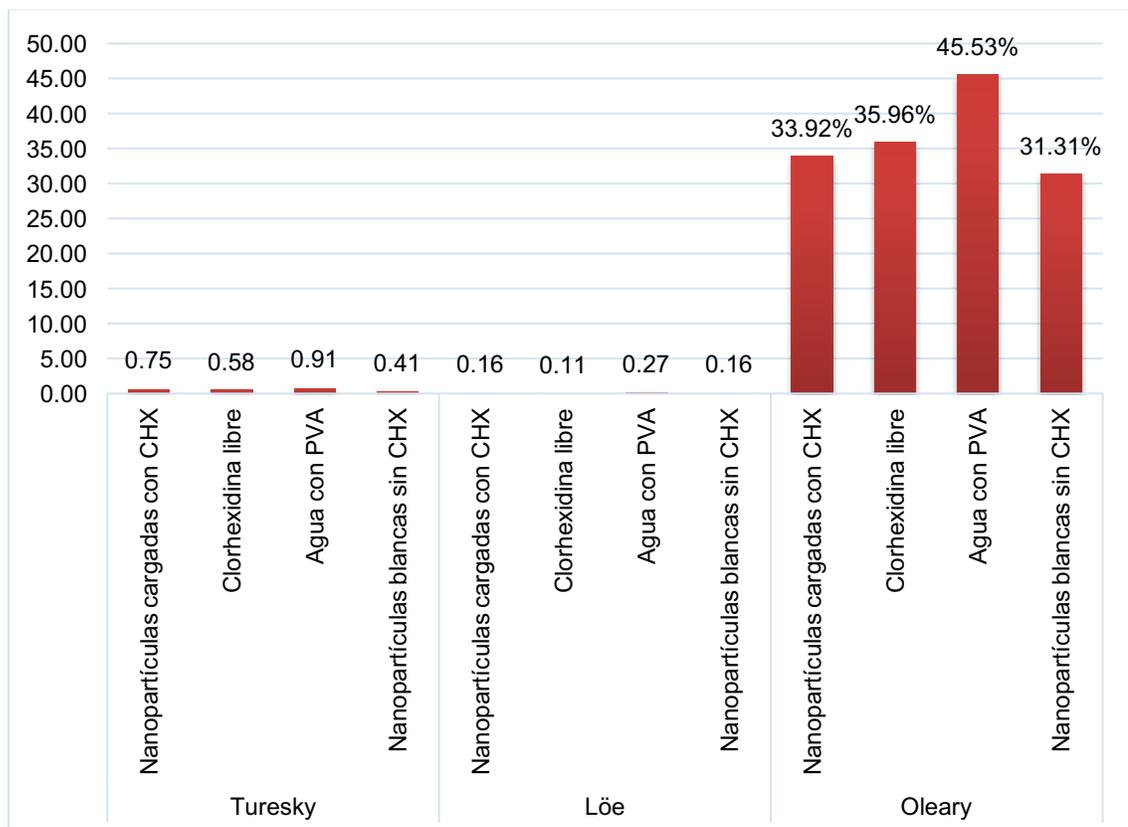


Figura 5. Evaluación del índice de placa (4 h) según la técnica empleada y grupo de estudio.

	Grupo	Media	DE	Min	Max	Prueba t	Valor p
Turesky	Nanopartículas cargadas con CHX	0.70	0.14	0.62	0.87		
	Clorhexidina libre	1.04	0.50	0.50	1.50	-0.34	0.7743
	Agua con PVA	1.83	0.40	1.37	2.12	-1.13	0.0490
	Nanopartículas blancas sin CHX	1.87	0.55	1.50	2.50	-1.17	0.0412
Löe	Nanopartículas cargadas con CHX	0.00	0.00	0.00	0.00		
	Clorhexidina libre	0.05	0.09	0.00	0.16	-0.05	0.9251
	Agua con PVA	0.27	0.10	0.16	0.33	-0.27	0.0490
	Nanopartículas blancas sin CHX	0.16	0.17	0.00	0.33	-0.16	0.3086
O'Leary	Nanopartículas cargadas con CHX	41.66	4.02	37.50	45.53		
	Clorhexidina libre	56.79	19.72	34.37	71.42	-15.13	0.4730
	Agua con PVA	81.24	3.09	77.67	83.03	-39.58	0.0176
	Nanopartículas blancas sin CHX	76.33	13.59	61.60	88.39	-34.67	0.0344

Tabla 7. Evaluación del índice de placa (24 h) según la técnica empleada y grupo de estudio.

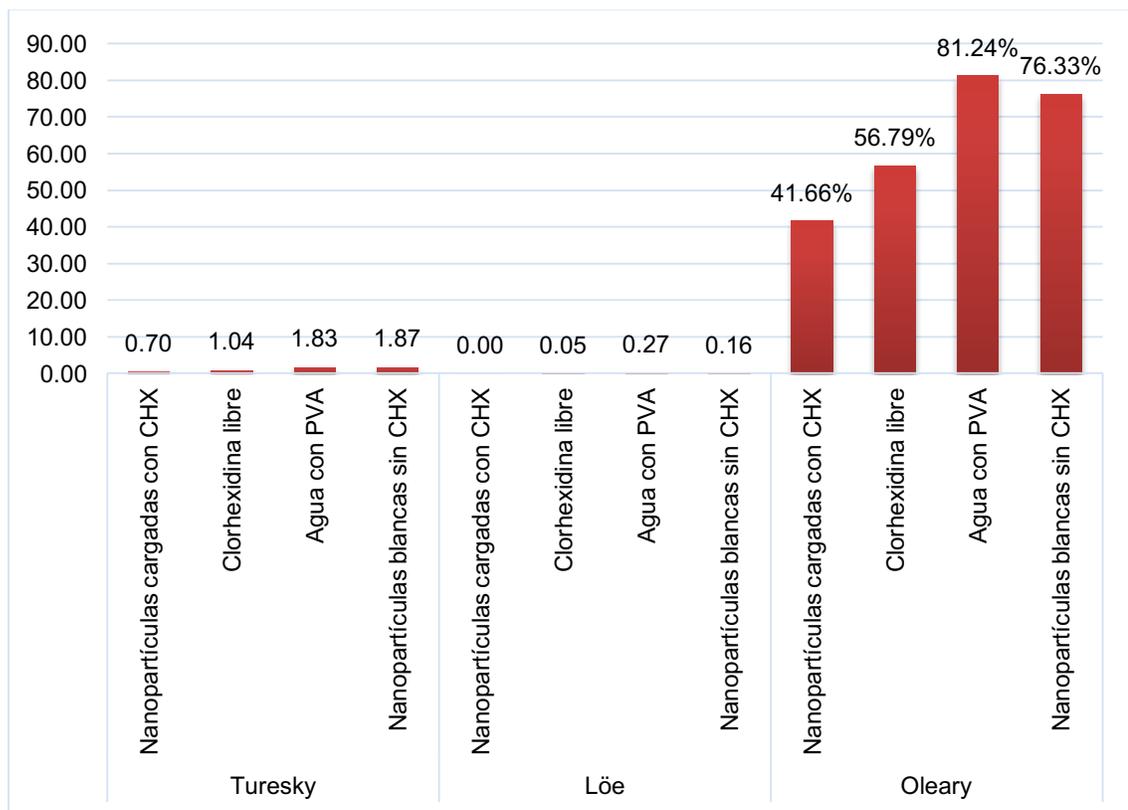


Figura 6. Evaluación del índice de placa (24 h) según la técnica empleada y grupo de estudio.

