

(00401)

COLEGIO ODONTOLOGICO COLOMBIANO
FACULTAD DE ODONTOLOGIA

CLORHEXIDINA POSTTRATAMIENTO EN PACIENTES CON
PROSTODONCIA

PRESENTADO A:
DR. JORGE HERNANDO ARANGO M.

PRESENTADO POR:
GRUPO # 1

SANTAFE DE BOGOTA, D.C., NOVIEMBRE 18 DE 1993

50
UPL

INTEGRANTES

872029 Clemencia Murillo C. ✓

881078 Angela Bocarejo L. ✓

882027 Federico Lamus U. ✓

882050 Diana Fajardo E. ✓

882096 Francisco Arias M. ✓

891035 Alexandra Arévalo V. ✓

891052 Piedad Angarita T. ✓

891057 Monica Rolón C. ✓

891069 Yudi Castro Ch. ✓

891091 Dora Arroyo V. ✓

DEDICACION

El presente trabajo esta dedicado a nuestros padres, ya que gracias a ellos y a su esfuerzo hemos logrado alcanzar una meta más dentro de las tantas que tenemos en nuestras vidas y creemos es la mejor manera de retribuirles su dedicación , amor, bondad y comprensión durante el tiempo que permanecemos en esta facultad.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a todas las personas que nos colaboraron para la realización del presente trabajo. especialmente:

A Dr. Fredy Osorio. Coordinador X semestre Colegio Odontológico Colombiano.

A Dra. Monica de Arango. Jefe de sección de Periodoncia Colegio Odontológico Colombiano.

A Dra. Olga Villamizar. Jefe de sección microbiología Colegio Odontológico Colombiano.

Al Laboratorio de investigación clínica . Dra Gladys Laverde de Arbelaez.

TABLA DE CONTENIDO

	Pag.
1. INTRODUCCION	2
2. OBJETIVOS	5
3. REVISION DE LITERATURA	6
4. MATERIALES Y METODOS	17
5. RESULTADOS	19
6. DISCUSION	20
7. CONCLUSIONES	23
BIBLIOGRAFIA	

CLORHEXIDINA POSTTRATAMIENTO EN PACIENTES CON
PROSTODONCIA

INTRODUCCION

El análisis epidemiológico realizado por Greenstein (1) reporta que la prevalencia universal de la gingivitis fluctúa entre el 50 y 100%.

Mientras que los factores específicos bacterianos o de respuesta del huésped, que determina la conversión de gingivitis a periodontitis no esten completamente clarificados, la prevención y control de la enfermedad periodontal debe estar basada en una regular y completa remoción de la placa bacteriana, Loe 1973 (2) enfatizo acerca del control químico de dicha placa.

De acuerdo al autor el control químico incluye:

1. La inhibición del desarrollo de la placa.
2. La inhibición de la colonización bacteriana sobre el diente.
3. La eliminación de toda la placa existente.
4. La conversión de placa "patógena" en placa "no patógena".

Un efectivo control químico de la placa consiste en una total eliminación o inhibición del desarrollo de la misma. Si esto no es posible, por lo menos controlar el desarrollo de la placa hasta el punto en que los parametros clínicos utilizados para monitorear la respuesta del huésped sean sustancialmente mejorados.

Numerosas investigaciones han comparado la efectividad reductora de placa y gingivitis entre los diversos agentes químicos disponibles para tal fin, ofreciendo un común denominador en los resultados de dichas investigaciones con una marcada ventaja de la clorhexidina sobre los otros agentes antiplaca.

Jenkins y Col (3) mediante estudios de microscopía electrónica, determinaron que la molécula de clorhexidina capaz de ofrecer actividad antiplaca, es aquella que se adsorbe al esmalte y no la encontrada en saliva o en mucosa oral.

Teniendo en cuenta que el paciente periodontalmente afectado usualmente ha perdido dientes y ha requerido de rehabilitaciones mediante coronas y puentes, las cuales eliminan el esmalte dental, el proposito de esta investigación es determinar el comportamiento de la

clorhexidina sobre el metal, la porcelana y el acrilico utilizados en la fabricación de los aparatos protésicos.

2. OBJETIVOS

Conocer mediante un experimento clínico la incidencia que tiene la clorhexidina sobre la inhibición en el crecimiento de las bacterias que se adhieren a restauraciones.

Además estudiar el tiempo de acción después de terminada su administración, realizando un conteo microbiológico por medio de microscopia de luz.



3. REVISION DE LITERATURA

Investigaciones realizadas por Briner, Siegrist, Overholser (4) para comparar la efectividad reductora de la placa con agentes químicos califican a la clorhexidina como el más ventajoso entre todos los agentes, Jenkins (3) con cultivos bacterianos y microscopia electrónica determino que la molécula capaz de ofrecer actividad antiplaca es la que se adsorbe al esmalte y no la encontrada en la saliva y mucosa, esto gracias a su estructura química que forma parte de los antimicrobianos denominados polibiguanidas y gracias a su hidrosolubilidad y Ph neutro facilita su liberación y capacidad de ejercer efecto bactericida por la capacidad de su molécula catiónica de fijarse a las paredes bacterianas cargadas negativamente ocasionando desequilibrio osmótico.

Mayor sensibilidad se ha encontrado en microorganismos gram positivos afectandose mas el estreptococo que el estafilococo; aunque la afección varia de acuerdo a la

subespecie bacteriana, por ejemplo el estreptococo mutans es mas sensible que el estafilococo sanguis. (5)

La adsorción de la clorhexidina se ha determinado aproximadamente en un 30% utilizandola marcada de forma radioactiva, con enjuagatorios con 10ml de clorhexidina al 0.2% durante un minuto. (6) Seguida a la adsorción se lleva a cabo una liberación en lapso de 24 horas; pero Jenkins y col (3) demostraron que aunque se presente una liberación progresiva o continuada de la droga, la única capaz de ofrecer efectos antiplaca, es la que se adsorbe al esmalte y no a las moléculas encontradas en la saliva, puesto que estas estan ya unidas a un componente celular.

