

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

COORDINACIÓN GENERAL DE

PROCESOS DE GRADUACION



**TRABAJO DE GRADUACION PARA OBTENER EL TITULO DE DOCTOR EN  
CIRUGIA DENTAL**

**“CORRELACION ENTRE ACTIVIDAD CARIOGENICA Y CONCENTRACION DE  
FLUORURO EN SALIVA EN ALUMNOS QUE ASISTEN A ESCUELAS QUE  
PARTICIPAN EN EL PROGRAMA PREVENTIVO DE LA FACULTAD DE  
ODONTOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR”**

**AUTORES:**

LISSETH ARELY PALMA FIGUEROA

REINALDO ANTONIO LOPEZ RAMIREZ

HERBERT MAURICIO CUELLAR ZELAYANDIA

DANNY ALBERTO LOPEZ RUIZ

**DOCENTE DIRECTOR: Dr. OSCAR ARMANDO GOMEZ**

**ASESOR QUIMICO: Dr. NESTOR GUILLERMO ORELLANA**

**ASESOR METODOLOGICO: Lic. JULIO DOMINGO APARICIO**

Ciudad Universitaria, Julio 2005.

**AUTORIDADES**

**RECTORA:**

**DRA. MARIA ISABEL RODRIGUEZ.**

**VICE-RECTOR ACADEMICO:**

**ING. JOAQUIN ORLANDO MACHUCA GOMEZ.**

**VICE-RECTORA ADMINISTRATIVA:**

**DRA. CARMEN ELIZABETH RODRIGUEZ DE RIVAS.**

**DECANO:**

**DR. OSCAR RUBEN COTO DIMAS.**

**VICE-DECANO:**

**DR. GUILLERMO ALFONSO AGUIRRE ESCOBAR.**

**SECRETARIA:**

**DRA. VILMA VICTORIA GONZALES DE VELASQUEZ.**

**DIRECTOR DE EDUCACION ODONTOLOGICA:**

**DR. JOSE BENJAMIN LOPEZ GUILLEN**

**JURADO EVALUADOR:**

**DR. OSCAR ARMANDO GOMEZ LOPEZ**

**DR. GUILLERMO ALFONSO AGUIRRE ESCOBAR**

**DRA. LISSETH MARGARITA LOPEZ SERRANO**

**DEDICATORIA**

**A DIOS TODOPODEROSO Y A NUESTROS  
PADRES POR SU AMOR Y APOYO**

## **AGRADECIMIENTOS**

**Al Dr. NESTOR GUILLERMO ORELLANA, POR SU VALIOSA COLABORACIÓN Y DEDICACION EN EL DESARROLLO DE ESTA INVESTIGACION; Y A TODAS LAS PERSONAS QUE DE UNA U OTRA MANERA CONTRIBUYERON A LA CULMINACION DE ESTA.**

## RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue determinar la correlación entre actividad cariogénica y concentración de ion fluoruro en saliva en alumnos que asisten a escuelas que participan en el programa preventivo de la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador. El diseño se enmarca en un estudio de tipo analítico, transversal, cualitativo cuantitativo en el cual se describe la correlación existente entre las diferentes variables del estudio.

Los sujetos en estudio (N= 50) provenientes de escuelas que participan y no participan en el programa preventivo de la Facultad de Odontología se dividieron en tres grupos: *Grupo A* (n = 20) cuyas características eran no presentar actividad de caries y pertenecer al programa preventivo, *Grupo B* (n = 15) presentaban actividad de caries y pertenece al programa preventivo y el *Grupo C* (n = 15) que era un grupo control el cual no participa en el programa preventivo y presentaba actividad de caries. La información se obtuvo por medio de análisis de laboratorio y exámenes clínicos, la actividad cariogénica se determino en base a los índices CPOD y ceod, la concentración de fluoruro en saliva se determino por el método 9214 modificado de IUPAC. Toda la información se proceso en Microsoft Excel de Windows XP, el análisis estadístico se realizo en el programa Minitab 14 aplicando el coeficiente de P.

La correlación encontrada entre concentración de fluoruro en saliva y actividad cariogénica en la población estudiada tuvo un valor de  $P = 0.031$  Los resultados que se obtuvieron demuestran que existe una correlación entre ambas variables, pero estadísticamente no es altamente significativa, concluyendo que el fluoruro presente en saliva como factor individual no nos determina si tiene incidencia o no sobre la actividad cariogénica

## INDICE

Resumen.....	viii
Introducción.....	11
1. Revisión de la literatura.....	13
2. Objetivos.....	41
2.1. Objetivo General.....	41
2.2. Objetivo Especifico.....	41
3. Materiales y Métodos.....	42
3.1. Diseño Metodológico.....	42
3.2. Universo y Muestra.....	42
3.3. Muestra.....	43
3.3.1. Método de muestreo.....	43
3.4. Variables e Indicadores.....	44
3.5. Materiales.....	45
3.6. Método de recolección de la información.....	48
3.6.1. Responsables de la recolección de los datos.....	48
3.6.2. Instrumento.....	50
3.6.3. Descripción y elaboración de instrumentos.....	50
3.7. Prueba ensayo (recolección de muestra de saliva).....	51
3.8. Procedimiento para la determinación De concentración de fluoruro en saliva.....	54
3.9. Validación del método 9214.....	59
4. Pruebas estadísticas a utilizar.....	75
5. Limitantes de la investigación.....	76
6. Consideraciones éticas.....	77
7. Resultados.....	78
7.1. Cuadro de resultados.....	78

7.2. Diferencia entre centros escolares.....	81
7.3. Cuadro de índice de actividad cariogénica	
Y concentración de fluoruro en saliva.....	83
7.4. Cuadro de Correlación entre las variables.....	90
8. Discusión.....	92
9. Conclusiones.....	96
10. Recomendaciones.....	97
Bibliografía	
Anexos.	

## INTRODUCCION

El presente trabajo tiene como propósito determinar la correlación entre la concentración de fluoruro presente en saliva y actividad cariogénica en niños que participan en el programa preventivo de la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador como aquellos que no participan en él.

Existen varias teorías sobre como el fluoruro afecta el desarrollo de la caries. Dichas teorías, tratan de los efectos directos o indirectos del fluoruro fundamentalmente sobre dos estructuras: los dientes y la placa. A su vez, estas estructuras podrían subdividirse en los efectos que reducen la disolución de los dientes y/o aceleran la remineralización de la caries, los cuales evitan la producción de la bacteria de la placa y/o suficiente ácido para desmineralizar la superficie del diente <sup>12</sup>.

Estas teorías sobre la acción del fluoruro en la caries han de observarse desde una perspectiva histórica. El efecto cariostático del fluoruro fue descubierto inicialmente en relación con el contenido de fluor natural en el agua potable <sup>26</sup>.

El fluoruro es un elemento relacionado con la incidencia de caries dentaria ya que desempeña un papel importante en el proceso de desmineralización – remineralización que ocurre a nivel dentario. Este proceso de desmineralización – Remineralización es bidireccional y, determinado por factores que actúan a favor de un sentido u otro, la caries dental se produce cuando el proceso se desvía como un predominio hacia la desmineralización <sup>37</sup>.

Por otra parte la cantidad disponible de saliva en boca y su contenido de fluoruro, calcio y fosforo, permite la remineralización de las superficies dentales afectadas <sup>19</sup>, jugando un papel muy importante en el proceso desmineralización y remineralización, ya que después de la ingesta de azúcar y fermentación de ácidos por parte de la placa el

esmalte es disuelto hasta que los ácidos sean neutralizados por iones amortiguadores difusos presentes en la saliva <sup>33</sup>.

Las variables en estudio fueron la concentración de fluoruro en saliva y la actividad cariogénica; cada una de ellas registradas y procesadas según lo establece el método empleado.

El propósito del estudio fue el analizar el fluido salival con el fin de determinar la concentración de fluoruro presente en saliva y de esta manera establecer la correlación existente de este con la actividad cariogénica de los escolares que pertenecen al programa preventivo de la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador como los que no participan en él; comparando las concentraciones obtenidas de cada uno de los grupos de escolares en estudio.

La importancia de los resultados radica en la obtención de datos epidemiológicos que establecen la concentración de fluoruro presente en saliva de la población en estudio, correlacionar estadísticamente por primera vez en el país la concentración de fluoruro en saliva con la actividad cariogénica en una muestra significativa de niños salvadoreños.

## 1. REVISION DE LA LITERATURA

Los fluoruros son importantes, y los estudios sobre su eficacia han atravesado diversos periodos durante décadas después de descubrir su importancia como agente preventivo contra la caries dental <sup>40</sup>, así como para el tratamiento de esta en su fase inicial <sup>28</sup>.

En 1930 estudios epidemiológicos en humanos, establecieron una relación de causa y efecto entre el fluoruro presente en el agua de consumo y la fluorosis dental <sup>14</sup>, pero fue hasta 1938 año en que se determinó que “la incidencia de caries dental es inversamente proporcional a la frecuencia de esmalte moteado, lo cual a su vez procede del exceso de fluoruro” <sup>28</sup>.

En 1946 Deán, cirujano dental y epidemiólogo, determino que la presencia de fluoruro como suplemento en el agua lograba reducir la prevalencia de caries dental; y que su ingesta afectaba la formación del esmalte concluyendo que cantidades que no excedan de 1 mg/L en el agua no producen efectos dañinos en la salud <sup>13</sup>.

Es así que en la actualidad se ha comprobado que el fluoruro es un elemento efectivo al administrarse a las aguas de consumo humano, como un elemento eficaz en la prevención de caries dental.

Un estudio realizado en 1999 en Atlanta, Georgia, denominado: “Fluoruro en saliva, conducto salival de la parotida y plasma en niños”, tenía como objetivo el determinar la relación de la concentración de fluoruro en la saliva con respecto a la concentración de fluoruro en plasma. Se realizó contando con una población de 17 niños entre 5 – 10 años, y determinó que el fluoruro en saliva puede ser utilizado para calcular las concentraciones de fluoruro en plasma <sup>41</sup>, además demostró que el ión fluoruro es un

componente que se encuentra en todo el organismo como un agente que influye en la salud o enfermedad del ser humano.

En el año 2001 en Escocia se publicó un artículo titulado “El efecto de concentración de fluoruro en saliva al consumir alimentos que contienen sal fluorada”, cuyo objetivo era el de verificar los efectos del fluoruro como agente remineralizador de la estructura dental, siendo la población participante de 11 adultos a quienes se les tomó muestras de saliva, las cuales fueron analizadas, y los resultados encontrados sugirieron que una mayor frecuencia en el consumo de alimentos preparados con sal fluorada sustituyendo la sal normal, podría ayudar ligeramente a elevar las concentraciones de fluoruro en saliva por periodos más prolongados en el día, y de esta manera potenciar los efectos cariostáticos de saliva en el diente <sup>24</sup>.

De igual manera en el año 2003 se realizó una investigación en la Universidad de Sassari, Italia, cuyo objetivo era el de comparar la concentración de fluoruro en saliva de 104 estudiantes tratados con productos de higiene oral (pastas, enjuagues, barniz) que contenían diferentes sales fluoradas, concluyendo que la concentración de fluoruro en saliva puede mantenerse en niveles terapéuticos óptimos con el uso regular de productos fluorados <sup>6</sup>.

En la actualidad no se cuenta con información sobre alguna investigación que estudie la correlación que podría tener la concentración de fluoruro presente en saliva con la actividad cariogénica; Es por esto que el presente estudio se orienta a determinar la importancia de tomar en cuenta al fluoruro presente en saliva como un factor en la actividad cariogénica en niños de 7 a 14 años que participan en el programa preventivo de la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador.

## **ACTIVIDAD CARIOGENICA**

### ***Caries dental.***

La caries dental es una enfermedad multifactorial, asociada a la interrelación de varios factores imprescindibles para que se inicie la lesión. Dichos factores son el huésped, las bacterias, dieta, y el factor tiempo<sup>34</sup> (figura 1). Existe un equilibrio muy delicado entre salud y enfermedad en el que intervienen los ácidos procedentes de la placa bacteriana que compiten con los factores protectores, que dependen de un flujo salival normal y de una buena higiene oral<sup>25</sup>.

