

# La placa dental como biofilm. ¿Cómo eliminarla?



Serrano-Granger,  
Jorge

## Dental plaque as a biofilm. How to eliminate it?

Serrano-Granger, Jorge\*  
Herrera, David\*\*

\*Profesor Colaborador del Master de Periodoncia de la U.C.M.

\*\*Profesor Asociado de Periodoncia de la U.C.M.

**Resumen:** La forma natural de crecimiento de las bacterias en la cavidad oral es el biofilm. Los biofilm son los responsables de la caries y de las enfermedades periodontales, y presentan gran resistencia frente a los antimicrobianos. Por lo tanto, es necesario realizar estudios que analicen la eficacia de los colutorios en las acciones de penetrar el biofilm y producir una acción bactericida suficiente, o de evitar el desarrollo de los mismos. Actualmente, en este campo sólo se dispone de estudios (acordes con las normas ADA) que atestiguan la eficacia de los colutorios de clorhexidina y de los colutorios de aceites esenciales. Para que los antimicrobianos optimicen su efectividad debe realizarse una desestructuración previa del biofilm por medios físicos (cepillado, uso de hilo dental, profilaxis, raspado y alisado radicular, etc.).

**Palabras clave:** Biofilm, Placa dental, Gingivitis, Clorhexidina, Aceites Esenciales, Colutorios.

**Abstract:** Biofilm is the natural form of bacterial growth in the oral cavity. It causes caries and periodontal diseases, and develops a higher resistance to antimicrobial agents. Therefore, studies should be addressed to show mouthrinse efficiency in penetrating into biofilm and producing enough bactericidal action, or in avoiding biofilm development. At present, in this field we can only find studies that show the efficiency of chlorhexidine mouthrinses and of those with essential oils. Biofilm must be previously disrupted by physical means (such as brushing, flossing, prophylaxis and scaling and root planing, etc.) in order to achieve the best results with the use of antimicrobial agents.

**Key words:** Biofilm, Dental plaque, Gingivitis, Chlorhexidine, Essentials Oils, Mouthrinses.

### Correspondencia

Jorge Serrano Granger  
C/ Embajadores 114, 4º  
28045 Madrid  
E- mail: PETEJO@telefonica.es

BIBLID [1138-123X (2005)10:4; julio-agosto 369-496]

Serrano-Granger J, Herrera D. La placa dental como biofilm. ¿Cómo eliminarla?. RCOE 2005;10(4):431-439.

## Introducción

Las bacterias que se encuentran en la saliva pueden ser consideradas bacterias planctónicas (bacterias que flotan en una fase líquida). Sin embargo, las bacterias que se encuentran en una superficie dura (diente, reconstrucciones, prótesis e implantes) forman una película gelatinosa adherente: la placa dental. La placa dental es el principal agente etiológico de la caries y de las enfermedades periodontales<sup>1</sup>.

El concepto y la apariencia de la placa dental han ido variando a lo largo de la historia dependiendo de los medios técnicos disponibles para su estudio. Así, con la aparición del microscopio óptico, Anthony van Leeuwenhoek observó en 1683 que la placa dental estaba compuesta por depósitos blandos con microbios y restos de comida. Posteriormente, en 1898, Black definió la placa dental, como placas blandas gelatinosas. En 1965, Egelberg y cols determinaron los estadios en la formación de la placa dental. Estos autores definieron:

- Un primer estadio o fase I, en la que se formaría una biopelícula sobre la superficie limpia del diente. Esta biopelícula estaría compuesta fundamentalmente por glicoproteínas.

- Un segundo estadio o fase II. En esta fase se observa la adhesión de unos determinados tipos de bacterias a la biopelícula previamente formada.

- Fase III. Se produce multiplicación bacteriana.

- Fase IV. Debido a la multiplicación bacteriana de la fase anterior y a la aparición de nuevas condiciones, se produce la coagregación de nuevas especies bacterianas.

En 1970, en el congreso de Edimburgo, se definió la placa dental como microorganismos más polisacáridos extracelulares; esta placa dental estaba recubierta por leucocitos, células epiteliales y restos de comida.

En los años 90, gracias al desarrollo y perfeccionamiento del microscopio confocal de láser, se llegó a un mejor conocimiento de la placa dental y de su estructura, y se desarrolló el modelo de la placa dental como biofilm<sup>2-6</sup>. Los biofilm presentan unas características que plantean una serie de problemas en cuanto a su eliminación.

## Definición de biofilm

Un biofilm es la forma de crecimiento más frecuente de las bacterias y se definió en un principio como una comunidad de bacterias adheridas a una superficie sólida e inmersa en un medio líquido (Costerton 1987)<sup>7</sup>. Posteriormente, Costerton definió el biofilm como: «una comunidad bacteriana inmersa en un medio líquido, caracterizada por bacterias que se hallan unidas a un substrato o superficie, o unas a otras, que se encuentran embebidas en una matriz extracelular producida por ellas mismas, y que muestran un fenotipo alterado en cuanto al grado de multiplicación celular o la expresión de sus genes»<sup>8</sup>.