		4 hr		24 hr			
	Grupo	Media	Desviación Estándar	Media	Desviación Estándar	Prueba t	Valor p
Turesky	Nanopartículas cargadas con CHX	0.75	0.43	0.70	0.14	0.20	0.4340
	Clorhexidina libre	0.58	0.38	1.04	0.50	1.10	0.1397
	Agua con PVA	0.91	0.36	1.83	0.40	2.03	0.0210
	Nanopartículas blancas sin CHX	0.41	0.08	1.87	0.55	2.57	0.0050
Löe	Nanopartículas cargadas con CHX	0.16	0.17	0.00	0.00	1.39	0.0808
	Clorhexidina libre	0.11	0.09	0.05	0.09	0.65	0.2593
	Agua con PVA	0.27	0.10	0.27	0.10	0.09	0.5000
	Nanopartículas blancas sin CHX	0.16	0.17	0.16	0.17	0.09	0.5000
O'Leary	Nanopartículas cargadas con CHX	33.92	8.18	41.66	4.02	1.23	0.1077
	Clorhexidina libre	35.96	15.22	56.79	19.72	1.22	0.1104
	Agua con PVA	45.53	6.25	81.24	3.09	2.65	0.0004
	Nanopartículas blancas sin CHX	31.31	4.79	76.33	13.59	2.39	0.0028

Tabla 8. Comparación del índice de placa (4 y 24 h) según la técnica empleada y grupo de estudio.

Evaluación microbiológica

La evaluación microbiológica se llevó a cabo por medio de CFU (Unidades Formadoras de Colonias). Las tablas 9 y 10 muestran los resultados de CFU a las 4 y 24 h de los 4 grupos estudiados (Fig. 7).

Grupo A. Formulaciones de nanopartículas con CHX: El promedio fue de 44,508.33 CFU a la primera toma en el período de 4 h, y de 2,131.33 CFU en el período de 24 h.

Grupo B: Formulaciones de CHX libre: El promedio fue de 90,000.00 CFU a la primera toma en el período de 4 h, y de 7,200.00 CFU en el período de 24 h.

Grupo C: Formulaciones de Agua con PVA: El promedio fue de 387,316.67 CFU a la primera toma en el período de 4 h, y de 3,689,000.00 CFU en el período de 24 h.

Grupo D: Formulaciones de nanopartículas blanco sin CHX: El promedio fue de 230,615.67 CFU a la primera toma en el período de 4 h, y de 6,000,146.67 CFU en el período de 24 h.

En comparación entre los grupos en el período de 24 h, se obtuvo un promedio de 2131.33 para el grupo A, 7200.00 (P=1.0000) para el grupo B, 3689000.00 (P=0.7228) para el grupo C y 6000146.67 (P=0.3739) para el grupo D. (Tabla 10)

	Media	Desviación Estándar	Min	Max	Prueba t	Valor p
Nanopartículas cargadas con CHX	44508.33	62003.74	975.00	115500.00		
Clorhexidina libre	90000.00	25283.39	64000.00	114500.00	-4.67	0.9979
Agua con PVA	387316.67	488572.46	12950.00	940000.00	-3.33	0.5737
Nanopartículas blancas sin CHX	230615.67	397839.24	157.00	690000.00	-8.33	0.8867

Tabla 9: Comparación de las CFU (4 h) según el grupo de estudio.

	Media	Desviación Estándar	Min	Max	Prueba t	Valor p
Nanopartículas cargadas con CHX	2131.33	3228.52	44.00	5850.00		
Clorhexidina libre	7200.00	2025.46	5150.00	9200.00	-5.67	1.0000
Agua con PVA	3689000.00	3151057.44	67000.00	5800000.00	-6.67	0.7228
Nanopartículas blancas sin CHX	6000146.67	7937087.63	440.00	15000000.00	-5.33	0.3739

Tabla 10. Comparación de las CFU (24 h) según el grupo de estudio.

