



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ESTUDIO COMPARATIVO DE BIOCMPATIBILIDAD  
ENTRE DOS ALGINATOS COMERCIALES  
(UNO CONVENCIONAL Y EL OTRO CON CLORHEXIDINA)

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A

ELIZABETH GLEASON GONZÁLEZ

TUTOR: C.D. ISRAEL MORALES SÁNCHEZ  
COTUTOR: DRA. SANTA PONCE BRAVO

Vo: 130  
*[Signature]*

CIUDAD UNIVERSITARIA, 2002



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*A Julian, mi incondicional,  
con todo mi amor*

*A mis papas,  
gracias por su amor, apoyo e inspiración*

*A mis hermanos Pablo y Cristian,  
gracias por estar siempre ahí*

*A mi familia,  
por todo su apoyo*

*A mis profesores*

*A mis amigos*

---

**ÍNDICE**

<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>II. MARCO TEÓRICO</b>	
<b>A. BIOCMPATIBILIDAD</b>	
1. Consideraciones de Biocompatibilidad	3
2. Concepto de Toxicidad	4
3. Concepto de Mutagenicidad y de Carcionogenicidad	5
4. Especificaciones y Recomendaciones de Organismos Internacionales	5
<b>B. INMUNOLOGÍA</b>	
Respuesta Inmunitaria Inespecífica	
1. Inflamación	9
1.1. Inflamación Aguda	10
1.2. Inflamación Crónica	11
1.3. Células de la Inflamación	12
2. Fagocitosis	16
Respuesta Inmunitaria Específica	
1. Inmunidad Mediada por Células	17
2. Inmunidad Humoral	18
<b>C. SISTEMA INMUNITARIO DE LAS MUCOSAS</b>	<b>20</b>
<b>D. GENERALIDADES DE LOS HIDROCOLOIDES IRREVERSIBLES</b>	
Clasificación de los Materiales de Impresión	21
1. Alginato o Hidrocoloide Irreversible	21
1.1. Composición	21
1.2. Estructura	22
1.3. Proceso de Gelación	23
1.4. Desinfección	23
1.5. Especificación No. 18 de la ADA	25
1.6. Biotolerancia	25
<b>E. GENERALIDADES DE LOS ANTISÉPTICOS</b>	

---

1. Cinética de la Desinfección	27
2. Condiciones que deben reunir los antisépticos	27
3. Indicaciones generales de los antisépticos	28
4. Generalidades de la Clorhexidina	29
4.1. Origen	30
4.2. Estructura química	30
4.3. Farmacodinamia	31
4.3.1. Espectro de Actividad	31
4.3.2. Mecanismo de Acción	31
4.4. Farmacocinética	32
4.5. Efectos Clínicos	33
4.6. Reacciones Adversas (Locales y Sistémicas)	34
4.7. Efectos Adversos a Corto Plazo del Uso Oral de la Clorhexidina	35
4.8. Efectos Adversos a Largo Plazo del Uso Oral de la Clorhexidina	36
4.9. Contraindicaciones	37
4.10. Toxicidad	37
4.11. Biotolerancia	39
F. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	40
G. JUSTIFICACIÓN	40
H. OBJETIVO GENERAL	41
I. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	41
J. HIPÓTESIS	42
III. METODOLOGÍA	
Equipo, material e instrumental	43
Recursos Biológicos (Modelos Experimentales)	44
Recursos Físicos	44
Recursos Económicos	44
Criterios de Inclusión	44
Criterios de Exclusión	44
Variables Dependientes	45
Variables Independientes	45

---

Diseño de Estudio	45
1. Método	45
a. Procedimiento	46
b. Criterios para evaluar la respuesta biológica	49
c. Análisis Estadístico	50
<b>IV. RESULTADOS</b>	<b>52</b>
<b>V. ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b>	<b>63</b>
1. Interpretación de resultados	71
<b>VI. DISCUSIÓN</b>	<b>74</b>
<b>VII. CONCLUSIÓN</b>	<b>78</b>
<b>REFERENCIAS</b>	<b>79</b>
<b>GLOSARIO</b>	<b>84</b>
<b>ANEXO</b>	<b>87</b>

## I. INTRODUCCIÓN

Un paso importante en muchos de los procedimientos dentales es la construcción de moldes o modelos. La impresión o muestra en negativo, permite la construcción de moldes en yeso donde el odontólogo diseña y construye las restauraciones dentales.

El principal objetivo de una impresión es que el molde o modelo sea una representación precisa de las estructuras bucales. Éste fue el criterio que durante mucho tiempo se utilizó para mejorar a los materiales de impresión. Sin embargo, en los últimos años, el tema del control de infecciones ocupa un lugar privilegiado en la investigación de nuevos productos dentales.

Las impresiones dentales con alginato se contaminan fácilmente con los fluidos bucales, por lo que nuevos productos y métodos han sido creados para lograr una desinfección adecuada y evitar la contaminación cruzada entre los pacientes del consultorio, el personal del mismo y el laboratorio. Las recomendaciones para desinfectar un material de impresión de alginato antes de vaciar el yeso se llevan a cabo con agentes antimicrobianos, con los cuales se rocía la impresión o en los cuales se sumerge. Recientemente se están utilizando materiales de impresión impregnados con algún desinfectante. Sin embargo, todas las sustancias utilizadas como desinfectantes son agentes que potencialmente pueden lesionar a los tejidos al entrar en contacto con ellos.

Cuando un material nuevo pretende entrar en el mercado, se debe conocer el grado de toxicidad que posee. Por medio de una gran variedad de pruebas *in vitro* e *in vivo*, es posible conocer si el material ocasiona algún tipo de lesión tisular, determinar su grado de toxicidad y determinar si el material es lo suficientemente biotolerable como para aprobar su uso en el ser humano.

El alginato Novel Print Cyan es un material nuevo que contiene clorhexidina en su composición con el propósito de desinfectar las impresiones dentales al momento de su obtención. Hasta el momento, las referencias encontradas respecto a este material involucran el espectro antimicrobiano que posee y las alteraciones físicas que provoca el desinfectante en el alginato. En esta investigación se observó el tipo de lesión tisular ocasionada por el alginato Novel Print Cyan en el tejido subcutáneo y de esta manera se determinó su grado de biotolerancia.

Para la realización de esta investigación se utilizaron animales (ratas) como modelo experimental a las que se les implantó en el tejido subcutáneo el material de estudio. Se compararon muestras del alginato impregnado con clorhexidina Novel Print Cyan con muestras del alginato sin ningún desinfectante Novel Print. Las ratas fueron sacrificadas y se obtuvieron muestras del tejido, se realizaron cortes histológicos y se observaron con el microscopio fotónico.

Los resultados corresponden a la observación microscópica realizada, con la cual se definió la intensidad de la respuesta inflamatoria, basada en el tipo y número de células inflamatorias encontradas, así como en la extensión abarcada por la lesión. Posteriormente utilizando los datos obtenidos, se realizó un análisis estadístico, con el fin de reforzar los resultados obtenidos en el experimento y determinar los patrones de comportamiento de los fenómenos que se estudiaron.

## II. MARCO TEÓRICO

### A. BIOCOMPATIBILIDAD

#### 1. Consideraciones sobre Biocompatibilidad

Durante siglos los principales retos de la odontología han sido el desarrollo y la selección de materiales biocompatibles que puedan resistir las condiciones del medio bucal. Se buscan materiales que se enlacen de manera permanente a todas las estructuras dentales, que concuerden estéticamente con los dientes naturales, que tengan propiedades similares a las de la dentina y el esmalte y que inicien la reparación del tejido. Además se requiere que no ocasionen alteraciones en los tejidos con los que se encuentran en contacto directo, es decir que sean biológicamente tolerados.

La cualidad de material biocompatible se reserva para aquel material no tóxico, no irritante, no alergénico y no carcinogénico.<sup>1</sup>

La biocompatibilidad con un tejido de un material dado está descrita en términos de la respuesta inflamatoria que produce (aguda o crónica) y la capacidad de formación de una cápsula fibrosa.<sup>1,2</sup> La intensidad o duración de la respuesta está relacionada con una gran diversidad de factores que incluyen el tamaño y naturaleza del material, el sitio de la implantación, el tipo de tejido que afecta, la capacidad de respuesta del hospedero, e incluso la alteración de las condiciones físicas.<sup>1,2</sup>

Como puede observarse, hay muchos factores que modifican o influyen en la biocompatibilidad de un material, dentro de éstos se encuentran:

- Factores vinculados a la naturaleza, estructura y características del material, es decir sus atributos físico-químicos.

- Factores vinculados al tipo de tejido que recibe el material: un mismo material puede proporcionar una respuesta biológica diferente dependiendo del tejido en que se encuentre.
- Factores derivados de la técnica, instrumental de manejo y colocación del material: auténticos casos de iatrogenia relacionados con el profesional.

Recientemente, se ha intentado descartar el uso del adjetivo "biocompatible" para denominar a un material, ya que como se ha visto, los términos biocompatible y bioinerte son relativos. De acuerdo a los criterios expuestos, la biocompatibilidad debe entenderse como "la capacidad de un material para provocar una respuesta conveniente y adecuada en el hospedero, para una aplicación concreta y específica."<sup>1</sup>

## 2. Concepto de Toxicidad

Un tóxico es aquella sustancia o material que en pequeñas cantidades es capaz de producir muerte o graves lesiones celulares en el hombre.<sup>1</sup>

La exposición a agentes tóxicos puede dividirse en aguda (menos de 24 horas), subaguda (un mes o menos), subcrónica (uno a tres meses) y crónica (más de tres meses)<sup>3</sup>. La respuesta inflamatoria originada va a estar definida por los cambios celulares observados histopatológicamente<sup>4</sup>. Para el estudio de las interacciones de los tóxicos con el organismo se distinguen las pruebas de citotoxicidad, de toxicidad aguda y toxicidad crónica.<sup>1</sup>

Por su parte, un agente citotóxico es aquel material, producto o sustancia que en pequeñas concentraciones puede producir graves lesiones celulares e incluso la muerte celular. El estudio de la citotoxicidad consiste en pruebas muy sensibles, que sin embargo son meras aproximaciones, ya que son pruebas *in vitro*.<sup>1</sup>

### **3. Concepto de Mutagenicidad y de Carcinogenicidad (carcinogénesis)**

La mutagenicidad indica la capacidad de un agente o sustancia para producir mutaciones en genes. A su vez, la carcinogenicidad indica la capacidad de producir neoplasias. Las pruebas de mutagenicidad y carcinogenicidad son el test de AMES y el de STYLES.<sup>1</sup>

### **4. Especificaciones y Recomendaciones de Organismos Internacionales**

Con el objetivo de medir la calidad y las propiedades de los materiales dentales, se han creado organismos encargados de identificar los requerimientos o especificaciones de los materiales dentales, basándose en sus propiedades fisicoquímicas y en que aseguren su uso satisfactoriamente. Las normas que surgen gracias a estas especificaciones permiten la evaluación de los productos dentales, y de esta manera, la protección del público contra los artículos médico y odontológicos peligrosos o ineficaces.<sup>3</sup>

La ADA (American Dental Association) en los Estados Unidos de América y el CEN (Comité Européen de Normalisation) son dos de las organizaciones más destacadas. A nivel internacional también existen organismos como la FDI (Fédération Dentaire Internationale) y la ISO (International Organization for Standardization) con fines similares.

A pesar del desarrollo de especificaciones y normas que ayuden a la evaluación de la seguridad y eficacia de los productos dentales, la decisión de probar los materiales es voluntario, por lo que el riesgo de observar reacciones adversas aumenta; sin embargo, los efectos biológicos adversos no se observan con frecuencia, tal vez debido a que la cantidad utilizada y la concentración de las sustancias es muy baja.<sup>2,4</sup>

Dos de las normas con las técnicas recomendadas para la evaluación biológica de los materiales dentales son: la norma española UNE-EN-ISO 7405 (que a su vez es la versión oficial integra de la Norma Internacional ISO 7405 de 1997) y la especificación No. 41 de la American National Standards Institution/American Dental Association (ANSI/ADA).

El documento No. 41 de la ADA, efectivo desde octubre de 1980, establece las prácticas estándares recomendadas para la evaluación biológica de los materiales dentales. Este documento se revisa cada tres años, basándose en las recomendaciones de la industria, escuelas de Odontología, agencias del gobierno y la práctica privada. Para el estudio de los materiales éstos se clasifican en diferentes tipos y clases:<sup>5</sup>

#### Tipo I. Materiales Restaurativos

- Clase 1. Materiales Metálicos
- Clase 2. Materiales No Metálicos
- Clase 3. Forros Cavitarios y Bases
- Clase 4. Cementos
- Clase 5. Selladores
- Clase 6. Materiales Acondicionadores de esmalte y/o dentina.
- Clase 7. Recubrimientos para las superficies externas de las restauraciones.

#### Tipo II. Materiales Protésicos

- Clase1. Materiales de Impresión**
  - 1 a. Hidrocoloides y alginatos
  - 1 b. Elastómeros (base de caucho)
  - 1 c. Yesos
  - 1 d. Ceras y sus compuestos
  - 1 e. Oxido de zinc y eugenol

Clase 2. Ceras y bases de registro

Clase 3. Materiales de Aparatos Protésicos

Clase 4. Implantes

Clase 5. Protectores bucales

#### Tipo III. Materiales Endodónticos

Clase 1. Materiales para pulpotomías o recubrimientos pulpares.

Clase 2. Materiales de obturación del conducto radicular.

#### Tipo IV. Materiales para Periodoncia

Clase 1. Empaques y revestimientos

Clase 2. Desensibilizadores

#### Tipo V. Materiales para Ortodoncia

Clase 1. Metales y aleaciones

Clase 2. Materiales de resina

#### Tipo VI. Materiales diversos que contactan partes del cuerpo diferentes a la cavidad bucal por medio de la manipulación, ingestión inadvertida o inhalación.

Clase 1. Materiales de revestimiento

Clase 2. Materiales que contienen asbestos

Clase 3. Metales de baja fusión utilizados para dados, soldaduras y flux.

Clase 4. Materiales de electrodeposición y electropulido

Clase 5. Materiales de moldeado

Clase 6. Agentes de limpieza y pulido.

Dentro de los procedimientos utilizados, se conocen tres tipos o niveles de pruebas a las que deben ser sometidos los materiales antes de su comercialización para ser utilizados en el hombre. El primer grupo se refiere a pruebas iniciales *in vitro* e *in vivo*, sobre cultivos celulares o tejidos, utilizando animales de experimentación. El segundo grupo está formado por pruebas,

también en animales, pero que imitan el futuro uso clínico al que van a ser destinados. El tercer grupo lo constituyen pruebas de uso preclínico o clínico de naturaleza específicamente dental.<sup>1</sup>

En las pruebas iniciales se obtiene información básica y general sobre el comportamiento de los materiales en contacto con tejidos o líquidos biológicos. En las pruebas secundarias o intermedias se experimenta bajo condiciones que se aproximan al probable futuro uso clínico. Se finaliza con las pruebas patrón preclínicas que se refieren a pruebas genuinamente dentales.<sup>1</sup>

En cuanto a las muestras, éstas deberán ser tomadas de la producción comercial normal. No deben tener más de un año de antigüedad y deberán estar preparadas de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Se requerirá de una inspección visual para determinar si se cumplen los requisitos señalados.<sup>5</sup>

La Norma Española UNE-EN ISO 7405 se aplica a los ensayos preclínicos de los materiales empleados en los productos sanitarios usados en Odontología. Contiene detalles sobre los métodos de ensayo aplicables únicamente a los productos dentales e incluye todos los métodos de ensayo, para los cuales los miembros del comité consideraron que existían suficientes datos publicados. Es importante mencionar que se dio prioridad al mínimo uso de animales.<sup>6</sup>

## B. INMUNOLOGÍA

La conservación de la integridad del cuerpo es la principal función del sistema inmunitario. Este sistema tiene mecanismos que repelen y destruyen a los invasores de origen extrínseco, por lo que su función primordial es la de defender al cuerpo. Sin embargo, muchas veces las respuestas inmunitarias no son benéficas, y sus efectos se vuelven desagradables y peligrosos para el hospedero.<sup>7,8,10</sup>

La inmunidad en un sentido moderno incluye todos los mecanismos fisiológicos de los que está dotado el individuo para reconocer materiales como propios o extraños y neutralizarlos, eliminarlos o metabolizarlos, aun con la consecuente lesión de sus tejidos.

La respuesta inmunitaria puede clasificarse en dos categorías: a) respuestas inespecíficas (inflamación, fagocitosis y sistema de complemento), que se producen después de la exposición inicial al antígeno y en donde la reacción no depende del reconocimiento particular de éste y b) respuestas específicas (inmunidad celular y humoral), que dependen de la exposición inicial con la activación subsecuente de diferentes leucocitos (linfocitos T y B) y finaliza con la activación de células plasmáticas formadoras de anticuerpos (inmunoglobulinas).<sup>8</sup>

### **Respuesta Inmunitaria Inespecífica (Inflamación y Fagocitosis)**

#### **1. Inflamación**

La inflamación es un proceso que ocurre después de la lesión de un tejido, por agentes mecánicos o químicos, por procesos autodestructores o por intrusión de materiales extraños y puede ser descrita como una respuesta de irritación a dicha lesión, como consecuencia se produce estimulación celular y liberación de mediadores humorales, con el resultado de exudación de plasma y acumulación

de leucocitos.<sup>8-10</sup>

La respuesta inflamatoria sirve para mantener la integridad del tejido del huésped eliminando los tejidos muertos, microbios, toxinas o sustancias extrañas<sup>8</sup>. Éste es un mecanismo de defensa con el que el cuerpo intenta regresar al estado previo a la lesión, o reparar la lesión después de que ha sido producida.<sup>8,10,11</sup>

La respuesta inflamatoria puede clasificarse como no inmunológica, cuando se involucran únicamente cambios vasculares y células inflamatorias no linfocíticas, y como inmunológica, cuando involucra reacciones dependientes de los linfocitos.<sup>8</sup>

Dentro de los signos más característicos del proceso se encuentran la presencia de calor, rubor, edema, dolor y pérdida de la función.<sup>8-12</sup>

En general, se reconocen tres etapas de la inflamación (cada una definida por criterios histológicos): aguda, subaguda y crónica<sup>8</sup>. Un tipo especial de inflamación crónica es la denominada inflamación granulomatosa, que se forma como respuesta a que los agentes nocivos no hallan logrado ser fagocitados completamente.

### 1.1. Inflamación Aguda

Se observa pocas horas después de producido el daño tisular o la infección. Es el momento en el que se observa enrojecimiento intenso, dolor y edema alrededor del tejido dañado. Los vasos sanguíneos se dilatan y por eso se presenta rubor y calor en el área, el edema es producido por el escape de líquidos y células al espacio extravascular, el dolor y la pérdida de la función se deben a la presión ejercida en las terminales nerviosas por la acumulación de líquido extravascular y por la liberación de mediadores químicos.<sup>8, 10,12</sup>

La inflamación ocurre en dos etapas principales: la etapa temprana es una

respuesta vascular a la lesión con exudación de líquido y migración de polimorfonucleares al área dañada y la segunda etapa (etapa subaguda) se encuentra dominada por la presencia de macrófagos. Es una etapa de resolución y reparación del tejido dañado.

La fase tardía de la inflamación aguda, conocida como la etapa subaguda, se caracteriza por la acumulación de linfocitos y monocitos y la formación de tejido de granulación.<sup>8</sup> La proliferación de las células endoteliales está estimulada por factores quimiotácticos de las células linfoides T y macrófagos activados, de tal manera que, inmediatamente después de la lesión aguda del tejido, los polimorfonucleares y los leucocitos son sustituidos, en los siguientes días por linfocitos, células fagocíticas mononucleares y células plasmáticas. Esta respuesta inflamatoria subaguda representa el estado más temprano de la resolución que llevará al organismo a la formación del tejido de granulación.<sup>13</sup>

## 1.2. Inflamación Crónica

Si la respuesta inflamatoria aguda no tiene éxito completo restableciendo el tejido lesionado hasta su forma original, ésta progresa a un estado de inflamación crónica caracterizado por la presencia sostenida de linfocitos, monocitos y células plasmáticas.