Esta definición caracteriza las propiedades del biofilm y se diferencia de la desarrollada por Costerton en 1987: bacterias o comunidades bacterianas unidas o fijadas a una superficie en un medio ambiente acuático, embebidas en una matriz o glicocálix. Podemos encontrar bacterias que crecen en superficie de agar con estas caracte-

rísticas pero que, en cambio, no muestran las propiedades de resistencia típicas de los biofilm; del mismo modo, podemos encontrar «fragmentos» procedentes de un biofilm que no se encuentran unidos a una superficie, pero que mantienen todas las características propias de los biofilms<sup>3,6,8\*</sup>.

## ¿Cómo se desarrolla el biofilm?

Los biofilms pueden desarrollarse por medio de dos tipos de procesos:

- A partir de una célula planctónica
- A partir de otro biofilm

### A partir de una célula planctónica

Ciertas bacterias muestran o tienen la capacidad de desarrollar estructuras de superficie que favorecen la adhesión de las mismas a una superficie sólida, tales como fimbrias y fibrillas. Así, colonizadores primarios como *Actinomyces naeslundii*, varias especies de estreptococos, como *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus parasanguis*, *Streptococcus mitis*, muestran fimbrias y fibrillas en su superficie. Otros factores que favorecen la adhesión de las bacterias a una superficie son la capacidad que muestran algunas especies bacterianas para el movimiento, como la *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli*, o la expresión de ciertas proteínas en su superficie celular, denominadas adhesinas.

Existen una serie de factores que afectan a la adhesión de las bacterias

a una superficie sólida. Por un lado, factores físicos y químicos de la superficie, como su rugosidad y composición química, y factores del medio líquido en el que se desarrolla, como la velocidad del flujo y la composición química del mismo<sup>9\*\*,10\*</sup>.

Una vez que las bacterias están ya adheridas a una superficie sólida se produce la expresión de ciertos genes que las diferencian de las formas planctónicas. Posteriormente se produce la multiplicación de la especie bacteriana y la coagregación con otras especies bacterianas. Dentro del biofilm, esta asociación de especies no sería aleatoria, sino que existirían asociaciones específicas entre bacterias dentro del biofilm<sup>9</sup>.

### A partir de otro biofilm

Los biofilms también se pueden desarrollar a partir de células sueltas desprendidas de un biofilm o de partes del propio biofilm. En cualquier caso, estas células desprendidas mantendrían todas las propiedades del biofilm de donde proceden. También se han descrito fenómenos de movimiento del biofilm sobre la superficie a la que se encuentra fijado<sup>9\*\*</sup>.

## Estructura del biofilm

Cuando se observa un biofilm con el microscopio confocal de láser, pueden observarse las distintas comunidades bacterianas (dentro de las cuales pueden presentarse vacíos) organizadas en forma de seta o torre y separadas entre sí por microcanales de agua (fig. 1)<sup>6,9\*\*,11</sup>.

El biofilm está compuesto por bacterias, que representan un 15%-

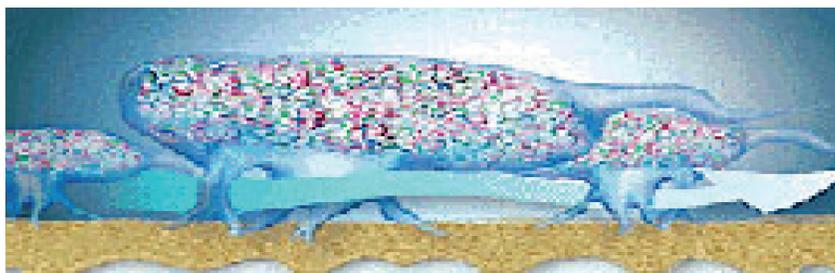


Figura 1. Estructura del biofilm.

20% del volumen, y una matriz o glucocalix, que representaría el 75% - 80%. Esta matriz está compuesta por una mezcla de exopolisacáridos, proteínas, sales minerales y material celular<sup>9</sup>. Los exopolisacáridos representan el componente fundamental de la matriz y son producidos por las propias bacterias del biofilm. Los exopolisacáridos participan de forma fundamental en el desarrollo del biofilm, pues su intervención mantiene la integridad del todo. Pueden tener carga neutra o carga polianiónica, según el tipo de exopolisacárido, por lo que pueden interactuar con distintos antimicrobianos, de forma que estos últimos quedan atrapados en la matriz sin capacidad para actuar sobre las bacterias. Los propios exopolisacáridos producidos por unas bacterias pueden actuar como fuente de nutrientes para otras bacterias y, de la misma forma, pueden atrapar otros nutrientes del medio y ofrecerlos a los distintos tipos bacterianos presentes en el biofilm, lo cual supone una ventaja para el desarrollo bacteriano. Los exopolisacáridos actúan también retirando desechos del medio, lo que también favorece el desarrollo bacteriano. La composición química y la estructura terciaria de los exopolisacáridos determinan la capacidad de adhesión de los mis-

mos lo que a su vez favorece la adhesión de las bacterias a las superficies. Por último, los exopolisacáridos participan en funciones de protección de las bacterias, pues evitan su desecación. Además, gracias a sus cualidades pueden «tamponar» la acción de distintos antimicrobianos. La pérdida o alteración de un determinado polisacárido puede alterar el biofilm, o incluso puede producir la desaparición del mismo<sup>12,13</sup>.