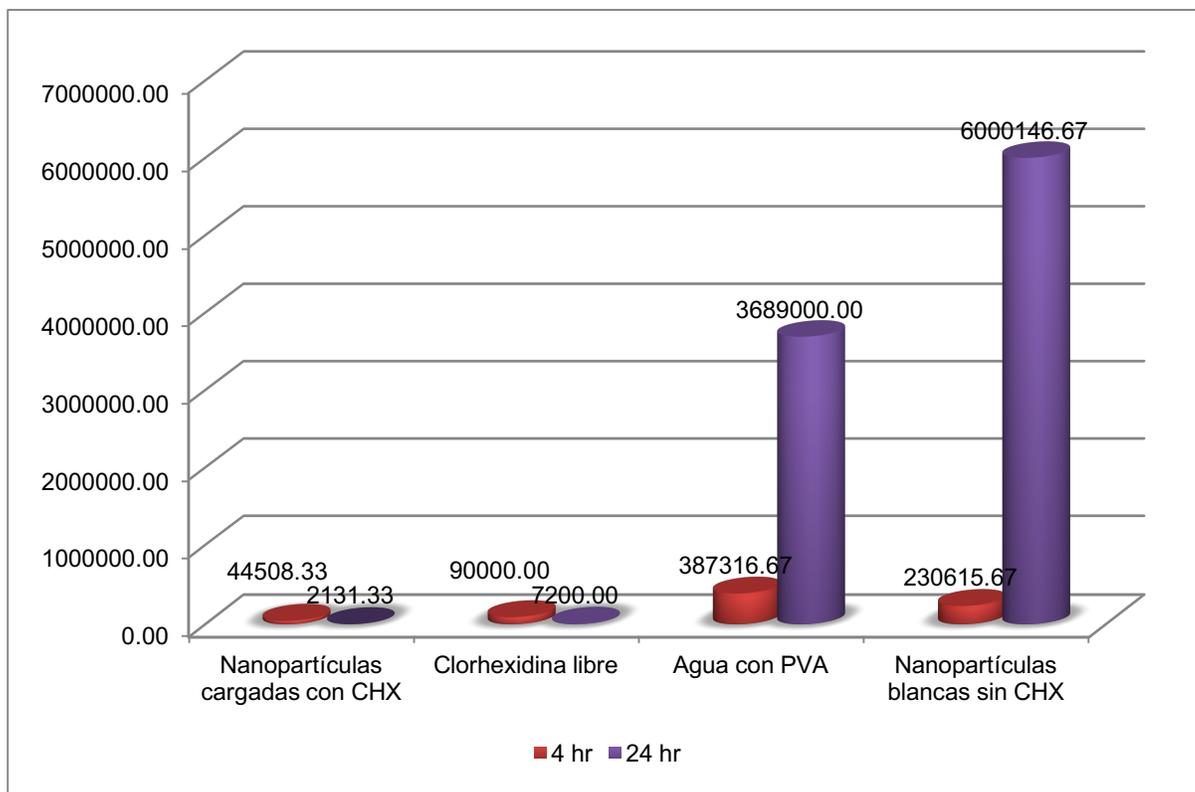


Figura 7. Comparación de las CFU (4 y 24 h) según el grupo de estudio.

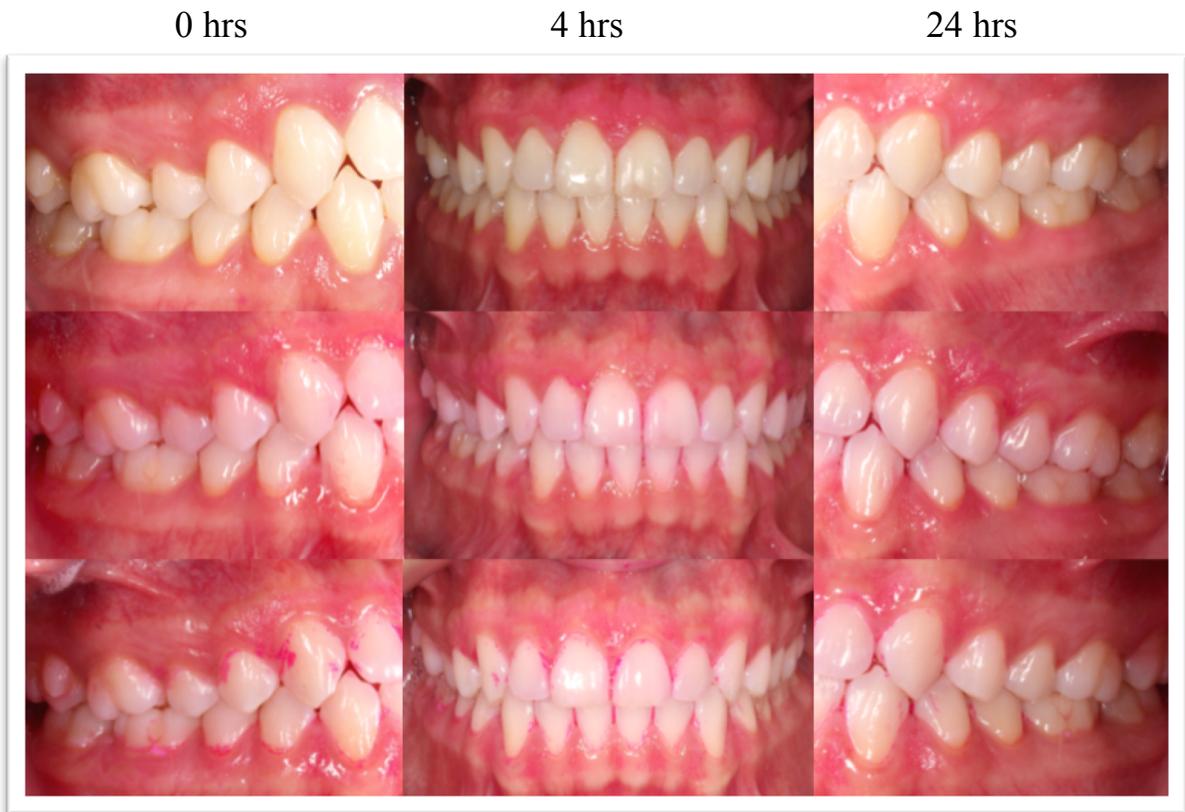


Fig 8. Grupo A. Formulaciones de nanopartículas con CHX.



Fig 9. Grupo A. Formulaciones de nanopartículas con CHX.



Fig 10. Grupo B. Formulaciones de CHX libre.

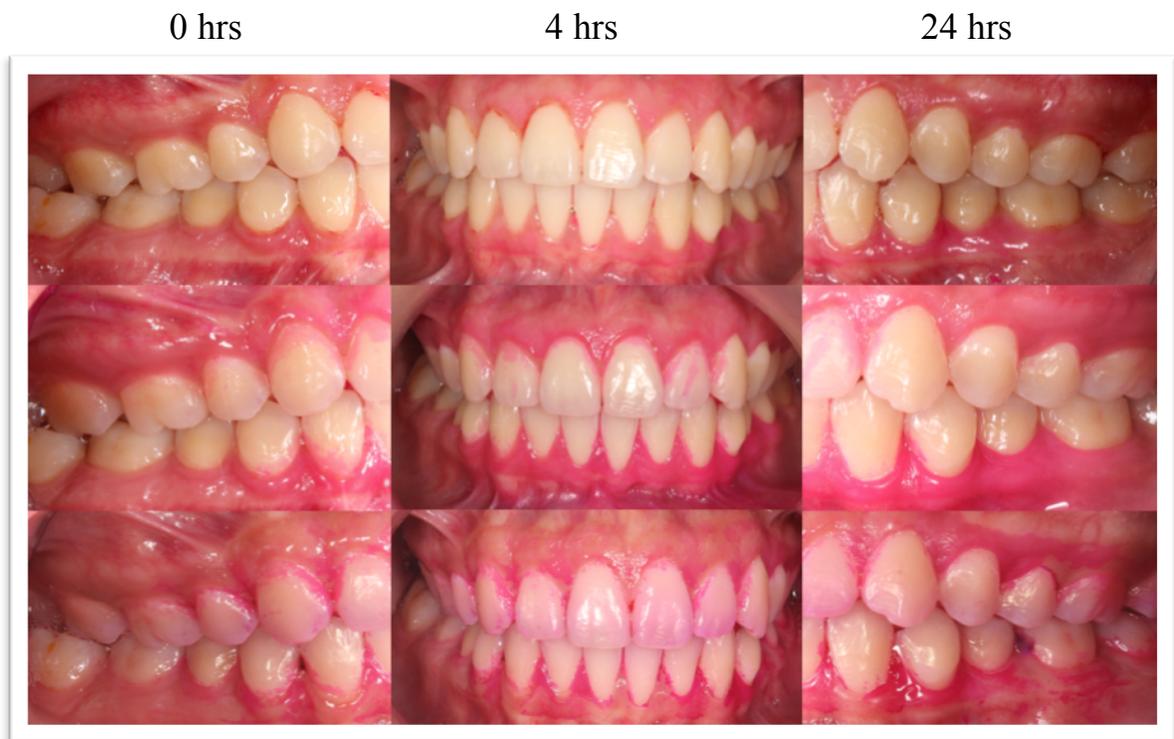


Fig 11. Grupo C. Formulaciones de Agua con PVA.