Dentro de las ventajas mas apreciabiles de la clorhexidina esta su baja toxicidad, ya que es poco adsorbido por el tracto gastrointestinal cuando es ingerida. (7); estableciendose que aproximadamente 4% de la solución usada en un enjuagatorio es ingerida; lo mismo la totalidad de la droga adsorbida (8). El 90% de la droga ingerida se excreta por las heces y el 10% restante lo hace por el tracto urinario; no hay reporte alguno que certifique la presencia de productos contaminantes que son potencialmente peligrosos para el organismo, como lo es la paracloranilina que se obtiene cuando esta se somete a elevadas

temperaturas (9). La dosis letal media en monos a los cuales se les ha administrado clorhexidina por via oral se ha reportado en 1800 mg / Kg. Dificil de predecir en humanos, pero homologando valores en un adulto de 70Kg, la dosis letal seria de (70×1800) 126000mg.

En cuanto ha sus indicaciones clinicas podemos dividirlas en:

1. Aplicaciones a corto plazo:

- a. Antes y después de cirugia durante dos semanas. (10)
- b. Posterior a colocación de protesis inmediatas. (11)
- c. Durante terapia de lesiones aftosas. (12)
- d. Durante la terapia para estomatitis por dentaduras.
(13)
- e. Durante terapia de GUN y PUN. (11)
- f. Durante tratamiento periodontal bajo supervisión odontológico.

2. Aplicaciones intermitentes:

- a. Prevención de recidivas estomatiticas. (14)
- b. Pacientes física y mentalmente incapacitados.
- c. Pacientes con altos indices cariogénicos.
- d. Implantes dentales. (15)

3. Aplicaciones a largo plazo:

Se realizan aplicaciones en geles durante seis meses con profilaxis semestrales en pacientes con resistencia disminuida al ataque bacteriano, por cualquiera de las siguientes razones:

Agranulocitosis, leucemia, hemofilia, trombocitopenia, insuficiencia renal, mieloma, sida, pacientes tratados con citotóxicos, artritis reumatoidea, esclerodermia, alteraciones en la capacidad motriz y coordinación muscular. Su aplicación clínica se adaptara de acuerdo a las necesidades del paciente como lo son pacientes con prótesis fija extensa y con aparatología de ortodoncia.

Los métodos de aplicación clínica varían en concentración, como en su utilización, dentro de estos tenemos:

1. Enjuagatorios: es el método más comúnmente usado según los reportes, demostrando que su utilización a diferentes intervalos durante 21 días y en ausencia de remoción mecánica de placa bacteriana disminuyen el desarrollo de gingivitis (16), aunque Mendel (17) señala que Flotra y col en 1972 fueron quienes usaron como prueba la clorhexidina como suplemento del cepillado y se encontraron grandes valores de reducción de placa y mayor aún, si el paciente era sometido con anterioridad a raspaje y alisado

radicular.

Se han realizado estudios a largo plazo, para determinar la actividad de la clorhexidina encontrándose que al compararlo con un placebo, los resultados indican:

- a. Reducción de placa entre 30 - 50%.
- b. Ligera resistencia bacteriana.
- c. Ausencia de alteraciones sistémicas acompañantes al uso de la clorhexidina.
- d. Ausencia de cambios estructurales y funcionales de la mucosa oral, lengua, glandulas salivares y orofaringe. (18, 19, 20, 21, 22).

Con el propósito de investigar efectos a largo plazo de la clorhexidina se experimento en perros Beagle, la utilización de un aerosol de clorhexidina al 0.2%, tres veces al día durante cinco años, comparandolo con un grupo control al cual se le aplicaba el aerosol con agua, se determino que esta es efectiva en la prevención de la progresión de la enfermedad periodontal en perros (23).

En cuanto a la concentración de la clorhexidina las más usadas son al 0.2% y 0.12%; su efectividad con respecto a otros agentes antiplaca se evalua obteniendo como resultado una gran disminución de placa y gingivitis con respecto al

listerine. Segun Siegrist y col (24) se presenta mayor reducción en el número de colonias usando clorhexidina en comparación con el listerine (25).

2. Irrigadores orales: Lang y col (26) señalan que si la concentración de clorhexidina se reduce en el enjuagatorio para disminuir la pigmentación, el potencial reductor de placa también se va a ver disminuido es por eso que se puede compensar mediante el incremento de dosis por medio de irrigadores orales. Generalmente la indicación de este método de aplicación se hace con pacientes incapacitados en los cuales se determino una buena efectividad antiplaca, de esta manera su actividad aumenta si se utiliza como coadyudante al tratamiento periodontal convencional.

3. Irrigación subgingival: Greenstein y col (1) encontraron que habia muy poca reducción en la inflamación en pacientes con profundidades de bolsa superior a 3 mms, cuando estos utilizaban enjuagatorios dado a que se creaba un gradiente osmótico por el fluido gingival impidiendo la entrada de las soluciones, por esto Hardy y col (27) utilizaron una aguja de 3mm con solución tinturante por debajo del margen gingival y realizaron biopsias encontrando que esta si alcanzaba el fondo de las bolsas mas profundas. La utilización de irrigación subgingival con clorhexidina al

0.2% provee gran efectividad y puede ser un método eficaz para prolongar la periodicidad de las visitas de mantenimiento. Aunque Khool y col (28) compararon la efectividad de la clorhexidina con el metronidazol durante su utilización diaria durante tres meses, se prefirió el metronidazol para disminuir las unidades formadoras de colonias cuando la flora subgingival sea dominada por espiroquetas, mientras que se opte por la clorhexidina cuando el predominio bacteriano está dado por bacilos móviles.