## Propiedades de los biofilms

### Heterogeneidad fisiológica

Dentro del biofilm puede observarse un rango muy amplio de micronichos, separados unos de otros por mínimas distancias. Se pueden encontrar, asimismo, ambientes muy diferentes en cuanto al contenido de nutrientes del medio, tensión de O<sub>2</sub>, tensión de CO<sub>2</sub>, pH, etc. Por lo tanto, células de la misma especie bacteriana pueden presentar estados fisiológicos muy diferentes, y también pueden encontrarse especies bacterianas con distintas necesidades fisiológicas (anaerobias, aerobias, microaerobias), separadas entre sí por sólo 10µm<sup>6,9\*\*,14,15</sup>.

## Fenotipos en el biofilm

Cuando las bacterias crecen en el biofilm, en forma sésil, manifiestan un fenotipo diferente respecto del que manifiestan cuando crecen en forma planctónica. Los fenotipos de las bacterias que crecen en los biofilms son más resistentes frente a diversos antimicrobianos y mantienen esta resistencia incluso cuando se desprenden del biofilm<sup>9\*\*</sup>.

## Señales en el biofilm

Dentro del biofilm, las bacterias tienen capacidad para comunicarse entre ellas, ya sea por medio de señales químicas o incluso mediante transferencia de material genético a través de mecanismos tales como la conjugación, la transformación, la transferencia de plásmidos y la transferencia de trasposones<sup>9\*\*,11</sup>.

Dentro de dicha capacidad comunicativa mediante señales químicas es importante el fenómeno de «Quorum Sensing», es decir, la regulación de la expresión de ciertos genes a través de la acumulación de compuestos de señalización. Esta acumulación de señales químicas depende de la densidad bacteriana. El «Quorum Sensing» puede proporcionar a los biofilms algunas de sus propiedades características, tanto en lo tocante al desarrollo de los mismos, como a la mayor resistencia frente a los antimicrobianos. Por ejemplo, puede promover la expresión de genes codificantes para la resistencia a un determinado antibiótico a partir de cierta densidad celular; tendría también capacidad para influir en la estructura del biofilm, estimulando el crecimiento de especies beneficiosas para el mismo e inhibiendo el crecimiento de las especies competidoras<sup>9\*\*</sup>.

La capacidad que poseen las bacterias de comunicarse entre sí tiene influencia en la resistencia bacteriana frente a los antimicrobianos, en la producción de factores de virulencia y en la estructura del propio biofilm.

## Capacidad adaptativa

Los biofilm deben mantener un equilibrio, por un lado, entre el crecimiento en condiciones favorables en cuanto a aporte de nutrientes y de medio ambiente, y por otro, el mantenimiento de su estructura.

En condiciones desfavorables, el biofilm puede involucionar a estadios anteriores, pero en casi todas las situaciones se mantiene como parte del mismo y unido a la superficie, pudiendo volver a desarrollarse cuando las condiciones mejoran.

## Ventajas de los biofilms

Una vez revisadas las propiedades del biofilm se constata que las bacterias que crecen en esta forma van a presentar una serie de ventajas<sup>6,9\*\*</sup>:

1. Protección frente a agresiones externas y mayor resistencia frente a los antimicrobianos<sup>14,16</sup>.
2. Ventajas nutricionales: aporte de nutrientes y eliminación de desechos.
3. Proporciona un medio ambiente adecuado para el desarrollo bacteriano.
4. Capacidad de intercomunicación entre las bacterias.

## Resistencia frente antimicrobianos

Dentro de estas ventajas, merece la pena destacar la mayor resistencia frente a los distintos antimicrobianos. Esta cualidad puede deberse a:

1. Los antimicrobianos van a llegar en menores concentraciones (concentraciones no efectivas frente a las bacterias) a las zonas profundas del biofilm<sup>8,9\*\*,14</sup>.

2. Las bacterias, al ser atacadas con dosis subletales tienen capacidad para desarrollar resistencia frente a los antimicrobianos (entrenamiento de resistencia con dosis subletales)<sup>8,9\*\*,14</sup>.

3. Al crecer en forma sésil, las bacterias activan genes que proporcionan mayor resistencia frente a los antimicrobianos en comparación con las formas planctónicas<sup>8,9\*\*,14</sup>.

4. En zonas profundas del biofilm, que tienen un menor aporte de nutrientes, las bacterias estarían en forma quiescente, que es un estado bacteriano no susceptible a los antimicrobianos<sup>8,9\*\*,14</sup>.

5. Las bacterias estarían protegidas por la matriz de exopolisacáridos frente a los antimicrobianos<sup>8,9\*\*,14,16</sup>.