0 hrs

4 hrs

24 hrs



Fig 12. Grupo D. Formulaciones de nanopartículas sin CHX.

7. DISCUSIÓN

En el conocimiento del autor, no hay ningún trabajo de investigación en el cuál se emplee la incorporación de CHX a nanopartículas poliméricas con el fin de obtener un efecto benéfico en la sustentividad de dicha solución, y de esta forma lograr un adecuado control de la formación de placa y prevención de gingivitis.

El foco de prevención de la enfermedad periodontal crónica ha sido por muchos años el mantenimiento de la salud gingival a través del control efectivo de la placa supragingival. Ya que muchas personas tienen dificultades para mantener bajos los niveles de placa, se han incorporado agentes químicos en los productos de higiene oral para mejorar el procedimiento físico del cepillado.

Numerosos estudios han mostrado que el efecto de la clorhexidina es dependiente de su sustentividad encontrando resultados positivos al evaluarse sus efectos sobre la gingivitis y periodontitis (Bonesvoll P & Olsen I, 1974).

El objetivo de esta investigación fue evaluar y comparar la eficacia de las formulaciones de CHX en solución y CHX encapsulada en nanopartículas poliméricas como agente anti-placa en un período de 24 horas sin control mecánico de la placa, mediante la evaluación clínica y microbiológica. Para esta comparación la población del estudio se dividió en 4 grupos: A: formulación de nanopartículas poliméricas que contenían 0.12% de CHX (experimental), B: formulación de CHX al 0.12% sin encapsulación (control positivo), C: agua con PVA (control negativo) y D: formulación de nanopartículas sin CHX (control negativo). Para la evaluación del crecimiento de placa se utilizó, Índice de placa (Turesky-Gilmore-Glickman y O'Leary), e Índice gingival (Løe y Silness), los cuales fueron recolectados a las 0, 4 y 24 horas, así como también se recolectó una muestra de placa supragingival de las superficies bucales de las piezas 16/26 a las 4 y 24 horas para su estudio microbiológico (CFU).

Rosin M *et al* (2002) compararon un antiséptico, (A) polyhexamethylene biguanide hydrochloride (PHMB) al 0.12%, con: (B) control negativo, placebo (10% de etanol),

(C) control positivo, clorhexidina al 0.12% y (D) un enjuague comercial con aceites esenciales (Listerine) como agente inhibidor del crecimiento de placa y reductor de la cuenta bacteriana. Se incluyeron 16 sujetos en el estudio en un rango de edad de 23.4 años. Se tomaron como criterios de inclusión: un mínimo de 25 piezas dentales presentes, no más de una restauración total, no tener objetos intraorales (piercings) y tener una buena salud en general, sin antecedentes médicos o farmacológicos. Estos criterios de inclusión y exclusión coinciden con los aplicados para este trabajo. Los resultados de las pruebas microbiológicas fueron expresados como unidades formadoras de colonias por muestra (CFU/muestra). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA con ajuste de Bonferroni HSD para comparaciones múltiples (nivel de significancia= 0.05). En este trabajo de igual manera se llevó a cabo el análisis microbiológico.

Se obtuvo como resultado que el enjuague con PHMB al 0.12% fue significativamente más efectivo en la inhibición de placa que en el placebo (B) pero no se encontraron diferencias significativas en comparación con los enjuagues de clorhexidina (C) y Listerine (D). La Clorhexidina (C) fue significativamente más efectiva en la reducción de conteo bacteriano en comparación con los otros 3 tratamientos. Se concluyó que, el enjuague con PHMB inhibe la recolonización de placa y reduce los conteos bacterianos orales, indicando que éste puede aplicarse en la prevención de enfermedades asociadas con placa.

Behal R y Gilda (2012), evaluaron la eficacia de un enjuague bucal turmérico al 0.1% como agente anti-placa y su efecto sobre la inflamación gingival en comparación con un enjuague de gluconato de clorhexidina al 0.2% mediante la evaluación del efecto sobre la placa, la inflamación gingival y la carga microbiana. Analizaron a 60 pacientes en edades de 15 años en adelante, que presentaban gingivitis leve a moderada. La población de estudio se dividió en dos grupos. Se evaluaron los criterios subjetivos y objetivos después de 14 días y 21 días. Se utilizó un ensayo N-benzoyl-L-arginine-p-nitroanilide (BAPNA) para analizar la tripsina como la actividad de los microorganismos del complejo rojo.

Como resultados obtuvieron que en comparación entre el enjuague bucal con clorhexidina y enjuague bucal turmérico, el porcentaje de reducción del índice de placa entre los 0 y 21 días fue de 64.207 y 69.072, respectivamente ($P = 0.112$), la reducción de porcentaje del Índice gingival entre los 0 y 21 días fue de 61.150 y 62.545, respectivamente ($P = 0.595$) y la reducción de porcentaje de los valores BAPNA entre los 0 y 21 días fue de 42.256 y 48.901, respectivamente ($P = 0.142$). Se concluyó que el gluconato de clorhexidina, así como el enjuague bucal turmérico puede ser utilizado eficazmente como un complemento al control de la placa mecánica en la prevención de la placa y la gingivitis. Ambos enjuagues bucales tienen propiedades comparables anti-placa, anti-inflamatorias y anti-microbianas.

Von Ohle *et al* (2010), analizaron el efecto de la clorhexidina sobre la fisiología de la placa dentobacteriana suplementada con sacarosa, exponiendo en vivo las muestras del *biofilm* durante 1 y 10 minutos a 10 mL de una solución de este antiséptico al 0,2%. Un aspecto particularmente relevante de las aportaciones de estos autores fue que, si bien la viabilidad bacteriana tras 1 minuto de exposición estimada con la tinción LIVE/DEAD® BacLight™ fue del 2%, en un cultivo convencional fue del 58%, lo que permite asumir que tras exposiciones cortas algunas bacterias persisten cultivables aun cuando tengan sus membranas dañadas. Sin embargo, tras 10 minutos de exposición, el número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC)/mL se redujo significativamente en comparación con el obtenido en el B-PD control. En este trabajo también se utilizó el conteo de unidades formadoras de colonia para el análisis microbiológico.