4. Aplicación en gel: Es de los métodos menos estudiados según Kristoffersen y col (29) pero útiles para mantener niveles altos de higiene oral incorporándola a las cremas o a geles. Budtz y col (12) reportaron la utilización de clorhexidina al 1% una o dos veces diarias por cinco minutos en cubetas individuales resaltando su efectividad para tratar candidiasis oral y para disminuir las pigmentaciones en las restauraciones fijas.

Dentro de los efectos colaterales tenemos:

1. Pigmentación: Según Loe y col (18) reportan que luego del uso de clorhexidina por dos años, el efecto colateral más frecuente es la aparición de una mancha amarilla parduzca sobre todo el diente y aún sobre la lengua, aunque

su mecanismo exacto es desconocido, según Rolla y col (30) señalan que tiene gran importancia la dieta que lleve el paciente como por ejemplo la ingesta de café, té y vino que contienen sulfato férrico y ácido tánico. Eriksen y col (31) propusieron tres mecanismos para la aparición de las manchas: a. Una variación no enzimática que permite la

formación de sustancias tinturantes conocidas como melanoidinas, siendo catalizada por sustancias con un Ph alto como la clorhexidina.

b. Formación de sulfuros metálicos como resultado de la denaturalización de las proteínas de la película por la clorhexidina, con la consecuente generación de grupos sulfhidrilos que reaccionan con los metales introducidos en la cavidad oral.

c. La clorhexidina favorece la precipitación de cromógenos de la dieta contenidos en gran cantidad de comidas y bebidas.

2. Alteración en la percepción gustativa: Lang y col (32) realizaron un estudio pendiente a determinar que tipos de sabores se alteran al usar enjuagues con clorhexidina al 0.2% dos veces al día . Analizando sabores dulce, salado, ácido y amargo se obtuvieron como resultado que la

única alteración que se produce es a nivel de la percepción del cloruro de sodio por fijación de la molécula de clorhexidina a las papilas gustativas, disminuyendo el estímulo sensorial del cloruro de sodio, sin presentarse alteración en los otros sabores. Esta alteración es corporal y se normaliza una vez termina la terapia con clorhexidina.

3. Lesiones descamativas y efectos citopatológicos: Lang y Brex (11) comentan que los primeros reportes acerca de las lesiones descamativas consecuentes al uso de la clorhexidina se han relacionado con una hipersensibilidad al medicamento y que al cesar su administración desaparece la descamación epitelial y el dolor que la acompaña. Lindhe y col (10) compararon los cambios microvasculares producidos por la aplicación de clorhexidina al 0.2% sobre carrillos sanos y abrasionados en hamsters, deduciendo que la clorhexidina no induce a desordenes microvasculares en tejido conectivo subyacente de un epitelio sano, mientras que en un epitelio ulcerado causa hemólisis, granulocitosis intravascular y formación de trombos; señalando que la clorhexidina es incapaz de atravesar un epitelio oral sano.

Gabler y col reportaron concentraciones medulares de clorhexidina que fluctuaban entre 0.01 y 0.02% que son

citotóxicas para el neutrófilo, como para los glóbulos rojos; puntualizando que el suero ejerce una acción protectora contra los efectos citotóxicos de la droga; cosa que no hace la saliva, si la concentración de clorhexidina se encuentra por debajo de la concentración citotóxica (0.01%) estimula al neutrófilo para un marcado incremento en la producción de superóxido de hidrógeno, hecho este que disminuye la rata de cicatrización.

4. Carcinogénesis asociada: La presencia de paracloroanilina se da exclusivamente si la clorhexidina ha sido sometida a altas temperaturas y algunos reportan que una solución de clorhexidina al 4% genera 51 mgs de paracloroanilina por litro; mientras que la Federación Dental Americana, ha indicado como cantidad máxima permisible 100 mgs por litro.

5. Resistencia Bacteriana: Greenstein y col (1) señalan que la resistencia bacteriana a ciertas drogas aparece como resultado de la formación de mutantes debido a alteraciones cromosómicas o a través de transferencia de información genética por conjugación. Los agentes microbianos proveen un medio que conduce el crecimiento de cepas menos susceptibles; Schiott y col encontraron que las cepas de estafilococos sanguis fueron las que mayor resistencia

desarrollaron al fármaco y la creación de mutantes resistentes a la clorhexidina es poco frecuente.

La efectividad de la clorhexidina no altera la reducción de placa y gingivitis a pesar de que se presente una disminución en la sensibilidad bacteriana, afectando principalmente los microorganismos aeróbicos y facultativos (18).

Baker y col indicaron la ausencia de actividad de la clorhexidina contra enzimas o receptores bacterianos específicos, ya que su modo de acción ocasiona una perturbación generalizada de la membrana, ofreciendo menores oportunidades a las cepas microbianas de desarrollar resistencia.



4. MATERIALES Y METODOS

Se utilizarón 10 pacientes voluntarios, estudiantes de odontología; distintos a los integrantes de este grupo, sistemicamente sanos y sin antecedentes de antibiotico-terapia durante los ultimos seis meses.

4.1 Materiales

Placa lingual acrílica que se extiende desde los segundos molares inferiores, sostenida en los primeros molares con ganchos de adams.

Sobre estas placas se utilizaron:

- a. Un trozo rectangular de spartan de 3 x 5mm.
- b. Un trozo cuadrado de porcelana Vita de 3 x 3mm.
- c. Un trozo cuadrado de acrílico sobre la placa acrílica, fijados por medio de retenciones y con refuerzos de Cianoacrilato.

4.2 Métodos

Para realizar el estudio se dividio en dos etapas:

1a. Etapa

Los pacientes utilizaron la placa durante ocho días,

previamente esterilizadas en autoclave; se instauraron las siguientes técnicas de higiene oral: Se retirara la placa exclusivamente para comer y para el cepillado colocandose dos veces al día bajo un chorro de agua sin sin realizar ningun procedimiento mecánico para remover la placa. Pasados estos ocho días se realizará el conteo microbiológico para establecer niveles basales de placa sobre las superficies de la placa acrílica.