Los componentes celulares que aparecen primero son los macrófagos, posteriormente los linfocitos y por último las células plasmáticas. En algunas condiciones aparecen los eosinófilos.<sup>13</sup>

La persistencia del material extraño vivo o muerto, moviliza las reacciones inmunitarias.<sup>8</sup> Así, la inflamación crónica está mediada por dos mecanismos: el inmunológico y el no inmunológico, observándose frecuentemente la formación de tejido de granulación.<sup>13</sup>

El tejido de granulación se caracteriza por la proliferación de células endoteliales y fibroblastos dentro del área lesionada, provocando la formación de pequeños capilares, la recuperación del flujo vascular y la formación de edema, así como la restauración de la matriz del tejido conjuntivo en el área de la lesión.<sup>13</sup>

Un tipo especial de inflamación crónica es la llamada inflamación crónica granulomatosa que aparece cuando hay persistencia de agentes extraños infecciosos o no infecciosos. En términos generales, la inflamación crónica granulomatosa es un resultado indeseable de la inflamación ya que puede producir una amplia destrucción de tejido, zonas de necrosis o cicatrización por fibrosis.<sup>8</sup>

La constante fagocitosis y la retención de las sustancias extrañas que no pueden ser digeridas, hacen que los macrófagos pierdan su movilidad y permanezcan en un solo sitio. Así se da un cambio característico en su morfología, por medio del cual adquieren formas poligonales, por lo que son llamadas células epitelioides.<sup>9,13</sup>

Un signo predominante del tejido granulomatoso es la formación de células gigantes a cuerpo extraño que contienen una zona periférica de linfocitos, con algunas células plasmáticas.<sup>8</sup> Estas células gigantes multinucleadas son grandes, contienen numerosos núcleos (entre 40 y 50) y se forman debido a la fusión de varios macrófagos.<sup>9,13</sup>

### **1.3. Células de la Inflamación**

Los eritrocitos o glóbulos rojos y los leucocitos o glóbulos blancos, son células sanguíneas que se ven involucradas tanto en el proceso inflamatorio como en el inmunológico.<sup>12</sup>

Existen dos tipos principales de leucocitos, el primero caracterizado por tener un citoplasma granuloso y el segundo por tener un citoplasma no granuloso. Hay tres

tipos de leucocitos granulosos, según la reacción de tinción de sus gránulos citoplásmicos. Los que se tiñen con colorantes ácidos, se llaman leucocitos granulosos acidófilos o eosinófilos; los que se tiñen con colorantes básicos se conocen como leucocitos granulosos basófilos y los que poseen gránulos específicos que no son intensamente acidófilos o basófilos, se llaman leucocitos granulosos neutrófilos o leucocitos polimorfonucleares.<sup>12</sup>

Hay dos clases de leucocitos no granulosos. Los más abundantes y pequeños se llaman linfocitos; los más voluminosos y menos abundantes se llaman monocitos.<sup>12</sup>

La producción de los leucocitos granulosos se lleva a cabo en la médula ósea, no así la de los no granulosos, que se lleva a cabo en diferentes sitios.

La función principal de todo el sistema leucocitario es defender al organismo en contra de lo ajeno. La defensa se realiza mediante dos mecanismos generales: la fagocitosis de sustancias a las que identifica como ajenas y el desarrollo de una reacción inmunitaria (anticuerpos) en contra de dichas sustancias (antígenos).<sup>14</sup>

Los linfocitos y las células plasmáticas están relacionadas con los procesos inmunitarios y forman parte del sistema inmunitario. Los neutrófilos, monocitos, eosinófilos y basófilos son células que tienen la capacidad de realizar la fagocitosis y constituyen el sistema fagocitario.<sup>14</sup>

La primera línea de defensa formada por células del sistema fagocitario está constituida por los neutrófilos, que son las células más comunes de la médula ósea y de la sangre.<sup>12,14,15</sup> Su función es eliminar a los agentes invasores por medio del proceso fagocitario. Éste se lleva a cabo en diferentes etapas: quimiotactismo, fijación, ingestión y digestión.<sup>10,14</sup> Los neutrófilos se desarrollan en el tejido mieloide (médula ósea), posteriormente salen a la sangre y los tejidos.<sup>14</sup> Se trata de una célula de vida corta que no se divide, con un núcleo multilobulado

y gránulos citoplasmáticos de dos tipos principales: los gránulos primarios o azurófilos contienen mieloperoxidasa, lo que les permite destruir el material que fagocitan y los gránulos secundarios o específicos contienen una sustancia bactericida y la enzima fosfatasa alcalina.<sup>12,14,15</sup>

Otro elemento del sistema fagocitario son los eosinófilos, células menos efectivas que los neutrófilos con una función muy especializada que consiste en regular el proceso inflamatorio. Los eosinófilos participan en los fenómenos anafilácticos, uno de sus papeles más importantes consiste en atenuar estas reacciones alérgicas locales. Se originan en la médula ósea, después de dejarla, pasan unas horas en el torrente sanguíneo y mueren, ya que su vida media es muy corta. Morfológicamente, esta célula posee un núcleo que suele consistir en sólo dos lóbulos unidos por medio de un filamento de material nuclear, el citoplasma tiene contorno irregular y está lleno de gránulos voluminosos refringentes teñidos de color rojizo o anaranjado.<sup>12</sup>

Los basófilos también pertenecen al sistema fagocitario. Su función es mediar los procesos inflamatorios, particularmente los que se inician por las reacciones de hipersensibilidad. Los basófilos participan en las reacciones alérgicas al momento de generar una inflamación aguda.<sup>10,12</sup> Son células que viven largo tiempo, y pueden encontrarse en los tejidos o circulando en el torrente sanguíneo. Los basófilos tisulares exceden en número a los basófilos circulantes.<sup>14</sup> Morfológicamente, el basófilo circulante es de aspecto diferente al basófilo tisular, ambos tienen un núcleo que puede ser bilobulado o segmentado y de forma irregular y gránulos del citoplasma muy voluminosos, oscuros y azules; la única diferencia consiste en que el basófilo circulante es más pequeño que el tisular.<sup>12</sup>

Como los neutrófilos no son capaces de repetir la actividad fagocítica, no pueden procesar antígenos que desencadenen la respuesta inmune y no contribuyen a reparar el tejido dañado retirando las células muertas. Para esto se recurre al sistema fagocítico mononuclear, que es el encargado de realizar estas funciones.

Las células de este sistema son producidas por la médula ósea y son liberadas al torrente sanguíneo, en donde son llamadas monocitos. Luego migran a los tejidos en donde maduran, y se les denomina macrófagos.<sup>10</sup>

El sistema monocitos-macrófagos juega un papel vital en los mecanismos de defensa. En general, las funciones de este sistema son:<sup>14</sup>

1. Iniciar la respuesta inmune.
2. Regular la magnitud de la reacción inmune.
3. Fagocitar y destruir a los microorganismos.
4. Realizar funciones antineoplásicas.
5. Fagocitar y degradar células estériles, desechos celulares y demás partículas.
6. Segregar varias sustancias solubles con actividad biológica.

La acción de los macrófagos en las reacciones inmunológicas es la de procesar los antígenos (degradación y modificación química) y presentar los inmunógenos a los linfocitos T y B que potencialmente pueden reaccionar. De tal manera que esta función sirve para iniciar la reacción inmune mediada por células (linfocito T) y la mediada humoralmente (linfocito B). También liberan un factor soluble (interleucina-1), el cual estimula a los linfocitos T para que elaboren un factor de crecimiento, que sirve para promover la expansión proliferativa de las células T capaces de reaccionar. Su función más importante es fagocitar, por lo que son las células dominantes en las reacciones inflamatorias subagudas y crónicas. Por otro lado, los macrófagos también pueden regular o suprimir algunas reacciones inmunes, mediante la liberación de prostaglandinas.<sup>14</sup>

Estructuralmente, los macrófagos cuando son jóvenes, libres y activos adoptan formas ovaladas, cuando son más antiguos y están comprimidos por otros elementos tisulares, se alargan y angulan.<sup>11</sup> En ciertas formas de inflamación crónica, los macrófagos al agruparse asumen formas poligonales debido a que se aprietan y deforman mutuamente. A este aspecto se le da el nombre de células

epiteloides.<sup>16</sup>

Otra célula que predomina en algunas formas de inflamación crónica (granulomatosa) son las células gigantes a cuerpo extraño, encargadas de la eliminación de partículas o masas de material extraño en el tejido conjuntivo laxo que son demasiado grandes como para ser fagocitadas por los macrófagos aislados. Las células gigantes a cuerpo extraño, se originan por la fusión de los macrófagos, esto las convierte en células muy voluminosas que contienen muchos núcleos. Su finalidad es obtener el volumen suficiente como para englobar a dichas cantidades de material extraño.<sup>12,16</sup>

## 2. Fagocitosis

El primer encuentro del hospedero con un antígeno origina una respuesta estereotipada, que consiste en movilizar a los elementos del sistema fagocitario hacia las zonas en donde éste se ha introducido. Este sistema de células fagocíticas que engloba, ingiere y destruye las partículas (proceso fagocitario), se divide en dos sistemas. El primer sistema actúa de manera rápida y eficiente y está constituido por células del sistema mielóide incapaces de efectuar un segundo esfuerzo, por esta razón son consideradas la primer línea de defensa y se trata de polimorfonucleares o neutrófilos.<sup>10</sup>

El segundo sistema fagocítico mononuclear (sistema monocito-macrófago) está constituido por células más lentas en su aparición, pero que pueden repetir el proceso de fagocitosis las veces que sea necesario, procesando antígenos que inicien la respuesta inmune. Por esta razón, este sistema constituye una segunda línea de defensa, y se trata de los macrófagos.<sup>10</sup>

El proceso de destrucción de partículas a través de la fagocitosis consta de las siguientes etapas: reconocimiento del material que debe ser ingerido, movimiento hacia el mismo por medio de la quimiotaxia, fijación, ingestión y digestión

intracelular. Una serie de reacciones bioquímicas ocurren, e incluyen la utilización de factores humorales como las opsoninas y el sistema de complemento.<sup>8</sup>

### **Respuesta Inmunitaria Específica**

La respuesta inmunespecífica es la reacción del hospedero ante una sustancia extraña (antígeno) e incluye una serie de interacciones celulares que se expresan en la elaboración de productos celulares específicos (inmunoglobulinas).

La característica principal del sistema inmunológico específico es la habilidad de actuar sobre blancos específicos. Ésto se lleva a cabo por medio de los componentes especiales de este sistema: los linfocitos derivados del timo o linfocitos T, que tienen receptores específicos para la atracción de antígenos (inmunidad celular) y los linfocitos derivados de la médula ósea o linfocitos B, que producen moléculas de anticuerpo (inmunidad humoral).<sup>11-13</sup>

Un tercer grupo de linfocitos, los que no poseen marcadores de superficie característicos de los linfocitos T o B, se llaman células nulas. Se piensa que representan etapas de la diferenciación entre el linfocito T y el B.<sup>12-14</sup>

Los linfocitos pueden encontrarse en pequeña cantidad en el tejido conjuntivo normal, pero aumentan extraordinariamente en las áreas de inflamación crónica.<sup>16</sup>

Por lo regular los linfocitos, poseen un citoplasma de aspecto homogéneo y núcleo esférico a reniforme.

#### **1. Inmunidad mediada por Células (Linfocitos T)**

La respuesta mediada por células requiere un contacto directo entre el antígeno y el linfocito efector. La reacción ocurre en el área localizada y suele desarrollarse lentamente.<sup>14</sup>

Las funciones principales de la inmunidad celular son:

- 1) Resistencia contra los patógenos intracelulares (bacterias, virus, protozoarios y hongos).
- 2) Reacción de rechazo a los trasplantes (reacción aguda y crónica).
- 3) Inmunidad tumoral
- 4) Autoinmunidad
- 5) Dermatitis por contacto

Este tipo de inmunidad está mediada por los linfocitos T que se originan en el timo, ahí maduran y se diferencian, salen del timo y circulan continuamente desde la sangre hasta los ganglios linfáticos y de regreso a la sangre.<sup>8,12,17</sup>

Al encontrarse con un antígeno, los linfocitos T programados para reconocerlo se activan. Crecen, proliferan y se convierten por diferenciación en varios subtipos de linfocitos T: 1) linfocitos T colaboradores (o auxiliares), 2) linfocitos T supresores, 3) linfocitos T citolíticos (células T asesinas o linfocitos T citotóxicos), 4) células T de memoria y 5) células T amplificadoras.<sup>12,17</sup>

Los antígenos específicos que las células T reconocen, generalmente son proteínas o haptenos unidos a proteínas.<sup>12</sup>

Se le atribuyen tres funciones inmunológicas a los linfocitos T: 1) citotoxicidad, 2) cooperación con linfocitos B y 3) efectos supresores.<sup>9</sup>

## 2. Inmunidad Humoral (Linfocito B)

Las reacciones humorales comprenden la síntesis y secreción de anticuerpos. Una reacción humoral puede ocurrir en un lugar muy distante de la célula que sintetiza al anticuerpo específico, por lo tanto no se requiere de un contacto directo entre el antígeno y la célula efectora.<sup>14</sup>

Las actividades principales que realiza la inmunidad humoral son:

- 1) Eliminación de bacterias encapsuladas.
- 2) Neutralización de toxinas solubles; protección viral (periodo de incubación).
- 3) Reacción de rechazo a los trasplantes (reacción hiperaguda).
- 4) Inmunidad tumoral (por comprobarse).
- 5) Enfermedades relacionadas con la reacción inmunológica (discrasia sanguínea autoinmune, enfermedades por complejos tóxicos y trastornos alérgicos).

Este tipo de inmunidad se mide por un grupo de linfocitos que se diferencian en la médula ósea y se denominan linfocitos derivados de la médula ósea o linfocitos B. Los linfocitos B actúan contra el antígeno mediante moléculas de anticuerpos que están unidas a sus membranas plasmáticas y que actúan como proteínas receptoras. Después de la interacción del antígeno con el linfocito T, éstos liberan linfocinas que estimulan a los linfocitos B para que se diferencien en células plasmáticas, formadoras de los anticuerpos.<sup>17</sup> El anticuerpo es un producto de las células plasmáticas, que va unido a la célula o que es eliminado como producto extracelular. Como grupo, los anticuerpos se denominan inmunoglobulinas y existen cinco clases principales.<sup>8</sup>

Las células plasmáticas sintetizan y secretan a los anticuerpos (inmunoglobulinas), como consecuencia, su citoplasma es de gran especialización y posee abundantes cisternas del retículo endoplásmico rugoso.<sup>12</sup>

La célula plasmática es una célula voluminosa y redondeada, su núcleo es excéntrico y posee un citoplasma abundante intensamente eosinófilo. La cromatina nuclear está condensada y la cromatina periférica está dispuesta como los números de la carátula de un reloj.<sup>12,16</sup>

### C. SISTEMA INMUNITARIO DE LAS MUCOSAS

El sistema inmunitario de las mucosas está compuesto de tejidos linfoides que se relacionan con las superficies mucosas de los aparatos digestivo, respiratorio y urogenital. Este sistema es utilizado como defensa junto con factores protectores no inmunitarios como la flora bacteriana residente, secreciones mucosas y la presencia de enzimas.<sup>18</sup>

La población de linfocitos de la lámina propia (por debajo del epitelio) se divide equitativamente en células B y células T.<sup>18</sup>

Los macrófagos se encuentran en las áreas mucosas difusas a lo largo de todo el sistema inmunitario de las mucosas y tienden a concentrarse en las partes más superficiales de la mucosa, justo por debajo del epitelio.<sup>18</sup>

La protección de los tejidos bucales está dada en parte por las secreción de las glándulas salivares mayores y menores que contienen inmunoglobulina A y en parte por el líquido crevicular que contienen a los leucocitos (neutrófilos) que provienen de los vasos del plexo gingival y que emigraron hasta la porción coronal del epitelio de unión, representando una importante línea de defensa.<sup>10,13</sup>

## D. GENERALIDADES DE LOS HIDROCOLOIDES IRREVERSIBLES

### Clasificación de los Materiales de Impresión

Un material de impresión irreversible es aquel en el cual ocurren reacciones químicas, que no permiten que el material regrese a su estado previo al fraguado o gelesificado como en el caso del hidrocoloide de alginato. Por otro lado, un material de impresión reversible, es aquel que puede regresar a su consistencia original después del fraguado, ya que no ocurren reacciones químicas que lo modifiquen. A esta categoría pertenecen los hidrocoloides reversibles o de agar-agar.<sup>3</sup>

#### 1. Alginato o Hidrocoloide Irreversible

A finales del siglo XIX se descubrió que ciertas algas pardas producían un moco, al que se le denominó algina. Esta sustancia natural más tarde fue identificada como un polímero lineal con numerosos grupos de ácido carboxílico al que se le nombró ácido anhidro- $\beta$ -D-manurónico o ácido alginico.<sup>3</sup>

Cuando el material de agar empezó a escasear durante la Segunda Guerra Mundial, debido a que Japón era el principal productor, se aceleró la búsqueda de sustitutos; el resultado fue el hidrocoloide irreversible o material de impresión de alginato.<sup>3</sup> Las ventajas sobre los otros materiales de impresión son: su fácil manipulación, su costo relativamente bajo y que son del agrado del paciente.<sup>3,19</sup>

Este material de impresión es utilizado en la obtención de modelos de estudio, modelos ortodónticos, y para la construcción de prótesis parciales.<sup>20</sup>

#### 1.1. Composición

El principal ingrediente activo de este material de impresión es un alginato soluble

(sal de ácido algínico), que se obtiene de las algas marinas y es considerado como un polímero lineal (ácido anhídrido- $\beta$ -manurónico). Si bien el ácido algínico no es soluble en agua, algunas de sus sales lo son: el sodio, potasio, amonio o la trietanolamina son los más utilizados.<sup>3,20</sup>

Tabla 1. Componentes del polvo del alginato.<sup>3</sup>

COMPONENTE	%	FUNCIÓN
Sal de alginato de Potasio o Sodio	15%	Permitir que el alginato sea soluble.
Sulfato de calcio	16%	Reactivo. Por lo general se usa el dihidrato. El hemihidrato alarga el periodo de vida del polvo y le proporciona una estabilidad dimensional satisfactoria al gel.
Oxido de zinc	4%	Como relleno e influye sobre las propiedades físicas y el tiempo de gelificación.
Fluoruro de titanio de potasio	3%	Acelerador del fraguado de la piedra, asegura que la superficie del molde de piedra contra la impresión sea densa y dura.
Tierra de diatomeas	60%	Relleno. En cantidades suficientes aumenta la resistencia y rigidez del gel, produce una textura suave y una superficie firme que no sea pegajosa.
Fosfato de sodio	2%	Retardador.

## 1.2. Estructura

Los coloides o soles tienen dos fases: la fase dispersa y la fase de dispersión, cuando la concentración de la fase dispersa en el hidrocoloide es suficiente, el sol puede cambiar a un material semisólido conocido como gel o hidrogel (en el caso de que el medio dispersante sea el agua). En el estado de gel, la fase dispersa se aglomera, formando cadenas o fibrillas llamadas micelas. Las fibrillas pueden ramificarse y entremezclarse para formar una estructura en forma de cepillo. El medio de dispersión se mantiene en el intersticio entre las fibrillas por

atracción capilar o por adhesión.<sup>3,20</sup>

La temperatura en la cual ocurren estos cambios es la de gelación (aproximadamente 37°C), cuando el proceso es reversible, se trata de un hidrocoloide reversible o agar-agar; cuando las fibrillas de alginato se forman por acción química y el proceso no es reversible, se le da el nombre de hidrocoloide irreversible o alginato.<sup>3</sup>

### 1.3. Proceso de Gelación

La reacción típica de sol-gel es una reacción de alginato soluble con el sulfato de calcio, que resulta en la formación de un alginato de calcio insoluble. El sulfato de calcio reacciona a partir del alginato de potasio o de sodio en una solución acuosa, produciendo el alginato de calcio insoluble. La producción de alginato de calcio es tan rápida que el tiempo de trabajo es insuficiente, por lo que para prolongar el tiempo, se añade a la solución una tercera sal soluble en agua, como el fosfato trisódico. Lo ideal es que el sulfato de calcio reaccione con la otra sal antes de hacerlo con el alginato soluble.<sup>3</sup>

Cuando el suministro de fosfato trisódico se ha terminado, los iones de calcio empiezan a reaccionar con el alginato de potasio para producir alginato de calcio. La sal que se agrega funciona como retardador, se pueden utilizar numerosas sales solubles dos de las más utilizadas son el tripolifosfato de sodio y el pirofosfato tetrasódico.<sup>3</sup>

### 1.4. Desinfección

La contaminación cruzada es uno de los problemas más preocupantes en odontología. Las impresiones dentales se contaminan fácilmente con la sangre y la saliva del paciente, dichos fluidos pueden contener microorganismos patógenos como el virus de la hepatitis, el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), el virus

del herpes simple o bacterias tuberculosas<sup>21</sup> o simplemente contener microorganismos no patógenos que en la mayoría de los casos no ocasionan enfermedades, mas que cuando el paciente se encuentra en un estado de inmunosupresión.<sup>22,23</sup>

Muchas técnicas se han desarrollado para prevenir que las impresiones contaminadas pongan en riesgo a un gran número de personas: dentista, asistentes, laboratoristas y pacientes.<sup>21</sup>

Tradicionalmente se recomienda el uso de desinfectantes que tengan como agentes activos, yodóforos, blanqueadores (hipoclorito de sodio) o glutaraldehidos. Se utiliza el procedimiento de inmersión o el de rociado de la impresión durante 10 minutos, posteriormente se vacía de inmediato, y de esta forma la distorsión que se produce es mínima y el grado de desinfección obtenido es aceptable.<sup>3,24</sup> Sin embargo, algunos antimicrobianos, provocan que el endurecimiento de los modelos de yeso sea menor y que los detalles de las superficies disminuyan.<sup>3</sup>

También se recomienda enjuagar la impresión con cuidado y después utilizar desinfectantes como el blanqueador casero en una dilución de 1:10 y los yodóforos o fenoles sintéticos, los cuales se atomizan sobre la superficie expuesta. En este caso, la impresión no debe sumergirse ni sacudirse en la solución desinfectante. Inmediatamente después, la impresión se envuelve en una toalla de papel empapada en desinfectante y se coloca durante 10 minutos dentro de una bolsa de plástico bien cerrada. Por último, la impresión se saca de la bolsa de plástico, se enjuaga, se sacude el exceso de agua y se vacía el molde con el yeso.<sup>3</sup>