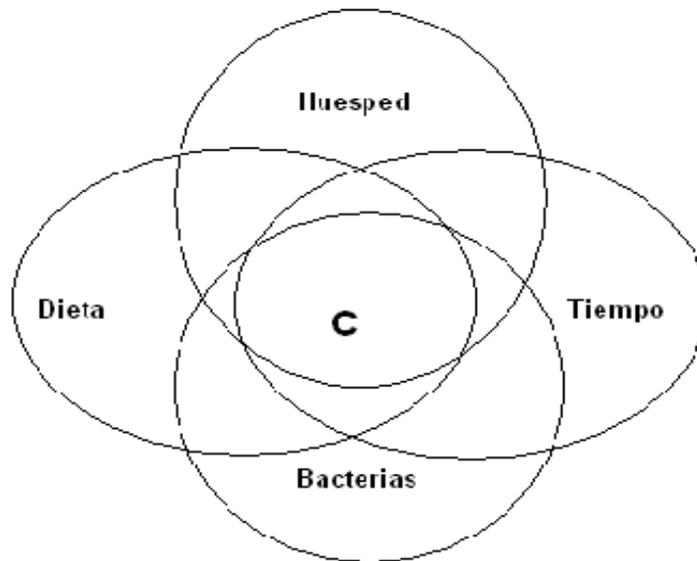


Figura 1: *Diagrama del proceso de caries según König. (Conesa, 2002)*

Normalmente en la cavidad oral viven muchos tipos de bacterias, algunas de las cuales pueden colonizar la superficie del diente formando la placa dental<sup>25</sup>; existen numerosas evidencias que demuestran que esta es un prerrequisito indispensable para la iniciación de la caries dental y la enfermedad periodontal<sup>34</sup>.

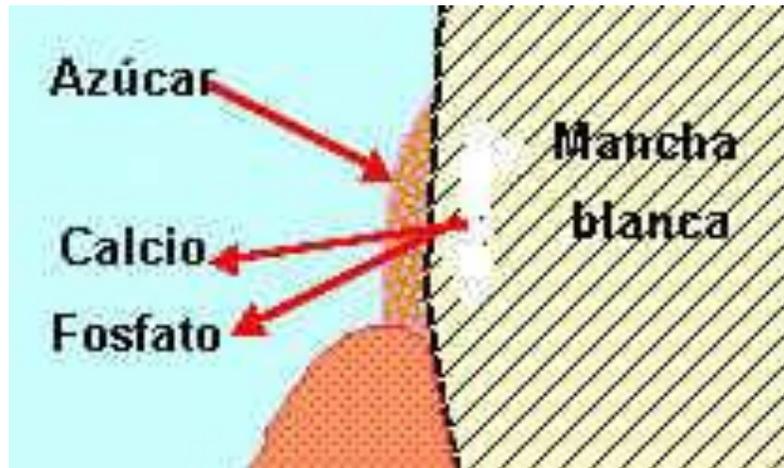
Entre las bacterias que destacan en la formación de la placa dental están los streptococos adherentes, como los *streptococos mutans* los cuales utilizan la sucrosa de la dieta para sintetizar polisacáridos extracelulares <sup>25</sup>, siendo considerado como el principal agente etiológico de caries dental en humanos <sup>34</sup>.

Es posible que las bacterias responsables de iniciar el proceso carioso no sean las mismas de una lesión ya bien establecida, ya que estudios han demostrado que los streptococos están presentes en la desmineralización temprana o superficial, mientras que los *A. viscosus* y *Lactobacillus* prevalecen en los estadios tardíos de la lesión <sup>34</sup>.

Este proceso desmineralización - remineralización es bidireccional y, determinado por factores que actúan a favor de un sentido u otro, la caries dental se produce cuando el proceso se desvía con un predominio hacia la desmineralización. Podría resumirse como un proceso en el que las bacterias acidogénas (*S.Mutans* y *Lactobacilos*) metabolizan carbohidratos fermentables (sacarosa, fructosa y almidones) dando lugar a ácidos (láctico, acético, propianico) que originan la caída del pH y disolución del fosfato cálcico del esmalte, liberando calcio y fosfato del interior del diente.

Al comienzo es de mancha blanca (figura 2), encontrándose desmineralización de hasta el 50% subsuperficial. Se encuentra, todavía, una capa continua remineralizada correspondiente a la zona de intercambio de iones calcio y fosfato procedentes de la saliva. Estos iones son aportados a través de la placa dental.

Si la agresión ácida continua, la capa superficial remineralizada terminara fracturándose apareciendo la cavitación macroscópica <sup>36</sup>.



**Figura 2:** Representación de la pérdida de calcio y fosfatos cuando los ácidos producidos por las bacterias de la placa empiezan a disolver el esmalte (mancha blanca).

### ***Factores Productores de Caries Dental.***

Como en cualquier otra enfermedad infecciosa deben coincidir tres factores básicos: un huésped susceptible, un agente patógeno productor de la enfermedad y un medio propicio para que este se origine. Extrapolando estas condiciones, el huésped estaría representado por el diente, el agente patógeno por el *Streptococos mutans*, y el sustrato por la dieta. El conjunto de estos factores constituye un sistema ecológico, cuyo equilibrio puede determinar la aparición de la enfermedad <sup>16</sup>.

Para que un sujeto entre en riesgo de producir esta enfermedad dental, es necesaria la presencia de factores con un alto potencial cariogénico; y existir una relación interactuante entre ellos para llegar a un nivel de posibilidad de desarrollar caries. La acción de factores primarios como hábitos dietéticos, diente susceptible y el tipo de microorganismos presentes en la placa bacteriana rigen la actividad cariogénica y los factores secundarios o modificadores, como el fluoruro, la cantidad de saliva, resistencia dental y condiciones socioeconómicas del individuo influyen directa o indirectamente en ellos <sup>8</sup>.

## ***Fluoruro***

El fluor pertenece al grupo de los halógenos. Es el elemento puro que presenta mayor actividad química, ya que se combina con cualquier elemento así como con radicales orgánicos<sup>34</sup>. En la naturaleza se encuentra distribuido en diferentes concentraciones en el suelo, agua, plantas, y el hombre lo ingiere en cantidades variables haciendo al esmalte más resistente a los ácidos y evitando la caries<sup>7</sup>.

Los iones fluoruro están presentes en la estructura dental en concentraciones que alcanzan 2500 a 4000 ppm (132-210  $\mu\text{mol/L}$ ) a nivel de la superficie del esmalte y en la saliva la concentración del fluoruro es aproximadamente 0.03 ppm (1.6  $\mu\text{mol/L}$ )<sup>25</sup> (1ppm-1mg/L).

Los fluoruros desempeñan un papel muy importante en el proceso desmineralización – remineralización que ocurre a nivel dental en la boca. En un medio ácido los iones fluoruro reaccionan intensamente con los iones  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{HPO}_4^{2-}$  libres, formando cristales de fluoroapatita  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH.F})_2$ , en los que el fluoruro reemplaza a los iones hidroxilo.

La acción bacteriostática del fluoruro, se debe a su capacidad de interferir en determinadas enzimas, necesarias en el metabolismo bacteriano. Sin embargo el fluoruro en su estado iónico  $\text{F}^-$ , no puede atravesar la pared celular de las bacterias, pero si puede hacerlo combinado con el hidrogeno en forma de HF, y son las propias bacterias cariogénicas las que facilitan esta combinación.

Así, cuando como consecuencia de la formación de ácido se produce una caída del pH, simultáneamente se generan iones hidrogeno  $\text{H}^+$ . Cuando el  $\text{F}^-$  de procedencia tópica se combina con este  $\text{H}^+$  se forma el HF el cual difunde a través de la pared celular, para disociarse nuevamente en  $\text{F}^-$  e  $\text{H}^+$  y el fluoruro liberado a su vez interfiere con la

enolasa, enzima cuya actividad es esencial para el metabolismo bacteriano <sup>36</sup>. Otro efecto más del fluoruro es que se difunde en la placa e impide que las bacterias se puedan reproducir (ya que estas no pueden mantenerse en un medio ácido) <sup>23</sup>.

El mecanismo de acción exacto del fluoruro no es del todo conocido; como consecuencia de ello, se han emitido varias hipótesis en trabajos que sustentan la actividad preventiva del fluoruro frente a la caries. Así pues de acuerdo a los conocimientos actuales la acción protectora del fluoruro se atribuye a tres mecanismos de acción:

1. **Favorece la remineralización:** incorporándose a los nuevos cristales de fluoruro- hidroxiapatita y dando, como consecuencia, una superficie más resistente.
2. **Inhibe la desmineralización:** Cuando la actividad metabólica de los carbohidratos genera ácidos, estos penetran en el esmalte iniciando la desmineralización. La presencia de fluoruros en ese momento hace que se incorporen estos iones simultáneamente a los ácidos y protege frente a la desmineralización.
3. **Inhibición de la actividad bacteriana:** Su mecanismo de acción es múltiple. Disminuye la capacidad de entrada de carbohidratos a las bacterias y disminuye la formación de ácidos. Penetra en el interior de las bacterias combinado con  $H^+$  formando HF. Una vez el interior se disocia dejando iones  $F^-$  que actúan sobre la enzima enolasa e interfiere con la actividad celular disminuyendo el crecimiento bacteriano. Asimismo, interfiere con la biosíntesis de los polisacáridos extracelulares disminuyendo la adhesión del esmalte <sup>36</sup>.

El proceso de remineralización comienza a ocurrir en los estadios más incipientes de la caries, después del primer descenso del pH. A medida que este se vuelve a

ascender se van formando nuevos cristales a partir de los iones liberados previamente, estos cristales incorporan fluoruro en su interior. Cuando el fluoruro se encuentra en un estadio posterior a la formación de caries (mancha blanca), el ión penetra a través de la capa superficial de la lesión produciendo una remineralización total, disminuyendo el tamaño del cuerpo de la lesión <sup>3</sup>.

Así el esmalte no es endurecido más de lo normal por la acción del fluoruro, sino que este elemento desplaza los iones hidroxilo de los cristales de hidroxiapatita, y ello hace que sea mucho menos soluble. Se piensa así mismo que el fluoruro puede ser tóxico para algunas bacterias y sea cual sea el medio por el que el fluoruro protege los dientes, se sabe que pequeñas cantidades de este elemento depositado sobre el esmalte, aumentan unas tres veces más la resistencia de los dientes a las caries <sup>35</sup>.

Por lo tanto la acción cariostática del fluoruro se basa en su capacidad para remineralizar las zonas desmineralizadas del diente, es decir las lesiones incipientes de caries además de su capacidad para endentecer el proceso de la caries. Según este principio, el fluoruro actúa más como un agente terapéutico que preventivo y en consecuencia es fundamental que exista en los fluidos orales fluoruro disponible cuando esas condiciones de desmineralización se presenten, no importa cual sea la fuente u origen de ese fluoruro, sistémico o tópico <sup>37</sup>.

### ***Fluoruro y caries***

El fluoruro es un elemento relacionado con la incidencia de caries dentaria, ya que forma parte de la estructura dental, siendo indispensable para asegurar la integridad de la estructura del esmalte dentario, este posee la capacidad de modificar al huésped, en ciertas concentraciones a los microorganismos, y por consiguiente ser un modificador de caries dental <sup>3</sup>.

El fluoruro actúa a nivel de cavidad oral de la siguiente manera: primero conjuntamente con el calcio de la saliva producen una capa protectora de calcio-fluoruro en la superficie dental; el ácido tiene que romper esta primera capa antes que pueda disolver el esmalte de los dientes. Luego, el fluoruro orienta el proceso en dirección a la remineralización, ya que este puede implantarse en el esmalte en vez del ion hidróxido que es muy sensible, por lo tanto si se encuentra mucho fluoruro en la saliva, debido a los aditamentos de limpieza de los dientes o al consumo de sal fluorada de mesa, el esmalte podrá absorber más fluoruro, al que los ácidos no son capaces de disolver, y de esta manera es posible reparar pequeños defectos del esmalte <sup>23</sup>.

Por otra parte, se ha demostrado que el fluoruro resulta ser más efectivo en reducir la caries en dientes anteriores que en los posteriores. Dos posibles explicaciones a esto son: 1) las superficies lisas de los dientes anteriores reciben más fluoruro que las fisuras de los molares o 2) el fluoruro tiene un efecto más marcado sobre los incisivos ya que por su morfología no posee zonas retentivas como son fosas y fisuras <sup>22</sup>.