Esta mayor resistencia de las bacterias cuando crecen en biofilm se traduce en que, para que sea efectivo, se deben multiplicar incluso por mil las concentraciones necesarias del antimicrobiano. Esto explicaría en parte por qué a veces no concuerdan los resultados clínicos con los resultados obtenidos *in vitro*.

Se ha visto que al crecer en forma sésil, las bacterias presentan mayor resistencia frente a los distintos antimicrobianos, por lo que se puede

cuestionar que los distintos productos de los que disponemos sean realmente útiles. De hecho, se están desarrollando nuevas investigaciones en modelos de boca artificial dirigidos a comprobar la eficacia de los antimicrobianos frente a los biofilms. De entre los distintos colutorios que existen en el mercado, solamente se han publicado estudios sobre colutorios de clorhexidina y colutorios de aceites esenciales, quedando demostrada en ambos casos la capacidad de los mismos para penetrar en el biofilm y producir una acción bactericida suficiente<sup>16</sup>.

## Enfermedades causadas por los biofilms

Al penetrar en el organismo, las bacterias producen una serie de enfermedades infecciosas que pueden clasificarse en:

- **Agudas:** producidas por agentes exógenos, tienen un inicio rápido y se desarrollan en días o semanas. Los microorganismos o sus productos entran en el cuerpo. La infección se suele resolver de forma rápida. Ejemplos de este tipo de infecciones son los abscesos locales producidos por *Staphylococcus aureus*, las infecciones de las vías respiratorias superiores o las infecciones gastrointestinales.

- **Crónicas:** están producidas por microorganismos exógenos que penetran en el organismo y persisten durante largos periodos, ya que las defensas del organismo no son capaces de eliminarlos. La lepra y la tuberculosis son ejemplos de este tipo de infecciones.

- **Retardadas:** los signos y síntomas de la enfermedad no aparecen hasta meses o años tras la infección inicial. Las lesiones producidas pueden persistir toda la vida. Se caracterizan por un inicio poco evidente, para manifestarse posteriormente con otros síntomas y signos. Ejemplo de este tipo de infecciones son la sífilis, la fiebre reumática, la enfermedad de Lyme y úlceras gastrointestinales<sup>9</sup>.

Estos tres tipos de infecciones cumplen los criterios de Koch<sup>8</sup>.

Infecciones producidas por biofilms: la principal característica de estas infecciones es que son causadas por gérmenes presentes fuera del organismo<sup>9\*</sup>. Este tipo de infecciones no cumplen estrictamente los postulados de Koch, sino que existe una asociación estadística entre la presencia del biofilm y la aparición de la enfermedad<sup>8</sup>.

Son varios los tipos de infecciones causadas por biofilms. Podemos destacar las siguientes: endocarditis bacteriana, otitis media, prostatitis crónica, fibrosis quística, y en el ámbito de la cavidad oral, la caries y la periodontitis<sup>8\*,9\*\*,17-19</sup>. El tratamiento de este tipo de infecciones requiere abordaje por medios físicos, antimicrobianos y ecológicos. También se han descrito infecciones en diversos tipos de prótesis: en prótesis totalmente implantadas, como las prótesis valvulares; prótesis parcialmente implantadas, como catéteres endovenosos; y en prótesis no implantadas, como los catéteres urinarios, lentes de contacto y dispositivos intrauterinos. La invasión de estas prótesis por los biofilms obliga a largos tratamientos de combinaciones de antibióticos o incluso a la eliminación de las mismas<sup>6,9\*\*</sup>.

## ¿Cómo actuar frente a los biofilms?

Como se ha comprobado por lo presentado hasta ahora, al organizarse en biofilm, las bacterias se convierten en adversarios a tener en cuenta, pues son más resistentes a las distintas actuaciones encaminadas a combatirlas.

Frente a los biofilms podemos actuar:

1. Evitando o retrasando la aparición de los mismos.

Se pueden realizar cambios en las características físicas y/o químicas de las superficies a las que se adhieren los biofilm, de forma que se impida o retrase la adhesión de los mismos. También se podría actuar sobre el medio líquido de crecimiento del biofilm<sup>9\*\*,10\*</sup>.

Se pueden realizar tratamientos que cambien el medio ambiente bacteriano (tratamiento ecológico), lo que imposibilitaría el desarrollo de determinados biofilms; de esta forma, mediante un buen control de la placa supragingival, se produciría un cambio en las condiciones ambientales subgingivales, dificultando el desarrollo de biofilms patógenos<sup>20</sup>.

2. Una vez el biofilm se ha desarrollado, fundamentalmente podría actuarse de dos formas para eliminarlos:

- por medios físicos.
- por medios químicos.

- Siendo la cavidad oral de fácil acceso, se pueden eliminar los biofilms por medios físicos, bien a nivel supragingival (por medio del cepillado y profilaxis dental), bien a nivel subgingival (por medio de raspado y alisado radicular, o cirugía periodontal).