Pai M *et al* (2004), evaluaron clínicamente la eficacia de 2 formulaciones de geles que contenían gluconato de clorhexidina y extracto de Neem comparado con un enjuague bucal comercial de gluconato de clorhexidina. Se incluyeron 48 pacientes en el estudio de 6 semanas. Fueron divididos en 4 grupos. Obtuvieron como resultados que la media de las puntuaciones de placa e índice gingival se redujeron durante el período de prueba de seis semanas para los grupos experimentales y de control. El gel de gluconato de clorhexidina reduce la placa y la inflamación gingival significativamente ($P < 0.05$) en comparación con el enjuague bucal de gluconato de clorhexidina. El gel

con extracto de Neem también mostró una reducción significativa ($P = <0.05$) en las puntuaciones de placa e índice gingival en comparación con el grupo control. Pero no hubo diferencia significativa entre los grupos tratados con gel de clorhexidina y gel de extracto de Neem. Concluyeron que la mejor eficacia terapéutica se puede lograr utilizando geles para el tratamiento de infecciones orales en comparación con los tratamientos convencionales que usan enjuague bucal.

En esta investigación se obtuvo como resultado que, en comparación entre los grupos en el período de 24 horas, hubo un promedio de IP (Turesky-Gilmore-Glickman) de 0.70 para el grupo A, 1.04 ($P=0.774$), 1.83 (0.049) y 1.87 ($P=0.049$) para los grupos B, C y D respectivamente. Hubo un promedio de IP (O'Leary) de 41.66 para el grupo A, 56.79 ($P=0.473$), 81.24 ($P=0.017$) y 76.33 ($P=0.034$) para los grupos B, C y D, respectivamente. Hubo un IG promedio de 0.00 para el grupo A, 0.05 ($P=0.925$), 0.27 ($P=0.049$) y 0.16 ($P=0.308$) para los grupos B, C y D respectivamente. Esto nos indica que, las nanopartículas poliméricas cargadas con 0.12% de CHX inhiben el recrecimiento de la placa dentobacteriana y reduce los recuentos bacterianos orales.

8. CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos en este estudio, es posible afirmar lo siguiente:

1. A línea base (0 horas), no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los 4 grupos con respecto al IP (Turesky-Gilmore-Glickman, O'Leary) e IG (Löe y Silness).
2. En el período de 4 horas, se observó que el IP (Turesky-Gilmore-Glickman, O'Leary) tuvo una reducción significativa posterior al detartraje y pulido en los 4 grupos estudiados.
3. En el período de 24 horas, se observó que el grupo de formulaciones de nanopartículas con CHX y el grupo de formulaciones de CHX libre obtuvieron los mayores porcentajes de reducción de placa en comparación con los grupos de formulaciones de agua con PVA y nanopartículas blanco sin CHX.
4. En el período de 24 horas, se observó que el grupo de nanopartículas con CHX obtuvo el menor índice gingival, siendo éste de 0.00 en comparación con los demás grupos.
5. El grupo de formulaciones de nanopartículas con CHX obtuvo clínicamente los mejores resultados en comparación con los 3 grupos restantes.
6. Con respecto a la evaluación microbiológica, se observó el menor promedio de CFU en el período de 24 horas en el grupo de formulaciones de nanopartículas con CHX en comparación con los demás grupos.
7. Se comprueba la hipótesis de que la utilización de nanopartículas poliméricas como vehículo mejora la sustentividad de la clorhexidina (en relación con la clorhexidina no encapsulada) en un período de 24 horas de nula higiene oral, por lo cual su efecto anti-placa y antiinflamatorio se controló adecuadamente durante este periodo.

Se demostró que las nanopartículas poliméricas cargadas con 0.12% de CHX inhiben el recrecimiento de la placa dentobacteriana y reduce los recuentos bacterianos orales, lo que indica que podría recurrirse a las nanopartículas cargadas con CHX como un complemento al control mecánico de la placa en la prevención de placa y gingivitis.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Addy M, Moran J. Clinical indications for the use of chemical adjuncts to plaque control: chlorhexidine formulations. *Periodontol 2000*. 1997;15:52-54.

Addy M, Moran J. Evaluation of oral hygiene products: science is true; don't be misled by the facts. *Periodontol 2000*. 1997;12:40-51.

Agarwal A, Nelson T, Kierski P, Schurr M, Murphy C, Czuprynski C, McAnulty J, Abbott N. Polymeric multilayers that localize the release of chlorhexidine from biologic wound dressings. *Biomaterials*. 2012;33(28):6783-6792.

Allaker R. The Use of Nanoparticles to Control Oral Biofilm Formation. *J Dent Res*. 2010;89(11):1175-1186.

Allaker R, Memarzadeh K. Nanoparticles and the control of oral infections. *Int J Antimicrob Agents*. 2014;43:95-104.

Baehni P, Takeuchi Y. Anti-plaque agents in the prevention of biofilm-associated oral diseases. *Oral Diseases*. 2003;9(1):23-29.

Barreras U, Méndez F, Martínez R, Valencia C, Rodríguez P, Rodríguez J. Chitosan nanoparticles enhance the antibacterial activity of chlorhexidine in collagen membranes used for periapical guided tissue regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2016;58:1182-1187.

Bernimoulin J. Recent concepts in plaque formation. *J Clin Periodontol*. 2002;30(5): 7-9.

Bonifácio B, Silva P, Ramos M, Negri K, Bauab T, Chorilli M. Nanotechnology-based drug delivery systems and herbal medicines: a review. *Int J Nanomedicine*. 2014;9:1-15.

Chandra S, Chatterjee P, Dey P, Bhattacharya. Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2012; 2(1):178-180.

Wean S, Matthew W, Kunn H. The roles of lipid in anti-biofilm efficacy of 1425 lipid-polymer hybrid nanoparticles encapsulating antibiotics. *Colloids Surf. A 1426 Physicochem. Eng. Asp*. 2011;389:158-165.

Divya P, Nandakumar K. "Local Drug Delivery-Periocol" In *Periodontics*. Trends Biomater. Artif. Organs. 2006;19(2):74-80.

Forier K, Raemdonck K, De Smedt S, Demeester J, Coenye T, Braeckmans K. Lipid and polymer nanoparticles for drug delivery to bacterial biofilms. *J Control Release*. 2014;190:607-623.