Otra alternativa es utilizar un material de impresión que contenga un desinfectante, de tal manera que la desinfección ocurra al mismo tiempo de la toma de impresión. En los materiales que requieren mezclar polvo con líquido como el

alginato, el desinfectante puede adicionarse al líquido (agua) o reemplazarlo completamente<sup>25</sup> o puede estar contenido en el polvo. Los agentes que potencialmente son activos incluyen a los yodóforos, la clorhexidina, iones fenólicos e inorgánicos como el cobre y el fluoruro o los compuestos de amonio cuaternario (éstos últimos tienen una actividad antimicrobiana limitada y son muy tóxicos para los tejidos, ya que pueden ocasionar reacciones adversas y fiebre con mayor frecuencia que los otros agentes activos).<sup>21</sup> En cuanto al efecto bactericida, este tipo de alginatos impregnados con algún desinfectante, han demostrado poseer una alta efectividad eliminando a la mayoría de los microorganismos patógenos. Es importante recordar que la efectividad obtenida depende directamente de la amplitud del espectro antimicrobiano que posea el desinfectante utilizado.<sup>21,26,27</sup>

### **1.5. Especificación No. 18 de la ADA**

Esta norma establece los requerimientos con los que debe contar cualquier hidrocólido irreversible. Las especificaciones comprenden varios aspectos: olor, sabor, tipo y grado de irritación provocado (biotolerancia), uniformidad, tiempo de mezclado y de fraguado, deformación permanente (alteración de forma) al momento de ser retirado de la boca, flexibilidad al momento de vaciar el modelo o dado de trabajo, resistencia a la compresión, fidelidad en la reproducción de detalles, compatibilidad con el yeso y grado de deterioro durante el almacenamiento del polvo empacado.<sup>28</sup>

### **1.6. Biotolerancia**

Los hidrogeles o alginatos son un grupo de importantes biomateriales que tienen muchas aplicaciones farmacéuticas y biomédicas, que incluyen la toma de impresiones dentales, el recubrimiento de heridas (promueven la regeneración celular),<sup>29</sup> y su utilización como vehículos de transporte de medicamentos y de matrices de transplante de células. Evidentemente, el alginato es considerado un

alginato, el desinfectante puede adicionarse al líquido (agua) o reemplazarlo completamente<sup>25</sup> o puede estar contenido en el polvo. Los agentes que potencialmente son activos incluyen a los yodóforos, la clorhexidina, iones fenólicos e inorgánicos como el cobre y el fluoruro o los compuestos de amonio cuaternario (éstos últimos tienen una actividad antimicrobiana limitada y son muy tóxicos para los tejidos, ya que pueden ocasionar reacciones adversas y fiebre con mayor frecuencia que los otros agentes activos).<sup>21</sup> En cuanto al efecto bactericida, este tipo de alginatos impregnados con algún desinfectante, han demostrado poseer una alta efectividad eliminando a la mayoría de los microorganismos patógenos. Es importante recordar que la efectividad obtenida depende directamente de la amplitud del espectro antimicrobiano que posea el desinfectante utilizado.<sup>21,26,27</sup>

#### **1.5. Especificación No. 18 de la ADA**

Esta norma establece los requerimientos con los que debe contar cualquier hidrocoloide irreversible. Las especificaciones comprenden varios aspectos: olor, sabor, tipo y grado de irritación provocado (biotolerancia), uniformidad, tiempo de mezclado y de fraguado, deformación permanente (alteración de forma) al momento de ser retirado de la boca, flexibilidad al momento de vaciar el modelo o dado de trabajo, resistencia a la compresión, fidelidad en la reproducción de detalles, compatibilidad con el yeso y grado de deterioro durante el almacenamiento del polvo empacado.<sup>28</sup>

#### **1.6. Biotolerancia**

Los hidrogeles o alginatos son un grupo de importantes biomateriales que tienen muchas aplicaciones farmacéuticas y biomédicas, que incluyen la toma de impresiones dentales, el recubrimiento de heridas (promueven la regeneración celular),<sup>29</sup> y su utilización como vehículos de transporte de medicamentos y de matrices de transplante de células. Evidentemente, el alginato es considerado un

---

material totalmente biotolerado, sobretodo si es utilizado para trasplantar células.

Los alginatos poseen una limitante, no son biodegradables. La única enzima conocida que tiene la capacidad de degradar al alginato es la alginasa, enzima bacteriana que no es sintetizada ni por los seres humanos ni por los animales.<sup>30</sup>

## E. GENERALIDADES DE LOS ANTISÉPTICOS

Las bacterias pueden ser destruidas por medio de agentes físicos o químicos. Dentro de los físicos están el calor, la luz ultravioleta y la presión osmótica. Los agentes químicos corresponden a los antisépticos.

### 1. Cinética de la Desinfección

Tabla 2. Los agentes antisépticos inespecíficos dañan a los microorganismos por medio de diversos mecanismos.<sup>31</sup>

MECANISMO	EJEMPLO
Precipitación y desnaturalización de las proteínas del protoplasma bacteriano.	Fenol y alcohol
Combinación e inhibición de las enzimas bacterianas con grupos sulfhidrilo.	Compuestos de mercurio
Oxidación de los constituyentes bacterianos.	Peróxido de hidrógeno
Combinación con grupos amino de las proteínas bacterianas.	Formaldeído
Alteración de la permeabilidad de la membrana celular de las bacterias.	Antisépticos detergentes
Combinación con los grupos ácidos de los ácidos nucleicos bacterianos.	Colorantes básicos como el azul de metileno

### 2. Condiciones que deben reunir los Antisépticos

Para poder utilizar una sustancia antiséptica, debe procurarse que cumpla con ciertas características:<sup>31</sup>

- 1) Potencia germicida: debe poseer una actividad potente contra todos los microorganismos, de preferencia que actúe en concentraciones bajas, de tal manera que disminuya la acción tóxica en los tejidos del huésped.
- 2) Velocidad de acción: los hay de acción lenta y de acción rápida (ideal).

- 3) Presencia de materia orgánica: muchos antisépticos se inactivan al combinarse con las proteínas, por lo que un antiséptico ideal, debe ser eficaz en presencia de materia orgánica.
- 4) Acción de la temperatura: la velocidad de acción de un germicida aumenta con
- 5) Selectividad de acción: muchas drogas poseen una acción selectiva sobre ciertos microorganismos.
- 6) Toxicidad: el valor de un antiséptico depende de su toxicidad en los tejidos del hospedero; se debe buscar el antiséptico que provoque muy poca toxicidad; por ejemplo, todas las sustancias que precipitan las proteínas producen lesiones celulares y no pueden emplearse en heridas.
- 7) Solubilidad: para poder penetrar en el interior de un microorganismo, el antiséptico debe ser soluble en el protoplasma y en el líquido que se aplica.
- 8) Debe tener un poder de penetración conveniente en las grietas de los tejidos.
- 9) Debe tener una estabilidad conveniente.
- 10) No debe poseer olor desagradable.
- 11) Debe ser compatible desde el punto de vista químico con las otras sustancias que se aplican localmente.
- 12) Debe ser económico.

### 3. Indicaciones Generales de los Antisépticos

Cuando se requiere desinfectar material no viviente, se deben destruir todos los microorganismos, es decir se debe efectuar una esterilización. En el caso de la desinfección de tejidos vivos, el objetivo cambia, se trata de ayudar a las defensas naturales de los tejidos a combatir la invasión bacteriana. Muchas veces es suficiente si se inhibe el crecimiento de las bacterias y se le da oportunidad a los macrófagos de actuar.<sup>31</sup>

La clasificación de los antisépticos se realiza en base a su estructura química. Existen antisépticos inorgánicos y orgánicos, dentro del grupo de los orgánicos

existe un subgrupo, el de las bisbiguanidas, al que pertenece la clorhexidina.<sup>31</sup>

#### 4. Generalidades de la Clorhexidina

antiséptico. Los desinfectantes se utilizan en objetos inanimados y son sustancias que matan o inhiben el crecimiento de los gérmenes o microorganismos dañinos.<sup>28</sup>

Los antisépticos evitan o limitan la infección en los tejidos vivos, destruyendo o inhibiendo el crecimiento de los microorganismos.<sup>32</sup>

La clorhexidina se utiliza ampliamente y su uso esta restringido a la asepsis profiláctica, se administra tópica y oralmente.<sup>32</sup>

La clorhexidina posee una alta efectividad y una muy baja toxicidad, por lo que desde hace más de 40 años se utiliza en medicina (incluyendo el área dental y veterinaria). Algunos de sus usos son: agente antiséptico (infecciones de la piel, heridas, quemaduras, infecciones de la garganta, obstetricia, irrigación de la vejiga), agente desinfectante (esterilización de instrumental), conservador en algunos productos oftálmicos, agente antiplaca y tintura veterinaria.<sup>32,33</sup>

En 1970, Løe y Schiøtt introdujeron la clorhexidina al campo de la odontología; desde entonces, la clorhexidina se usa ampliamente en toda Europa como agente antiplaca y anticaries. Para su uso terapéutico se usan diferentes presentaciones: soluciones para ejuagues, dentríficos, geles en portaimpresiones individuales, geles aplicados con jeringas o con hilo dental y barnices que contienen clorhexidina.<sup>34</sup>

Sin embargo, a pesar de que la clorhexidina sigue siendo hasta el momento uno de los desinfectantes y antisépticos más utilizados y de que existen mas de 600 referencias que indican su efectividad y seguridad, la clorhexidina no está aprobada en los Estados Unidos.<sup>35</sup>

#### 4.1. Origen

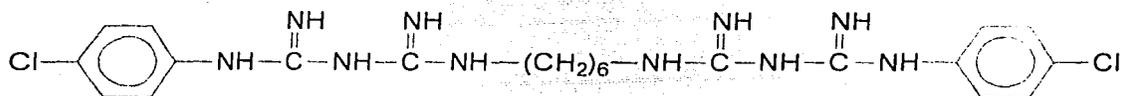
A finales de 1940, científicos que buscaban desarrollar agentes antimalaria, crearon un grupo de compuestos llamados polibiguanidas, los cuales demostraron tener un espectro antimicrobiano amplio.<sup>35</sup>

Los poliguanidas son antisépticos orgánicos que poseen acción antibacteriana, siendo los compuestos sintéticos con dos grupos biguanida, los bisbiguanidas, bactericidas muy potentes. En 1954, G.E. Davies *et al.* sintetizaron y probaron una gran cantidad de sustancias derivadas de dicho grupo bisbiguanida, hasta descubrir que el antiséptico más activo de este grupo es la clorhexidina o Hibitane (1:6-Di-4'Clorofenildiguanidohexano). Los extensos estudios de laboratorio, clínicos y veterinarios, demostraron que la acción antibacteriana abarca un amplio espectro de bacterias vegetativas Gram positivas y Gram negativas, así como de esporas bacterianas. También mostraron que su actividad se mantiene en presencia de los fluidos corporales, no se crea resistencia bacteriana, la toxicidad oral es muy baja y no interfiere en los procesos de fagocitosis normales.<sup>31,36</sup>

#### 4.2. Estructura Química

La clorhexidina está formada por una base fuerte prácticamente insoluble en agua y es más estable en forma de sal, generalmente se emplea el gluconato soluble, que no se puede aislar como sólido, y que representa una solución al 20% p/v como solución madre.<sup>31</sup> Originalmente se emplearon sales de acetato y de hidrocloreto, ambas de baja solubilidad en agua.<sup>29</sup> Actualmente, en los desinfectantes para la piel se utilizan diferentes sales como el gluconato, el digluconato, el acetato o el diacetato.<sup>37</sup>

La fórmula estructural general de la clorhexidina consiste en dos anillos simétricos de 4-clorofenil y dos grupos biguanidas conectados por medio de una cadena central de hexametileno.<sup>31,35,36</sup>



### 4.3. Farmacodinamia

#### 4.3.1. Espectro de Actividad

La clorhexidina en grandes cantidades posee acciones bactericidas y en pequeñas concentraciones su acción es bacteriostática sobre las bacterias grampositivas, algunas bacterias gramnegativas y hongos dermatófitos, teniendo muy poca acción deletérea sobre virus lipofílicos y esporas.<sup>31,35,38,39</sup>

Los desinfectantes usualmente no crean resistencia bacteriana, existen dos reportes que mencionan la posibilidad de que la clorhexidina causa pequeñas mutaciones, que hacen que los microorganismos sean menos sensibles a la droga. Sin embargo, esto no sucede comúnmente.<sup>35</sup>

#### 4.3.2. Mecanismo de Acción

La clorhexidina actúa sobre la membrana celular, orientándose en la porción lipídica, lisándola, de tal manera que la permeabilidad aumenta y hay una pérdida hacia el exterior de los elementos constituyentes de la bacteria, la bacteria no logra reparar su membrana, ni recuperar su contenido metabólico y por lo tanto, se vuelve no viable.<sup>31,39,40</sup>

Según Davies, el modo de acción de la clorhexidina es el siguiente: 1) adsorción de la clorhexidina a la superficie bacteriana, 2) daño de las barreras de permeabilidad, lo cual facilita la entrada del bactericida al citoplasma y 3) precipitación del citoplasma (letal), con la consecuente pérdida de elementos de material celular hacia el medio (entre ellas las pentosas, que es un elemento

nutritivo) y prevención de la reparación de la pared y membrana celular.<sup>40</sup>

La clorhexidina es una base muy estable. La preparación oral más común, es el digluconato de clorhexidina. Su efecto bactericida se debe al enlazamiento molecular catiónico con complejos microbianos y con paredes celulares microbianas cargadas negativamente, alterando el equilibrio osmótico. A bajas concentraciones, las sustancias de bajo peso molecular se pierden, específicamente el potasio y el fósforo. A concentraciones altas, el contenido del citoplasma se precipita y la célula muere.<sup>35,40,41</sup>

#### 4.4. Farmacocinética

La clorhexidina no se absorbe por la piel y llega a absorberse un poco en el tracto gastrointestinal, se pierde casi totalmente en las heces. Se absorbe por vía subcutánea o intramuscular.<sup>31</sup>

Los experimentos de Magnusson y Heyden con enjuagues de clorhexidina marcada con radiación indican que la penetración a la mucosa y a la encía es mínima, y que la absorción en el tracto gastrointestinal es muy pobre. En los reportes existentes se menciona que el 90% de la clorhexidina retenida se excreta en las heces y el resto se elimina por la vía urinaria.<sup>41,42</sup>

La acción antiséptica sobre la piel es muy rápida (15 segundos) y es persistente (más de 3 horas), esto se debe a que la clorhexidina se adhiere y adsorbe a la piel reteniendo su actividad. La acción antiséptica se efectúa en contra de los microorganismos residentes y transeúntes. La clorhexidina es eficaz en presencia de materia orgánica (incluida la sangre), ya que su acción se reduce muy poco. Debido a su naturaleza catiónica, la clorhexidina se enlaza fuertemente a la piel, mucosa y otros tejidos, por lo que es pobremente absorbida. Después de su utilización por vía oral, no se han encontrado en la sangre niveles detectables y la absorción percutánea, si existe, es absolutamente insignificante.<sup>31,38</sup>

Su eficacia como agente antiplaca se deriva de su habilidad de adherirse a los sustratos aniónicos (hidroxiapatita, película, glucoproteínas salivales, membranas mucosas y bacterias) y de no penetrar la mucosa bucal. Después de un enjuague con clorhexidina, aproximadamente el 30% de la droga es retenida, la clorhexidina se va liberando en un periodo de 8 a 12 horas, y todavía a las 24 horas llegan a encontrarse concentraciones muy bajas. La lenta liberación de la clorhexidina de los sitios de retención, es lo que provee el prolongado efecto bactericida.<sup>35,41,43-45</sup>

#### 4.5. Efectos Clínicos

**Acción local:** la clorhexidina es localmente muy poco irritante, en heridas no altera la cicatrización a menos que las concentraciones sean superiores al 5%.<sup>31</sup>

**Acciones sistémicas:** la aplicación cutánea no produce ningún fenómeno general, y sólo la inyección intravenosa accidental es capaz de producir hemólisis.<sup>31</sup>

**Acción en la cavidad bucal:** los estudios a corto plazo indican que la ausencia de la higiene bucal mecánica, sustituida por uno, dos o cinco enjuagues bucales con 10 ml de clorhexidina al 0.2% y una aplicación tópica diaria con una solución de gluconato de clorhexidina al 2% es suficiente para inhibir el desarrollo de placa dentobacteriana y de la gingivitis.<sup>41,46</sup>

También puede utilizarse como una terapia adjunta en el control de la inflamación gingival, especialmente en situaciones agudas y durante periodos de higiene interrumpidos. La clorhexidina es también muy efectiva, después de una cirugía periodontal, ya que reduce el índice de placa, la inflamación gingival y el dolor postoperatorio.<sup>35</sup>

#### 4.6. Reacciones Adversas (Locales y Sistémicas)

La clorhexidina es de muy baja toxicidad bucal y tiene un expediente prácticamente impecable en cuanto a efectos adversos se refiere. A pesar de esto, su uso en la cavidad bucal no está exento de estar acompañado de algunos efectos secundarios.<sup>61</sup> Uno de los efectos adversos más conocidos es la tinción de los dientes, las restauraciones y la lengua; usualmente, se forma una capa café-amarillenta en las superficies dentales (sobretudo en el área interproximal) y el dorso de la lengua.<sup>41,51,62</sup> La tinción es fácilmente removida por medio del cepillado dental, la profilaxis y el pulido dental.<sup>41</sup>

También se han reportado alteraciones en el gusto, un sabor ligeramente amargo persiste por varios minutos y en algunos casos por varias horas, después de haber realizado enjuagues con clorhexidina.<sup>51,62</sup>

Ainamo *et al.* reportaron que el sangrado de las encías tiende a aumentar con el uso diario de la clorhexidina.<sup>63</sup> El sangrado disminuye si el tratamiento se combina con medidas de higiene mecánicas (cepillado dental).<sup>64</sup>

Con menor frecuencia, llegan a aparecer parches blancos, lesiones descamativas o lesiones ulcerativas dolorosas en la mucosa bucal.<sup>51,62,64</sup> Esta reacción puede variar desde una ligera sensación de ardor localizada hasta la presencia de áreas rojizas que definen a las zonas ulceradas.<sup>61</sup> Las lesiones descamativas ocurren debido a que la clorhexidina precipita a las mucinas ácidas y las proteínas que cubren a las membranas mucosas, en estos casos los enjuagues se suspenden, y si llegan a retomarse se reduce la dosis de clorhexidina de 0.2% a 0.1% de gluconato o acetato de clorhexidina. Usualmente ya no se detectan nuevas lesiones.<sup>62,65</sup>

La droga es muy poco tóxica, el único trastorno sistémico que se ha producido es el de la inyección intravenosa accidental, en cuyo caso se produce hemólisis, sin

embargo los pacientes se recuperan espontáneamente.<sup>31,32</sup>

Como lo demuestran otras investigaciones, se debe tener cuidado, ya que en los estudios *in vitro* realizados, se encontró que la clorhexidina a bajas concentraciones puede ocasionar la muerte de células epiteliales humanas<sup>66</sup>, fibroblastos humanos<sup>68</sup> y macrófagos de ratas. Otros efectos adversos en estudios *in vivo* observados en animales incluyen disqueratosis temporal lingual en ratas e hiperqueratinización de la mucosa del carrillo en hamsters, al utilizar concentraciones que exceden soluciones del 2%.<sup>35,61</sup>

#### 4.7. Efectos Adversos a Corto Plazo del uso Oral de la Clorhexidina

Se han reportado algunos casos de alergias por contacto y de choque anafiláctico seguido a la exposición con clorhexidina. Las reacciones han ocurrido después del contacto con la piel y las mucosas, o debido a la utilización de catéteres tratados con dicho agente antimicrobiano.<sup>43</sup>

La anafilaxia o reacción de hipersensibilidad inmediata tipo I provocada por la clorhexidina es extremadamente rara. Generalmente sucede en la fase preoperatoria de las cirugías al momento de limpiar la piel o las membranas mucosas. En los procedimientos urólogos y ginecológicos el riesgo de que se presente un choque anafiláctico es mucho mayor.<sup>48</sup> Hasta el momento el registro de este tipo de reacciones es muy bajo,<sup>47-50</sup> por lo que debe considerarse que la clorhexidina representa un riesgo potencial de anafilaxia.

Las alergias por contacto corresponden a la hipersensibilidad del tipo IV o hipersensibilidad tardía, resultado de que la clorhexidina actúe como hapteno con las células epiteliales. Como consecuencia, pocas horas después del contacto con la clorhexidina, se observan clínicamente en la mucosa bucal, labios o paladar, zonas eritematosas, edema, formación de vesículas y posteriormente zonas ulceradas.<sup>49-52</sup>

También se han reportado algunos casos de dermatitis alérgica por contacto combinada con anafilaxia, en donde el eccema inducido por la clorhexidina precede el desarrollo posterior de la anafilaxia inducida por esta misma sustancia.<sup>37,49,53</sup>

En conclusión, la clorhexidina puede provocar dermatitis irritante, dermatitis alérgica por contacto (tipo IV), anafilaxia (tipo I), dermatitis alérgica por contacto combinada con anafilaxia y fotodermatitis (de la cual sólo existe un caso reportado).<sup>54</sup>

#### 4.8. Efectos Adversos a Largo Plazo del uso Oral de la Clorhexidina

En 1976, se realizaron estudios que reportaron los efectos del uso diario de clorhexidina. Durante dos años se monitorearon el índice de placa, el índice de gingivitis, los cambios en la microbiota y los efectos secundarios sistémicos y locales, en un grupo de 61 estudiantes, con los siguientes resultados:

Løe *et al.* indicaron que la aplicación de clorhexidina tiene como resultado la disminución de la cantidad de placa y de gingivitis; sin embargo tiende a teñir los dientes.<sup>55</sup> Schiøtt *et al.*, establecieron que la reducción total de bacterias es de 30% a 50%, y que la población bacteriana retoma sus niveles iniciales una vez que el uso de la clorhexidina es suspendido.<sup>56,57</sup>

Løe *et al.* también realizaron pruebas para determinar el estado general de salud de los participantes: verificaron los niveles de hemoglobina, la cantidad de eritrocitos y leucocitos, realizaron análisis urinarios y de función del riñón y el hígado. No se encontró ningún efecto sistémico atribuible a la clorhexidina.<sup>58</sup>

MacKenzie *et al.* basándose en las referencias existentes de autores que encontraron áreas descamadas o parches blancos debido al uso de clorhexidina, evaluaron los cambios histológicos y reportaron que no existen diferencias respecto al grado de queratinización, número de capas celulares o grosor del

estrato corneo, en individuos que utilizan clorhexidina y en individuos del grupo control.<sup>59</sup>

Nuki *et al.*, por su parte, evaluaron el efecto del uso de la clorhexidina sobre las enzimas oxidativas del epitelio bucal, y concluyen que no existen diferencias respecto a la actividad enzimática en individuos que usan clorhexidina comparado con los que no la usan.<sup>60</sup>

En conclusión, los seis estudios demostraron que el uso de clorhexidina en el ser humano por un periodo de 2 años, no ocasiona efecto nocivo alguno.