2a. Etapa

Los pacientes utilizaran 10ml de clorhexol, cada 12 horas luego del desayuno y la comida durante un minuto, por ocho días consecutivos, al final de los cuales se realizaran conteos microbiológicos retirando las placas con diferentes intervalos de tiempo al finalizar el octavo día de utilización del enjuagatorio. El primer conteo se realizara a las ocho horas, el siguiente a las 24; el tercero a las 48 horas, el cuarto a las 72 horas, el quinto a las 96 horas de finalizado el último enjuagatorio con al clorhexol. Se realizaran las mismas técnicas de higiene oral en los pacientes durante la utilización del enjuagatorio y los días posteriores a su finalización.

5. RESULTADOS

CONTEOS DE UFC
BASAL

CONTEOS DE UFC
FINAL

	METAL	FORCE- LANA	ACRILI CO	METAL	FORCE- LANA	ACRILI CO
12h	10.000	9.000	11.000	3.000	3.500	3.000
24h	6.000	9.000	9.000	2.500	3.000	3.500
48h	7.500	7.500	9.500	9.000	8.000	11.000
72h	8.500	5.000	9.000	9.000	5.500	9.000

COMPARACION CONTEO BACTERIAS

Basal vs 12 h (promedio)

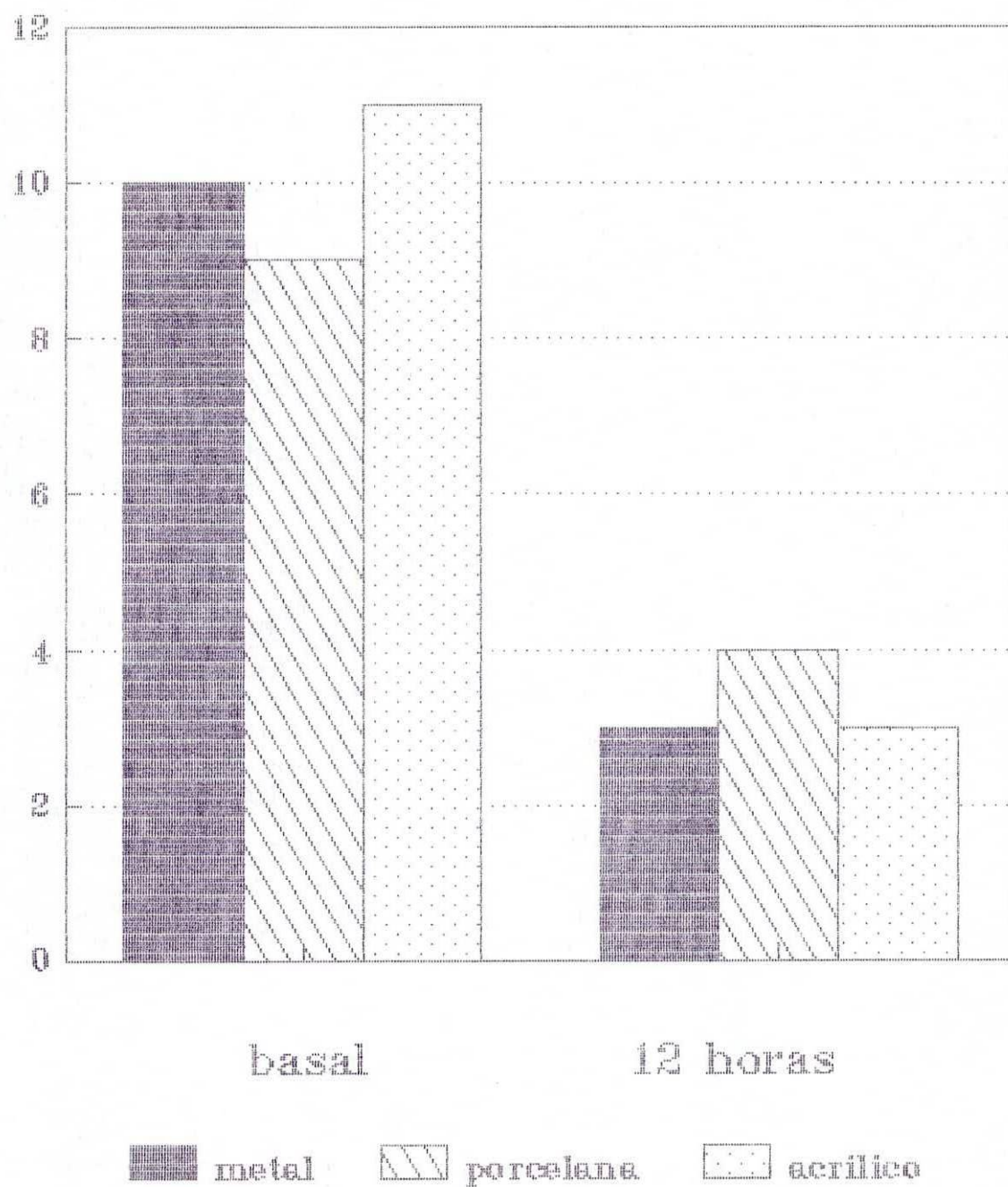


figure 1

COMPARACION CONTEO BACTERIAS

Basal vs 24h (promedio)

UFC ($\times 1000$)