-A nivel supragingival se pueden utilizar distintos antisépticos, y a nivel subgingival distintos antibióticos y antisépticos. Para que estos productos consigan el mayor efecto posible, sería deseable producir de forma física una desestructuración previa del biofilm<sup>4,13,21,22,23\*,24,25</sup>.

## Estudios sobre la acción de los colutorios en los biofilms

Los distintos colutorios deben pasar una serie de estudios que atestigüen su inocuidad para el ser humano y la eficacia en el control de los biofilms. Hasta el momento, los estudios encaminados a comprobar la eficacia de un determinado colutorio se realizaban, en primer lugar, mediante estudios *in vitro* con bacterias planctónicas. Sin embargo, se ha visto que la forma natural de crecimiento de las bacterias en la cavidad oral es en biofilm, y cabe repetir que éstos presentan mayor resistencia a los antimicrobianos. Por lo tanto, se deben realizar estudios que demuestren la eficacia de los distintos colutorios para penetrar en el biofilm y producir una acción bactericida adecuada. En este sentido se disponen de los siguientes estudios:

### Estudios «in vitro»

De los estudios *in vitro* se pueden destacar los estudios de Fine y col (2001)<sup>16</sup> y de Shapiro<sup>23\*\*</sup>. En el estudio de Fine se investigó la actividad bactericida de distintos colutorios sobre dos cepas de *Actinobacillus actinomy-*

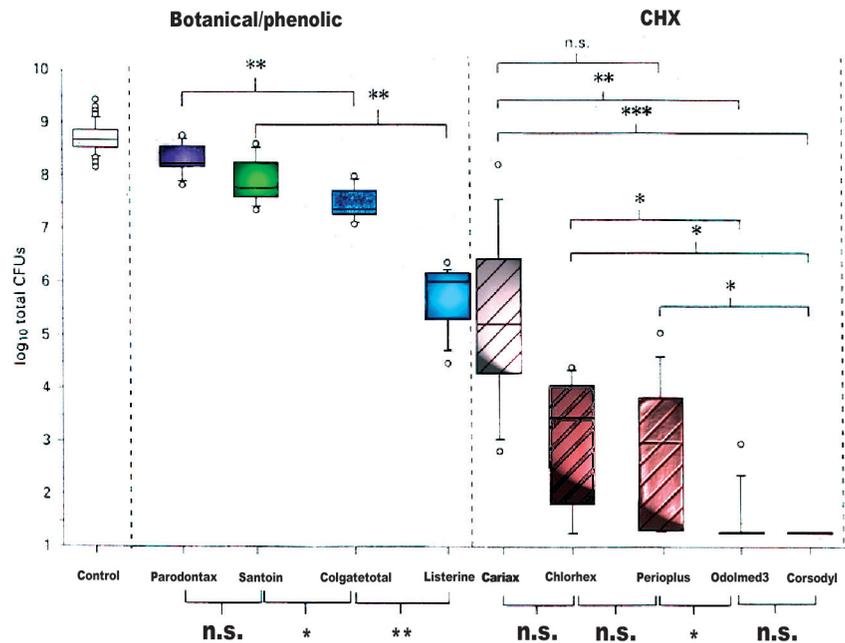


Figura 2. Imagen en boxplots, representa las unidades formadoras de colonias viables tras inmersión durante 1 minuto en 1 ml de los diferentes colutorios.

ns: diferencias no significativas. \*: diferencias significativas con una confianza del 95%.

\*\* : diferencias significativas con una confianza del 99%. \*\*\* :diferencias significativas con una confianza del 99,9%.

cetemcomitans (CU 1000 y NJ 4309), que crecen normalmente en forma sésil, pero que de forma espontánea pueden crecer en forma planctónica, (variantes CU1060 y NJ4350). Este autor observó que todos los colutorios estudiados (aceites esenciales, fluoruro estañoso y triclosán) son capaces de eliminar el 99,99% de las formas planctónicas, pero sólo los aceites esenciales son capaces de eliminar el 98,20% y el 96,47% de las cepas sésiles CU1000 y NJ4309.

En el estudio de Shapiro (fig. 2), que comparó la capacidad bactericida de distintos colutorios en un modelo de boca artificial frente al agua destilada. Se observó que todos los colutorios estudiados produjeron una reducción

en el número de unidades formadoras de colonias estadísticamente significativa si se comparaba con el agua destilada. Los colutorios basados en los extractos de plantas son los que presentaron menor actividad (reducciones del orden de 0,5 y 1 log10 unidades formadoras de colonias, que representaba una reducción del 6% respecto del placebo). El colutorio de triclosán mostró unos resultados que se encontraron entre los obtenidos por los extractos de plantas y los aceites esenciales. En general, los colutorios de aceites esenciales presentaron una actividad bactericida menor que los que contenían clorhexidina, pero tan efectiva como alguna de las clorhexidinas que se encuentran en el mercado (con los