#### 4.9. Contraindicaciones

Los preparados de clorhexidina están contraindicados para pacientes que previamente mostraron reacciones alérgicas de hipersensibilidad ante este antiséptico.<sup>38,39</sup>

Se aconseja tomar precauciones durante el embarazo, la lactancia y en niños menores de 18 años, ya que su seguridad no ha sido probada en estos grupos.<sup>39</sup>

#### 4.10. Toxicidad

La absorción de la clorhexidina es muy pobre, y ésto es lo que le confiere su baja toxicidad.<sup>41</sup> Sin embargo, existen reportes que indican que en heridas recién suturadas, el contacto con clorhexidina puede ocasionar retrasos en la cicatrización. Los efectos citotóxicos de la clorhexidina podrían explicar este retraso en la cicatrización y deben tenerse en cuenta en situaciones en donde el tejido conjuntivo no esté protegido por una capa intacta de epitelio.<sup>67</sup>

Goldschmidt *et al.* encontraron que la clorhexidina en bajas concentraciones de hasta 0.004% ocasionan efectos tóxicos en varias células humanas como fibroblastos gingivales, fibroblastos recién diferenciados y en células HeLa, el

resultado es la muerte celular o una marcada reducción en la síntesis de proteínas de la célula.<sup>67</sup>

Muchos químicos no son tóxicos por sí mismos, pero se activan y convierten en metabolitos tóxicos por medio de biotransformaciones,<sup>68</sup> en el caso de la clorhexidina se ha determinado que los productos acumulados o metabólicamente alterados en el cuerpo no se convierten en productos potencialmente dañinos.<sup>35,43</sup>

La paracloroanilina (PCA), es un químico que suele encontrarse como agente contaminante en la clorhexidina, es un subproducto que se forma como consecuencia de un prolongado almacenamiento o por la exposición a altas temperaturas y que en altas dosis puede resultar carcinogénico; dicho compuesto no ha sido detectado nunca en soluciones de clorhexidina (de hasta el 4%).<sup>35,41</sup>

Los experimentos en animales demostraron que el diacetato de clorhexidina al 0.05% bebido por ratas durante un año, no ocasionó ningún tipo de enfermedad sistémica. Sin embargo, ese mismo compuesto administrado a las ratas por vía intravenosa o intraperitoneal es moderadamente tóxico.<sup>36,66</sup>

Helgeland *et al.* estudiaron el efecto de la clorhexidina en células epiteliales humanas *in vitro*, y observaron que concentraciones de 0.05 mM son tóxicas, de acuerdo con la medición de la inhibición del crecimiento celular y con la tinción diferencial. Según Helgeland *et al.* uno de los mecanismos que protegen a las células subepiteliales de los efectos tóxicos de la clorhexidina, consiste en que ésta se enlaza a las membranas mucosas, en vez de ser absorbida.<sup>66</sup>

Lindhe *et al.* evaluaron los efectos de la aplicación local de clorhexidina en la mucosa bucal de hamsters. El gluconato de clorhexidina aplicado a la mucosa intacta o queratinizada no ocasiona disturbios microvasculares en el tejido conjuntivo. Sin embargo, en las superficies defectuosas o dañadas, la clorhexidina ocasiona hemólisis, granulocitosis y formación de trombos, además de los signos

característicos de la inflamación aguda. Estas observaciones indican que el gluconato de clorhexidina no penetra el epitelio bucal intacto, y por lo tanto no ocasiona daños en el tejido conjuntivo.<sup>69</sup>

En animales (ratas) no se han observado cambios teratológicos o reproductivos.<sup>36,41</sup>

Se han realizado extensos estudios tanto en animales como en seres humanos tanto del gluconato de clorhexidina como del diacetato de clorhexidina, incluyendo pruebas de toxicidad aguda, subaguda y crónica, y los resultados demuestran que los niveles de toxicidad locales y sistémicos son muy bajos.

Existen también estudios en seres humanos, utilizando las pruebas del parche, con el propósito de indicar el potencial de sensibilización provocado por la clorhexidina, 2.3% de las reacciones son positivas. Aunque la incidencia es muy baja, no se debe subestimar la toxicidad de la droga.<sup>70,71</sup>

#### **4.11. Biotolerancia**

Podría afirmarse que la clorhexidina es uno de los desinfectantes con mayor grado de tolerancia biológica en los tejidos como lo demuestran los estudios en donde se ha comprobado que la clorhexidina prácticamente no es absorbida por los tejidos, por lo que es fácilmente eliminada por el cuerpo antes de ocasionar reacciones inflamatorias.<sup>43,44,45</sup>

## **F. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El alginato Novel Print Cyan tiene el objetivo de desinfectar la impresión al momento de su obtención y no existen investigaciones que permitan conocer el grado de lesión tisular que puede ocasionar este material, lo que nos obliga a realizar las pruebas correspondientes de citotoxicidad y biocompatibilidad.

## **G. JUSTIFICACIÓN**

Es necesario conocer el tipo de respuesta biológica que genere el alginato Novel Print Cyan que contiene clorhexidina y compararlo con el alginato Novel Print que no la contiene. Los resultados de este estudio permitirán valorar si es una opción suficientemente segura, como para permitir su utilización clínica.

## H. OBJETIVO GENERAL

Observar la respuesta inflamatoria del tejido conjuntivo de los modelos de estudio ocasionada por el contacto con dos alginatos comerciales, uno impregnado con clorhexidina y el otro sin ningún tipo de desinfectante.

## I. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Observar y describir el tipo de reacción inflamatoria ocasionada por el alginato impregnado de clorhexidina en el tejido subcutáneo.

Observar y describir el tipo de reacción inflamatoria ocasionada por el alginato que no contiene ningún tipo de desinfectante en el tejido subcutáneo.

Cuantificar el grado de reacción inflamatoria observada en los tejidos expuestos al alginato impregnado con clorhexidina, en base al conteo celular.

Comparar los resultados encontrados en las reacciones inflamatorias del tejido subcutáneo provocadas por los dos alginatos.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## J. HIPÓTESIS

H1: La respuesta inflamatoria generada por el alginato impregnado con clorhexidina será mínima, debido a que tanto el alginato como la clorhexidina son altamente biotolerados por los tejidos blandos.

H2: Se generará una respuesta nula en los tejidos en donde se implantó el alginato convencional.

### III. METODOLOGÍA

- **Equipo, material e instrumental**

Este estudio se realizó con la infraestructura del Laboratorio de Patología Clínica y Experimental y del Bioterio de la DEPEL de la FO-UNAM.

Equipo: Histokinette (marca Leica), dispensador de parafina, microtomo (Leica), afilador de cuchillas, cuchillas reafilables, tina de flotación, plancha, incubadora, fotomicroscópio Axiophot marca Carl Zeiss, batería y canastillas para tinción, rasuradora con navaja para pelo fino marca Oster.

Material: Parafina, cassettes de inclusión, matraces, probetas, pipetas, embudos, porta y cubreobjetos.

Material Quirúrgico: Mango para bisturí #3, hojas para bisturí #15, legra tipo Hopkins, estuche de cirugía.

Soluciones y reactivos: Formaldehído al 10%, cloroformo, etanol, alcohol, xileno, acetona, solución de Scott, hematoxilina de Harris, eosina, resina, solución aséptica Dermocline.

Anestésicos: Propiopil prozamina (Combelen) y Ketamina (Imalgen)

Material de estudio: Alginato con clorhexidina marca Novel Print Cyan y alginato sin clorhexidina marca Novel Print.

- **Recursos Biológicos**

20 ratas cepa Wistar, machos, adultos, de 300 gramos de peso corporal, sanos, observados por un periodo de 16 días antes de la intervención.

- **Recursos Físicos**

La investigación se realizó en la División de Estudios de Posgrado e Investigación (DEPeI) de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México contando con la infraestructura del Bioterio en donde se albergaron a los animales, se operaron y sacrificaron; y con el Laboratorio de Patología Clínica y Experimental en donde se procesaron y observaron las muestras biológicas.

- **Recursos Económicos**

El estudio fue financiado por la Industria Privada para introducir al mercado nacional los materiales en estudio.

- **Criterios de Inclusión**

Ratas adultas sanas, machos con peso de 300 gramos, de 2 meses de edad.

Muestras de alginato de la marca Novel Print Cyan con clorhexidina y Novel Print sin clorhexidina.

- **Criterios de Exclusión**

Ratas que durante el desarrollo del experimento muestren signos de patología local o sistémica.

Ratas que mueran en el transcurso del estudio.

- **Variables Dependientes**

Respuesta tisular

- **Variables Independientes**

Alginato convencional de la marca Novel Print

Alginato con clorhexidina de la marca Novel Print Cyan.

Ratas Wistar adultos, machos, de 350 gramos, de 2 meses de edad.

- **Diseño del Estudio**

Experimental, transversal y descriptivo.

## **1. Método**

Este estudio se realizó usando 20 ratas cepa Wistar, machos, adultos (300 g de peso), sanos, que no presentaban signos de patología sistémica o local.

Las ratas se clasificaron en cuatro grupos de cinco animales en los que se llevaron a cabo pruebas de tolerancia, biocompatibilidad y atoxicidad a un alginato convencional y otro impregnado con clorhexidina. En los cuatro grupos se implantó el material en el tejido subcutáneo del abdomen, y se observó la respuesta a los 7, 15, 21 y 30 días respectivamente. Durante este tiempo se valoró su evolución clínica. Cumplido el término, los animales se sacrificaron y se analizó microscópicamente la respuesta del tejido. Se tomaron muestras de tejido blando para su estudio y de esta manera se determinó el grado de respuesta inflamatoria.

Tabla 3. Definición de Grupos

<b>Grupo I a 7 días</b>	<b>Grupo II a 15 días</b>
Grupo I A: Alginato convencional	Grupo I A: Alginato convencional
Grupo I B: Alginato con clorhexidina	Grupo I B: Alginato con clorhexidina
Grupo I C: Control negativo.	Grupo I C: Control negativo.
<b>Grupo III a 21 días</b>	<b>Grupo IV a 30 días</b>
Grupo I A: Alginato convencional	Grupo I A: Alginato convencional
Grupo I B: Alginato con clorhexidina	Grupo I B: Alginato con clorhexidina
Grupo I C: Control negativo.	Grupo I C: Control negativo.

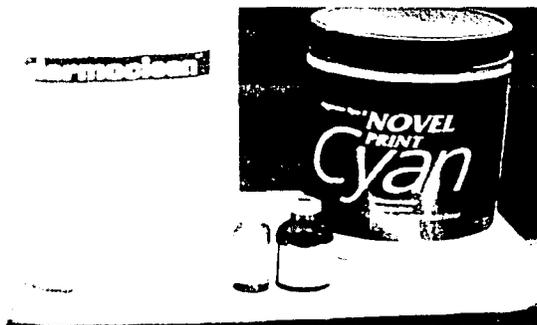
#### a) Procedimiento

Las ratas se sedaron con una dosis de 0.50 mg/Kg de peso de propiopil prozamina (Combelen) y 100 mg/Kg de peso corporal de Ketamina.

Se preparó la zona quirúrgica, rasurando y limpiando con solución aséptica (dermocline) el área de implantación (Figs. 1 y 2). Se practicaron tres incisiones separadas en la piel, con profundidad en el tejido subcutáneo. Se disecó el tejido y se implantaron las muestras. Éstas consistieron en: (A) alginato sin clorhexidina, incisión a la derecha, (B) alginato con clorhexidina, incisión de la izquierda y (C) incisión inferior como el control negativo mediante el cual se observó la respuesta inflamatoria causada por la intervención y la sutura, así como el proceso de cicatrización tanto clínica como histopatológicamente (Figs. 3 y 4).



**Figura 1.** Rata anestesiada con la zona quirúrgica preparada: se rasuró el abdomen y se limpió con una solución antiséptica.



**Figura 2.** Solución antiséptica y anestésico utilizados (izquierda y centro). Material sujeto a estudio en este experimento (derecha).



Figura 3. Se realizaron tres incisiones con profundidad en el tejido subcutáneo. Figura 4. Se implantaron las muestras del material de estudio y se suturó con seda negra 000.

Una vez transcurrido el tiempo asignado a cada grupo de los modelos experimentales, los animales fueron sacrificados para tomar la muestra del tejido del área de implantación. Ésto se realizó con la ayuda de una sutura que atravesó la piel, pasando por debajo de la muestra del material implantado para retraer el tejido y evitar lacerar la piel, se realizó una incisión ojival por debajo de la zona de implantación con un margen de 1 cm.

Las muestras se fijaron en una solución de formalina al 10% durante 24 horas y se procesaron en forma automatizada (deshidratación, clarificación, emulsificación y embebido en parafina) en el Histokinette. Se incluyeron en parafina y se cortaron a 3 $\mu$ m, tiñeron con hematoxilina y eosina (H&E), se montaron y observaron con el microscopio fotónico.

Para llevar a cabo el análisis cualitativo y cuantitativo de la respuesta inflamatoria, se contaron por campo de 40x las células de dicha respuesta, presentes en las muestras procesadas obtenidas en los diferentes intervalos de tiempo.

**b) Criterios para evaluar la respuesta biológica (A.D.A., 1979):<sup>5</sup>**

- Se debe observar la respuesta generada en el tejido entre el material de estudio y el tejido conjuntivo en busca de necrosis o inflamación.
- La inflamación se valorará por su intensidad y la extensión abarcada, y se deberán observar los cambios que pueda reportar el material.
- La severidad de la respuesta inflamatoria se debe basar en el número, tipo y localización de las células inflamatorias.

**Tabla 4. Parámetros para establecer el grado de respuesta inflamatoria (Goodman, 1990):**

TIPO DE INFLAMACIÓN	OBSERVACIONES
Inflamación leve	Se observa infiltrado inflamatorio crónico escaso diseminado.
Inflamación moderada	Predomina un infiltrado inflamatorio crónico con distribución focal.
Inflamación severa	La totalidad del tejido se encuentra reemplazado por infiltrado inflamatorio.
Inflamación crónica	Reacción predominantemente proliferativa, predominan leucocitos, principalmente macrófagos, linfocitos y células plasmáticas.
Inflamación granulomatosa	Reacción de tipo crónico con predominio de células gigantes multinucleadas a cuerpo extraño.

### c) Análisis Estadístico

En este estudio, por cada uno de los 20 especímenes se tomaron dos muestras de tejido. Por cada laminilla se realizó la cuantificación a doble ciego de cada tipo celular presente en la respuesta inflamatoria de cada espécimen con un aumento de 40x. Después se calculó el número promedio de células por muestra.

Los datos obtenidos son una muestra representativa de la respuesta observada durante las cuatro semanas en los diferentes grupos de estudio.

**Tabla 5. Distribución de grupos por tiempo y número de especímenes.**

GRUPO	TIEMPO	TAMAÑO DEL GRUPO
1	7 días	5 especímenes
2	15 días	5 especímenes
3	21 días	5 especímenes
4	30 días	5 especímenes

Las células consideradas fueron linfocitos, macrófagos, células plasmáticas, células gigantes multinucleadas (CGMN) y basófilos.

Cada grupo fue comparado en función del tiempo (semanas) y contra los otros grupos. Las pruebas realizadas fueron comparaciones de varianzas, pruebas F de una cola para verificar los supuestos de varianzas homogéneas, pruebas t para comparar los promedios y pruebas de Chi cuadrada para comparar proporciones.

Se realizó un análisis exploratorio de los datos utilizando gráficas de caja y brazos (box plots) para comparar las distribuciones de cada tipo célula con el tiempo (Gráficas 1-5). También se realizó una comparación de los promedios por laminilla de los grupos de estudio respecto al tiempo y su evolución.

TESIS CON  
FALTA DE ORIGEN

Las células consideradas fueron linfocitos, macrófagos, células plasmáticas, células gigantes multinucleadas (CGMN) y basófilos.

Cada grupo fue comparado en función del tiempo (semanas) y contra los otros grupos. Las pruebas realizadas fueron comparaciones de varianzas, pruebas F de una cola para verificar los supuestos de varianzas homogéneas, pruebas t para comparar los promedios y pruebas de Chi cuadrada para comparar proporciones.

Se realizó un análisis exploratorio de los datos utilizando gráficas de caja y brazos (box plots) para comparar las distribuciones de cada tipo célula con el tiempo (Gráficas 1-5). También se realizó una comparación de los promedios por laminilla de los grupos de estudio respecto al tiempo y su evolución.

#### IV. RESULTADOS

La respuesta inflamatoria que se observó tanto en el grupo A (alginato convencional) como en el grupo B (alginato con clorhexidina) fue del tipo crónica moderada. La única diferencia entre el proceso inflamatorio del grupo A y el B, fue la presencia de una reacción alérgica severa del tipo IV o de hipersensibilidad tardía, que el grupo B mostró en la segunda semana del experimento. Para la tercer semana esta reacción fue disminuyendo hasta alcanzar un nivel leve en la cuarta semana. El material implantado ocasionó por si solo una respuesta celular a cuerpo extraño. La respuesta inflamatoria crónica moderada fue disminuyendo y el material fue rechazado en forma natural por el organismo, expulsándolo o encapsulándolo (Figs. 5 y 6).

A una semana de la fecha de implantación del material se observó en el grupo I A un severo infiltrado de linfocitos y células plasmáticas, abundante cantidad de macrófagos y moderada cantidad de Células Gigantes Multinucleadas (CGMN). El material se observó encapsulado y rodeado por una intensa cantidad de leucocitos polimorfonucleares neutrófilos, se observó fibrina y neoformación vascular (Fig. 7). En el grupo I B se encontró un infiltrado moderado de linfocitos y células plasmáticas, una abundante cantidad de macrófagos y escasas CGMN. Se observó una intensa cantidad de leucocitos polimorfonucleares neutrófilos, zonas hemorrágicas de moderado a severo, fibrina y neoformación vascular (Fig. 8).

A la segunda semana en el grupo II A, la cantidad de leucocitos polimorfonucleares neutrófilos disminuyó y la neoformación vascular aumentó. Se encontraron áreas focales de linfocitos y células plasmáticas (Fig. 9). En el grupo II B se hizo evidente la formación de una cápsula de tejido conjuntivo circundando el material implantado, en algunos especímenes se encontró una abundante cantidad de leucocitos polimorfonucleares neutrófilos, mientras que en otros hubo una disminución de leucocitos polimorfonucleares neutrófilos (severa a moderada), la hemorragia fue de leve a moderada, hubo un aumento en la vascularidad y el

estroma que se formó era abundante y desorganizado. El nivel de linfocitos aumentó intensamente, las células plasmáticas se mantuvieron aparentemente constantes, la cantidad de macrófagos fue escasa, al igual que la de las CGMN. En esta etapa apareció una intensa cantidad de basófilos (Fig. 10).

Para la tercer semana en el grupo III A, el material encapsulado se encontraba rodeado por tejido conjuntivo fibroso denso, el tejido estaba bien organizado y vascularizado. En esta etapa predominaron los macrófagos y se formaron áreas focales de linfocitos y células plasmáticas, las CGMN se presentaron en escasa cantidad (Fig. 11). En el grupo III B, la cápsula estaba ya bien constituida y en el tejido se observaron fibras colágenas densas y fibrina inmediatamente por debajo del epitelio (en la zona de la incisión quirúrgica). El número de linfocitos disminuyó drásticamente, las células plasmáticas se mantuvieron en número similar al del grupo II B con tendencia a disminuir, los macrófagos y las células plasmáticas se presentaron de moderado a leve y los basófilos disminuyeron levemente, sin embargo sigue observándose una cantidad moderada de ellos (Fig. 12).