Garg S. Local Drug Delivery Systems as an Adjunct to Cure Periodontitis- The Novel Dental Applicant. *Pharmaceutical Methods*. 2015;6(1):1-8.

- Garner S, Nobbs A, McNally L, Barbour M. An antifungal coating for dental silicones composed of chlorhexidine nanoparticles. *J Dent.* 2015;43(3):362-372.
- Goodson J, Offenbacher S, Farr D, Hogan P. Periodontal Disease Treatment by Local Drug Delivery. *J Periodontol.* 1985;56(5):265-272.
- Greenstein G, Polson A. The Role of Local Drug Delivery in the Management of Periodontal Diseases: A Comprehensive Review. *J Periodontol.* 1998;69:507-520.
- Giuliana G, Pizzo G, Milici M, Musobho G, Giangreco R. In vitro antifungal properties of mouthrinses containing antimicrobial agents. *J Periodontol Res.* 1997;68: 729-33.
- Hall-Stoodley L, Stoodley P. Evolving concepts in biofilm infections. *Cell. Microbiol.* 2009;11(7):1034-1043.
- Hanning C, Hanning M. The oral cavity – a key system to understand substratum-dependent bioadhesion on solid surfaces in man. *Clin Oral Investig.* 2009;13:123-139.
- Hassiba A, El Zowalaty M, Webster T, Abduliah A, Nasrallah G, Khalil K, Luyt A, Elzatahry A. Synthesis, characterization, and antimicrobial properties of novel double layer nanocomposite electrospun fibers for wound dressing applications. *Int J Nanomedicine.* 2017;12:2205-2213.
- Hearnden V, Sankar V, Hull L, Vidovic Juras D, Greenberg M, Ross Kerr A, Lockhart P, Patton L, Porter S, Thornhill M. New developments and opportunities in oral mucosal drug delivery for local and systemic disease. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2012;64: 16-28.
- Ibrahim E, Gaafar A, Salama Z, El Baz F. Anti-inflammatory and Antioxidant Activity of *Solenostemma argel* extract. *IJPPR.* 2015;7(4):635-641.
- Jones C. Chlorhexidine: is it still the gold standard?. *Periodontol 2000.* 1997;15: 55-63.
- Kearney J. Clinical evaluation of skin substitutes. *Burns.* 2001;27:545–51.
- Killooy W. The use of locally-delivered chlorhexidine in the treatment of periodontitis. Clinical results. *J Clin Periodontol.* 1998;25: 953-958.
- Kong L, Peng Z, Li S, Bartold P. Nanotechnology and its role in the management of periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2006;40:184-196.
- Lal S, Barrow R, Wolf S, Chinkes D, Hart D, Hegggers J, et al. Biobrane improves wound healing in burned children without increased risk of infection. *Shock.* 2000;14:314–9.
- Li J, Helmerhorst E, Leones C, Troxler R, Yaskell T, Haffajee A, Socransky S, Oppenheim FG. Identification of early microbial colonizers in human dental biofilm. *J Appl Microbiol.* 2004;97: 1311-1318.
- Listgarten M. Pathogenesis of periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1986;13: 418-425.

Löe H, Schiott R. The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. *J Periodont Res.* 1970;5: 79-83.

Mali A, Behal R, Gilda S. Comparative evaluation of 0.1% turmeric mouthwash with 0.2% chlorhexidine gluconate in prevention of plaque and gingivitis: A clinical and microbiological study. *J Indian Soc Periodontol.* 2012;16(3): 386-391.

Mendieta C, Vallcorba N, Binney A, Addy M. Comparison of 2 chlorhexidine mouthwashes on plaque regrowth in vivo and dietary staining in vitro. *J Clin Periodontol.* 1994;21: 296-300.

Moura L, Oliveira Giorgetti Bossolan A, de Rezende Duek E, Sallum E, Nociti F Jr, Casati M, Sallum A. Treatment of peri-implantitis using nonsurgical debridement with bioresorbable nanospheres for controlled release of doxycycline: case report. *Compend Contin Educ Dent.* 2012;33(10):E145-9.

Nagpal K, Singh S, Mishra D. Chitosan Nanoparticles: a promising system in novel drug delivery. *Chem Pharm Bull.* 2010;58(11):1423-30.

Narang R, Narang J. Nanomedicines for dental applications-scope and future perspective. *Int J Pharm Investig.* 2015;5(3):121-123.

Nel A, Mädler L, Velegol D, Xia T, Hoek E, Somasundaran P, Klaessig F, Castranova V, Thompson M. Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface. *Nature Materials.* 2009;8:543-557.

Netuschil L, Reich E, Brex M. Direct measurement of the bactericidal effect of chlorhexidine on human dental plaque. *J Clin Periodontol.* 1989;16:484-488.

Paderni C, Compilato D, Giannola L, Campisi G. Oral local drug delivery and new perspectives in oral drug formulation. *Oral Medicine.* 2012;114(3): 25-34.

Pai M, Archarya L, Udupa N. The effect of two different dental gels and a mouthwash on plaque and gingival scores: a six-week clinical study. *Int Dent J.* 2004;54(4):219-23.

Priyadarshini B, Mitali K, Lu B, Handral H, Dubey N, Fawzy A. PLGA nanoparticles as chlorhexidine-delivery carrier to resin-dentin adhesive interface. *Dent Mater.* 2017;33(7):830-846.

Priyadarshini B, Selvan S, Lu T, Xie H, Neo J, Fawzy A. Chlorhexidine Nanocapsule Drug Delivery Approach to the Resin-Dentin Interface. *J Dent Res.* 2016;95(9):1065-1072.

Rosin M, Welk A, Kocher T, Majic-Todt A, Kramer A, Pitten FA. The effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse compared to an essential oil rinse and a chlorhexidine rinse on bacterial counts and 4-day plaque regrowth. *J Clin Periodontol.* 2002;98:392-399.

Sankar V, Hearnden V, Hull K, Vidovic Juras D, Greenberg M, Kerr A, Lockhart P, Patton L, Porter S, Thornhill M. Local drug delivery for oral mucosal diseases: challenges and opportunities. *Oral Medicine.* 2011;17(1):73-84.

Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol* 2000. 2002;28:12-55.

Stabholz A, Sela M, Friedman M, Golomb G, Soskolne A. Clinical and microbiological effects of sustained release chlorhexidine in periodontal pockets. *J Clin Periodontol*. 1986;13:783-788.

Steinberg D, Friedman M. Sustained-release drug delivery of antimicrobials in controlling of supragingival oral biofilms. *Expert Opin Drug Deliv*. 2017;14(4):571-581.