### ***Epidemiología de la caries dental.***

Los índices epidemiológicos que con mayor frecuencia se utilizan en cariología para conocer las condiciones de salud dental en un determinado grupo social son **la prevalencia y la incidencia.**

La Prevalencia a la caries (Frecuencia de Caries): Representa la proporción de población afectada por la caries en un momento dado. Es un dato estadístico que indica la diferencia entre la experiencia anterior acumulada con la actual enfermedad en un determinado grupo social en el momento en el que el dato se obtiene. La prevalencia en cariología expresa el número total de dientes cariados, perdidos y obturados (CPO-D) hallados en un determinado momento en las bocas de las personas de una comunidad en

estudio.

La incidencia o actividad cariogénica expresa la velocidad de progresión de la lesión cariosa. Es la suma de nuevas caries o progresión de la misma en un periodo de tiempo determinado <sup>34</sup>.

En epidemiología bucal, para establecer el diagnóstico inicial y evaluar resultados, se emplean diversos índices internacionalmente aceptados. Los indicadores epidemiológicos son el auxiliar primordial del investigador ya que sirven para medir o cuantificar y/o clasificar los problemas de salud bucal que prevalecen en la población en estudio <sup>3</sup>.

- INDICE CPOD

Se emplea para medir la actividad cariogénica pasada y presente; resulta de la sumatoria de dientes permanentes cariados, perdidos y obturados.

Las consideraciones de este índice para establecer el diagnóstico de diente cariado son:

- Caries clínicamente visible.
- Si un diente está obturado y cariado se considera cariado.
- El índice no comprende el diagnóstico de surco profundo.
- Dientes con presencia de sellantes de fosas y fisuras es calificada como sanos.
- La condición de diente obturado, se establece cuando por causa de caries, el diente presenta una restauración definitiva (amalgama, resina, coronas, u otras).
- Como diente perdido se clasifica aquel que no se encuentra presente durante

el examen y el individuo ha pasado la edad en la cual el diente debería haber erupcionado. La causa de pérdida debe ser a consecuencia de caries dental<sup>3</sup>.

### *Saliva*

La saliva es un fluido formado aproximadamente en un 99% por agua, mientras que el 1% restante consiste en moléculas orgánicas grandes (proteínas, glucoproteínas y lípidos), moléculas orgánicas pequeñas (glucosa, urea) y de electrolitos (sodio, potasio, calcio, cloro y fosfatos)<sup>34</sup>. La saliva baña de manera continua aquellas partes del diente expuestas en la cavidad oral, en consecuencia, ella representa el medio ambiente del diente. Este fluido es producido por tres pares de glándulas salivales principales, la parotida, la submandibular o submaxilar y la sublingual, y por numerosas glándulas salivales menores esparcidas por toda la cavidad bucal<sup>39</sup>.

La saliva posee muchas funciones tales como proteger la integridad de la mucosa, eliminar restos alimenticios y bacterias de la cavidad bucal, neutralizar ácidos y proveer de los iones necesarios para la remineralización de los tejidos dentarios<sup>34</sup>. Entre sus propiedades protectoras sobre el diente contra el proceso de desmineralización se pueden mencionar:

- La dilución y lavado de los azúcares de la dieta diaria.
- La neutralización y amortiguación de los ácidos de la placa dental.
- La provisión de iones para el proceso de remineralización<sup>34</sup>.

La capacidad amortiguadora de la saliva, esta determinada por bicarbonatos, fosfatos, amoníaco y proteínas, elementos que ejercen un efecto sobre el pH de la placa e influye en la velocidad de desarrollo de caries<sup>34</sup>.

Por otra parte la cantidad de saliva disponible en la boca y su contenido de fluoruro,

calcio y fósforo permiten la remineralización de las superficies dentales afectadas <sup>22</sup>, jugando un papel muy importante en el proceso desmineralización-remineralización del esmalte, ya que después de la ingesta de azúcar y la fermentación de ácidos por parte de la placa, el esmalte es disuelto hasta que los ácidos sean neutralizados por iones amortiguadores difusos presentes en la saliva <sup>38</sup>.

La saliva además, posee propiedades antibacteriales debido a las inmunoglobulinas y enzimas que posee; con lo cual ayuda a inhibir el crecimiento, adhesión y formación de microorganismos <sup>34</sup>. La protección antimicrobiana está relacionada por la secreción de Inmunoglobulina A (IgA) la cual es la principal inmunoglobulina secretada por las glándulas, también se encuentra IgG e IgM, que en conjunto retardan la colonización de *Streptococos mutans* e incrementa la resistencia a caries <sup>4</sup>.

El flujo salival trabaja también limpiando los restos alimenticios; además su viscosidad lubrica la mucosa de la cavidad oral y las superficies dentales <sup>32</sup>, facilitando la masticación, la deglución, la fonación, así como las funciones sensoriales de la cavidad bucal, con lo que previene la irritación por fricción <sup>34</sup>.

Entre los métodos más utilizados para la determinación de fluoruro en saliva humana se encuentran los siguientes: Potenciometría directa, Espectrofotometría y Cromatografía Iónica. De estos, el más utilizado es el método de Potenciometría directa con electrodo selectivo de iones fluoruro. Las principales ventajas de este, sobre los otros es que es sencillo, económico, reproducible, exacto y produce una respuesta rápida<sup>23</sup>.

### ***Principios generales de la Potenciometría***

La potenciometría es un método analítico extremadamente versátil y como su

nombre sugiere involucra medidas del potencial de una celda galvánica. Cada celda consiste en dos semiceldas y para calcular el potencial de cada semicelda se utiliza la ecuación de Nersnt <sup>1</sup> (1).

Los electrodos son mejor descritos como selectivos más que como específicos. Los electrodos que responden a un ion en específico, son conocidos como electrodos indicadores, la selección y uso de estos electrodos es la clave de la potenciometría <sup>1</sup>. Por lo tanto es conveniente expresar la ecuación de Nersnt en una forma general, la cual es aplicable a todos los tipos de electrodos selectivos de iones y su representación es:

$$E(\text{celda}) = E' \pm \left( \frac{RT}{nF} \right) \ln a_i \quad (1)$$

Donde:

$E'$  = Es una constante, incorporando el potencial del electrodo de referencia y el potencial estándar de la semicelda conteniendo la solución bajo investigación.

$R$ = Constante de los gases,  $8.314 \text{ JK}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ .

$T$ = Temperatura ambiente expresada en escala absoluta (298 K).

$n$ = moles de electrones de la semirreacción.

$F$ = Constante de Faraday ( $96485.3 \text{ C mol}^{-1}$ ).

$\ln$ = logaritmo natural.

$a_i$ = actividad del ion en investigación.

$\pm$ = Se utilizan para indicar en la ecuación si se trata de un catión (+) o de un anión (-).

### *Ajustador de la fuerza iónica*

Como se indica en la ecuación de Nernst (1) el término “ $\ln$ ” se refiere a logaritmo natural (base e) pero en la práctica es más conveniente usar el logaritmo base 10 (escrito como Log), de la siguiente forma:

$$\ln a = 2.303 \log a$$

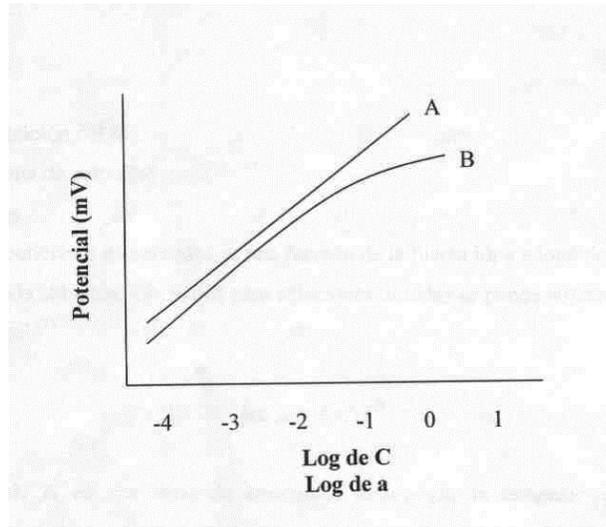
Por lo que la ecuación de Nernst se escribe como:

$$E(\text{celda}) = E' \pm \left( 2.303 \frac{RT}{nF} \right) \log a_i \quad (2)$$

La constante proporcional entre el potencial medido y el logaritmo de la actividad del ión es  $0.0591/n$ . En la práctica valores de la constante proporcional entre  $0.0550/n$  y  $0.0591/n$  son referidos como Nernstianos. Estrictamente hablando esto es incorrecto, pero electrodos con respuesta entre este rango son aceptables para propósitos analíticos, si son propiamente calibrados. Valores debajo de  $0.0550/n$  son denominados sub-Nernstianos e indica generalmente una mala preparación del electrodo. Esta constante es generalmente referida como la pendiente del electrodo<sup>1</sup>.

Hasta ahora se ha utilizado el término actividad en lugar de concentración, pero en química analítica se requiere de valores de concentración. La razón principal es que aunque la gráfica del potencial contra el logaritmo de la actividad produzca una línea recta (A), como se observa en la Figura 3 la preparación de estándares con actividades exactas es virtualmente imposible<sup>1</sup>.

Por otro lado, si se gráfica el potencial contra el logaritmo de la concentración, se obtiene una relación casi lineal para concentraciones bajas, pero claramente curva para concentraciones altas<sup>1</sup>, representada como curva B en la. (Figura 3).



**Figura 3.** Curvas de comparación entre el logaritmo de la actividad y el logaritmo de la concentración; Curva de calibración sin ajustador de fuerza iónica, para un electrodo selectivo graficando el potencial contra el logaritmo de la actividad (A) del ion y el logaritmo de la concentración (B) del ion.

La razón de ese comportamiento se debe a que en soluciones bien diluidas, el efecto inter-iónico es mínimo (iones bien separados) y la actividad se aproxima a la concentración; pero a concentraciones altas, aumenta la fuerza inter-iónica, por lo que aumentan las interacciones iónicas, produciéndose la desviación de la línea<sup>1</sup>. Para sobrellevar estos problemas y obtener una línea recta directamente de las medidas de concentración, el procedimiento es modificado. A cada estándar y muestra se le adiciona una cantidad fija de un ajustador de fuerza iónica; éste consiste en una solución relativamente concentrada de un electrolito, el cual no debe reaccionar con los reactivos de la solución y no debe participar en la reacción del electrodo. Esta relación puede deducirse si se toma en cuenta que la actividad está relacionada con la concentración por la siguiente ecuación<sup>1</sup>.

$$a_i = C_i \gamma_i$$

Donde:

$C_i$  = concentración del ion

$Y_i$  = coeficiente de actividad

El coeficiente de actividad es una función de la fuerza iónica total de todos los iones presentes en la solución, por lo que para soluciones diluidas se puede utilizar la ecuación de Debye Hückel <sup>1</sup>.

$$\text{Log } y_i = A z_i^2 I^{1/2} \quad (4)$$

Donde A es una serie de constantes incluyendo la temperatura, la constante dieléctrica y el número de Avogadro, que para soluciones acuosas a 25° C es igual a 0.512 y  $z_i$  es la magnitud de la carga del ion (generalmente 1 ó 2) <sup>15</sup>. Si la fuerza iónica total de todos los estándares y muestras se hicieron iguales, entonces el coeficiente de actividad ( $y_i$ ) será constante <sup>1</sup>. En tal caso la ecuación dos se convierte en:

$$E(\text{celda}) = E' \pm \left( \frac{0.0591}{n} \right) \log C_i y_i$$

Distribuyendo el logaritmo:

$$E(\text{celda}) = E' \pm \left( \frac{0.0591}{n} \right) \log y_i \pm \left( \frac{0.0591}{n} \right) \log C_i$$

Para un ion dado,  $n$  es una constante y como el coeficiente de actividad ( $y_i$ ) es constante para una fuerza iónica total ajustada:

$$\left( \frac{0.0591}{n} \right) \log y_i = \text{constante}$$

Esta constante puede ser combinada con  $E'$  para dar una nueva constante  $E^*$ , por lo que la ecuación (2) se escribe como (17):

$$E(\text{celda}) = E^* \pm \left( \frac{0.0591}{n} \right) \log c_i \quad (5)$$

Así, una fuerza iónica total constante, la medida del potencial es directamente proporcional al logaritmo de la concentración. El ajustador de fuerza iónica mantiene constante a esta fuerza iónica total, aunque se trate de una solución relativamente concentrada. Al agregar el ajustador a todos los estándares y muestras, todas las medidas se llevan a cabo a la misma fuerza iónica total y consecuentemente a un coeficiente de actividad constante <sup>15</sup>.