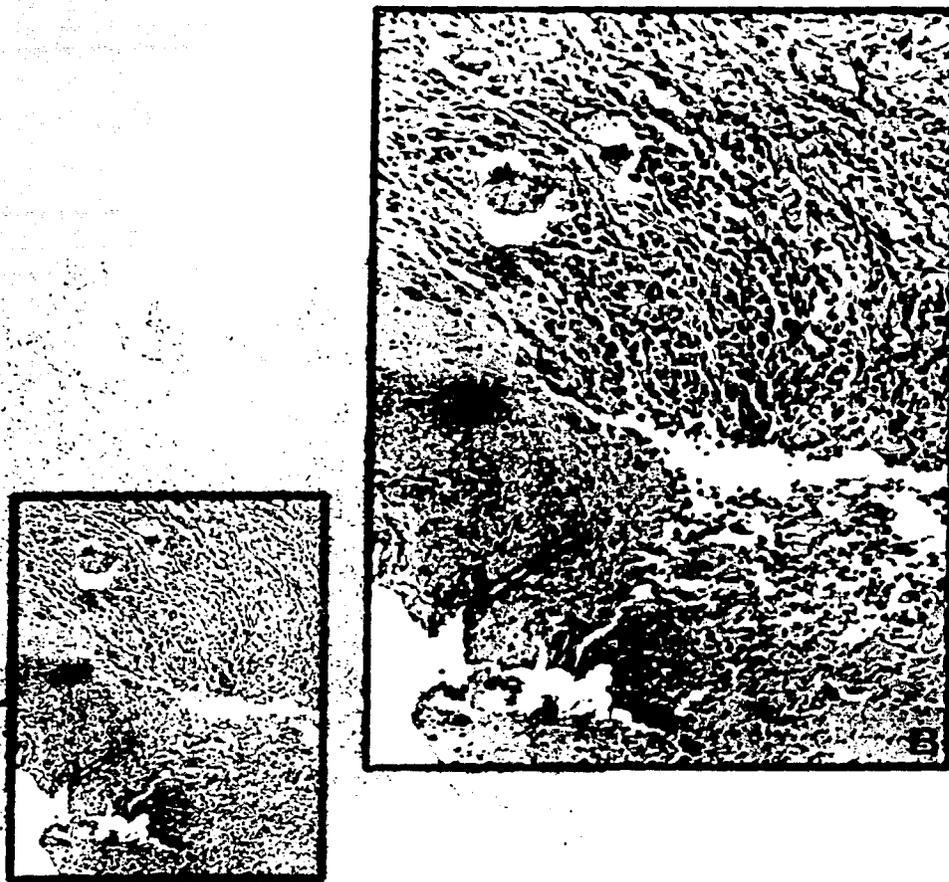
Para la cuarta semana en el grupo IV A el infiltrado linfocítico fue sustituido por una moderada cantidad de CGMN en los especímenes en donde el material continuaba encapsulado, en los especímenes en donde el material implantado fue expulsado el tejido siguió el curso de cicatrización normal (Fig. 13). En el grupo IV B, se observan algunos focos de leucocitos polimorfonucleares neutrófilos, zonas hemorrágicas leves, fibrina y colágena organizada. Se mantuvo un infiltrado linfoplasmocitario y macrofágico leve, escasa cantidad de CGMN y una moderada cantidad de basófilos con tendencia a disminuir (Fig. 14).



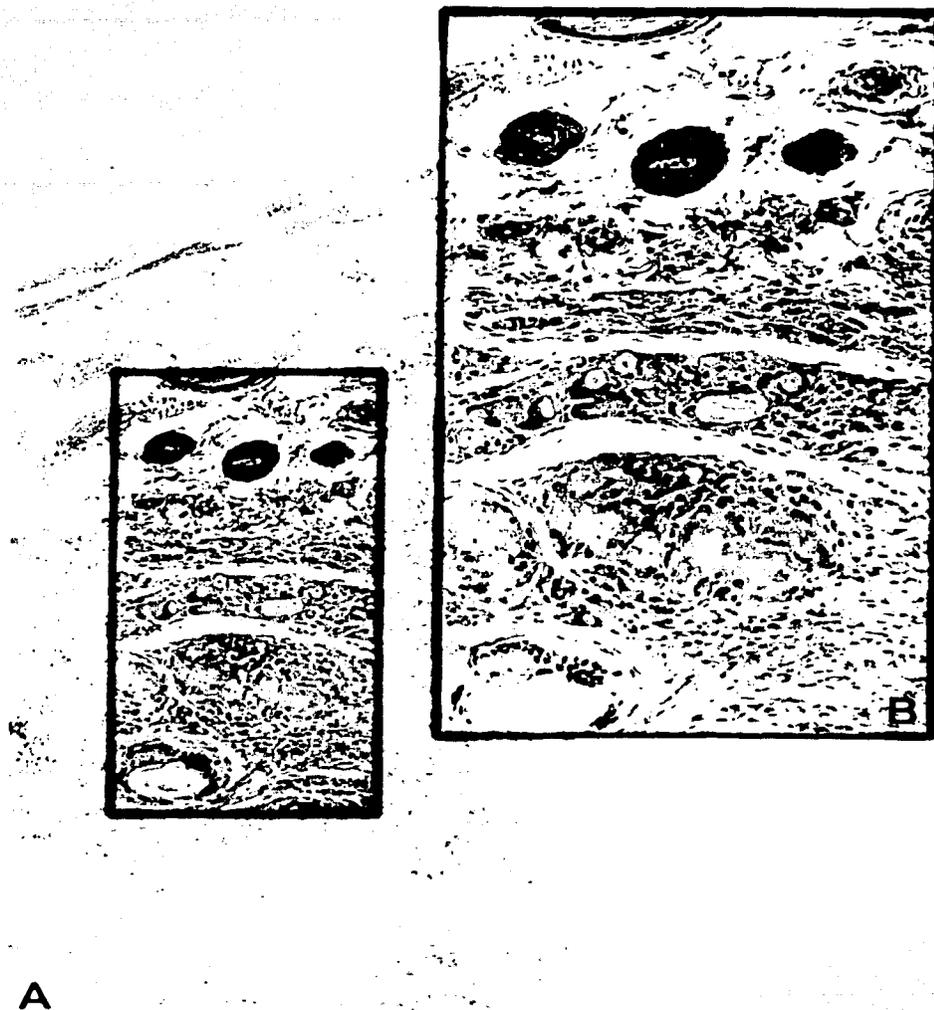
**Figura 5.** Material implantado que fue encapsulado y expulsado en forma natural por el organismo.



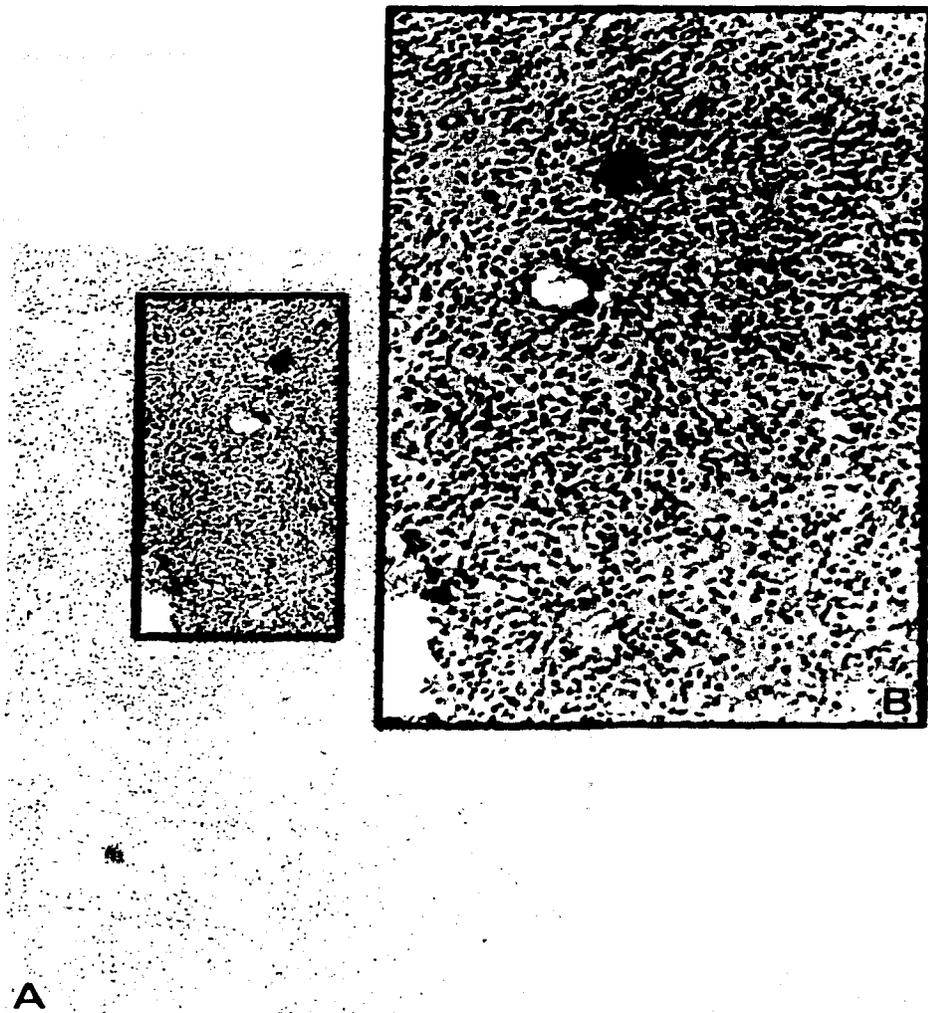
**Figura 6.** Proceso de cicatrización normal.

**A**

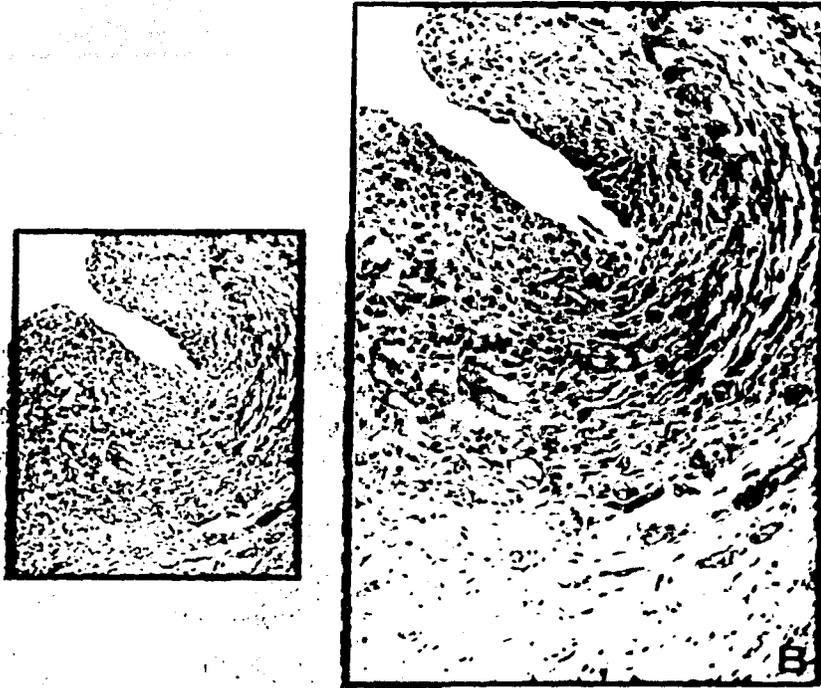
**Figura 7.** Grupo I A a 7 días. A) Fotomicrografía a 10x de un corte teñido con H/E en la que se observa la presencia de una cápsula, infiltrado linfoplasmocitario y leucocitos polimorfonucleares neutrófilos adyacentes al material implantado. B) Corte a 20x.



**Figura 8.** Grupo I B a 7 días. A) Corte teñido con H/E en donde se observan linfocitos y células plasmáticas, una abundante cantidad de macrófagos y escasas CGMN (10x). B) Acercamiento a 20x de las CGMN.

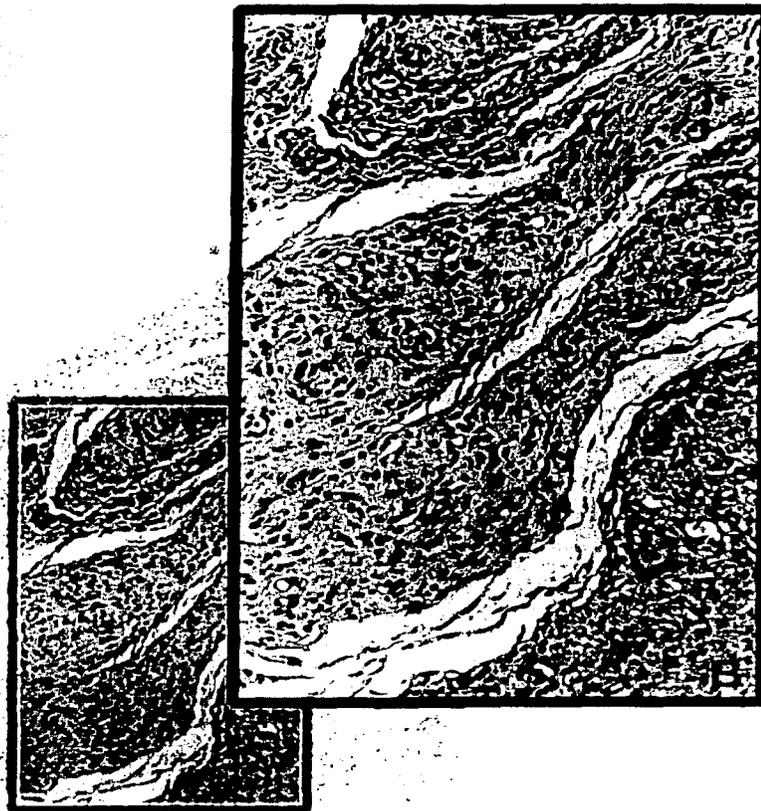


**Figura 9.** Grupo II A a 15 días. A) Corte histopatológico teñido con H/E en el cual se aprecia un infiltrado inflamatorio moderado, predominando linfocitos y células plasmáticas (10x). B) Acercamiento a 20x.



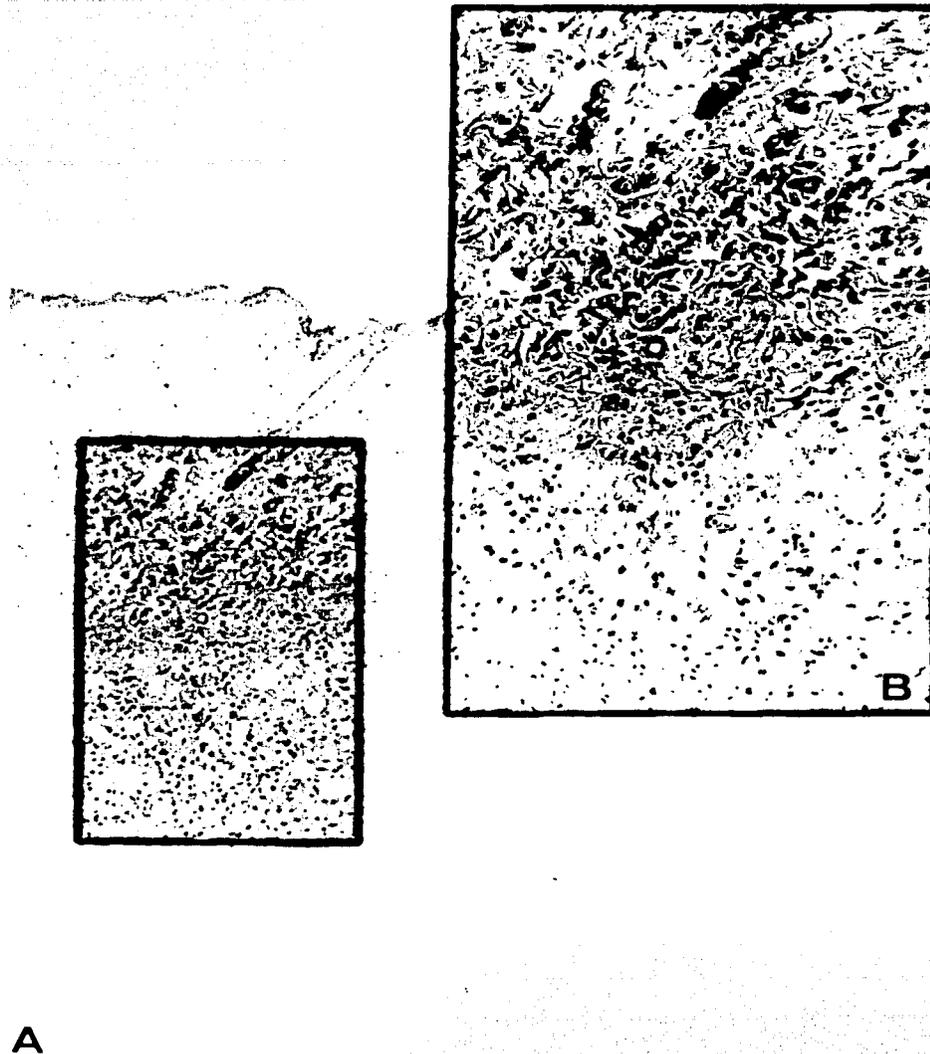
A

**Figura 10.** Grupo II B a 15 días. A) Muestra teñida con H/E vista a 10x en donde se hace evidente la formación de una cápsula, se observan linfocitos, células plasmáticas y escasa cantidad de macrófagos. B) Acercamiento a 20x de la cápsula.

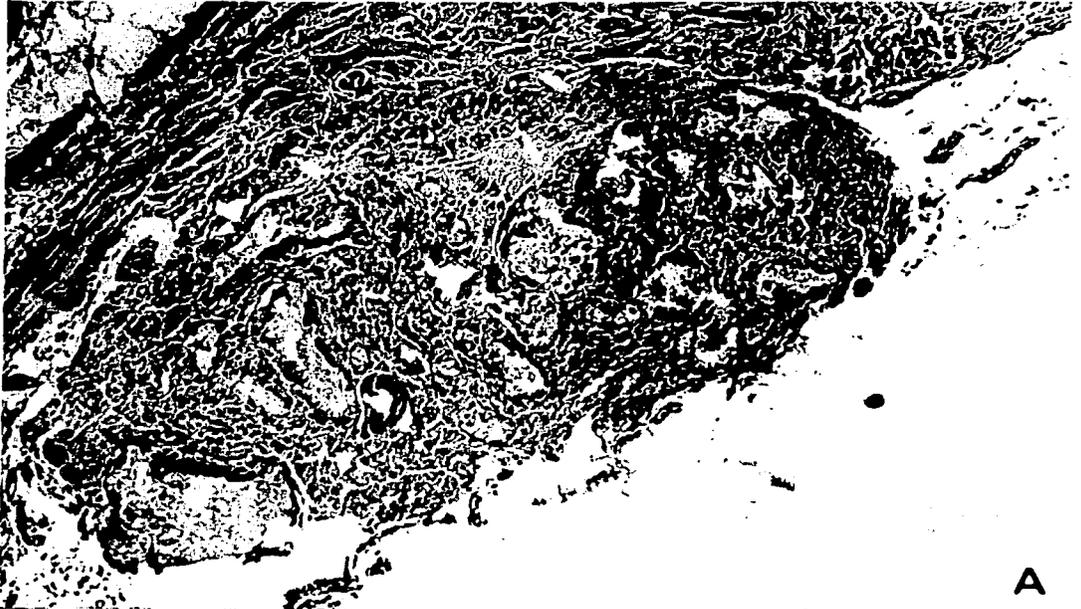


A

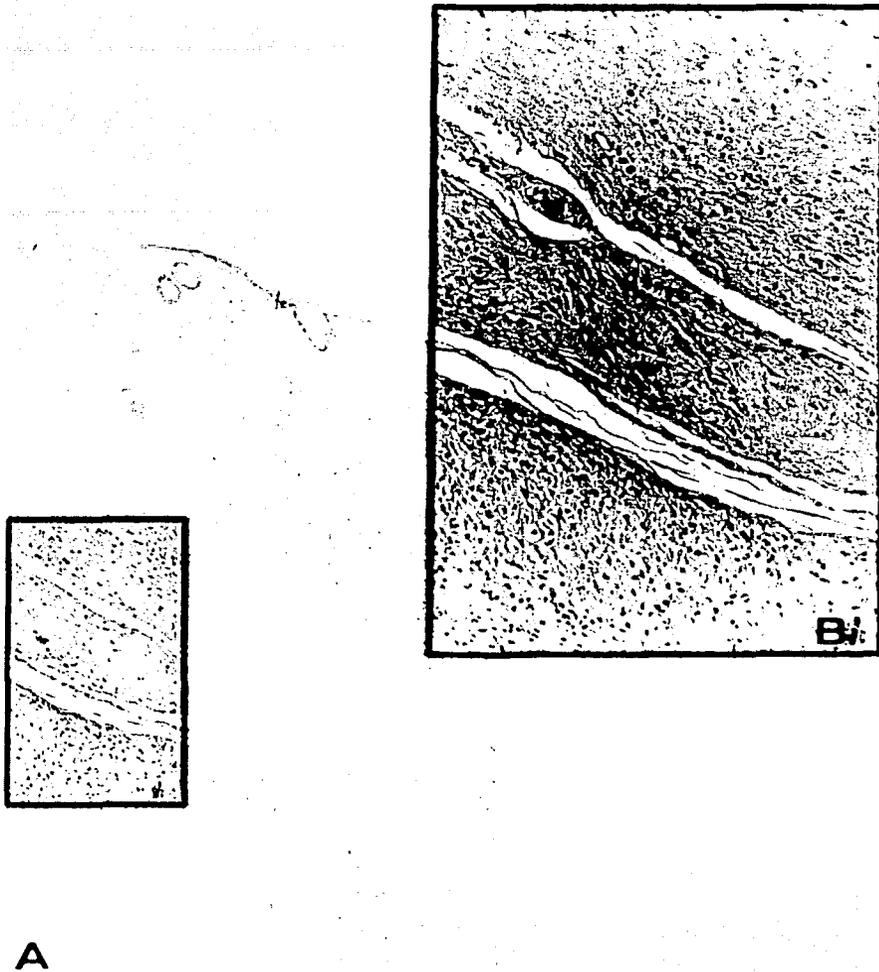
**Figura 11.** Grupo III A a 21 días. A) Fotomicrografía a 10x que muestra una disminución del infiltrado inflamatorio crónico y una reorganización del tejido. B) Acercamiento a 20x.