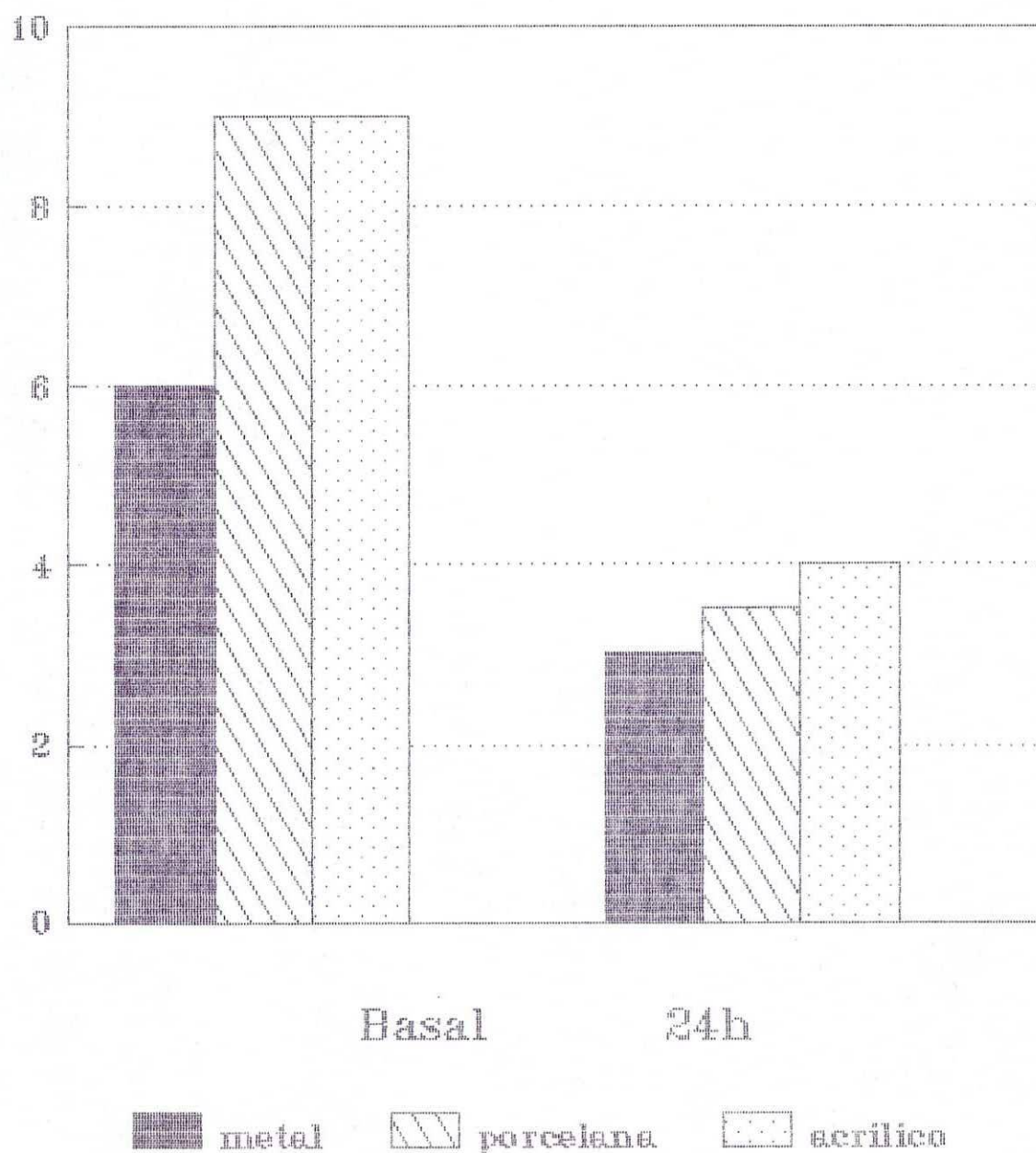


figure 2

COMPARACION CONTEO BACTERIAS

Basal vs 48h (promedio)
UFC ($\times 1000$)