Veksler Ae, Kayrouz Ga, Newman MG. Reduction of salivary bacteria by pre-procedural rinses with chlorhexidine 0.12%. *J Periodontol*. 1991;62(11):649-651.

Welk A, Splieth CH, Schmidt-Martens G, Schwahn Ch, Kocher T, Kramer A, Rosin M. The effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse compared with a triclosan rinse and a chlorhexidine rinse on bacterial counts and 4-day plaque re-growth. *J Clin Periodontol*. 2005;32:499-505.

Zhou Y, Hu K, Guo Z, Fang K, Wang X, Yang F, Gu N. PLLA microcapsules combined with silver nanoparticles and chlorhexidine acetate showing improved antibacterial effect. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017;78:349-353.

Zitzmann NU, Berglundh T. Definition and prevalence of peri- implant diseases. *J Clin Periodontol*. 2008;35(8 Suppl):286S-291S.

10. ANEXOS

10.1 Hoja de consentimiento informado



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
POSGRADO DE PERIODONCIA E IMPLANTOLOGÍA ORAL



CONSENTIMIENTO INFORMADO

¿Cuáles son los posibles riesgos e inconvenientes de participar en el estudio?

- Usted podría presentar incomodidad durante el examen de su encía.
- Existe un riesgo insignificante de irritación de los tejidos blandos/encía y una hipersensibilidad transitoria de los dientes con el uso de clorhexidina. Estos síntomas se resolverán al paso de los días.

¿Cómo se preservará la confidencialidad de mis datos?

Durante el estudio nosotros le aseguramos la protección de la información personal de cada uno de los participantes. Ninguno de los participantes se identificará con su nombre en ningún reporte o publicaciones del estudio. Cada paciente recibirá un número o código único, y cualquier información acerca de la participación, así como las fotografías y los resultados del análisis mencionado en los documentos del estudio se relacionarán con este código.

¿Qué pasa si abandono mi consentimiento de participar en el estudio antes de que este termine?

Usted puede decidir abandonar el estudio en cualquier momento, su retiro del estudio no resultará en ninguna penalidad. El equipo de estudio también puede removerlo en cualquier momento, si se pone en evidencia que el participante no está siguiendo las instrucciones indicadas al comienzo, si se presenta un evento adverso inesperado o si no puede completar el período del estudio.

¿A quién puedo contactar en caso de que tenga alguna pregunta en relación al estudio?

Usted tiene el derecho de preguntar cualquier duda en relación al estudio y obtener las respuestas. Si tiene alguna por favor contacte a alguno de los miembros del equipo.

Título del estudio: Evaluación comparativa de las formulaciones de clorhexidina en solución y clorhexidina encapsulada en nanopartículas poliméricas en la prevención de placa y gingivitis: Estudio clínico y microbiológico.

Investigador principal: Dra. Fátima Del Rosario González Hinojosa.

Forma de consentimiento informado:

He leído la información anteriormente mencionada. Tuve la oportunidad de realizar cualquier pregunta acerca del estudio y me fueron contestadas de forma satisfactoria. Doy mi consentimiento informado voluntario de participar en el estudio.

Firma del participante

Nombre del participante

Fecha

Firma de la persona que está recibiendo el consentimiento informado

Nombre de la persona que está recibiendo el consentimiento informado

10.2 Historia Clínica

Clave:

HISTORIA CLÍNICA

FICHA DE IDENTIDAD		Fecha:
Nombre del paciente:		
Fecha de Nacimiento:		Nacionalidad:
Edad:	Género(Sexo):	Estado civil:
Domicilio:		
Teléfono:	Celular:	E-mail:
Ocupación:		Tel:
Domicilio del trabajo:		
En caso de emergencia comunicarse con:		
Parentesco:		Tel:
Último tratamiento dental:		

ANTECEDENTES

Escriba en el espacio correspondiente una X, si la respuesta a la pregunta es negativa, en caso de ser positiva describa detalladamente en el espacio siguiente.

1. Ha estado bajo la atención de un Médico?		No
Si,		No
2. Ha estado hospitalizado?		No
Sí,		
3. Ha tenido transfusión sanguínea?		No
Sí.		
4. Se encuentra embarazada?		No
Si, ¿Cuántos meses tiene?	Complicaciones:	
5. Es alérgico? (Anestesia, medicamentos, alimentos, objetos, etc.) ¿qué reacción presenta?		No
Si,		
6. ¿Está tomando algún medicamento? ¿cuál? ¿para qué? ¿qué dosis y con qué frecuencia lo toma?		No
<u>Medicamento</u>	<u>Indicación</u>	<u>Dosis</u>

7. Toma alcohol? Especifique cantidad y calidad	No
Si,	
8. Fuma ó masca tabaco? Especifique cantidad y calidad	No
Si,	
9. Se ha realizado algún examen físico? ¿Cuándo? ¿Por qué?	No
Si,	
10. Padece de alguna enfermedad en sus ojos?	No
Si,	
11. Padece de alguna enfermedad en sus oídos?	No
Si,	
12. Padece de algún trastorno genético?	No
Si,	
13. Ha tenido aftas ó Herpes?	No
Si,	
14. Ha tenido Cáncer?	No
Si,	
15. Trabaja con radiación?	No
Si,	

INTERROGATORIO POR APARATOS Y SISTEMAS

1. ¿Padece de alguna enfermedad del corazón?	No
Fiebre Reumática	Soplo
Hipotensión	Hipertensión
Infarto	Aterosclerosis
	Embolia
Comentarios:	
2. ¿Padece de algún defecto congénito?	No
Si,	
4. ¿Siente dolor en el pecho al hacer ejercicio?	No
Si,	
5. ¿Se le dificulta la respiración después de algún esfuerzo leve?	No
Si,	
6. ¿Padece alguna enfermedad respiratoria?	No
Dificultad para respirar	Resfriado
Asma	Sinusitis
Enfisema	Tuberculosis
	Otros
Comentarios:	