**Figura 12.** Grupo III B a 21 días. A) Corte histopatológico teñido con H/E en donde se observa que la respuesta inflamatoria es leve. B) Acercamiento de las fibras colágenas reorganizándose.



**Figura 13.** Grupo IV A a 30 días. A) Corte histopatológico teñido con H/E a 10x en donde se aprecia el proceso de cicatrización con moderado infiltrado inflamatorio difuso debido a la presencia de partículas del alginato que fueron encapsuladas.



**Figura 14.** Grupo IV B a 30 días. A) Fotomicrografía a 10x de una muestra teñida con H/E con un infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario y macrófagico leve. B) Acercamiento a 20x de la colágena organizada y las células inflamatorias.

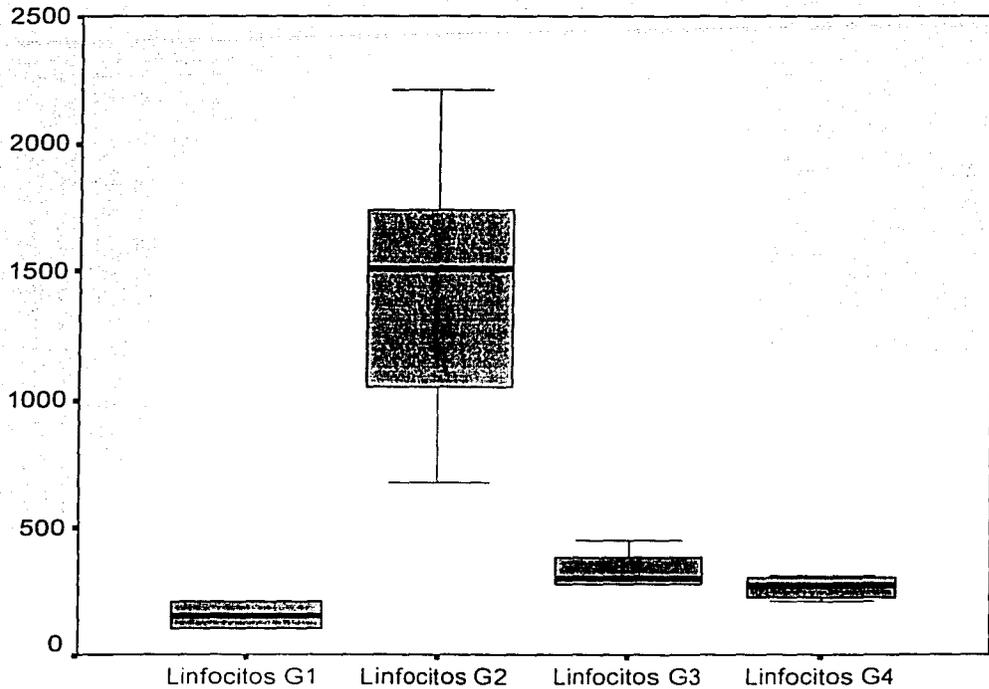
## V. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En este estudio se utilizaron pruebas unilaterales tanto para probar varianzas como promedios, las hipótesis nulas se plantearon para cada prueba dependiendo del valor que fuera mayor para poder verificar la cola correspondiente a cada una.

La significancia para todas las pruebas se utilizó al 5%, por lo que el nivel de confianza fue de 95%.

La significancia asintomática es el nivel de significancia basada en la distribución asintomática de una estadística de prueba. Típicamente se considera significativo un valor menor a 0.05.

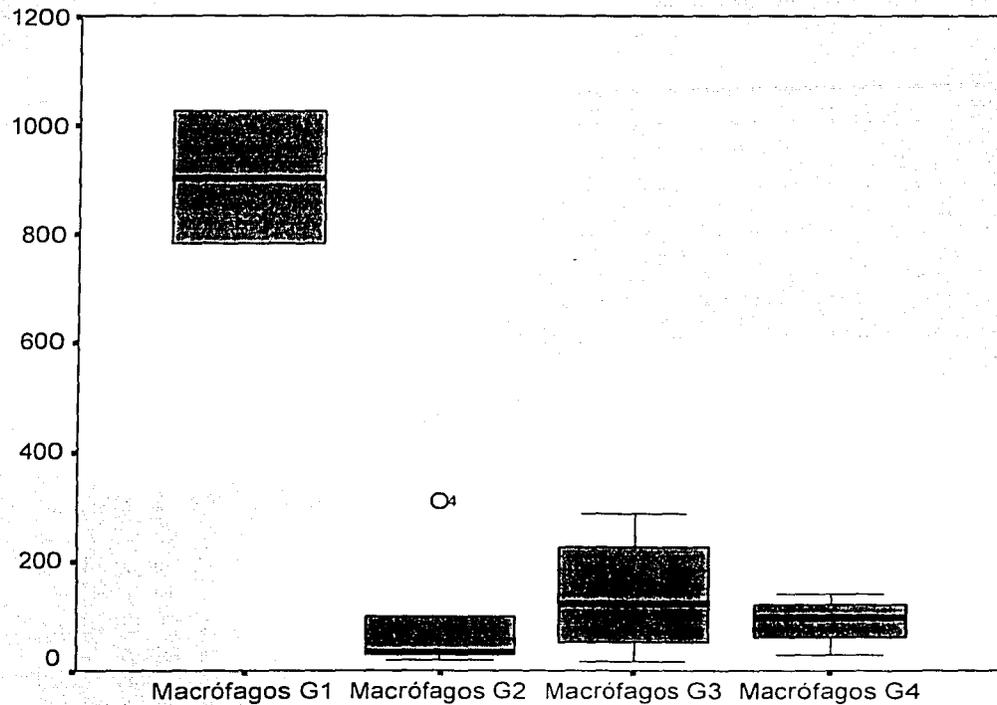
## LINFOCITOS



**Gráfica 1.** Los linfocitos se mantuvieron de leve a moderado durante la mayor parte del experimento, su número se disparó en la segunda semana, creando una respuesta inflamatoria crónica severa.

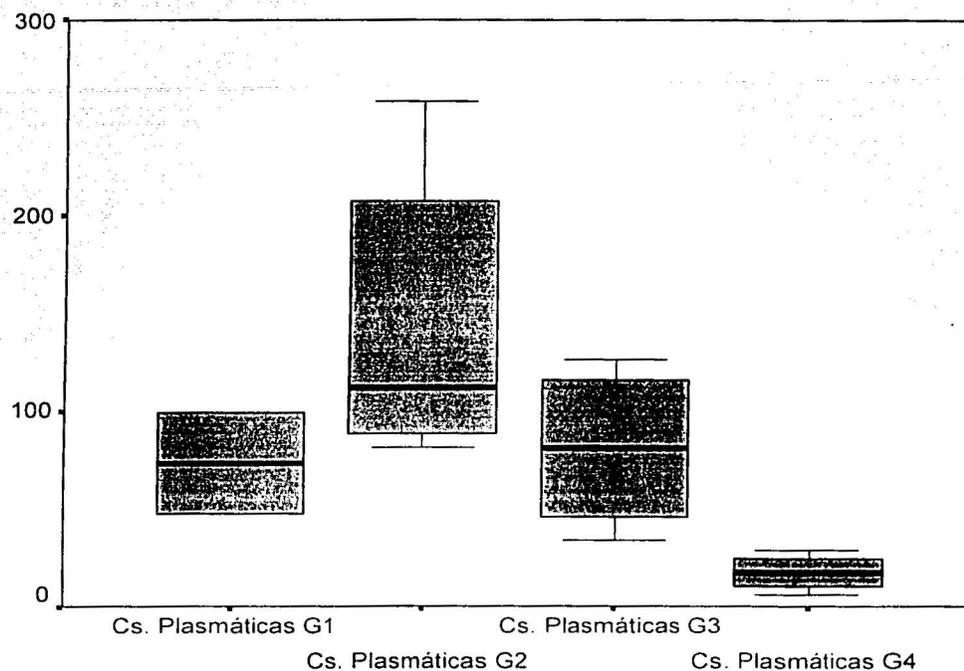
Gráfica en donde x= tipo de célula, y= cantidad de células.

## MACRÓFAGOS



**Gráfica 2.** Los macrófagos tienden a disminuir conforme transcurre el tiempo. Puede observarse que durante la primer semana se presentan en gran cantidad, los cual corrobora la presencia de un proceso inflamatorio crónico severo. Gráfica en donde x= tipo de célula, y= cantidad de células.

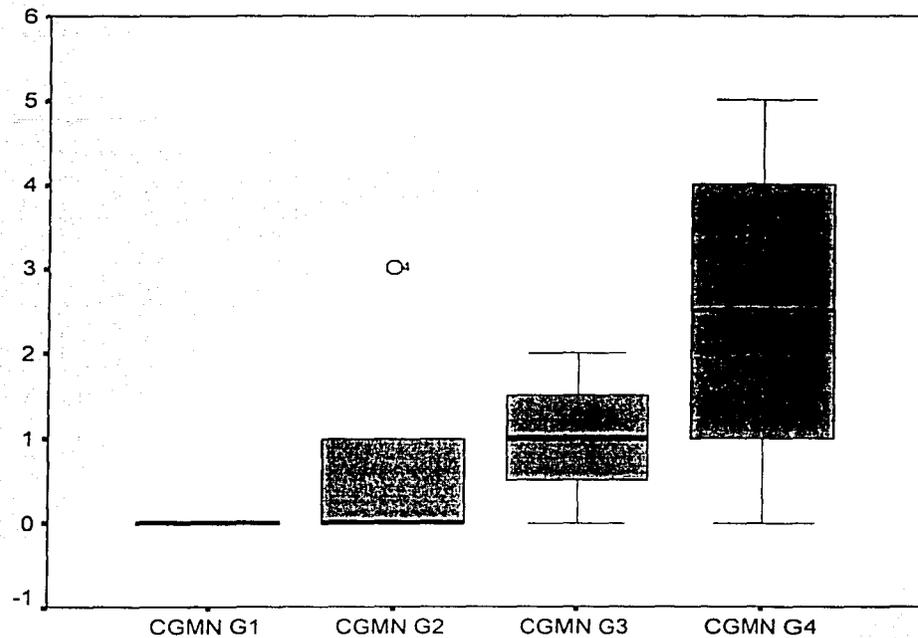
## CÉLULAS PLASMÁTICAS



**Gráfica 3.** Las células plasmáticas evidencian la presencia de una inflamación crónica con tendencia a disminuir. Su número se elevó en el momento en que el proceso inflamatorio fue más severo (segunda semana).

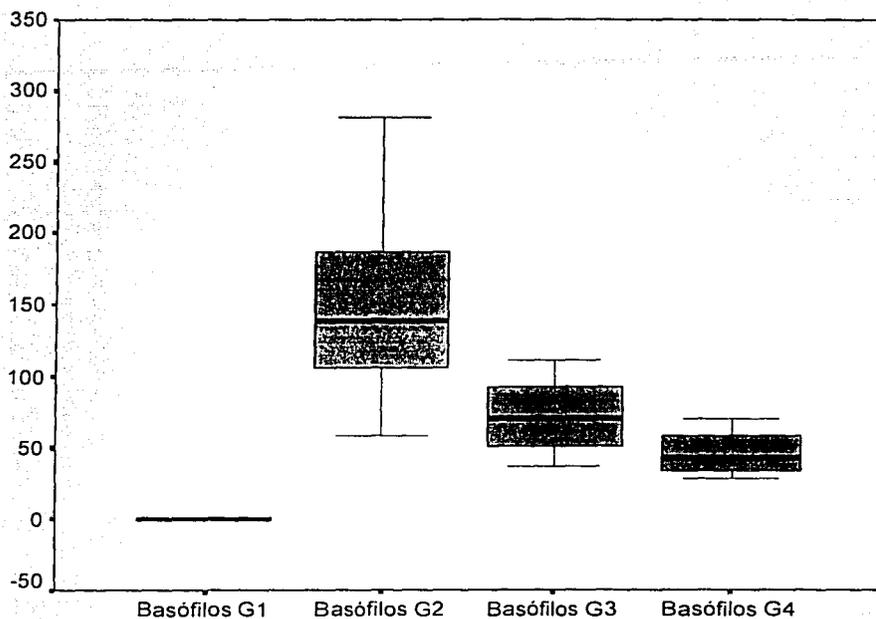
Gráfica en donde x= tipo de célula, y= cantidad de células.

## CÉLULAS GIGANTES MULTINUCLEADAS



**Gráfica 4.** Las CGMN aparecen hasta la segunda semana y aumentan en número al pasar el tiempo. La reacción a cuerpo extraño es evidente.  
Gráfica en donde x= tipo de célula, y= cantidad de células.

## BASÓFILOS



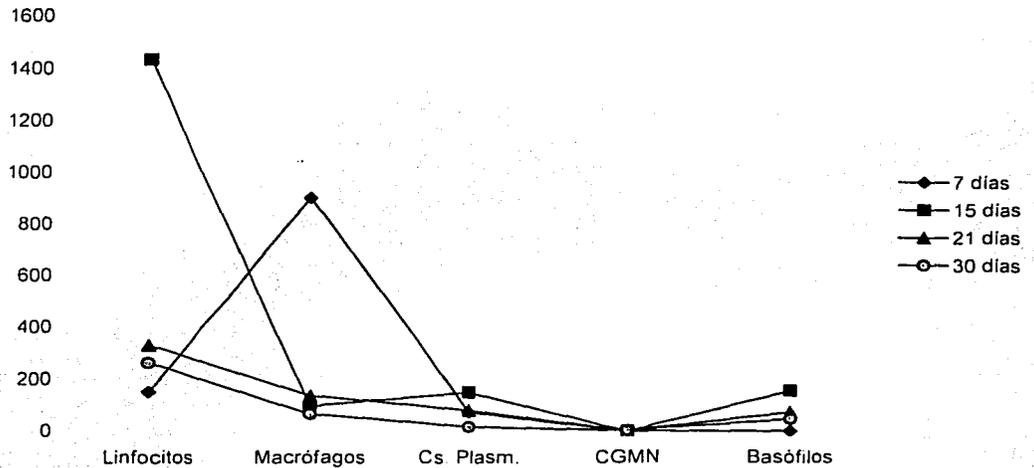
**Gráfica 5.** Los basófilos aparecen a partir de la segunda semana y su número disminuye conforme transcurre el tiempo. Su aparición indica la presencia de una respuesta alérgica de hipersensibilidad tardía (tipo IV) que en un principio fue muy severa y que fue disminuyendo hasta convertirse en una respuesta leve.

Gráfica en donde x= tipo de célula, y= cantidad de células.

Tabla 6. Promedios por grupo

Grupo	Linfocitos	Macrófagos	Células Plasmáticas	CGMN	Basófilos
7 días	153.5	903.5	74	0	0
15 días	1437.8	98.4	149.6	0.4	154.4
21 días	331.5	138.75	80.75	1	72.5
30 días	264	67	17.5	2.5	46.25

## COMPARACIÓN DE LOS PROMEDIOS POR SEMANA

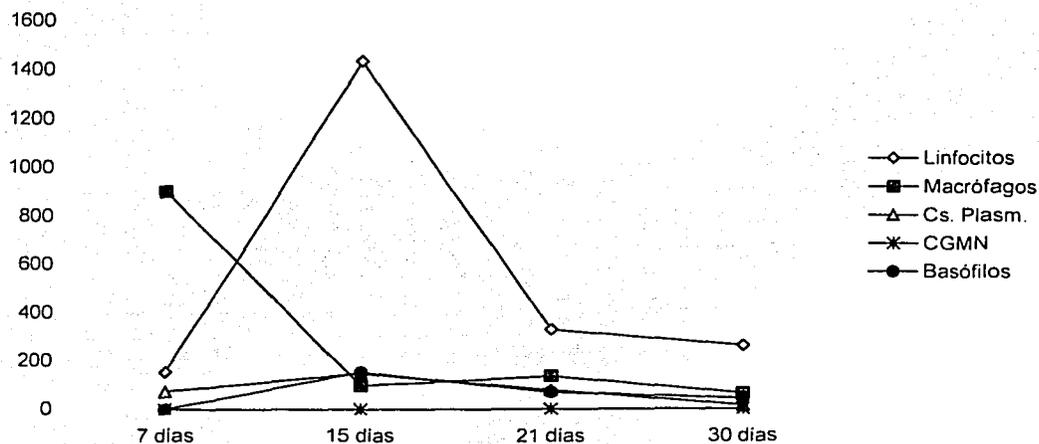


Gráfica 6. En la gráfica puede observarse el comportamiento de la respuesta inflamatoria en los diferentes intervalos de tiempo.

Tabla 7. Promedio por grupo

Grupo	Linfocitos	Macrófagos	Células Plasmáticas	CGMN	Basófilos
7 días	153.5	903.5	74	0	0
15 días	1437.8	98.4	149.6	0.4	154.4
21 días	331.5	138.75	80.75	1	72.5
30 días	264	67	17.5	2.5	46.25

## EVOLUCIÓN DE LOS PROMEDIOS



**Gráfica 7.** El patrón de disminución que presentan los grupos de estudio se observa a partir de la segunda semana y se mantiene constante hasta el final del experimento. En la segunda semana los linfocitos aumentan drásticamente; este es el momento en donde la respuesta inflamatoria fue mas severa.

## 1. Interpretación de Resultados

**Linfocitos:** En la gráfica 1 se observa en la primer semana una presencia moderada de linfocitos, para la segunda semana el número de linfocitos aumenta intensamente y a partir de la tercer semana su número vuelve a disminuir.

La prueba t demostró que al comparar el número de células del grupo 1 con las del grupo 2 hay diferencia estadísticamente significativa al igual que al comparar el grupo 2 y el 3 y el 2 con el 4. En la comparación de resultados entre los grupos 3 y 4 no se observan diferencias significativas (Tablas 10-15).

**Macrófagos:** Del análisis exploratorio se observa una abundante presencia de macrófagos durante la primer semana, a partir de la segunda semana muestran una clara tendencia a disminuir (Gráfica 2).

La prueba t demostró que al comparar el número de células del grupo 1 con las de los grupos posteriores se puede observar una diferencia estadísticamente significativa, mientras que en las comparaciones del grupo 2 con el 3 y 4, y del 3 con el 4 no se observan diferencias estadísticamente significativas (Tablas 16-21).

**Células Plasmáticas:** En la gráfica 3 del análisis descriptivo las células plasmáticas aparecen desde la primer semana, aumentan intensamente en la segunda semana, comienzan a disminuir en la tercer semana y para la cuarta semana su número es escaso.

La prueba t demostró que al comparar el número de células del grupo 2 con las del 4 se observa una diferencia estadísticamente significativa, mientras que al comparar los grupos 1 con el 2 y el 3, no se observan cambios significativos (Tablas 22-27).

**Células Gigantes Multinucleadas:** En base al análisis exploratorio, las CGMN aparecen en la segunda semana del experimento y su número aumenta

paulatinamente conforme pasa el tiempo (Gráfica 4).

La prueba t indica que la presencia de CGMN se vuelve significativa hasta la cuarta semana. Se observa una diferencia estadísticamente significativa al comparar el número de células de los grupos 1, 2 y 3 con las del 4 (Tablas 28-33).

**Basófilos:** De acuerdo al análisis exploratorio, los basófilos aparecen por primera vez en gran número durante la segunda semana, en la tercera y cuarta semana su número muestra una tendencia a disminuir.

La prueba t demostró que el número de células muestra una diferencia estadísticamente significativa al comparar los grupos de estudio con el grupo 2 (15 días), mientras que en la comparación de los últimos grupos (3 y 4) el cambio no es significativo, ya que su número se mantuvo relativamente estable (Tablas 33-38).

### **Resultados de Análisis de Varianza**

Observando los resultados de la prueba ANOVA y las pruebas robustas, se rechaza la hipótesis nula de igualdad de medias en los casos de todos los grupos de estudio, excepto en el caso de las CGMN, con al menos una significancia de 95%. Esto indica que hay un cambio significativo entre las medias de los diferentes grupos (1, 2, 3 y 4) para linfocitos, macrófagos, células plasmáticas y basófilos. En el caso de las CGMN, el cambio entre las medias no es estadísticamente significativo.

De manera general los linfocitos se presentaron en abundante cantidad en la segunda semana (15 días) y fueron disminuyendo posteriormente. Los macrófagos se presentaron en abundante cantidad durante la primer semana (7 días) con tendencia a disminuir. Las células plasmáticas fueron abundantes en la segunda semana del experimento (15 días) y disminuyeron paulatinamente. Las CGMN aparecieron a partir de la segunda semana (15 días) y fueron aumentando

al pasar el tiempo. Los basófilos aparecieron abundantemente en la segunda semana (15 días), su número disminuyó con el tiempo.

## VI. DISCUSIÓN

Cuando un agente químico es considerado para su uso terapéutico y preventivo en algunas enfermedades, las ventajas esperadas deben ser medidas en contraste con sus desventajas y sus riesgos.<sup>65</sup>

En este estudio se trabajó con dos materiales que son altamente biotolerados por el organismo, por un lado el alginato es considerado como un biomaterial y por el otro la clorhexidina es una de las pocas sustancias que poseen una inusual atoxicidad. A pesar de que los efectos adversos no son muy comunes, es necesario estar conscientes de que en algunas personas pueden observarse reacciones de hipersensibilidad, sobretodo del tipo I y IV.