#### ***Método del electrodo selectivo de iones fluoruro***

El método utilizado para determinar fluoruro en saliva humana en este trabajo, es el método 9214 modificado: “Determinación potenciométrica de fluoruro en muestras de saliva con electrodo selectivo de iones” (Potenciometric determination of fluoride in saliva samples with ion selective electrode) recomendado por la Sociedad Americana para Ensayo y Materiales, conocida por sus siglas en inglés como ASTM (American Society for Testing and Materials), siendo adecuado para concentraciones de fluoruros comprendidas entre 0.1mg/L y más de 10mg/L <sup>15</sup>.

El agregar un ajustador de fuerza iónica total, conocido por sus siglas en inglés como TISAB (Total Ionic Strength Adjustment Buffer), libera a este método de la mayoría de las interferencias que se puedan presentar en un método espectrofotométrico<sup>20</sup>.

El fluoruro se determina por potenciometría directa, utilizando un electrodo selectivo de iones y un electrodo de referencia conectados a un potenciómetro con escala

expandida en milivoltios <sup>20</sup>. (Figura 4).

La calibración se realiza por el método de calibración directa, este es el procedimiento más simple y más comúnmente utilizado <sup>20</sup>. La curva de calibración se construye diluyendo agua destilada y TISAB en una relación 1:1, a esta solución en la cual se encuentra inmersos los electrodos de fluoruro y de referencia, se adiciona una serie de cantidades de volúmenes conocidos del estándar de fluoruro y por cada adición se mide la diferencia del potencial.



**Figura 4:** Potenciómetro con electrodo selectivo de iones

La curva de calibración se construye graficando el potencial contra el logaritmo de la concentración, a la cual nos referimos también como curva de calibración típica en los siguientes apartados <sup>27</sup>.

Posteriormente se determina si la linealidad y la pendiente de la curva de calibración cumple con la ecuación de Nernst, asumiendo que el electrodo tiene una respuesta Nernstiana; siendo válido utilizar la ecuación de la línea recta para determinar la concentración del Ion bajo investigación en las muestras<sup>1</sup>. La muestra se diluye 1:1 con TISAB, y se mide su potencial <sup>27</sup>.

En la construcción del gráfico de la curva de calibración, debe considerarse el volumen de las adiciones, si este es menor que el 10% de volumen total de la dilución agua destilada-TISAB, el efecto de dilución no produce errores muy grandes, pero si el volumen de las adiciones totales es igual al 10% del volumen total, el efecto de dilución debe ser considerado, por lo que las concentraciones teóricas de la curva de calibración debe ser corregidas, al graficar el potencial contra el logaritmo de la concentración <sup>1</sup>.

Sin embargo, la utilización de la curva de calibración típica tiene un inconveniente, el cual consiste en que no pueden hacerse determinaciones de concentración cerca del límite de detección, porque la línea recta de calibración se vuelve curva cerca de este punto<sup>1</sup>, perdiéndose la relación real entre el potencial y el logaritmo de la concentración, en tal caso, la utilización de línea recta para la cuantificación de fluoruro no sería válida. Por lo cual es necesario el uso de una técnica especial de graficación conocida como el método de Gran <sup>27</sup>.

### ***Técnica de gran***

Al inicio de los años cincuenta, Gunnar Gran trabajando en titulaciones potenciométricas desarrollo una técnica especial de graficación, para la determinación del punto de equivalencia, que se basan en la extrapolación de una curva lineal recta. Con el tiempo otros investigadores han aplicado la técnica de Gran para la determinación de iones, utilizando electrodos selectivos <sup>1</sup>.

Este método se utiliza para la cuantificación de iones cerca del límite de detección, pero a diferencia de la curva de calibración típica, la técnica de Gran consiste en graficar la potencia  $10^{(-E/b)}$  directamente contra la concentración del ion, donde **E** es el potencial y **b** es la pendiente de la curva típica, obteniéndose una recta; así, aplicando

el método de mínimos cuadrados se puede determinar concentraciones de fluoruro cerca del límite de detección obtenido, considerando una curva de calibración típica <sup>27</sup>.

### ***Validación del método.***

La validación es el proceso que asegura que un método analítico es aceptable para los propósitos establecidos, para lo cual se deben establecer un mínimo de criterios<sup>20</sup>. Los parámetros establecidos para la validación del método de determinación de fluoruro en saliva, son los que se detallan en los siguientes apartados.

### ***Linealidad***

Muchos métodos se basan en una curva de calibración en que una cantidad medida “y” se relaciona en proporción directa con la concentración conocida “x” de una serie de patrones <sup>1</sup>.

El procedimiento habitual consiste en que el analista toma una serie de estándares los cuales se miden en el instrumento de acuerdo al método, en las mismas condiciones en que serán medidas las muestras problema. Una vez establecida la gráfica de calibración, se puede obtener la concentración del analito de cualquier muestra por interpolación <sup>1</sup>.

Como es común, el gráfico tiende a una línea recta. Sin embargo no todos los datos caerán en la línea recta, lo cual se debe a errores aleatorios en el proceso de medición. Por lo tanto se debe trazar la mejor línea recta a través de los puntos. Esto se logra utilizando una técnica estadística conocida como análisis de regresión lineal por mínimos cuadrados <sup>1</sup>.

Al utilizar el método de mínimos cuadrados para construir una curva de calibración se consideran dos posiciones <sup>1</sup>:

1. Que existe una relación lineal entre la variable medida “y” y la concentración del analito “x”. Esto es una suposición matemática denominada modelo de regresión, que se representa por la ecuación:

$$y = bx + a \quad (6)$$

Donde,  $a$  = intersección en  $y$ ;  $b$  = pendiente de la recta;  $y$  = medida;  $x$  = concentración.

2. Cualquier desviación de los puntos individuales respecto de la recta, es consecuencia del error de la medición.

De acuerdo al método de los mínimos cuadrados la línea recta debe pasar por el centro de gravedad de los puntos  $(\bar{x}, \bar{y})$  (26). Por conveniencia para la aplicación del método se determinan tres cantidades:  $S_{xx}$ ,  $S_{yy}$  y  $S_{xy}$ , las dos primeras son la suma de los cuadrados de las desviaciones de la media para los valores individuales  $x$  y  $y$ , mientras que la tercera es la suma de los productos de las desviaciones de la media para los valores individuales  $x$  y  $y$ ; las cuales se definen como <sup>20</sup>:

$$S_{xx} = \sum \left( x_i - \bar{x} \right)^2 = \sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{N} \quad (7)$$

$$S_{yy} = \sum \left( y_i - \bar{y} \right)^2 = \sum y_i^2 - \frac{(\sum y_i)^2}{N} \quad (8)$$

$$S_{xy} = \sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}) = \sum x_i y_i - \frac{\sum x_i \sum y_i}{N} \quad (9)$$

Donde  $x_i$  y  $y_i$  son pares individuales de datos para  $x$  y  $y$ ,  $N$  es el número de pares de datos utilizados para construir la curva de calibración  $\bar{x}$  y  $\bar{y}$  son los valores promedio de las variables, es decir:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{N} \quad \text{y} \quad \bar{y} = \frac{\sum y_i}{N} \quad (10)$$

De las expresiones  $S_{xx}$ ,  $S_{yy}$ , y  $S_{xy}$  se puede determinar las siguientes ecuaciones:

La pendiente  $b$  de la línea recta:

$$b = \frac{S_{xy}}{S_{xx}} \quad (11)$$

La ordenada en el origen o intercepto:

$$a = \bar{y} - b\bar{x} \quad (12)$$

La desviación estándar de la regresión:

$$S_r = \sqrt{\frac{S_{yy} - b^2 S_{xx}}{N - 2}} \quad (13)$$

El coeficiente de relación:

$$r = \frac{S_{xy}}{\sqrt{S_{xx} S_{yy}}} \quad (14)$$

### ***Precisión***

La precisión es una medida de la similitud que tienen entre sí un grupo de resultados experimentales<sup>20</sup>. Si se toman suficientes medidas de la misma muestra, la precisión de

las medidas se puede expresar como desviación estándar del valor medio <sup>27</sup>. La precisión se expresa en términos de repetibilidad y reproductibilidad.

### ***Repetibilidad***

Es el grado de concordancia entre los resultados independientes obtenidos aplicando el mismo método a una misma muestra; en las mismas condiciones (mismo operador, mismo equipo, mismo laboratorio) y en intervalos cortos de tiempo ya sea en el mismo día o dentro de la misma semana <sup>27</sup>.

### ***Reproducibilidad***

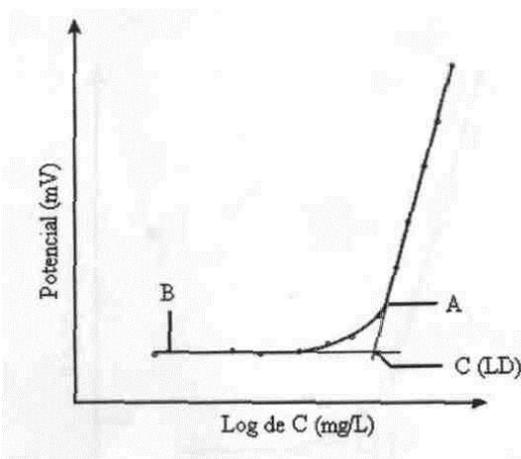
Es el grado de concordancia entre resultados independientes obtenidos, aplicando un mismo método, a una misma muestra en diferentes condiciones (diferente operador, diferente equipo de laboratorio e intervalos de tiempos largos) <sup>27</sup>.

### ***Límite de detección y límite de cuantificación.***

En la Figura 5 se puede notar que la línea recta de calibración se vuelve curva en el punto A. Este es el límite más bajo de la respuesta Nerstiana o límite de linealidad, el cual se cita muchas veces como el límite de cuantificación <sup>27</sup>.

Mientras la grafica de calibración sea curva abajo del punto A, puede seguir siendo utilizada para determinaciones de concentración. Es solamente cuando la gráfica se vuelve horizontal en el punto B que las determinaciones de concentración se vuelven imposibles; por lo cual el punto C es denominado como el límite de detección de acuerdo a la IUPAC <sup>20</sup>.

La gráfica de una línea de calibración exactamente curvada abajo del límite de la respuesta Nerstiana (punto A), requiere un gran número de estándares del ion bajo investigación a extrema dilución y de consumo de tiempo. Además aunque se pueda determinar la concentración del ion en la zona curva entre el punto A y B, el error en ésta será progresivamente mayor a medida la pendiente se reduce <sup>1</sup>.



**Figura 5** Gráfica de calibración para un electrodo selectivo de iones típico.

### ***Límite de detección (ld)***

El método de determinación de iones por Potenciometría con electrodo selectivo de iones proporciona una respuesta logarítmica, marcando así una diferencia fundamental comparada a los métodos lineales, lo cual justifica otro tipo de definición de límite de detección.

De acuerdo a la IUPAC <sup>20</sup>, el límite de detección es la concentración del ion bajo investigación correspondiente al punto de intersección C, entre la zona lineal (B) extrapolada de la curva de calibración a extrema dilución del ion y la zona de la curva que cumple con la ecuación de Nerst, arriba de (A); como se ilustra en la Figura 5.

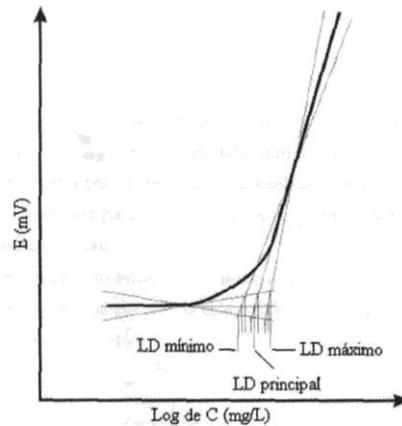
El LD se determina experimentalmente construyendo curvas de calibración a extrema dilución de acuerdo al método del punto de cruce <sup>20</sup> “Cross point method” sugerido por la IUPAC, el cual consiste en determinar el límite de detección obteniendo el LD <sub>principal</sub> el cual es el valor del límite de detección más probable, el LD <sub>mínimo</sub> y el LD <sub>máximo</sub> son los valores de concentración mínimo y máximo, tomando en cuenta el mínimo y máximo valor de la pendiente de las líneas ajustadas a los resultados experimentales, como se ilustra en la Figura 6 el LD <sub>máximo</sub> se reporta como el límite de detección, indicando la desviación estándar.