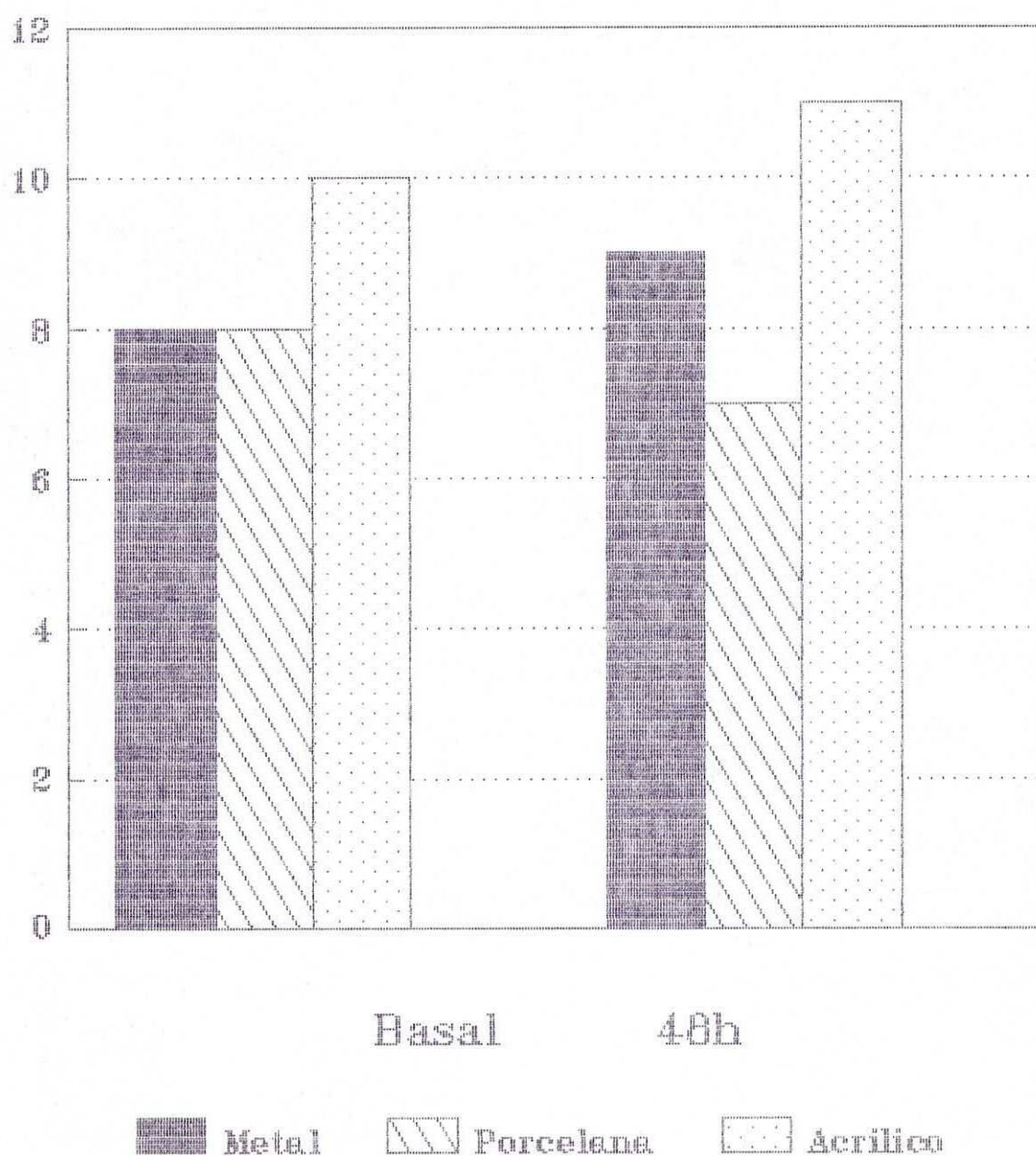


figura 3

COMPARACION CONTEO BACTERIAS

Basal vs 72h (promedio)

UFC (x1000)

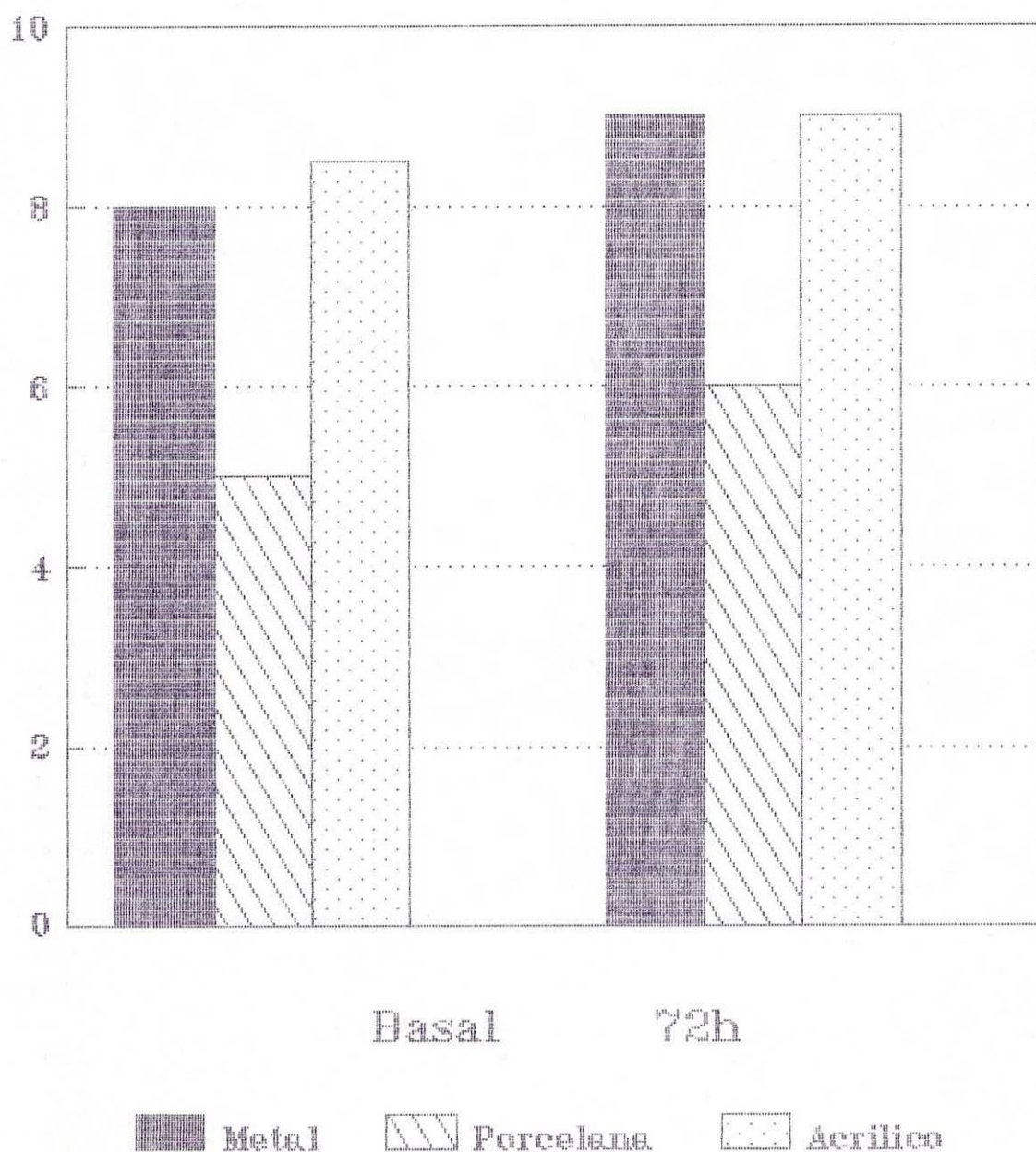


figura 4

REDUCCION PORCENTUAL PROMEDIO

Bacterias (UFC)