Ambos materiales produjeron una respuesta inflamatoria crónica. En el caso del material de alginato convencional Novel Print, la respuesta fue crónica moderada en los primeros días, conforme fue evolucionando el experimento la reacción inflamatoria disminuyó y el material fue rechazado en forma natural por el organismo expulsándolo o encapsulándolo en algunos especímenes, mientras que en otros especímenes cicatrizó de manera normal. En el caso del alginato Novel Print Cyan, la reacción inflamatoria que se produjo en los primeros 7 días fue del tipo crónico moderado, en la segunda semana aparecieron una gran cantidad de basófilos y la reacción de hipersensibilidad tardía se hizo evidente. En ese momento la reacción fue crónica severa. A partir de la tercer semana la reacción inflamatoria disminuyó y el material fue rechazado en forma natural por el organismo.

Algunos estudios demuestran que la baja toxicidad de la clorhexidina se debe a que se enlaza fuertemente con la piel y las mucosas y difícilmente es absorbida por ellas, por lo que rara vez se llegan a observar reacciones adversas.<sup>41</sup> Sin embargo otros estudios demuestran que si la clorhexidina entra en contacto con el tejido conjuntivo, pueden observarse efectos citotóxicos en las células, aun

tratándose de concentraciones muy bajas.<sup>61,67,69</sup> Hella *et al.* observaron que cilindros de teflón con clorhexidina implantados en el tejido conjuntivo de ratas, ocasiona que aumente el exudado y las células inflamatorias.<sup>67</sup> En este estudio no se utilizaron cilindros de teflón, sin embargo la respuesta observada fue muy similar a la que se reportó en los estudios de Hella, ya que el material implantado en el tejido conjuntivo de los animales experimentales provocó un aumento del exudado inflamatorio, sobretodo en la segunda semana del experimento. Conociendo como actúa la clorhexidina en el tejido conjuntivo, corroboramos que la razón por la cual se obtuvo una respuesta inflamatoria inicial moderada, que posteriormente se convirtió en una respuesta severa fue que la clorhexidina estuvo en contacto con el tejido conjuntivo. Basándonos en este resultado se deduce que el riesgo de obtener una reacción inflamatoria es mucho más alta, si el tejido tiene alguna laceración, úlcera, si se llevó a cabo algún procedimiento quirúrgico o alguna extracción previo a la toma de impresión.

En realidad, la mayoría de los reportes relacionados con los efectos adversos en la cavidad bucal ocasionados por la aplicación de clorhexidina contenida en enjuagues bucales, dentífricos o geles demuestran que el único efecto adverso es la tinción de los dientes y de las restauraciones (especialmente las antiguas y porosas), siendo la tinción de menor grado de extensión al utilizar los dentífricos y los geles. Algunos pacientes se quejan del mal sabor y de ciertas alteraciones en el gusto. Síntomas subjetivos como sensación de ardor, sensación de resequeidad y dolor, se reportaron con muy baja frecuencia.<sup>73</sup> Todos los efectos adversos mencionados anteriormente están relacionados únicamente con la capa externa de la mucosa bucal (el epitelio) y con las superficies dentales. Existen también casos, en donde se observaron reacciones adversas más severas. Generalmente en esos casos, el epitelio tenía superficies dañadas y exposición del tejido conjuntivo.<sup>51</sup>

Los alginatos son considerados materiales totalmente biocompatibles, sin embargo poseen una limitante, no son biodegradables.<sup>30</sup> La toma de impresiones

con alginato es un procedimiento que por lo general no es riesgoso. Como el material utilizado es altamente biotolerado, difícilmente se observan reacciones adversas. Sin embargo el hecho de que el alginato no es biodegradable puede llegar a ocasionar problemas, sobretodo en el caso de que el epitelio por alguna razón no esté intacto y restos del material se queden atrapados en los tejidos bucales. En el caso de un alginato convencional la respuesta que se observaría sería una reacción típica a cuerpo extraño, en donde el material terminaría siendo encapsulado y expulsado de manera natural por el organismo, como se demostró en este experimento. En el caso del alginato impregnado con clorhexidina la respuesta que se obtendría del organismo sería una combinación entre la respuesta típica ocasionada por el alginato (a cuerpo extraño) y la provocada por la clorhexidina (de hipersensibilidad tardía tipo IV), como se demostró en este estudio. El problema se agrava si conjuntamos el modo de acción de la clorhexidina que generalmente se libera en un periodo de 8 a 12 horas y todavía a las 24 horas pueden encontrarse concentraciones muy bajas en los sitios de retención,<sup>35,41,43-45</sup> su toxicidad en el tejido conjuntivo y el hecho de que el alginato no es biodegradable; es evidente que el riesgo de observar una reacción de hipersensibilidad tardía severa es mucho mayor. Por esta razón en los pacientes previamente sensibilizados a la clorhexidina, con zonas expuestas de tejido conjuntivo y en los que se requiera tomar impresiones, es necesario cuidar que no se queden restos del material incluidos en el tejido subcutáneo.

A pesar de realizar exhaustivas pruebas de biocompatibilidad de los materiales dentales, en una gran variedad de especies animales, siempre quedará la posibilidad de que el ser humano reaccione adversamente a un nuevo producto. Esto puede ser el resultado de diferentes metabolismos, características de absorción o diferente grado de sensibilidad. Por lo que el investigador solamente puede proveer una conjetura bastante certera y no un informe inequívoco de la seguridad del producto. La evaluación completa de un nuevo producto únicamente puede obtenerse en base a la experiencia a largo plazo de su uso en el ser humano.<sup>32</sup>

Es importante tomar en cuenta que el material de alginato Novel Print Cyan puede llegar a provocar una reacción de hipersensibilidad tardía tipo IV, sobretodo si el material entra en contacto con el tejido subcutáneo (la clorhexidina ha mostrado ser tóxica en este tipo de células.), si además consideramos que el alginato no es biodegradable, entonces la posibilidad de que alguna partícula se quede atrapada en el tejido subcutáneo, en el caso de que el epitelio no esté intacto, es mayor. De esta manera el riesgo de encontrar una reacción del tipo inflamatorio como la que se observó en esta investigación también aumenta.

El objetivo de utilizar un alginato impregnado con clorhexidina es desinfectar la impresión y de esta manera evitar la contaminación cruzada. Mientras el epitelio con el que entre en contacto esté intacto, el riesgo de observar reacciones alérgicas en los pacientes es muy bajo. Sin embargo, como pudo observarse en este estudio, un desinfectante que entre en contacto con el tejido subcutáneo puede ocasionar respuestas inflamatorias severas. Para evitar el contacto de la mucosa bucal con los desinfectantes se han buscado otros métodos que permitan desinfectar las impresiones sin ocasionar efectos adversos en el paciente, uno de ellos es la utilización de yesos impregnados con desinfectantes.<sup>74,75,19</sup> Esta alternativa representa una opción más segura en pacientes con sensibilidad a la clorhexidina.

Este estudio nos permitió determinar que el alginato con clorhexidina a pesar de tener baja toxicidad puede llegar a ocasionar reacciones adversas en los pacientes, sobretodo al entrar en contacto con el tejido conjuntivo; por lo que es recomendable que se tomen las precauciones necesarias al momento de su utilización.

## VII. CONCLUSIONES

El material implantado, específicamente el alginato ocasiona por sí solo una respuesta a cuerpo extraño, mientras que la clorhexidina ocasiona por sí sola una respuesta alérgica de hipersensibilidad tardía del tipo IV.

Se considera que el alginato Novel Print Cyan es un material biotolerable, que sin embargo no está exento de ocasionar reacciones alérgicas en pacientes que previamente tuvieron contacto con algún tipo de clorhexidina, por lo que se deberán extremar precauciones en dichos casos.

Se recomienda la colocación de una etiqueta en el envase del producto Novel Print Cyan, especificando que si se toman impresiones en tejido con solución de continuidad en el epitelio y éste entra en contacto con la herida, es posible que se presente una reacción local de hipersensibilidad tipo IV.

## REFERENCIAS

1. Vega del Barrio JM: *Fundamentos Clínicos, Biológicos y Físico-Químicos: Materiales en Odontología*, Editorial Ausares Médico-Dentales, España, 1996: 67-93.
2. Zelikoff JT: Immunotoxicity of Medical Devices. *Fundam Appl Toxicol* 36: 1-14, 1997.
3. Anusavice KJ: *Ciencia de los Materiales Dentales de Phillips*, 10<sup>ma</sup> ed. McGraw-Hill Interamericana, México, 1998: 116-19,128-41
4. Hensten-Pettersen A: Skin and mucosal reactions associated with Dental Materials. *Eur J Oral Sci* 1998: 106(2): 707-12.
5. Certification Programs of the Council on Dental Materials, Instruments and Equipments, ANSI/ADA Specifications. Document No. 41 for Recommended Standard Practices for Biological Evaluation of Dental Materials, 1979: 334-404.
6. Asociación Española de Normalización y Certificación. Norma UNE-EN ISO 7405: Evaluación preclínica de la biocompatibilidad de los productos sanitarios usados en odontología. AENOR, Madrid, España, 1998: 433-57.
7. Gordon LB: *Lo esencial de la Inmunología*, 2<sup>da</sup> ed. Editorial El Manual Moderno, México, 1975:1-26.
8. Bellantini AJ: *Inmunología*, 3<sup>a</sup> ed. Nueva Editorial Interamericana, México, 1986: 1-16, 231-40.
9. Oppenheim JJ, Potter M: *Cellular Functions in Immunity and Inflammation*, Elsevier North Holland, Inc. U.S.A. 1981: 1-28.
10. Margini AR: *Inmunología e Inmunoquímica. Fundamentos*, 4<sup>a</sup> ed. Editorial Médica Panamericana, Argentina, 1989: 325-38.
11. Paul EW: *Fundamental Immunology*, 2<sup>nd</sup>. ed. Raven Press, U.S.A. 1989: 721-33.
12. Ham AW: *Tratado de Histología*, 8<sup>va</sup> ed. Nueva Editorial Interamericana, México, 1984: 270-89, 309-35, 361-74, 393-4.
13. Rubin E, Farber LJ: *Essential Pathology*, J.B. Lippincott Company, U.S.A. 1990: 21-39, 59-70.
14. Boggs DR, Winkelstein A: *El Leucocito*, Editorial El Manual Moderno, México, 1985: 1-17, 34-103.
15. Roitt I: *Inmunología Fundamentos*, 9<sup>na</sup> ed. Editorial Médica Panamericana, 1998: 3-21.
16. Faucett WD: *Tratado de Histología: Bloom/Faucett*, 11<sup>va</sup> ed. Interamericana McGraw-Hill, España, 1987: 137-73.
17. Benacerraf B, Unanue RE: *Inmunología*, 2<sup>da</sup> ed. Editorial Médica Panamericana,

- Argentina, 1986: 11-19
18. Strober W, James SP: The mucosal immune system. *Basic and Clinical Immunology*, 8<sup>th</sup> Ed. Appleton and Lange, U.S.A. 1994: 541-551.
  19. Craig GR, O'Brien JW, Powers MJ: *Dental Materials: Properties and Manipulation*, 4<sup>th</sup> Ed. The C.V. Mosby Company, U.S.A., 1987: 166-77.
  20. Villegas MR: *Materiales de Impresión*, Editorial Diógenes, México, 1976: 94-125.
  21. Flanagan AD, Palenik JC, Setcos CJ, Miller HC: Antimicrobial activities of dental impression materials. *Dent Mater* 1998: **14(6)**: 399-404.
  22. Rice DC, Dykstra AM, Gier ER: Bacterial contamination in irreversible hydrocolloid impression material and gingival retraction cord. *J Prosthet Dent* 1991: **65(4)**: 496-9.
  23. Rice DC, Dykstra AM, Gier ER, Cobb MC: Microbial contamination in four brands of irreversible hydrocolloid impression materials. *J Prosthet Dent* 1991: **65(3)**: 419-23.
  24. Kaplan AB, Goldstein RG, Boylan R: Effectiveness of a professional formula disinfectant for irreversible hydrocolloid. *J Prosthet Dent* 1994: **71 (6)**: 603-6.
  25. McCabe JF: Dental Materials: 1997 literature review. *J Dent* 1999: **27**: 401-35.
  26. Cserna A, Crist LR, Adams B, Dunning GD: Irreversible hydrocolloids: A comparison of antimicrobial efficacy. *J Prosthet Dent* 1994: **71(4)**: 387-9.
  27. Rice DC, Dykstra AM, Feil HP: Microbial contamination in two antimicrobial and four control brands of alginate impression material. *J Prosthet Dent* 1992: **67(4)**: 535-40.
  28. Certification Programs of the Council on Dental Materials, Instruments and Equipments, ANSI/ADA Specifications. Specification No. 18 for Alginate Impression Material, 1979: 151-5
  29. Thomas A, Harding KG, Moore K: Alginates from wound dressings activate human macrophages to secrete tumour necrosis factor-alfa." *Biomaterials* 1999: **21**: 1797-802.
  30. Bohadir KH, Hausman DS, Mooney DJ: Synthesis of cross linked poly(aldehyde guluronate) hydrogels. *Polymer* 1999: **40**: 3575-84.
  31. Litter M: *Farmacología: Experimental y Clínica*, 7<sup>ma</sup>-ed. El Ateneo Editorial, Argentina, 1988: 1399-402, 1411-22.
  32. Foulkes DM: Some toxicological observations on chlorhexidine. *J Periodont Res* 1973: **8,Suppl 12**: 55-7.
  33. Russell AD, Russell NJ: Biocides: Activity, action and resistance. Society of General Microbiology, Symposium 53: Fifty years of antimicrobials: past perspectives and future trends. Cambridge University Press, 1995.
  34. Twetman S, Peterson LG: Comparison of the efficacy of three different chlorhexidine

- preparations in decreasing the level of Mutans Streptococci in saliva and interdental plaque. *Caries Res* 1998; **32(2)**:113-18.
35. Greenstein G, Berman C, Jaffin R: Chlorhexidine: An adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol* 1986; **57(6)**: 70-7.
  36. Davies GE, Francis J, Martin AR, Rose FL, Swain G: 1: 6-di-4 chlorophenyldiguanidohexane ("Hibitane"). Laboratory investigation of a new antibacterial agent of high potency. *Brit J Pharmacol* 1954; **9**: 192-196.
  37. Bergqvist-Karlsson A: Delayed and immediate-type hypersensitivity to chlorhexidine. *Contact Dermatitis* 1988; **18(2)**: 84-8.
  38. *Vadecum Farmacéutico*, 4<sup>ta</sup> ed. Rezza Editores, U.S.A. 1995.
  39. Genco JR, Goldman MH, Cohen WD: *Periodoncia*, Editorial Interamericana McGraw-Hill, México, 1993: 176, 384.
  40. Davies A: The mode of action of chlorhexidine. *J Periodont Res* 1973; **8,Suppl 12**: 68-75.
  41. Løe H: Does Chlorhexidine have a place in the prophylaxis of dental diseases? *J Periodont Res* 1973; **8,Suppl 12**: 93-9.
  42. Magnusson B, Heyden G: Autoradiographic studies of <sup>14</sup>C-chlorhexidine given orally in mice. *J Periodont Res* 1973; **8,Suppl 12**: 49-54.
  43. Bonesvöll P, Lökken P, Rölla G, Paus P.N: Retention of chlorexidine in the human oral cavity after mouth rinses. *Archs Oral Biol* 1974; **19(3)**: 209-21.
  44. Bonesvöll P, Lökken P, Rölla G: Influence of concentration, time, temperature and pH on the retention of chlorexidine in the human oral cavity after mouth rinses. *Archs Oral Biol* 1974; **19(11)**: 1025-29.
  45. Rölla G, Løe H, Schiøtt RC: Retention of chlorexidine in the human oral cavity. *Archs Oral Biol* 1971; **16(9)**: 1109-1114.
  46. Fløtra L, Gjermo P, Rölla G, Waerhaug J: A 4-month study on the effect of chlorhexidine mouth washes on 50 soldiers. *Scan J Dent Res* 1972; **80**: 10-7.
  47. Pham NH, Weiner JM, Reisner GS, Baldo BA: Anaphylaxis to chlorhexidine. Case report. Implication of immunoglobulin E antibodies and identification of an allergic determinant. *Clin Exp Allergy* 2000; **30(7)**: 1001-7.
  48. Snellman E, Rantanen T: Severe anaphylaxis after chlorhexidine bath. *J Am Acad Dermatol* 1999; **40(5)**: 771-2.
  49. Ebo DG, Stevens WJ, Bridts CH, Matthieu L: Contact allergic dermatitis and life-threatening anaphylaxis to chlorhexidine. *J Allergy Clin Immunol* 1998; **101(1)**: 128-29.

50. Wong W.K, Goh C.L, Chan K.W: Contact urticaria from chlorhexidine. *Contact Dermatitis* 1990: **22(1)**: 52.
51. Yaacob H, Jalil R: An unusual hypersensitivity to chlorhexidine. *J Oral Medicine* 1986: **41(3)**: 145-6.
52. Shoji A: Contact dermatitis from chlorhexidine. *Contact Dermatitis* 1983: **9(2)**: 153.
53. Lauerma AI: Simultaneous immediate and delayed hypersensitivity to chlorhexidine digluconato. *Contact Dermatitis* 2001: **44(1)**: 52.
54. Wahlberg JE, Wennersten G: Hypersensitivity and Photosensitivity to chlorhexidine. *Dermatologica* 1971: **143**: 376-79.
55. Løe H, Schiøtt CR, Glavind L, Karring T: Two year oral use of chlorhexidine in man. I. General design and clinical effects. *J Periodont Res* 1976: **11(3)**: 135-44.
56. Schiøtt CR, Briner WW, Løe H: Two year oral use of chlorhexidine in man. II. The effect on the salivary bacterial flora. *J Periodont Res* 1976: **11(3)**: 145-52.
57. Schiøtt CR, Briner WW, Kirkland JJ, Løe H: Two year oral use of chlorhexidine in man. III. Changes in sensitivity of the salivary flora. *J Periodont Res* 1976: **11(3)**: 153-57.
58. Schiøtt CR, Løe H, Briner WW: Two year oral use of chlorhexidine in man. IV. Effect on various medical parameters. *J Periodont Res* 1976: **11(3)**: 158-64.
59. MacKenzie IC, Nuki K, Løe H, Schiøtt CR: Two year oral use of chlorhexidine in man. V. Effects on stratum corneum of oral mucosa. *J Periodont Res* 1976: **11(3)**: 165-71.
60. Nuki K, Schlenker R, Løe H, Schiøtt CR: Two year oral use of chlorhexidine in man. VI. Effect on oxidative enzymes in oral epithelia. *J Periodont Res* 1976: **11(3)**: 172-75.
61. Skoglund LA, Holst E: Desquamative mucosal reactions due to chlorhexidine gluconate. *Int J Oral Surg* 1982: **11**: 380-82.
62. Fløtra L, Gjermo P, Rølla G, Waerhaug J: Side effects of chlorhexidine mouth washes. *Scan J Dent Res* 1971: **79**: 119-25.
63. Ainamo J, Asikainen S, Paloheimo L: Gingival bleeding after chlorhexidine mouthrinses. *J Clin Periodontol* **9**: 337-45, 1982.
64. Almqvist H, Luthman J: Gingival and mucosal reactions after intensive chlorhexidine gel treatment with or without oral hygiene measures. *Scan J Dent Res* 1988: **96(6)**: 557-60.
65. Gjermo P: Hibitane in periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1977: **4**: 94-101.
66. Heldeland K, Heyden G, Rølla G: Effect of chlorhexidine on animal cells in vitro. *Scan J Dent Res* 1971: **79**: 209-15.
67. Goldschmidt P, Cogen R, Taubman S: Cytopathologic effects of chlorhexidine on

- human cells. *J Periodontol* 1977; **48**: 212-15.
68. Klaasen CD: Principles of toxicology. *Goodman and Gilman's: The pharmacological basis of Therapeutics*, 8<sup>va</sup> ed. Pegamon Press, U.S.A. 1990: 49-61.
69. Lindhe J, Heyden G, Svanberg G, Løe H, CR: . Schjøtt Effect of local applications of chlorhexidine on the oral mucosa of the hamster. *J Periodont Res* 1970; **5**: 177-82.
70. Bechgaard E, Ploug E, Hjorth N: Contact sensitivity to chlorhexidine? *Contact Dermatitis* 1985; **13(2)**: 53-5.
71. Osmundsen PE: Contact dermatitis to chlorhexidine. *Contact Dermatitis* 1982; **8(2)**: 81-33.
72. Duncan RC, Knapp RG, Miller III MC: *Introductory Bioestatics for the Health Sciences*, Wiley Medical publication, U.S.A. 1977.
73. Fløtra L: Different modes of chlorhexidine application and related local side effects. *J Periodont Res* 1973; **8,Suppl 12**: 41-4.
74. Tobias SR, Browne MR, Wilson AC: An in vitro study of the antibacterial and antifungal properties of an irreversible hydrocolloid impression material impregnated with disinfectant. *J Prosthet Dent* 1989; **62(5)**: 601-5.
75. Schutt WR: Bactericidal effect of a disinfectant dental stone on irreversible hydrocolloid impressions and stone casts. *J Prosthet Dent* 1989; **62(5)**: 605-9.
76. Ivanovski S, Savage WN, Brockhurst JP, Bird SP: Disinfection of dental stone casts: Antimicrobial effects and physical property alterations. *Dent Mater* 1995; **11(1)**: 19-23.
77. Hensten-Pettersen A, Jacobsen N: Perceived side effects of biomaterials in prosthetic dentistry. *J Prosthet Dent* 1991; **65(1)**: 138-44.