### ***Límite de cuantificación.***

Es la mínima cantidad de analito en una muestra, que puede ser determinada cuantitativamente con un nivel aceptable de precisión y exactitud <sup>20</sup>. En Potenciometría, el límite más bajo de la respuesta Nerstiana o límite de linealidad, es considerado como límite de cuantificación, por lo que también es la concentración que restringe el uso de un electrodo <sup>1</sup>. El límite de linealidad indicado como (A) en la Figura 3 debe determinarse experimentalmente, realizando curvas de calibración a extrema dilución como se explicó en la determinación del LD en el apartado anterior, pero debe ser evaluado estadísticamente aplicando el criterio de la prueba *t-Student* <sup>27</sup>.

Para calcular el límite de linealidad se debe probar la hipótesis que supone que  $\delta_1 > \bar{\delta}$ , donde  $\bar{\delta}$  es la media aritmética de una serie de valores  $\delta$ , el cual se obtiene de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\delta = |E_{\text{exp}} - E_{\text{Corregido}}| \quad (15)$$



**Figura 6** Determinación del LD utilizando la curva de calibración típica, Cuando la determinación de LD es difícil, es necesario determinar LD mínimo LD máximo y el LD principal.

Donde ( $E_{Exp}$ ) son lecturas experimentales del potencial obtenidas en la curva de calibración, mientras que ( $E_{Corregido}$ ) es el potencial corregido haciendo uso de la ecuación de línea recta, considerando  $n$  puntos de la curva de calibración a extrema dilución. Para obtener una curva de calibración lineal se debe eliminar el punto  $\delta_1$  de la curva, lo cual se logra aplicando la prueba t-Student.

La eliminación del valor  $\delta_1$  involucra el calculo del valor / t / para cada valor de  $\bar{\delta}$ , pues se debe descartar la posibilidad de que uno de estos valores sea el valor de  $\delta_1$ . El valor / t / se obtiene aplicando la siguiente ecuación:

$$t = \frac{\delta - \bar{\delta}}{S_{\delta} \sqrt{\frac{n+1}{n}}} \quad (16)$$

Esta ecuación supone  $n - 1$  grado de libertad, ya que la desviación estándar ( $S_{\delta}$ )

es calculada de los mismos valores. Si el valor / t / calculado para un determinado punto de la curva de calibración a extrema dilución es mayor que su valor / t / crítico correspondiente a un determinado nivel significativo, se considera como el punto ( $\delta_1$ ) que debe ser descartado, ya que a partir de ese punto la curva de calibración pierde su linealidad, por lo tanto para el cálculo de la ecuación de línea recta de la curva de calibración, no se debe considerar el punto de la curva de calibración anterior al valor  $\delta_1$ . Siendo el límite de linealidad el punto de la curva de calibración anterior al valor de  $\delta_1$ . El nivel de significación que se considera en este caso es del 5% es decir el valor crítico de t (5%  $n - 1$ ).

### ***Exactitud.***

Mide la concordancia entre el resultado de una muestra y su valor verdadero <sup>20</sup>. Consiste en determinar a través de pruebas estadísticas, si el valor medio obtenido de análisis experimentales y el valor de referencia no presentan diferencias significativas que obliguen al rechazo del resultado; el valor de referencia puede ser un estándar certificado o un patrón <sup>27</sup>.

La exactitud básicamente puede expresarse de dos formas:

Porcentaje de error relativo. Si se cuenta con un estándar certificado, en este caso se compara el valor verdadero con el valor medido.

$$\% E_r = \frac{\text{concentración..real} - \text{concentración..calculada}}{\text{concentración..real}} \times 100 \quad (20)$$

El grado de exactitud del método se expresa como cien menos la medida del porcentaje de error.

Porcentaje de recuperación. Este método se utiliza cuando no se cuenta con un estándar certificado; consiste en determinar la concentración de una muestra, para luego agregar una cantidad de estándar conocida, lo suficiente como para aproximarse a la concentración de la muestra, calculando la cantidad de analito agregada por la diferencia entre la concentración inicial y la concentración final de la muestra. Los valores de concentración inicial y final del analito deben encontrarse dentro del rango de concentraciones de la curva de calibración. El porcentaje de recobro se determina utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ recuperacion} = \frac{\text{concentracion..calculada}}{\text{concentración..real}} \times 100 \quad (21)$$

En este trabajo la determinación de la exactitud del método se realizó utilizando el porcentaje de recobro.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo general**

- Determinar la correlación entre concentración de fluoruro en saliva con la actividad cariogénica, tanto en niños que participan en el programa preventivo de la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador como de aquellos que no forman parte de él.

### **2.2. Objetivos específicos.**

- Determinar la concentración de fluoruro presente en saliva de alumnos que asisten a las escuelas que participan y las que no participan en el programa preventivo de la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador.
- Determinar la presencia de actividad cariogénica en los niños que participan y no participan al programa preventivo de la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador.
- Determinar la diferencia de concentraciones de fluoruro en saliva encontrados en los niños que participan en el programa preventivo de la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador con los niños que no forman parte de él.
- Validar el método 9214 para la Determinación potenciométrica de fluoruro en muestras de saliva con electrodo selectivo de iones.

### **3. MATERIALES Y METODOS.**

#### **3.1. Diseño Metodológico.**

La presente investigación puede definirse en términos generales como Analítica, Transversal, Cualitativa-cuantitativa:

#### **3.2. Universo y Muestra**

En el presente estudio se consideraron como sujetos de investigación escolares de ambos sexos, cuyas edades oscilan entre los 7 y 14 años que asisten al Centro escolar España #1 y centro escolar republica de Honduras, que participan en el programa preventivo de la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador (FOUES) y el Centro Escolar Villa Mariona que no participa en el programa preventivo de la FOUES, todos estos pertenecientes al departamento de San Salvador.

La investigación se ejecuto entre los meses de Mayo 2004 a Marzo del 2005.

Según el Centro Escolar de procedencia el total de la población se distribuyo en tres grupos de acuerdo a las características requeridas para la investigación:

Grupo A: 20 Escolares que no poseen caries y reciban terapia de fluocolutorios (C. E. España # 1). (Anexo 1).

Grupo B: 15 Escolares cariogenicamente activos con terapia de fluocolutorios (C.E. Republica de Honduras). (Anexo 2).

Grupo C: 15 Escolares cariogenicamente activos sin terapia de fluocolutorios (C.E. Villa Mariona). (Anexo3).

### 3.3 Muestra

Para ser más eficiente el paso de instrumentos, optimizar el tiempo y recursos disponibles, se optó por realizar el trabajo en base a una muestra que representara a la población en estudio <sup>2</sup>.

#### 3.3.1 Método de Muestreo.

El método utilizado fue el muestreo aleatorio estratificado; en donde, se divide la población de individuos, en subpoblaciones o **estratos**, atendiendo a criterios que puedan ser importantes en el estudio.

Cuando se realiza un muestreo estratificado, los tamaños muestrales en cada uno de los estratos, los elige quien hace el muestreo, teniendo así:

Características de la población	Población
✓ Cero caries y terapia de fluocolutorios	N <sub>1</sub> =20
✓ Cariogenicamente Activos y terapia de fluocolutorios.	N <sub>2</sub> =15
✓ Cariogenicamente Activos y sin terapia de fluocolutorios	N <sub>3</sub> =15
Total	N=50

### 3.4. Variables e indicadores

<b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b>	<b>INDICADOR</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Concentración de ión fluoruro</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Porcentaje de concentración de fluoruro en saliva de los centros escolares en estudio</li></ul>
<b>VARIABLE DEPENDIENTE</b>	
<ul style="list-style-type: none"><li>• Actividad de caries</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• CPOD / cedo.</li></ul>

### 3.5. Materiales

#### *Evaluación clínica:*

- Set de Diagnóstico Odontológico (espejo, explorador, pinza).
- Dos bandejas plásticas (una para colocar instrumental estéril y una para utilizar en la desinfección del instrumental utilizado).
- Solución germicida (Glutarex con dilución 1:1) para desinfección de

instrumental contaminado.

- Campos estériles para la colocación de instrumentos
- Baberos para los niños.
- Barreras de bioseguridad para los investigadores: Gabacha, mascarillas y guantes.
- Bolsa para desecho.

#### *Evaluación Radiográfica:*

El método utilizado fue la bisectriz del ángulo con técnica radiográfica de aleta utilizando:

- Radiografías N° 2 (técnica de aleta).
- Chaleco de plomo.

#### *Recolección de muestra de saliva:*

- Frascos plásticos, transparentes con tapón rosca de 120 mL de capacidad, estériles y previamente rotulados (nombre, edad, grado).
- Recipiente hermético a 10°C para almacenar las muestras.
- Contenedores refrigerantes para mantener temperatura adecuada y conservar las muestras.
- Baja lenguas.

Equipo y reactivos químicos utilizados para el procedimiento de análisis de la concentración de fluoruro en saliva.

#### *Equipo utilizado:*

1. Electrodo de fluoruro, INGLOD, tipo 15 215 3000.(Figura 7)
2. Electrodo de referencia, METLER TOLEDO Inlab ®, modelo 301.(Figura 7)
3. Potenciómetro HANNA Instruments, modelo 8514.

4. Agitador magnético, HANNA Instruments, modelo 200 M.
5. Micro pipeta de 100  $\mu$ L, Eppendorf, serie 130159.
6. Micro pipeta de 200  $\mu$ L, Wilson, serie B8514040.
7. Balanza analítica, Sartorius, modelo BP210 S.

*Reactivos para la determinación de fluoruro*

- Solución ajustadora de fuerza iónica total (TISAB).
- Solución patrón de fluoruro de 100mg/L.
- Solución madre de fluoruro de 1000 mg/L.



**Figura 7.** Electrodo de ion fluoruro (negro) y electrodo de referencia (celeste).

*Reactivos para la determinación de fluoruro:*

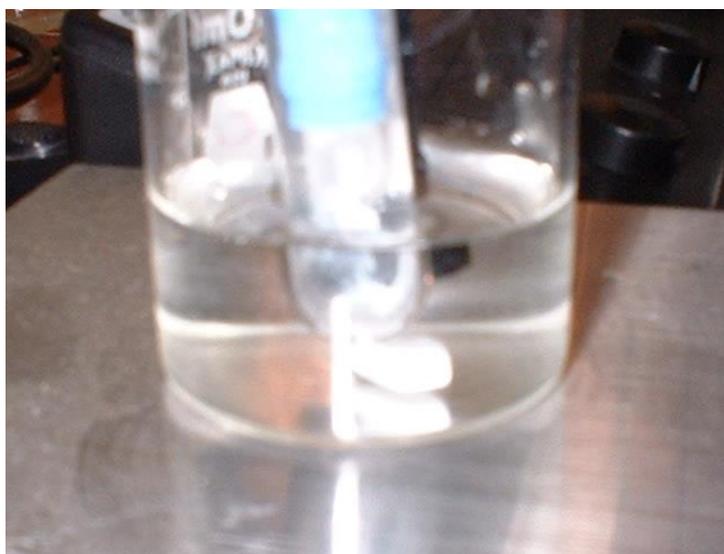
- ❖ Solución ajustadora de fuerza iónica total (TISAB) (Figura 8).

El TISAB utilizado se preparó de la siguiente forma <sup>(20)</sup>.

1. Se disuelven en 500mL de agua destilada, 0.3 g de citrato de sodio anhidro

( $C_6H_5Na_3$ ), 61.53 g de acetato de sodio anhidro ( $CH_3COONa$ ) y 58.44 g de cloruro de sodio ( $NaCl$ ).

2. Se agregan 14.3 mL de ácido acético.
3. Se ajusta a un pH de 5.5 con ácido acético o hidróxido de sodio.
4. Finalmente se enfría la solución, se coloca en un balón de 1000 mL y se afora con agua destilada.



**Figura 8.** Solución ajustadora de fuerza iónica total (TISAB)

❖ Solución madre de fluoruro de 1000 mg/L

1. Se seca el fluoruro de sodio anhidrido en una estufa por tres horas a 110 °C
2. En un balón volumétrico de 100 mL, se disuelven 0.221 g de fluoruro de sodio anhidrido ( $NaF$ ) en agua destilada y se afora hasta la marca.