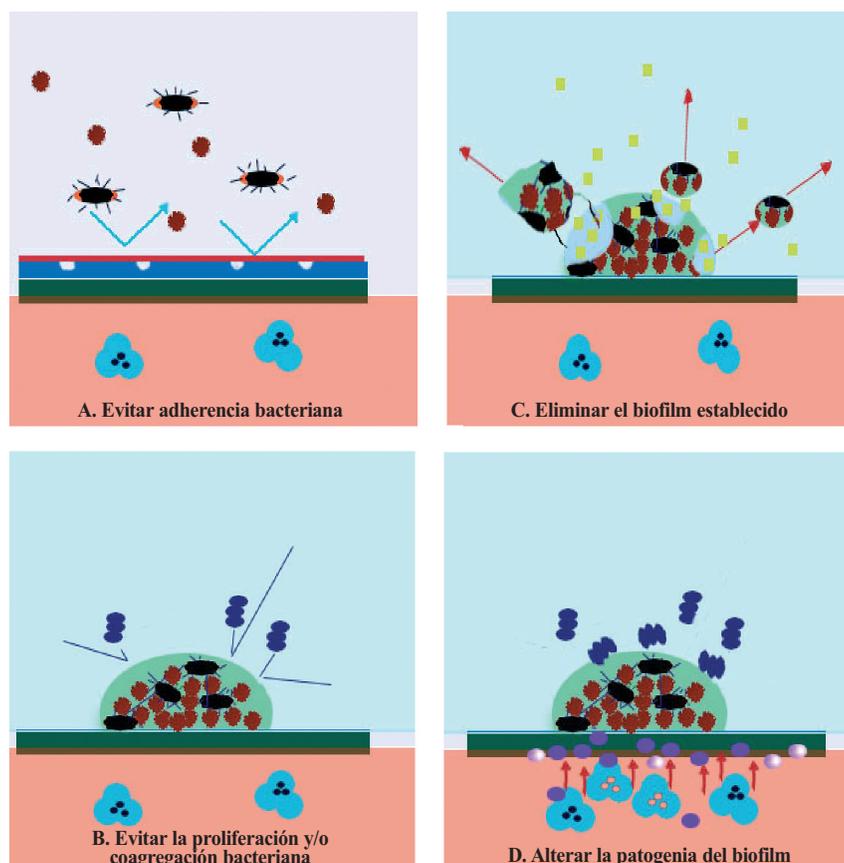


Figura 3. Mecanismos de actuación de los colutorios sobre los biofilms.

aceites esenciales se consiguieron reducciones del orden de  $>3 \log_{10}$  unidades formadoras de colonias, que representa una reducción del 35,4 % respecto del placebo). Los colutorios de clorhexidina son los que mostraron mayor efecto bactericida, pero no todas las marcas comerciales presentaron la misma eficacia, dependiendo de la formulación con la que se fabricaron. Los resultados obtenidos por Shapiro para los distintos colutorios de clorhexidina que se ofertan en el mercado están de acuerdo con los obtenidos por Herrera y cols<sup>26</sup>, en cuyo estudio también se observaron diferencias en la efectividad de la clorhexidina

dependiendo de la formulación en la que se presente. En cuanto a los colutorios de hexetidina, el rango de resultados fue muy amplio, pero menor que los resultados obtenidos por la clorhexidina y mayor que triclosán y los colutorios de extractos de plantas<sup>23\*\*</sup>.

### Modelos de estudio «in vivo»

Una vez que un determinado colutorio muestra su eficacia en los estudios *in vitro*, el siguiente paso consiste en observar la efectividad de los mismos en modelos de estudio *in vivo* para analizar las posibles interacciones del producto con el medio

bucal, con la saliva, con otros productos utilizados en la higiene bucal, la sustantividad del producto, etc.

Dentro de los estudios *in vivo* destacan los estudios de Pan, Netuschil y Arweiler<sup>22,24,27\*-29\*</sup>. En este tipo de estudios se pidió a una serie de voluntarios que se abstuviesen de cualquier tipo de higiene bucal durante un periodo de tiempo (de uno a tres días), transcurrido el cual se les solicitó que se enjuagaran, bien con el colutorio test, bien con uno placebo, durante unos segundos. Se recogieron muestras de placa dental de los voluntarios, se dejó un tiempo de aclaramiento (una semana) y se repitió el proceso cambiando la asignación de los colutorios. Las muestras de placa recogidas se tiñieron mediante un proceso que mostró la vitalidad de las bacterias presentes en la placa. Así, en los estudios de Pan se encontró que los colutorios de aceites esenciales fueron capaces de producir una mortalidad del 78,7% de las bacterias frente al 27,9% producido por el colutorio control (suero salino). En los estudios de Netuschil se mostró que los colutorios de clorhexidina fueron capaces de penetrar en el biofilm y tener gran capacidad bactericida. En los estudios de Arweiler, se observó que la capacidad de los colutorios formulados con triclosán poseen muy poca capacidad para disminuir la vitalidad del biofilm, y que la actividad de los colutorios de clorhexidina dependió de la formulación de los mismos<sup>22,24</sup>.