---

## GLOSARIO

**Anticuerpos:** proteínas plasmáticas sintetizadas en las respuestas inmunitarias (humorales) que son capaces de combinarse con los antígenos provocadores. Hay varios tipos de proteínas plasmáticas y se les denomina colectivamente inmunoglobulinas.<sup>7</sup>

**Antígeno o inmunógeno:** sustancia capaz de provocar una respuesta inmunitaria en cualquier tipo de vertebrado inmunocompetente. Son sustancias de alto peso molecular, particularmente proteínas o carbohidratos. Las respuestas inmunitarias opuestas a esos antígenos pueden proporcionar protección contra la enfermedad o resistencia a las reinfecciones por el mismo tipo de parásito, o ambas cosas.<sup>7</sup>

**Antiséptico:** agente utilizado en el proceso de antisepsis, con el propósito de destruir o inhibir el crecimiento de los microorganismos en los tejidos vivos, evitando o limitando así, la infección.<sup>33</sup>

**Biocidas:** sustancia utilizada como desinfectante y como antiséptico.<sup>33</sup>

**Conservador:** agente químico utilizado en productos farmacéuticos o alimentarios que previene el deterioro causado por microorganismos.<sup>33</sup>

**Desinfectante:** sustancia utilizada en el proceso de desinfección, con el propósito de remover de las superficies de objetos inanimados, a los microorganismos, incluyendo a los potencialmente patógenos.<sup>33</sup>

**Hapteno:** Antígeno incompleto, es decir sustancia incapaz de promover por sí misma una respuesta inmunitaria, aunque puede actuar como inmunógeno parcial cuando se combina con otras sustancia (de elevado peso molecular). Casi siempre son de peso molecular y estructura relativamente simple.<sup>7</sup> Tiene la facultad de conferir actividad antigénica a las proteínas no antigénicas con las cuales se combina.<sup>12</sup>

**Opsoninas:** sustancias presentes en el plasma sanguíneo que al fijarse en las bacterias, facilitan la fagocitosis los principales son C3, C4 y C4b<sup>12</sup>

**Quimiotaxis:** gradiente de concentración química que atrae células de defensa hacia los microorganismos que están invadiendo un tejido.<sup>12</sup>

**Reacción Alérgica:** Alergia es una situación que define la capacidad alterada de un organismo para reaccionar frente a determinadas sustancias con una susceptibilidad especial. Depende de la dosis y el tiempo de exposición al material o sustancia extraña. Los agentes o sus productos metabólicos funcionan inmunológicamente como haptenos y se combinan con proteínas endógenas (mucosas o cuticulares) para formar un antígeno completo.<sup>177</sup> Basado en el mecanismo inmunológico involucrado, las reacciones alérgicas se dividen en cuatro categorías: tipo I, II, III y IV.

**Reacción de Hipersensibilidad:** A las respuestas alérgicas enérgicas o exageradas se les conoce como hipersensibilidad. Se necesitan contactos repetidos con el agente o sustancia alergizante para que aparezca esta respuesta. El primer o primeros contactos del individuo con el alérgeno son contactos sensibilizantes o sensibilizadores, las ulteriores puestas en contacto son desencadenantes.<sup>177</sup>

**Reacción de Tipo I o Anafilaxia:** son reacciones mediadas por los anticuerpos IgE. Los blancos principales son el tracto gastrointestinal (alergia alimenticia), la piel (urticaria y dermatitis atópica), el sistema respiratorio (rinitis y asma) y el sistema vascular (choque anafiláctico). Estas respuestas tienden a ocurrir de manera rápida, después de que el individuo ha sido expuesto al antígeno desencadenante. Este tipo de respuesta también es conocida como *reacción de hipersensibilidad inmediata*.<sup>68</sup>

**Reacción de Tipo II o Citolítica:** son reacciones medidas por los anticuerpos IgG e IgM, usualmente activan el complemento. Su blanco principal son las células del sistema circulatorio. Algunos ejemplos son: la anemia hemolítica inducida por la penicilina, granulocitopenia inducida por sulfonamidas y el lupus eritematoso sistémico inducido por procainamidas entre otros. Estas reacciones desaparecen después de varios meses después de haber eliminado al agente alergizante.<sup>68</sup>

**Reacción de Tipo III o de Arthus:** son reacciones mediadas predominantemente por los anticuerpos IgG, el mecanismo involucra la generación de complejos antígeno-anticuerpo que posteriormente se fijan al complemento. Los complejos inmunes se depositan en el

endotelio vascular, en donde ocurre una respuesta inflamatoria destructiva llamada enfermedad del suero. Los síntomas incluyen erupciones de urticaria en la piel, artralgia o artritis, linfadenopatía y fiebre. Estas reacciones duran de 6 a 12 días y desaparecen en cuanto el agente alergizante se elimina.<sup>68</sup>

**Reacción de Tipo IV o de Hipersensibilidad tardía:** son reacciones mediadas por linfocitos T sensibilizados y por macrófagos. Cuando células sensibilizadas entran en contacto con un antígeno, se genera una respuesta inflamatoria con la subsecuente infiltración de neutrófilos y macrófagos.<sup>68</sup>

**Reacciones fototóxicas:** Las reacciones fototóxicas, no tienen un componente inmunológico, por lo tanto, son una respuesta que sufren todos los individuos al ser expuestos simultáneamente a una radiación con una longitud de onda apropiada para activar a dicha sustancia química. Existen dos tipos de respuesta: una sensación de ardor inmediata (con eritema y urticaria) y una reacción tardía similar a la sensación de quemadura solar, que aparece horas o a veces hasta dos días después de la exposición.<sup>4,68</sup>

**Reacciones fotoalérgicas:** En las reacciones fotoalérgicas, la radiación (luz visible o ultravioleta) absorbida por la droga, resulta en su conversión en un alérgeno más potente que el producto mismo, produciendo respuestas en las cuales intervienen mecanismos inmunitarios. Las manifestaciones clínicas varían desde reacciones de urticaria agudas, que se desarrollan minutos después a la exposición de luz solar, hasta lesiones papulares o eccematosas, que aparecen después de 24 horas.

**Sistema de complemento:** grupo de proteínas presentes en el plasma normal que se activan al combinarse el anticuerpo con el antígeno. Los diversos componentes del complemento se combinan con el complejo antígeno-anticuerpo en una sucesión ordenada, y al hacerlo se producen efectos biológicos.<sup>12</sup>

**Sitio Antigénico:** lugar del microorganismos o de las células extrañas que entran al organismo, que el mecanismo inmunológico puede identificar como antígeno, y es en este lugar en donde los anticuerpos pueden combinarse para formar el complejo antígeno-anticuerpo.<sup>12</sup>

**ANEXO**

Tabla 8. Observaciones Naturales

Tabla 9. Promedios por grupos

Prueba t de Student

Tabla 10-15 Prueba t de Linfocitos

Tabla 16-21 Prueba t de Macrófagos

Tabla 22-27 Prueba t de Células Plasmáticas

Tabla 28-33 Prueba t de Células Gigantes Multinucleadas

Tabla 34-39 Prueba t de Basófilos

TABLA 8. OBSERVACIONES NATURALES (VARIABLES)

Grupo	FOI	# de campos	Linfocitos	Macrófagos	Cs. Plasm.	CGMN	Basófilos
I	71	26	207	1026	100	0	0
	72	22	100	781	48	0	0
		Promedio	153.5	903.5	74	0	0
		Desv. Estándar	75.66	173.24	36.77	0	0
		Varianza	5724.5	30012.5	1352	0	0
II			Linfocitos	Macrófagos	Cs. Plasm.	CGMN	Basófilos
	97	53	1050	19	82	0	106
	98	48	1740	35	89	1	281
	99	52	1507	99	112	0	187
	100	61	2212	311	258	3	139
	101	34	680	28	207	0	59
		Promedio	1437.8	98.4	149.6	0.4	154.4
		Desv. Estándar	595.85	122.96	78.58	1.3	84.81
	Varianza	355037.2	15119.8	6175.3	1.7	7192.8	
III			Linfocitos	Macrófagos	Cs. Plasm.	CGMN	Basófilos
	127	30	282	17	126	0	37
	128	45	316	290	105	2	111
	129	29	275	83	34	1	66
	130	41	453	165	58	1	76
		Promedio	331.5	138.75	80.75	1	72.5
		Desv. Estándar	82.96	117.61	42.18	0.8165	30.53
	Varianza	6881.67	13832.25	1779.58	0.667	932.33	
IV			Linfocitos	Macrófagos	Cs. Plasm.	CGMN	Basófilos
	151	42	299	142	29	5	70
	152	38	239	96	20	2	47
	153	18	311	102	15	3	40
	154	22	207	28	6	0	28
		Promedio	264	67	17.5	2.5	46.25
		Desv. Estándar	49.36	47.3	9.61	2.08	17.67
	Varianza	2436	2237.33	92.33	4.33	312.25	

TABLA 9. PROMEDIO POR GRUPOS (OBSERVACIONES/ # DE CAMPOS)

Grupo	FOI	# de campos	Linfocitos	Macrófagos	Cs. Plasm.	CGMN	Basófilos
I	71	26	7.96	39.46	3.84	0	0
	72	22	4.54	35.5	2.18	0	0
		Promedio	6.25	37.48	3.01	0	0
		Desv. Estándar	2.42	2.8	1.17	0	0
		Varianza	5.84	7.84	1.37	0	0

			Linfocitos	Macrófagos	Cs. Plasm.	CGMN	Basófilos
II	97	53	19.81	0.35	1.54	0	2
	98	48	36.25	0.72	1.85	0.0208	5.85
	99	52	28.98	1.90	2.15	0	3.59
	100	61	36.26	5.09	4.22	0.0491	2.27
	101	34	20	0.82	6.08	0	1.73
		Promedio	28.26	1.78	3.17	0.014	3.09
		Desv. Estándar	8.18	1.94	1.93	0.0216	1.70
		Varianza	67.00	3.76	3.75	0.00046	2.89

			Linfocitos	Macrófagos	Cs. Plasm.	CGMN	Basófilos
III	127	30	9.4	0.56	4.2	0	1.23
	128	45	7.02	6.44	2.33	0.044	2.46
	129	29	9.48	2.86	1.17	0.034	2.27
	130	41	11.04	4.02	1.41	0.024	1.85
		Promedio	9.23	3.47	2.28	0.025	1.78
		Desv. Estándar	1.66	2.44	1.37	0.019	0.52
		Varianza	2.75	5.98	1.88	0.00036	0.27

			Linfocitos	Macrófagos	Cs. Plasm.	CGMN	Basófilos
IV	151	42	7.11	3.38	0.69	0.119	1.66
	152	38	6.28	2.52	0.52	0.052	1.23
	153	18	17.27	5.66	0.83	0.16	2.22
	154	22	9.40	1.27	0.27	0	1.27
		Promedio	10.02	3.21	0.58	0.084	1.59
		Desv. Estándar	5.01	1.85	0.24	0.073	0.45
		Varianza	25.12	3.42	0.057	0.0053	0.21

## PRUEBAS t

El procedimiento de la prueba T de una sola muestra verifica si la hipótesis de que la media de una sola variable es diferente a una constante. En este caso, se comparan las observaciones de un grupo de células con respecto al grupo anterior, para obtener una relación con respecto al tiempo.

Para estudiar la evolución se tomó para cada tipo de células el grupo 1 (7 días) y se comparó su varianza y promedio contra los grupos 2, 3 y 4, con la intención de poder determinar el momento en que la cantidad de células es estadísticamente diferente a la encontrada en la primer semana y así sucesivamente con lo grupos 2 y 3.

**Tabla 10. Linfocitos G1 comparado con Linfocitos G2**

Hipótesis: media grupo 1 = media grupo 2

(Suponemos que no hay cambio de grupo 1 a grupo 2)

Valor a verificar = 153.3 (media grupo 1)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Linfocitos G2	4.820	4	.009	1284.5000	544.6545	2024.3455

Se rechaza hipótesis (valor t fuera del intervalo de confianza).

Si hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 11. Linfocitos G1 comparado con Linfocitos G3**

Hipótesis: media grupo 1 = media grupo 3

Valor a verificar = 153.3 (media grupo 1)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Linfocitos G3	4.291	3	.023	178.0000	45.9988	310.0012

Se rechaza hipótesis (valor t fuera del intervalo de confianza).

Si hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 12. Linfocitos G1 comparado con Linfocitos G4**

Hipótesis: media grupo 1 = media grupo 4

Valor a verificar = 153.3 (media grupo 1)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Linfocitos G4	4.478	3	.021	110.5000	31.9638	189.0362

Se rechaza hipótesis (valor t fuera del intervalo de confianza).

Si hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 13. Linfocitos G2 comparado con Linfocitos G3**

Hipótesis: media grupo 2 = media grupo 3

Valor a verificar = 1437.8 (media grupo 2)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Linfocitos G3	-26.672	3	.000	-1106.3000	-1238.3012	-974.2988

Se rechaza hipótesis (valor t fuera del intervalo de confianza).

Si hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 14. Linfocitos G2 comparado con Linfocitos G4**

Hipótesis: media grupo 2 = media grupo 4

Valor a verificar = 1437.8 (media grupo 2)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Linfocitos G4	-47.565	3	.000	-1173.8000	-1252.3362	-1095.2638

Se rechaza hipótesis (valor t fuera del intervalo de confianza).

Si hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 15. Linfocitos G3 comparado con Linfocitos G4**

Hipótesis: media grupo 3 = media grupo 4

Valor a verificar = 331.5 (media grupo 3)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Linfocitos G4	-2.735	3	.072	-67.5000	-146.0362	11.0362

No se rechaza hipótesis (valor t dentro de intervalo).

No hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 16. Macrófagos G1 comparado con Macrófagos G2**

Hipótesis: media grupo 1 = media grupo 2

Valor a verificar = 903.5 (media grupo 1)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Macrófagos G2	-14.641	4	.000	-805.1000	-957.7782	-652.4218

Si se rechaza hipótesis (valor t fuera de intervalo).

Si hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 17. Macrófagos G1 comparado con Macrófagos G3**

Hipótesis: media grupo 1 = media grupo 3

Valor a verificar = 903.5 (media grupo 1)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Macrófagos G3	-13.005	3	.001	-764.7500	-951.8947	-577.6053

Si se rechaza hipótesis (valor t fuera de intervalo).

Si hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 18. Macrófagos G1 comparado con Macrófagos G4**

Hipótesis: media grupo 1 = media grupo 4

Valor a verificar = 903.5 (media grupo 1)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Macrófagos G4	-34.313	3	.000	-811.5000	-886.7656	-736.2344

Si se rechaza hipótesis (valor t fuera de intervalo).

Si hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 19. Macrófagos G2 comparado con Macrófagos G3**

Hipótesis: media grupo 2 = media grupo 3

Valor a verificar = 98.4 (media grupo 2)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Macrófagos G3	.686	3	.542	40.3500	-146.7947	227.4947

No se rechaza hipótesis (valor t dentro de intervalo).

No hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 20. Macrófagos G2 comparado con Macrófagos G4**

Hipótesis: media grupo 2 = media grupo 4

Valor a verificar = 98.4 (media grupo 2)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Macrófagos G4	-.271	3	.804	-6.4000	-81.6656	68.8656

No se rechaza hipótesis (valor t dentro de intervalo).

No hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 21. Macrófagos G3 comparado con Macrófagos G4**

Hipótesis: media grupo 3 = media grupo 4

Valor a verificar = 138.75 (media grupo 3)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Macrófagos G4	-1.977	3	.143	-46.7500	-122.0156	28.5156

No se rechaza hipótesis (valor t dentro de intervalo).

No hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 22. Células Plasmáticas G1 comparado con Células Plasmáticas G2**

Hipótesis: media grupo 1 = media grupo 2

Valor a verificar = 74 (media grupo 1)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Células Plasmáticas G2	2.151	4	.098	75.6000	-21.9738	173.1738

No se rechaza hipótesis (valor t dentro de intervalo).

No hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 23. Células Plasmáticas G1 comparado con Células Plasmáticas G3**

Hipótesis: media grupo 1 = media grupo 3

Valor a verificar = 74 (media grupo 1)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Células Plasmáticas G3	.320	3	.770	6.7500	-60.3759	73.8759

No se rechaza hipótesis (valor t dentro de intervalo).

No hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 24. Células Plasmáticas G1 comparado con Células Plasmáticas G4**

Hipótesis: media grupo 1 = media grupo 4

Valor a verificar = 74 (media grupo 1)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Células Plasmáticas G4	-11.760	3	.001	-56.5000	-71.7901	-41.2099

Si se rechaza hipótesis (valor t fuera de intervalo).

Si hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 25. Células Plasmáticas G2 comparado con Células Plasmáticas G3**

Hipótesis: media grupo 2 = media grupo 3

Valor a verificar = 149.6 (media grupo 2)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Células Plasmáticas G3	-3.264	3	.047	-68.8500	-135.9759	-1.7241

No se rechaza hipótesis (valor t dentro de intervalo).

No hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 26. Células Plasmáticas G2 comparado con Células Plasmáticas G4**

Hipótesis: media grupo 2 = media grupo 4

Valor a verificar = 149.6 (media grupo 2)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Células Plasmáticas G4	-27.495	3	.000	-132.1000	-147.3901	-116.8099

Si se rechaza hipótesis (valor t fuera de intervalo).

Si hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 27. Células Plasmáticas G3 comparado con Células Plasmáticas G4**

Hipótesis: media grupo 3 = media grupo 4

Valor a verificar = 80.75 (media grupo 3)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Células Plasmáticas G4	-13.165	3	.001	-63.2500	-78.5401	-47.9599

Si se rechaza hipótesis (valor t fuera de intervalo).

Si hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 28. CGMN G1 comparado con CGMN G2**

Hipótesis: media grupo 1 = media grupo 2

Valor a verificar = 0 (media grupo 1)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
CGMN G2	1.372	4	.242	.8000	-.8189	2.4189

No se rechaza hipótesis (valor t dentro de intervalo).

No hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 29. CGMN G1 comparado con CGMN G3**

Hipótesis: media grupo 1 = media grupo 3

Valor a verificar = 0 (media grupo 1)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
CGMN G3	2.449	3	.092	1.0000	-.2992	2.2992

Si se rechaza hipótesis (valor t fuera de intervalo).

Si hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 30. CGMN G1 comparado con CGMN G4**

Hipótesis: media grupo 1 = media grupo 4

Valor a verificar = 0 (media grupo 1)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
CGMN G4	2.402	3	.096	2.5000	-.8124	5.8124

No se rechaza hipótesis (valor t dentro de intervalo).

No hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 31. CGMN G2 comparado con CGMN G3**

Hipótesis: media grupo 2 = media grupo 3

Valor a verificar = 0.4 (media grupo 2)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
CGMN G3	1.470	3	.238	.6000	-.6992	1.8992

No se rechaza hipótesis (valor t dentro de intervalo).

No hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 32. CGMN G2 comparado con CGMN G4**

Hipótesis: media grupo 2 = media grupo 4

Valor a verificar = 0.4 (media grupo 2)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
CGMN G4	2.018	3	.137	2.1000	-1.2124	5.4124

No se rechaza hipótesis (valor t dentro de intervalo).

No hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 33. CGMN G3 comparado con CGMN G4**

Hipótesis: media grupo 3 = media grupo 4

Valor a verificar = 1 (media grupo 3)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
CGMN G4	1.441	3	.245	1.5000	-1.8124	4.8124

No se rechaza hipótesis (valor t dentro de intervalo).

No hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 34. Basófilos G1 comparado con Basófilos G2**

Hipótesis: media grupo 1 = media grupo 2

Valor a verificar = 0 (media grupo 1)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Basófilos G2	4.071	4	.015	154.4000	49.0940	259.7060

Si se rechaza hipótesis (valor t fuera de intervalo).

Si hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 35. Basófilos G1 comparado con Basófilos G3**

Hipótesis: media grupo 1 = media grupo 3

Valor a verificar = 0 (media grupo 1)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Basófilos G3	4.749	3	.018	72.5000	23.9134	121.0866

Si se rechaza hipótesis (valor t fuera de intervalo).

Si hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 36. Basófilos G1 comparado con Basófilos G4**

Hipótesis: media grupo 1 = media grupo 4

Valor a verificar = 0 (media grupo 1)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Basófilos G4	5.235	3	.014	46.2500	18.1321	74.3679

Si se rechaza hipótesis (valor t fuera de intervalo).

Si hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 37. Basófilos G2 comparado con Basófilos G3**

Hipótesis: media grupo 2 = media grupo 3

Valor a verificar = 154.4 (media grupo 2)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Basófilos G3	-5.364	3	.013	-81.9000	-130.4866	-33.3134

Si se rechaza hipótesis (valor t fuera de intervalo).

Si hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 38. Basófilos G2 comparado con Basófilos G4**

Hipótesis: media grupo 2 = media grupo 4

Valor a verificar = 154.4 (media grupo 2)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Basófilos G4	-12.241	3	.001	-108.1500	-136.2679	-80.0321

Si se rechaza hipótesis (valor t fuera de intervalo).

Si hay cambio estadísticamente significativo.

**Tabla 39. Basófilos G3 comparado con Basófilos G4**

Hipótesis: media grupo 3 = media grupo 4

Valor a verificar = 72.5 (media grupo 3)

	Valor t	gl	Sig. (2- colas)	Diferencia Promedio	Intervalo de Confianza de 95% de la Diferencia	
					Inferior	Superior
Basófilos G4	-2.971	3	.059	-26.2500	-54.3679	1.8679

No se rechaza hipótesis (valor t dentro de intervalo).

No hay cambio estadísticamente significativo.