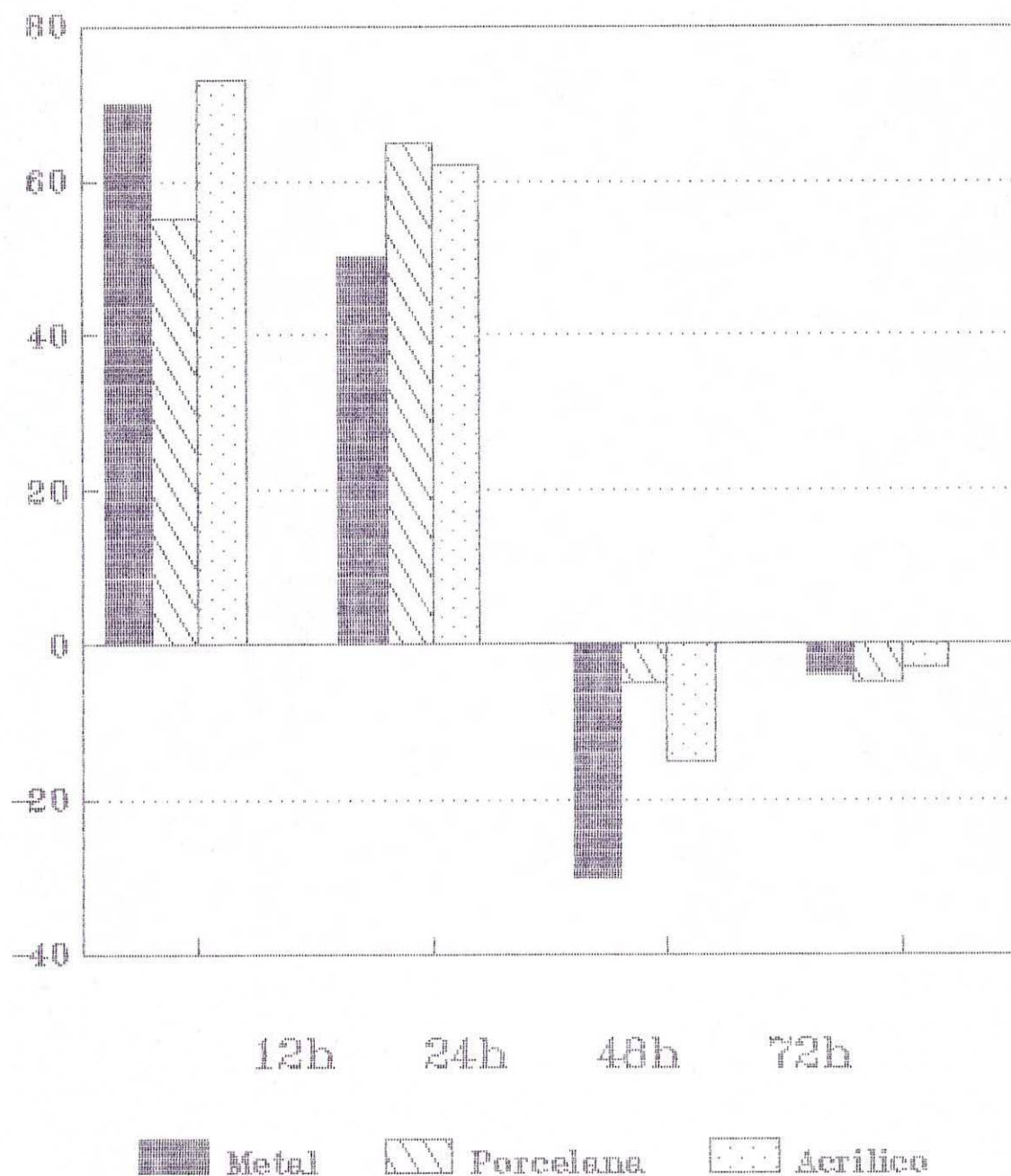


figura 6

6. DISCUSION

Este estudio utilizando cultivos bacterianos ha demostrado que la inhibición de la placa sobre metal, porcelana y acrílico, mediante la utilización de enjuagatorios de clorhexidina al 0.2% es evidente aún 24 horas después de haber finalizado el régimen terapéutico.

Rolla y col 1970 citados por Grenstein 1986 (1) indican que la adsorción de la clorhexidina sobre el acrílico y la hidroxiapatita, sugiere la formación de una monocapa molecular estable.

Jenkins y col (3) señalan que la cantidad de clorhexidina adsorbida sobre los aparatos acrílicos utilizados en su estudio es muy baja. Por lo tanto los autores reportaron que el efecto antiplaca demostrado por el medicamento, esta directamente relacionado con la clorhexidina adsorbida al esmalte.

Los resultados obtenidos en la presente investigación, demuestran una reducción en la población bacteriana hasta

24 horas después de haber finalizado la aplicación de clorhexidina sobre todos los substratos analizados. A partir de ese momento, la colonización bacteriana sobre los materiales analizados comenzó a incrementarse, hasta llegar a los niveles basales a las 72 horas de haber cesado la administración de clorhexidina.

Los niveles salivares de clorhexidina fueron establecidos por Bonesvoll (6) y se ha determinado que la molécula presente en saliva está unida a algún tipo de receptor protéico lo cual anula su actividad microbiciada. Al respecto Jenkins y col (3) indican que la liberación de la molécula activa de clorhexidina presente en el esmalte, puede influenciar sobre los microorganismos que estén en la proximidad a los insertos, incluyendo a los de la mucosa oral.

Esta investigación examinó en vivo la colonización microbiana sobre metal, porcelana y acrílico bajo la influencia de la clorhexidina aceptando el mecanismo de acción reportado por Jenkins (3) el cual determina que la molécula de clorhexidina con real actividad antiplaca es aquella que se adsorbe al diente, se concluye que los bajos recuentos bacterianos observados 24 horas después de haber finalizado la aplicación de clorhexidina sobre metal,

porcelana y acrílico están mediados por una substantividad de la droga a tales materiales.