### Ensayos clínicos a seis meses

Hay que señalar, por último, que para validar el uso de un determinado colutorio de uso domiciliario es neces-

sario realizar ensayos clínicos que sigan los criterios de la ADA<sup>21</sup>, es decir:

- La población de estudio debe representar a los usuarios del producto.
- El producto de estudio debe ser usado en un régimen normal y debe existir un control, bien negativo, o placebo, o un control positivo.
- Debe ser un estudio paralelo o cruzado.
- Los estudios deben tener como mínimo seis meses de duración.
- Se requieren, por lo menos, dos estudios realizados por investigadores independientes.
- Deben tomarse muestras microbiológicas para estudiar la placa no sólo cuantitativamente, sino también cualitativamente.
- Deben tomarse índices de placa y gingivitis al inicio, a los seis meses y en un periodo intermedio.
- Comprobar los posibles efectos secundarios que pudieran surgir<sup>30\*</sup>.

De los colutorios que existen en el mercado, solamente los aceites esenciales y la clorhexidina disponen de este tipo de estudios y han obtenido resultados favorables en cuanto a la reducción de los índices de placa y gingivitis, y por lo tanto han sido aceptados por la ADA<sup>21</sup>.

## Conclusiones

1. Las bacterias se organizan en la cavidad oral en forma de biofilms.
2. Las bacterias en los biofilms presentan mayor resistencia frente a los antimicrobianos. Esta mayor resistencia se debe, fundamentalmente, a la acción protectora de la matriz y a la expresión de unos fenotipos más resistentes. Para que los antimicrobianos consigan el mayor efecto posible debe realizarse una desestructuración previa del biofilm por medios físicos (cepillado, uso de hilo dental, profilaxis, raspado y alisado radicular, etc.)
3. Los estudios *in vitro* realizados hasta ahora fueron realizados en bacterias con fenotipos planctónicos, que no simulan las condiciones del biofilm. Los estudios *in vitro* deberían realizarse en modelos artificiales de los biofilms bucales o «bocas artificiales». Se han realizado algunos estudios en los que se investiga la acción de algunos colutorios en bocas artificiales. El resultado de estos estudios muestra que los colutorios con clorhexidina siguen siendo los más efectivos en su acción bactericida sobre el biofilm, pero no todos los colutorios con clorhexidina muestran la misma

efectividad, dependiendo de la formulación que presenten. Otros colutorios (aceites esenciales, octenidina, fluoruro estañoso, hexetidina) muestran una correcta acción bactericida, pero menor que la clorhexidina. Los colutorios con extractos de plantas y los colutorios con triclosán muestran una actividad bactericida escasa en este tipo de estudios.

4. Además de los estudios *in vitro*, se deben realizar modelos de estudios *in vivo* a corto plazo para observar las interacciones de los colutorios con el medio bucal (sustantividad del producto, interacción con los componentes de la saliva, interacción con otros productos de la higiene bucal, etc). De los estudios *in vivo* realizados, los aceites esenciales y la clorhexidina han demostrado su eficacia para penetrar en el biofilm y presentar acción bactericida.

5. Los colutorios de uso domiciliario deben demostrar su eficacia mediante ensayos clínicos de una duración mínima de seis meses que cumplan las normas de la ADA. Actualmente sólo los colutorios con aceites esenciales y los colutorios con clorhexidina, han mostrado resultados positivos en este tipo de estudios y han sido aprobados por la FDA.

## Bibliografía recomendada

Para profundizar en la lectura de este tema, el/los autor/es considera/an interesantes los artículos que aparecen señalados del siguiente modo: \*de interés \*\*de especial interés.

1. Fine DH. **Mouthrinses as adjuncts for plaque and gingivitis management. A status report for the American Journal of Dentistry.** Am J Dent 1988;1:259-63.
- 2.\* Bemimoulin JP. **Conceptos recientes sobre formación de placa.** J Clin Periodontol 2003;30:7-9.  
La placa dental es un biofilm bacteriano adherente. Es el agente etiológico principal de las enfermedades periodontales. Los datos disponibles muestran que los colutorios de clorhexidina y los de aceites esenciales tienen los mejores efectos antimicrobianos.
3. Marsh PD. **Dental plaque as biofilm.** J Industrial Microbiology 1995;15:169-75.
4. Marsh PD. **Physiological approaches to the control of oral biofilms.** Adv Dent Res 1997;11:176-85.
5. Costerton JW, Khoury AE, Ward KH, Anwar H. **Practical measures to control device-related bacterial infections.** Int J Artif Organs 1993; 16:765-70.
6. Costerton JW. **Biofilms, the customized micro-niche.** J Bacteriology 1994;176:2137-42.