❖ Solución patrón de fluoruro de 100mg/L

Se toman 10 mL. de solución madre de fluoruro y se diluyen en agua destilada en

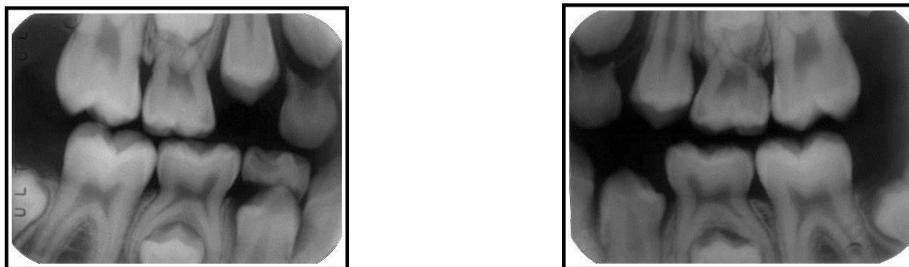
un balón volumétrico de 100 mL.

### **3.6. Método de recolección de la información.**

#### **3.6.1. Responsables de la recolección de los datos.**

Para realizar el examen clínico de cada escolar el grupo investigador se organizo en 4 equipos (teniendo cada equipo a su cargo a un grupo de alumnos). Anterior al estudio los investigadores fueron sujetos a estandarización y calibración, según lo establece el protocolo de diagnostico epidemiológico clínico de caries dental <sup>11</sup>.

El objetivo de este proceso fue conseguir un interpretación y aplicación de criterios uniformes para diagnostico de caries dental u otras enfermedades bucales, y así poder reducir las variaciones entre los examinadores. De igual manera se utilizo el método de bisectriz del ángulo para la toma radiográfica de aleta de mordida (bitewing) en los escolares que no presentaban lesiones cariosas (figura 9). Para determinar de una manera más objetiva que se contaba con una población de cero caries al cien por ciento.



**Figura 9.** Radiografía interproximal indicando que no hay lesión cariosa

Los exámenes clínicos se ejecutaron en los centros escolares, en una zona del

salón de clases o espacios abiertos; el escolar se ubico acostado en una mesa y el examinador atrás o a un lado de esta dependiendo de la iluminación disponible (figura 10).

La iluminación fue a través de luz natural, la mesa se ubico estratégicamente para no recibir la luz directamente y así evitar incomodidades. A un costado de la mesa se coloco un pupitre que contenía los instrumentos dentales para realizar el examen clínico. Cada examinador se encargaba de llenar el instrumento de cada uno de los alumnos a su cargo.

Para garantizar una mejor visibilidad y un campo de trabajo más limpio al momento de realizar el CPOD/ceod se examinó a los escolares antes de su respectivo receso (recreo), evitando de esta manera que existieran restos de alimento que dificultaran la evaluación clínica.

Para evitar la contaminación cruzada se implementaron las medidas correspondientes de bioseguridad.

Toda la información recolectada fue registrada en su respectivo instrumento, dedicando a cada niño un tiempo aproximado de 20 minutos.



**Figura 10:** *Ejecutando examen clínico intraoral.*

### **3.6.2. Instrumento (descripción).**

Para determinar el índice CPOD/ ceod Se utilizo la observación a través del examen clínico así como una ficha clínica (Anexo 4). Permitiendo de esta manera registrar la información de manera objetiva, sobre los aspectos que puedan ser evaluados mediante un examen clínico y análisis químico, tomando en cuenta las distintas características a observar durante el desarrollo de la investigación.

### **3.6.3. Descripción y Elaboración del Instrumento.**

La ficha clínica de observación consta de una carátula, la cual contendrá el nombre de la institución, el logotipo de la misma, el objetivo de aplicar el instrumento y las indicaciones que el investigador deberá seguir para hacer un llenado correcto de dicho instrumento.

Este instrumento consta de tres hojas, en las cuales se plasmaran la información

recolectada perteneciente a cada uno de los sujetos en estudio. La primera hoja corresponde a la carátula de dicho instrumento; En la segunda hoja estará plasmada la información personal (Nombre, edad, sexo) así como el nombre del Centro Escolar y nivel académico de cada estudiante. En esta misma se encuentran tres odontogramas que serán utilizados en diferentes momentos de la investigación como lo son: estado inicial, primera y segunda visita.

Cada odontograma tendrá asignado una casilla, la cual tiene como finalidad registrar la concentración de fluoruro en saliva de la muestra recolectada en cada uno de los diagnósticos clínicos.

En la segunda hoja se encuentran dos odontogramas más que corresponden a la tercera visita y a la visita control (final) así como su respectiva casilla para concentración de fluoruro.

Para elaborar este instrumento se utilizó el cuadro de relación de indicadores, técnicas e instrumentos con respecto a las dos variables (anexo 5).

### **3.7. Prueba ensayo (recolección muestra de saliva).**

Una vez seleccionado los sujetos que participarían en la investigación, se realizó una prueba preliminar para ensayar el método de recolección de saliva, con el objetivo de observar y corregir las fallas que pudieron ocurrir durante este proceso. Esta prueba se llevo a cabo en el centro escolar España n° 1 contando con ello con una muestra de 20 niñas (Figura 11).

Para iniciar este ensayo, el grupo investigador se dividió en dos equipos conformado cada uno por dos miembros. Cada investigador trabajo con 5 alumnos/as para tener un

mayor control al momento de recolectar las muestras de saliva.

El proceso de recolección inicio a las 8:00 a.m. antes de que las niñas salieran a su respectivo receso (recreo), entregándoseles a cada una un frasco y un baja lengua para provocar la estimulación de la secreción salival. El baja lengua debía permanecer dentro de boca por un minuto.

Cada investigador dio las siguientes indicaciones a las alumnas a su cargo: a) Mantener el baja lengua en boca por un intervalo de un minuto, evitando lacerar los tejidos, b) no quebrar ni desechar el baja lengua antes de finalizar con la recolección de saliva, c) al tener una cantidad considerable de saliva en boca deberían abrir el frasco y depositarla dentro de él y durante los momentos en los cuales no se depositara saliva en el frasco, este debería permanecer cerrado para evitar así una contaminación que alteraría el resultado.

Cada una de las alumnas entregaría el recipiente a su respectivo investigador una vez alcanzado la cantidad de 20 mL de fluido salival, teniendo en este pasó aproximadamente un tiempo de duración de una hora con treinta minutos.

Al tener recolectadas todas las muestras se depositaron en el recipiente hermético el cual había sido acondicionado a una temperatura de 10°C, para así poder ser trasladadas desde el centro educativo al laboratorio de la Escuela de Química de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas de la Universidad de el Salvador.



**Figura 11.** Niñas del centro escolar España #1 con su muestra de saliva.

Una vez analizadas las muestras estas arrojaron el siguiente resultado:

- No fue posible determinar la concentración de fluoruro debido a la poca cantidad de saliva recolectada, ya que esta quedaba muy diluida al mezclarla con los reactivos utilizados en su análisis.

Se comprobó que la cantidad de muestra de saliva recolectada no era la suficiente para realizar el análisis, ya que la dilución que se hace con ésta, producía diferentes medidas de potenciales muy dispersas. Para la medición con electrodo selectivo de ion fluoruro. Por el motivo antes mencionado, en las siguientes muestras fueron recolectados 40 mL para cada sujeto de fluido salival requerido, para obtener un análisis y resultados de concentración de fluoruro que pudiera ser confiable.

### **Recolección de muestras.**

Una vez corregida la falla que se presentó en la prueba ensayo, se prosiguió con la recolección de las muestras según la calendarización previamente establecida para

cada centro escolar. A cada uno de los sujetos en estudio se les realizó la toma de muestra de saliva en tres oportunidades en el transcurso del año en diferentes fechas; a fin de poder observar algún cambio en los análisis de las concentraciones de fluoruro, desde la primera recolección de muestra de saliva, realizando a la vez un examen clínico complementario para verificar si el estado bucal estaba en las mismas condiciones que en la etapa inicial de la investigación o había presentado cambios.

El proceso de recolección fue desarrollado de igual manera que la descrita en el estudio piloto (numeral 5.6.), en los diferentes centros educativos, así como en los periodos programados en la calendarización.

### 3.8. *Procedimiento para la determinación de la concentración de fluoruro en saliva.*

#### **Parte experimental**

En esta sección se describe la metodología de análisis utilizada para la determinación de fluoruro en saliva y la validación del método. Así también se detalla el equipo de laboratorio, reactivos y material utilizado.

#### **Metodología del análisis**

El método utilizado para determinar fluoruro saliva fue el 9214 de la ASTM <sup>1</sup> modificado.

Una de las consideraciones que deben hacerse es que al agregar TISAB a los patrones y muestras se libera a este método de la mayoría de las interferencias, incluyendo las principales como: hierro ( $\text{Fe}^{3+}$ ) y aluminio ( $\text{Al}^{3+}$ ).

## **Descripción del método de determinación de fluoruro**

El fluoruro es determinado potenciométricamente utilizando un electrodo selectivo de iones fluoruro y un electrodo de referencia.

La adición del ajustador de fuerza iónica (TISAB), proporciona una fuerza iónica ambiente casi uniforme, ajusta el pH y destruye los complejos, lo cual permite que el electrodo mida realmente la concentración de iones fluoruros <sup>11,15,21</sup>.

Dependiendo del tipo de membrana del electrodo, así será la rapidez de su respuesta; las membranas más lentas tienen un tiempo de respuesta de 30 segundos estando sujeto a cambios de concentración <sup>19</sup>.

## **Cuantificación de fluoruro en las muestras de saliva.**

El procedimiento que se sigue para la cuantificación de fluoruro en las muestras es el siguiente:

- 1) En un beaker de 50 mL se agregan 10 mL de TISAB, utilizando una pipeta volumétrica.
- 2) Luego se adicionan 10 mL de la muestra. (Figura 12).
- 3) Se introducen los electrodos asegurándose de que no se formen burbujas alrededor de estos y se agita la solución suavemente y de forma constante mediante una barra de teflón y un agitador magnético.
- 4) Se toma la lectura en mV cuando esta sea constante, esto sucede en aproximadamente 30 segundos.



**Figura 12.** Adición de muestra al TISAB.

### **Determinación de las propiedades analíticas del método.**

En esta sección se presentan los procedimientos experimentales utilizados en la validación del método analítico, para la cuantificación de fluoruro en saliva. Los parámetros de validación considerados son: linealidad, precisión, límite de detección, límite de cuantificación y exactitud, aplicando el método de calibración directa.

#### **Linealidad del método**

La linealidad se determinó utilizando el método de calibración directa. La curva se construyó considerando un rango de concentración de fluoruro de: 0.25 a 10 mg/L, graficando el potencial contra el logaritmo de la concentración. Se realizaron varias curvas de calibración para verificar la linealidad del método, pero de estas únicamente se presentan tres realizadas en una misma semana de trabajo. El procedimiento experimental es el siguiente:

- 1) En un beaker de 50 mL se agregan 10 mL de TISAB.
- 2) Con una pipeta volumétrica se toman 10 mL de agua destilada y se colocan en el beaker.
- 3) Se introducen los electrodos asegurándose de que no se formen burbujas alrededor de estos, se agita la solución suavemente y de forma constante utilizando una barra de teflón y un agitador magnético.
- 4) Se mide el blanco de agua destilada-TISAB 1:1, posteriormente se procede a la adición de una serie de volúmenes apropiados del estándar de fluoruro de 100 mg/L, tal como se indican en la Tabla 1 tomando la lectura del potencial más estable después de cada adición.

**Tabla 1** Preparación de la curva de calibración típica

Volumen (µL)	Concentración (mg/L)	Volumen (µL)	Concentración (mg/L)
0	-----	200	4.00
50	0.25	200	5.00
50	0.50	200	6.00
50	0.75	200	7.00
50	1.00	200	8.00
200	2.00	200	9.00
200	3.00	200	10.00

#### **Repetibilidad del método.**

Para la determinación de este parámetro el analista elabora curvas de calibración dentro de la misma semana, en las condiciones descritas en linealidad. El tratamiento

consiste en la comparación o análisis de varianza (ANOVA). Si no existe diferencia significativa entre las curvas de calibración, según la prueba F con un nivel de significancia del 5 %, se establece que el método es repetible en el intervalo de concentraciones de trabajo <sup>29</sup>.