7. CONCLUSIONES

La presente investigación ha permitido concluir que dos enjuagatorios diarios con digluconato de clorhexidina al 0.2% presentan el suficiente grado de substantividad sobre metal, porcelana y acrílico para lograr disminuciones apreciables en la cantidad de unidades formadoras de colonias sobre los mencionados materiales hasta 24 horas después de haber concluido la terapia.

Las diferencias porcentuales en la disminución bacteriana, no ofrecen diferencias significativas entre los diferentes materiales.

Cabe anotar que el uso prolongado de la clorhexidina en pacientes con prostodoncia fija puede ocasionar manchas de difícil remoción, por lo cual es aconsejable utilizarla con intervalos de tiempo que oscilen entre 4 semanas, bajo supervisión profesional, u optar en usar otro tipo de agentes antiplaca como lo son el listerine que no ocasiona este tipo de manchas con buena actividad antiplaca pero no mejores que los de la clorhexidina.

BIBLIOGRAFIA

1. GREENSTEIN G. BERNAL, et al: Clorhexidine an adjunct to periodontal therapy. J. Perio 57:370,1986.
3. JENKINS S. ADDY M. and WADE W: The mechanism of action of clorhexidine.J. Clin Perio 15: 415-424,1988.
4. BRINER W, GROSSMAN E. Et al: Effect of clorhexidine gluconate mouthrinses on plaque bacteria. J. Perio, Res Sup. 44, 52, 1986.
5. HENNESSEY T.D:None antibacterial properties of clorhexidine. J. Perio Res. 8:61,1973.
6. BONESVOLL , P: LOKKEN , P: et al : Influence of concentration, time temperature and ph on the retention of clorhexidine in the human oral cavity after mouthrinses. Arch Oral Biol 19:10-25,1974.
7. BONESVOLL, P: LOKKEN, P: et al: Retention of clorhexidine in the human oral cavity after mouthrinses. Arch Oral Biol 19: 209, 1974.
8. BONESVOLL, P: Oral pharmacology of clorhexidine. J. Clin Perio: 4: 49,1977.
9. FOURLKES, D, M: Some toxicological observations on clorhexidine.J. Perio Res 8: 55, 1973.

10. LINDHE , J . HEYDEN, G,: et al :Effect of local applications of clorhexidine on the oral mucos of the hamsters. J.Perio Res 5:177-182, 1970.
11. LANG, N :and BRECX M : Clorhexidine digluconate an agent for chemical plaque control and prevention of gingival inflammation. J.Perio Res 74: 89, 1896.
12. BUDTZ, J: Hibitane in the tratment of gethous ulceration. J. Clin. Perio. 4: 108-116,1977.
13. GUSBERTI, F, SYE, A et al : Clinical and microscopic affects of sealling and root planing with adjunctive clorhexidine digluconate iirigation on the subgingival microscopin patients with advanced periodontitis.J.Clin Perio. 2: 16,1987.
14. FERRETY, G: LARGENT, B: et al : The effect of clorhexidine mouthrinses in mucositis, plaque, gingivitis and stain bone marrow transplant patients. J.Dental. Res 65: 235,1985.
15. FERRETY, G ; LARGENT, B: et al : The effect of clorhexidine mouthrinses in mucositis. J.Of Dental Res. 64; 235, 1985.
16. LOE, H , and SCHIOTT , C: The effect of mouthrinses and topical apliccation on the development of dental plaque and gingivitis in human. J.Perio Res. 5: 79, 1970.
18. LOE,Hand SCHIOTT, C; et al : Two year or use of clorhexidine in human, general and clinical effects, 1973.

19. SCHIOTT, C; BRINER, W et al : Two year oral use of chlorhexidine II. Effect on the salivary bacterial flora. J. Perio res 11 : 145-52,1976.
20. SCHIOTT, C ; BRINER W, et al : Two year oral use of chlorhexidine III. changes in sensibility of the salivary flora. J. Perio res 11:165-167,1986.
21. SCHIOTT C, BRINER, W et al:Two year oral use of chlorhexidine in human. IV. Effect on various medical parameters. J Perio res 11: 158-164,1976.
22. MACKENZIE, LLENSSEN,B:Clasification an prevalences of plaque streptococci after two years oral use of chlorhexidine. J.Perio res 16: 646, 1981.
23. TEPE,J:LEONARD ,G :et al :The lon- term effect of chlorhexidine on plaque, gingivitis, sulcu depht, gingival recesion and loss of attachment in beagle dogs. J. Perio res 18: 452-458, 1983.
25. ETEMADZADEN, J. and AINAMO,J.: Lacking antiplaque efficacy on sanguinarine mouthrinses.J. C lin perio 15: 106, 1989.
26. LANG,N and ZABER, K: The use of oral irrigators as a vehicle of the application of antimicronial agents in chemical plaque chemical control. J. Clin Perio 8 :177-184.1986.
- 27, HARDY,J.NEWMAN H: et al: Direct irrigation on subgingival plaque, J.Clin Perio 9: 57,1982.
28. KHOO,J, and NEWMAN.: Subgingival plaque control by a-

simplified oral hygiene regime plus local clorhexidine or metronidazol. J, of Perio res 18: 607, 1983.

29. KRISTOFFERSEN, T. and MAYER, K: The maintenance phase of periodontal therapy. Textbook, of clinical periodontology. P 520, Copenhagen Munsgard, 1983.
30. ROLLA, G, ELLINGSEN, J. et al: Dental stain by clorhexidine possible mechanism. J. Dent Res 60-528, 1981.
31. ERIKSSSEN, H, NORDBO, H : et al: Chemical plaque control and extrinsic tooth discoloration. J. of Clin perio 12: 345, 1985.
32. LANG, N. CATTALANOTO, F et al : Quality specific taste impairment following the application of clorhexidine digluconate mouthrinses. J. Clin perio 15: 43, 1988.