7. Costerton JW, Cheng KJ, Geesey GG, Ladd TI, Nickel JC, Dasgupta M et al. **Bacterial biofilms in nature and disease.** *Annu Rev Microbiol* 1987;41:435-64.
- 8\*. Donlan, Costerton JW. **Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms.** *Clinical Microbiology Reviews* 2002; 167-93.  
Artículo de lectura recomendable para saber en qué consisten los biofilms, cuál es su estructura, por qué presentan mayor resistencia frente a los antimicrobianos, enfermedades relacionadas con los mismos y cómo combatirlos.
- 9\*\*. Socransky SS, Haffajee AD. **Biofilms dentales: objetivos terapéuticos difíciles.** *Periodontol* 2000 2003;3:12-55.  
Definición y características de los biofilms. Biofilms orales que conducen a enfermedades periodontales. Tratamiento de los biofilms periodontales.
- 10\*. Quirynen M, Bollen CM. **The influence of surface roughness and surface-free energy on supra- and subgingival plaque formation in man. A review of the literature.** *J Clin Periodontol* 1995;22:1-14.  
Factores que influyen en la formación de los biofilms.
11. Sbordone L, Bortolaia C. **Oral microbial biofilms and plaque-related diseases: microbial communities and their role in the shift from oral health to disease.** *Clin Oral Investig* 2003; 7:181-8.
12. Landa AS. **Detachment of linking film bacteria from enamel surfaces by rinses and penetration of sodium lauryl sulphate through an artificial oral biofilm.** *Adv Dent Res* 2004; 11:528-38.
13. Baehni PC. **Anti-plaque agents in the prevention of biofilm-associated oral diseases.** *Oral Diseases* 2003; 9(suppl 1):23-9.
14. Xu KD. **Biofilm resistance to antimicrobial agents.** *Microbiology* 2000 2004; 146:547-9.
15. Marquis RE. **Oxygen metabolism, oxidative stress and acid-base physiology of dental plaque biofilms.** *J Ind Microbiol* 1995;15:198-207.
16. Fine DH, Furgang D, Barnett ML. **Comparative antimicrobial activities of antiseptic mouthrinses against isogenic planktonic and biofilm forms of *Actinobacillus actinomyces-temcomitans*.** *J Clin Periodontol* 2001;28:697-700.
17. Chen C. **Periodontitis as a biofilm infection.** *J Calif Dent Assoc* 2001;29:362-9.
18. Darveau RP, Tanner A, Page RC. **The microbial challenge in periodontitis.** *Periodontol* 2000 1997;14:12-32.
19. Noiri Y, Ehara A, Kawahara T, Takemura N, Ebisu S. **Participation of bacterial biofilms in refractory and chronic periapical periodontitis.** *J Endod* 2002; 28:679-83.
20. Dahlen G. **The effect of supragingival plaque control on the subgingival microbiota in subjects with periodontal disease.** *J Clin Periodontol* 1992;19:802-9.
21. Barnett ML. **The role of therapeutic antimicrobial mouthrinses in clinical practice: control of supragingival plaque and gingivitis.** *J Am Dent Assoc* 2003;134:699-704.
22. Arweiler NB. **Efficacy of an amine fluoride-triclosan mouthrinse as compared to the individual active ingredients.** *J Clin Periodontol* 2003;30:192-6.
- 23\*\*. Shapiro S. **An *in vitro* oral biofilm model for comparing the efficacy of antimicrobial mouthrinses.** *Caries Res* 2002; 36(2):93-100.  
Estudio *in vitro* sobre la capacidad de distintos colutorios para actuar sobre un modelo *in vitro* de un biofilm oral.
24. Arweiler NB. **Alcohol-free mouthrinse solutions to reduce supragingival plaque regrowth and vitality. A controlled clinical study.** *J Clin Periodontol* 2001;28:168-74.
25. Newman HN. **The rationale for chemical adjuncts in plaque control.** *Int Dent J* 1998; 48:298-304.
- 26\*. Herrera D, Roldán S, Santacruz I, Santos S, Masdevall M, Sanz M. **Differences in antimicrobial activity of four commercial 0.12% chlorhexidine mouthrinse formulations: An *in vitro* contact test and salivary bacterial counts study.** *J Clin Periodontol* 2003;30:307-14.  
Estudio sobre la capacidad de distintas formulaciones de clorhexidina para actuar sobre las bacterias.
- 27\*. Pan P. **Determination of the *in situ* bactericidal activity of an essential oil mouthrinse using a vital stain method.** *J Clin Periodontol* 2000;27:256-61.  
Estudio sobre la capacidad de los aceites esenciales para penetrar en el biofilm y ejercer una acción antimicrobiana.
28. Netuschil L. **Plaque bacteria counts and vitality during chlorhexidine, meridol and listerine mouthrinses.** *Eur J Oral Science* 2004; 103:355-61.
- 29\*. Ouhayoun JP. **Penetrating the plaque biofilm: impact of essential oil mouthwash.** *J Clin Periodontol* 2004; (suppl. 5):10-12.  
Este artículo analiza la capacidad de los colutorios de aceites esenciales para penetrar en el biofilm y realizar una acción antimicrobiana.
- 30\*. Council of Dental Therapeutics. **Guidelines for acceptance of chemotherapeutic products for the control of supragingival dental plaque and gingivitis.** *J Am Dent Assoc* 1986;112: 529-32.  
Características de debe tener un estudio para poder validar un producto de uso en el hogar.