### **Límite de detección y de cuantificación.**

Para determinar el límite de detección y de cuantificación, se sigue el procedimiento indicado en los numerales 1), 2) y 3) del punto linealidad del método, para la preparación de la curva de calibración; se mide el blanco de agua destilada-TISAB en una relación 1:1 y posteriormente se procede a la adición de una serie de volúmenes apropiados de los estándares de fluoruro de 1, 10 y de 100 mg/L, tomando la lectura del potencial más estable después de cada adición. La preparación de la curva se presenta Tabla 2.

### **Exactitud del método**

Para la determinación de este parámetro se utilizaron tres muestras de saliva, elegidas de manera que se pudiera determinar la exactitud del método a diferentes niveles de concentración, de cada una de ellas se tomaron diez alícuotas de 10 mL, ejecutando el siguiente procedimiento para cada una de ellas:

- 1) De acuerdo al procedimiento para cuantificación de fluoruro. se determina la concentración inicial de fluoruro en la alícuota.
- 2) Acto seguido se adiciona una cantidad conocida de estándar de fluoruro.
- 3) Se determina la concentración final de la muestra después de la adición, a la cual se resta la concentración inicial de fluoruro en la muestra.

En este caso por no contar con un estándar certificado de fluoruro, la exactitud se

expresa como % de recobro.

**Tabla 2.** Preparación de la curva de calibración típica para la determinación del LD y LC

Volumen (µL)	C (mg/L)	Volumen (µL)	C (mg/L)	Volumen (µL)	C (mg/L)
0	-----	10	0.04	50	0.2
Estándar de 1 mg/L		10	0.045	50	0.225
10	0.0005	10	0.05	50	0.250
10	0.001	10	0.055	Estándar de 100 mg/L	
10	0.0015	10	0.06	50	0.5
10	0.002	10	0.065	50	0.75
20	0.003	10	0.07	50	1.00
20	0.004	10	0.075	200	2.00
20	0.005	10	0.08	200	3.00
Estándar de 10 mg/L		10	0.085	200	4.00
10	0.01	10	0.09	200	5.00
10	0.015	10	0.095	200	6.00
10	0.02	10	0.1	200	7.00
10	0.025	50	0.125	200	8.00
10	0.03	50	0.15	200	9.00
10	0.035	50	0.175		

### 3.9. Validación del método 9214 modificado

La validación del método 9214 de la ASTM <sup>1</sup> modificado, se realizó utilizando las curvas de calibración típica, graficando el potencial contra el logaritmo de la

concentración de fluoruro, en un rango de 0.25 a 10 mg/L.

Además se presentan los resultados de la evaluación de algunos parámetros de validación del método 9214 de la ASTM <sup>1</sup>, aplicando la técnica de Gran; los parámetros considerados fueron: la linealidad, el límite de detección, el límite de cuantificación y la exactitud.

### **Rango lineal del método**

El rango lineal del método se determinó graficando el potencial contra el logaritmo de concentración del ion bajo investigación, construyendo las curvas de calibración. Se utilizó como blanco agua destilada y TISAB en una relación 1:1; para las adiciones de fluoruro correspondientes a cada concentración, se utilizó un estándar de fluoruro de 100 mg/L. Se prepararon tres curvas de calibración durante un día de trabajo, con un rango de concentración de 0.25 a 10.00 mg/L de fluoruro; en la Tabla 3 se muestran los potenciales de las tres curvas y el potencial promedio de éstas.

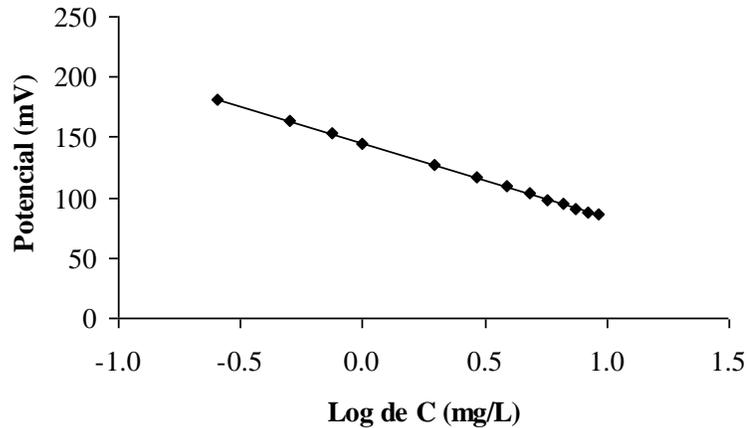
En la Figura 13 se muestra los resultados de graficar el potencial promedio ( $\overline{mV}$ ) de las tres curvas de calibración contra el logaritmo de la concentración (mg/L) aplicando el método de mínimos cuadrados. El cálculo de la ecuación de la línea recta correspondiente a esta gráfica se realizó utilizando la ecuación 11 para calcular la pendiente ( $b$ ) y la ecuación 12 para calcular el intercepto ( $a$ ), los resultados son reportados en la Tabla donde se puede notar que el electrodo produce una respuesta Nernstiana en el rango de concentración de trabajo.

El coeficiente de correlación ( $r$ ) se calculó a través de la ecuación 14, obteniendo un valor  $r$  de -0.9999 el cual indica que existe relación lineal entre el logaritmo de la concentración del analito ( $x$ ) y el potencial ( $y$ ) en el rango de 0.25 a 10.00 mg/L de

fluoruro; así también, se calculó la desviación de la regresión utilizando la ecuación 13, ambos resultados se reportan en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Potenciales medidos para la elaboración de la curva de calibración típica (1).

C (mg/L)	Log de C	mV <sub>1</sub>	mV <sub>2</sub>	mV <sub>3</sub>	$\overline{mV}$
0.252	-0.599	182	182	181	181.67
0.502	-0.299	163	164	164	163.67
0.751	-0.124	152	154	153	153.00
0.999	0.000	144	145	145	144.67
1.98	0.297	126	127	127	126.67
2.94	0.468	116	117	117	116.67
3.88	0.589	109	109	110	109.33
4.81	0.682	103	103	104	103.33
5.71	0.757	98	99	99	98.67
6.60	0.820	95	95	96	95.33
7.47	0.873	91	91	92	91.33
8.33	0.921	88	88	89	88.33
9.17	0.962	86	86	87	86.33
					$b = -61.25$ $a = 145.11$ $Sr = 0.3047$ $r = -0.9999$



**Figura 13** Curva de calibración típica (1).

### Repetibilidad del método

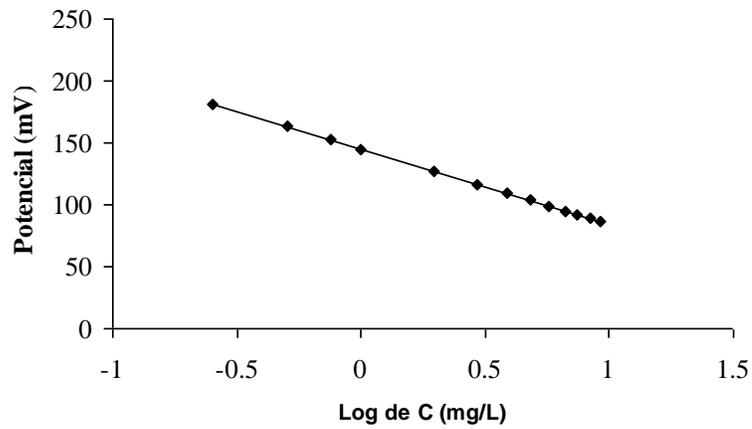
Para la determinación de este parámetro, fueron elaboradas tres curvas de calibración por el mismo analista durante tres días de la misma semana, en las condiciones descritas de linealidad. En la Tabla 3 se presentan los potenciales promedios correspondientes a las curvas de calibración (2) y (3) realizadas por día, utilizando el estándar de fluoruro de 100.00 mg/L. Los resultados de la curva de calibración (1) se presentaron en la Tabla 4.

En las Figuras 14 y 15 se presentan los resultados de graficar el potencial promedio contra el logaritmo de la concentración de las curvas (2) y (3). Al igual que en la sección anterior, el ajuste de la línea se realizó con el método de mínimos cuadrados, obteniendo valores altos de coeficiente de correlación lineal aplicando la ecuación 14. La ecuación de la línea recta se obtuvo utilizando la ecuación 11 para calcular la pendiente ( $b$ ) y la ecuación 12 para calcular el intercepto ( $a$ ); los resultados se presentan

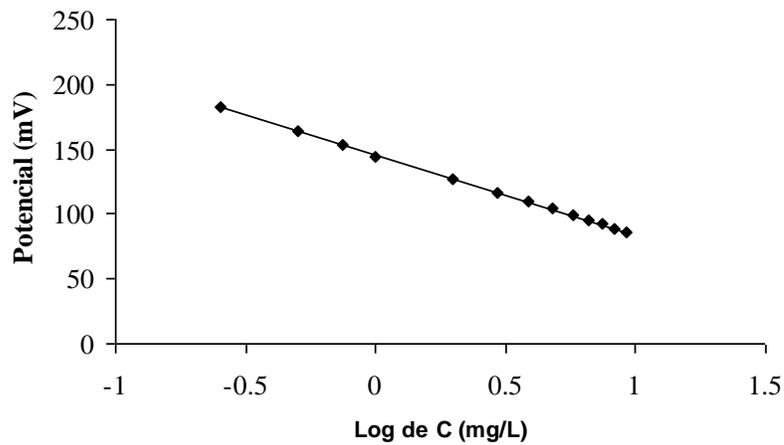
en la Tabla 4 observándose que el electrodo produce una respuesta Nernstiana; así también, se presenta la desviación estándar de la regresión calculada con la ecuación 13.

**Tabla 4** Resultados de las curvas de calibración típica (2) y (3).

C (mg/L)	Log de C	Curva (2) $\frac{\text{mV}}{mV}$	Curva (3) $\frac{\text{mV}}{mV}$
0.252	-0.599	181.33	182.00
0.502	-0.299	163.33	164.33
0.751	-0.124	153.00	153.33
0.999	0.000	144.33	144.67
1.98	0.297	126.67	127.33
2.94	0.468	116.67	117.00
3.88	0.589	109.33	109.33
4.81	0.682	103.67	104.00
5.71	0.757	99.00	99.00
6.61	0.820	95.00	95.33
7.47	0.873	92.00	92.00
8.33	0.921	89.00	89.00
9.17	0.962	86.00	86.33
		$a = 144.97$ $b = -60.86$ $S_r = 0.3128$ $r = -0.9999$	$a = 145.48$ $b = -61.28$ $S_r = 0.3383$ $r = -0.9999$



**Figura 14** Curva de calibración típica (2).



**Figura 15** Curva de calibración típica (3).

El tratamiento estadístico que determina si el método es repetible, consiste en el análisis de varianza (ANOVA), a través del cual se establece si existen o no diferencias significativas entre las curvas de calibración hechas por el mismo analista en diferentes días. Si no existe diferencia significativa según la prueba  $F$  con un nivel de significancia del 5%, se puede establecer que el método es repetible en el intervalo de concentración establecido.

El valor  $F$  experimental esta dado por:

$$F_{Exp} = \frac{(S_{r1})^2}{(S_{r2})^2} \quad (22)$$

Donde  $S_{r1}$  y  $S_{r2}$  corresponden a las desviaciones de la regresión de las dos curvas de calibración que se comparan, de tal forma que el numerador  $(S_{r1})^2$  debe ser mayor que el denominador  $(S_{r2})^2$ . El valor experimental  $F$  se compara con el valor  $F$  teórico<sup>(31)</sup>, considerando  $n_1-2$  grados de libertad en el numerador y  $n_2-2$  grados de libertad en el denominador, para un nivel de significancia del 5%. La prueba  $F$  supone el establecimiento de una hipótesis nula, la cual se confirma o rechaza de acuerdo al resultado de la comparación; pudiéndose dar dos situaciones:

- 1) Si  $F_{Exp} < F_{Tab}$  se confirma la hipótesis nula establecida, que en este caso es que no existe diferencia significativa entre las curvas de calibración que se están comparando, por lo que el método cumple con la condición de repetibilidad.
- 2) Si  $F_{Exp} > F_{Tab}$  se establece que la hipótesis nula no es valida, es decir, sí existe diferencia estadística significativa entre las curvas de calibración comparadas.

En la Tabla 5 se presentan los resultados obtenidos del análisis de varianza de las tres curvas de calibración presentadas anteriormente. Para las tres comparaciones se determinó que el valor  $F$  experimental es menor que el valor  $F$  de tabla, por lo que queda demostrado que no existe diferencia estadística significativa.