7. ¿Padece alguna enfermedad Gastrointestinal?				No
Úlcera	Gastritis	Colitis	Reflujo	
Neoplasia	Otros			
Comentarios:				
8. ¿Padece del Hígado ó vías biliares?				No
Ictericia	Hepatitis	Cirrosis	Colelitiasis	
Colecistitis	Otros			
Comentarios:				
9. ¿Padece alguna enfermedad genital ó del riñón?				No
Infecciones	Litiasis	E. Venérea	Incontinencia	
Cistitis	Neoplasia	Otros		
Comentarios:				
10. ¿Padece alguna enfermedad hormonal?				No
Diabetes	Tiroides	Paratiroides	Hipófisis	
Timo	Neoplasia endocrina múltiple	Suprarrenal	Otros	
Comentarios:				
11. ¿Padece alguna enfermedad de la sangre?				No
Hemofilia	Fragilidad capilar	Anemia	Leucemia	
Anticoagulantes	S.I.D.A.	Colesterolemia		
12. ¿Padece alguna enfermedad de la cabeza ó nervios?				No
Convulsiones	Desmayos	Depresión	Tx. Psiquiátrico.	
Alzheimer	Mal de Parkinson	Esclerosis múltiple	Neuropatía periférica	
Problemas emocionales	Estrés	Nervios	Otros	
Comentarios:				
13. ¿Padece de problemas músculo esqueléticos?				No
Osteoporosis	Osteoartritis	Bursitis	Atrofia muscular	
Distrofia muscular	Miastenia grave	Neoplasia	Otros	
Comentarios:				

14. ¿Padece algún trastorno inmune?			No
Lupus eritematoso	Artritis reumatoide	Sjogren	Esclerosis sistémica
Inmunodeficiencia primaria		S.I.D.A	Otros
Comentarios:			
17. Tiene dolor en su boca en este momento?			No
Sí,			
18. Ha recibido tratamiento en sus encías?	Sí	No	Lo desconozco
19. Ha tenido sus encías inflamadas, o con postemillas?	Sí	No	Lo desconozco
20. Sangran sus encías:	Sí	No	Lo desconozco
21. Ha notado mal aliento y sabor en su boca?	Sí	No	Lo desconozco
22. Acostumbra a respirar frecuentemente por su boca?	Sí	No	Lo desconozco
23. Padece frecuentemente de aftas o ulceraciones en su boca?	Sí	No	Lo desconozco
24. Tiene dientes sensibles al calor, frío o lo dulce?	Sí	No	Lo desconozco
25. Tiene usted dientes flojos?	Sí	No	Lo desconozco
26. Se le han separado sus dientes últimamente?	Sí	No	Lo desconozco
27. Ha tenido ortodoncia (Brackets)?	Sí	No	Lo desconozco
28. Le agrada a usted la apariencia de su boca? ¿Por qué?	Sí	No	Lo desconozco
29. Se le atorán alimentos entre sus dientes?	Sí	No	Lo desconozco
30. Se ha sentido más tensionado últimamente? ¿Por qué?	Sí	No	Lo desconozco
31. Ha notado si con frecuencia rechina o aprieta sus dientes?	Sí	No	Lo desconozco
32. Mastica usted con todos sus dientes? ¿Por qué?	Sí	No	Lo desconozco
33. Tiene dientes que están más sensibles al morder?	Sí	No	Lo desconozco

34. Le afectaría tuviera que perder sus dientes?	Sí	No	Lo desconozco
35. Cepilla sus dientes por lo menos dos veces al día?	Sí	No	Lo desconozco
36. Utiliza hilo dental, palillos dentales o irrigadores de agua? ¿Cuál?	Sí	No	Lo desconozco
37. Ha tenido malas experiencias con algún dentista?	Sí	No	Lo desconozco
38. Sabe usted si forma sarro o placa dentobacteriana rápido?	Sí	No	Lo desconozco
39. Acostumbra usted a desayunar, comer y cenar?	Sí	No	Lo desconozco
40. Esta o ha estado usted en alguna dieta?	Sí	No	Lo desconozco

Tiene usted alguna enfermedad, condición o problema que no esté en la lista y que crea usted que deberíamos conocer.

Por favor descríballo:

Hasta donde yo conozco todas las preguntas anteriores las he contestado con la verdad y son ciertas. Si hay algún cambio me hago responsable de informar al Doctor.

Nombre

Firma

Fecha: _____

10.3 Formato de Recolección de datos

Clave:

ÍNDICE DE PLACA TURESKY-GILMORE-GLICKMAN

- 0= Ausencia de placa
- 1= Depósitos separados de placa en el margen cervical del diente
- 2= Delgada y continua banda de placa (hasta 1 mm) en el margen cervical del diente
- 3= Banda de placa mayor a 1 mm pero que cubre menos de un tercio de la corona del diente
- 4= La placa cubre al menos un tercio pero menos de dos tercios de la corona del diente
- 5= La placa cubre dos tercios o más de la corona del diente

INICIAL

PROMEDIO: _____

PROMEDIO: _____

4 HRS

24 HRS

PROMEDIO: _____

Clave:

ÍNDICE GINGIVAL DE LOE Y SILNESS

- 0= Encía normal, de color rosa pálido, textura con aspecto de cáscara de naranja, firme y resistente
- 1= Inflamación leve, se observa con ligero enrojecimiento gingival, sin hemorragia al sondeo
- 2= Inflamación moderada, color rojo y aspecto brillante, con hemorragia al sondeo
- 3= Inflamación severa, marcado enrojecimiento, edema y ulceraciones, tendencia a sangrado espontáneo

INICIAL

4 HRS

PROMEDIO: _____

PROMEDIO: _____

24 HRS

PROMEDIO: _____

Clave:

ÍNDICE DE PLACA O'LEARY

Este índice es utilizado para evaluar la higiene de las superficies lisas. Indica el porcentaje de superficies lisas teñidas sobre el total de superficies dentarias presentes.

$$\frac{\text{Número total de sitios con placa}}{4 \times \text{Número de dientes presentes}} \times 100 = \text{_____} \%$$

INICIAL

8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8

$$\frac{\text{_____}}{4 \times \text{_____}} \times 100 = \text{_____} \%$$

4 HRS

8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8

$$\frac{\text{_____}}{4 \times \text{_____}} \times 100 = \text{_____} \%$$

24 HRS

8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8

$$\frac{\text{_____}}{4 \times \text{_____}} \times 100 = \text{_____} \%$$

RESUMEN BIOGRÁFICO

Fátima Del Rosario González Hinojosa

Candidata para el Grado de

MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS EN EL ÁREA DE PERIODONCIA CON IMPLANTOLOGÍA ORAL

Tesis: “INCREMENTO EN EL CONTROL DE LA FORMACIÓN DE PLACA EMPLEANDO CLORHEXIDINA INCORPORADA EN NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS: ESTUDIO CLÍNICO Y MICROBIOLÓGICO”

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Datos Personales: Nacida en Monterrey, Nuevo León, México el día 22 de Marzo de 1991, hija de Enrique González Gómez y Martha Alicia Hinojosa Arrambide.

Educación: Egresada de la Universidad Autónoma de Nuevo León, obteniendo el grado de Cirujano Dentista en 2013.

Experiencia Profesional: Práctica privada y actualmente residente de la Maestría en Ciencias Odontológicas en el área de Periodoncia con Implantología Oral de la Universidad Autónoma de Nuevo León.