**Tabla 5** Resultados obtenidos del análisis de varianza de las curvas de calibración (1), (2) y (3).

Curva	Desviación ( $S_r$ )	Datos (n)	$F_{Exp}$	$F_{Tab}$	Conclusión
1	0.3047	13	$\frac{(S_{r2})^2}{(S_{r1})^2} = 1.05$	$F_{11,11,5\%} = 2.82$	$F_{Exp} < F_{Tab}$
2	0.3128	13			
2	0.3128	13	$\frac{(S_{r3})^2}{(S_{r2})^2} = 1.17$	$F_{11,11,5\%} = 2.82$	$F_{Exp} < F_{Tab}$
3	0.3383	13			
1	0.3047	13	$\frac{(S_{r3})^2}{(S_{r1})^2} = 1.23$	$F_{11,11,5\%} = 2.82$	$F_{Exp} < F_{Tab}$
3	0.3383	13			

### Límite de detección.

Se utilizó como blanco agua destilada y TISAB (1:1); se introdujeron los electrodos, manteniendo una agitación suave y constante, se registró la lectura del potencial estable generado por el blanco. Posteriormente se procedió a adicionar cantidades conocidas de los estándares de fluoruro, como se indicó en la Tabla 3 midiendo el potencial después de cada adición; las adiciones se realizaron en el siguiente orden:

- 1) Se adicionaron cantidades conocidas del estándar de fluoruro de 1 mg/L, para obtener un rango de concentración de 0.0005 a 0.005 mg/L.
- 2) Se adicionaron cantidades conocidas del estándar de fluoruro de 10 mg/L, para

obtener un rango de concentración de 0.01 a 0.25 mg/L.

- 3) Se hicieron adiciones del estándar de fluoruro de 100 mg/L para obtener la curva típica de calibración, la cual comprende valores de concentración entre 0.25 y 10 mg/L, cuya ecuación de la línea recta cumple con la ecuación de Nernst.
- 4) Finalmente se graficó el potencial contra el logaritmo de la concentración.

El LD se determinó como el punto de intersección entre la zona lineal Nernstiana y la zona lineal que representa el potencial, cuando las adiciones del estándar de fluoruro de 1 mg/L son tan pequeñas que el electrodo no registra cambios del potencial. En la Figura se indicó como límite de detección al punto "C".

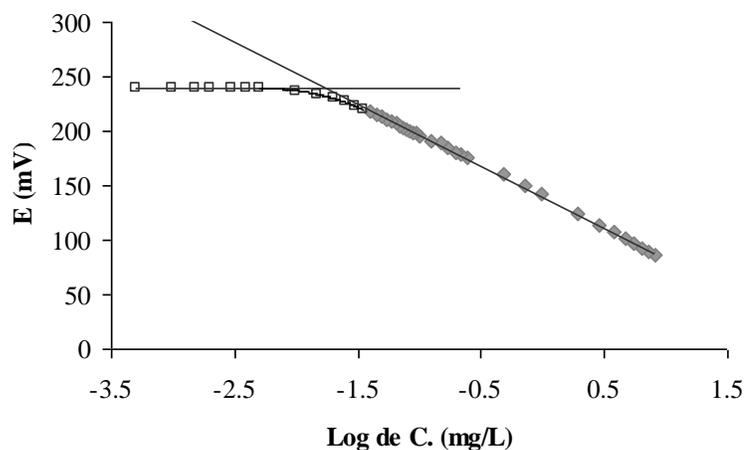
En la Tabla 6 se presentan los resultados de uno de los tres ensayos correspondientes a la determinación del límite de detección y el límite de linealidad realizados, siguiendo el procedimiento antes descrito; al graficar los resultados se consideraron el efecto de dilución por lo que los valores teóricos de concentración fueron corregidos.

La gráfica correspondiente a la Tabla 6 se muestra en la Figura 16, en la cual se observa claramente que la línea recta de calibración se vuelve curva a medida disminuye la concentración de fluoruro hasta que finalmente se hace horizontal, debido a que no se verifica ningún cambio en la respuesta del electrodo en el rango de concentración de 0.0005 a 0.004 mg/L de fluoruro, como se puede consultar en la tabla.

La determinación del LD se efectuó según el método del punto de cruce. En la tabla 7 se presentan los resultados obtenidos en los tres ensayos realizados para determinar el LD, utilizando la curva de calibración típica.

**Tabla 6** Resultados de la curva de calibración típica (1) para la determinación del LD y límite de linealidad.

C (mg/L)	Log de C	mV	C (mg/L)	Log de C	mV	C (mg/L)	Log de C	mV
0		240	0.045	-1.351	215	0.195	-0.709	181
0.0005	-3.301	240	0.050	-1.305	213	0.219	-0.659	179
0.001	-3.000	240	0.054	-1.264	211	0.243	-0.615	176
0.0015	-2.825	240	0.059	-1.226	209	0.484	-0.315	160
0.002	-2.700	240	0.064	-1.192	207	0.725	-0.140	150
0.003	-2.524	240	0.069	-1.160	205	0.964	-0.016	142
0.004	-2.400	240	0.074	-1.130	203	1.91	0.281	125
0.005	-2.303	239	0.079	-1.102	202	2.84	0.453	114
0.01	-2.002	237	0.084	-1.076	200	3.75	0.574	107
0.015	-1.827	234	0.089	-1.052	199	4.64	0.667	101
0.02	-1.702	230	0.094	-1.028	198	5.52	0.742	97
0.025	-1.605	227	0.099	-1.006	196	6.38	0.805	93
0.03	-1.526	222	0.123	-0.910	191	7.23	0.859	89
0.035	-1.459	220	0.147	-0.832	189	8.06	0.906	86
0.04	-1.402	218	0.171	-0.766	185			



**Figura 16** Gráfica de la determinación del LD y límite de linealidad utilizando la curva de calibración típica.

**Tabla 7.** Resultados obtenidos en la determinación del LD. De acuerdo al método del punto de cruce.

Curva	LD mínimo	LD medio	Límite de detección (mg/L) (LD máximo)	Sd
1	1.77E-02	1.88E-02	2.03E-02	1.30E-03
2	1.94E-02	2.13E-02	2.14E-02	1.11E-03
3	1.67E-02	1.69E-02	1.78E-02	5.66E-04

El valor promedio del límite de detección obtenido es de  $1.98 \times 10^{-2}$  mg/L, considerando los valores de LD máximo como lo sugiere la IUPAC<sup>20</sup>, este valor indica que esa es la mínima concentración de fluoruro que puede ser detectada, mas no cuantificada con exactitud utilizando el método 9214 de la (ASTM).

## Límite de cuantificación

En la Tabla 8 se presenta una de las curvas de calibración obtenidas para la determinación del límite de linealidad, en la cual se incluyen la concentración, el logaritmo de la concentración, las lecturas del potencial experimental ( $E_{Exp}$ ), el potencial corregido utilizando el método de mínimos cuadrados, los valores  $\delta$  correspondientes a cada punto, calculados al aplicar la ecuación 15 y finalmente los valores  $t$  correspondientes a cada punto de calibración utilizando la ecuación 16.

Los resultados muestran que el valor  $t$  observado para el punto 30 es menor que el valor crítico de  $t$  (5%, 30 -1) el cual es de 2.045, por lo que este punto sí se puede incluir en el cálculo de la ecuación de la línea recta de la curva de calibración; pero el valor  $t$  observado para el punto 31 de la curva es mayor que el valor crítico de  $t$ , por lo que el par (-1.459, 220) no debe ser incluido en el cálculo de la ecuación de línea recta de la curva de calibración.

De esta forma se considera que en esta curva en particular, el punto 30 correspondiente al par (-1.402, 218) es límite de linealidad, equivalente a una concentración de fluoruro de 0.04 mg/L. La ecuación de línea recta de la curva de calibración, calculada aplicando el método de mínimos cuadrados considerando  $n = 30$  presenta los siguientes valores:  $a = 139.66$ ;  $b = -56.862$  y  $r = -0.99956$ .

En la Figura 16 se presentan los resultados del potencial contra el logaritmo de la concentración de la curva de calibración típica (1), para la determinación del límite de linealidad. Los resultados de los tres ensayos efectuados para la determinación de este parámetro se presentan en la Tabla 9.

**Tabla 8** Resultados de la curva de calibración típica (1) para la determinación del límite de linealidad aplicando la prueba t-Student.

No	C(mg/L)	Log de C	E <sub>Exp</sub> (mV)	E <sub>Corregido</sub> (mV)	$\delta$ n = 30	t de Student
1	8.06	0.906	86	88.13	2.13	1.524
2	7.23	0.859	89	90.82	1.82	1.083
3	6.38	0.805	93	93.89	0.89	-0.221
4	5.52	0.742	97	97.47	0.47	-0.811
5	4.64	0.667	101	101.75	0.75	-0.425
6	3.75	0.574	107	107.03	0.03	-1.438
7	2.84	0.453	114	113.90	0.10	-1.334
8	1.91	0.281	125	123.68	1.32	0.385
9	0.964	-0.016	142	140.56	1.44	0.554
10	0.725	-0.140	150	147.60	2.40	1.898
11	0.484	-0.315	160	157.56	2.44	1.964
12	0.243	-0.615	176	174.61	1.39	0.476
13	0.219	-0.659	179	177.15	1.85	1.121
14	0.195	-0.709	181	180.00	1.00	-0.073
15	0.171	-0.766	185	183.24	1.76	1.000
16	0.147	-0.832	189	186.99	2.01	1.357
17	0.123	-0.910	191	191.43	0.43	-0.874
18	0.099	-1.006	196	196.88	0.88	-0.242
19	0.094	-1.028	198	198.13	0.13	-1.291
20	0.089	-1.052	199	199.46	0.46	-0.836
21	0.084	-1.076	200	200.85	0.85	-0.274
22	0.079	-1.102	202	202.34	0.34	-0.999
23	0.074	-1.130	203	203.92	0.92	-0.181
24	0.069	-1.160	205	205.61	0.61	-0.615
25	0.064	-1.192	207	207.43	0.43	-0.871
26	0.059	-1.226	209	209.39	0.39	-0.921
27	0.054	-1.264	211	211.53	0.53	-0.729
28	0.050	-1.305	213	213.87	0.87	-0.248
29	0.045	-1.351	215	216.46	1.46	0.581
<b>30</b>	<b>0.040</b>	<b>-1.402</b>	<b>218</b>	<b>219.36</b>	<b>1.36</b>	<b>0.435</b>
31	0.035	-1.459	220	222.64	2.64	2.244
					$n = 30$ $\bar{\delta} = 1.05$	/t/ 1.699

**Tabla 9** Resultados de la determinación del límite de linealidad aplicando la prueba t-Student.

Curva	Límite de linealidad (mg/L)	t de Student $t_{(0.95; n-1)}$
1	4.00E-02	$t_{(0.95; 29)} = 2.045$
2	3.00E-02	$t_{(0.95; 30)} = 2.042$
3	3.50E-02	$t_{(0.95; 31)} = 2.04$

El valor mayor del límite de linealidad obtenido es de 0.04 mg/L con un valor de probabilidad del 95 % según la t de Student; este valor indica que esa es la mínima concentración de fluoruro que se puede considerar para el cálculo de la ecuación de línea recta de la curva de calibración, útil para determinar cuantitativamente al Ion fluoruro en una muestra de agua.

#### **Exactitud del método.**

Para la determinación de este parámetro se realizaron dos ensayos de porcentaje de recobro, para conocer la exactitud a diferentes niveles de concentración.

El primer ensayo se efectuó utilizando una curva de calibración con un rango de concentración de 0.05 a 8.91 mg/L de fluoruro; los valores de la ecuación de línea recta para esta curva fueron:  $b = -59.93$ ;  $a = 129.69$ , con un coeficiente de correlación lineal de -0.9998.

Para este ensayo se tomaron 5 alícuotas de una muestra de saliva a las cuales se les determinó la concentración inicial y luego se procedió a adicionar una cantidad de estándar de fluoruro equivalente a 0.05 mg/L, para medir luego la concentración final de

fluoruro en la muestra, con ambas concentraciones se procedió al cálculo del porcentaje de recobro, los cuales se muestran en la Tabla 10.

**Tabla 10.** Resultados del ensayo (1) del % de recobro utilizando la curva de calibración típica.

No.	E <sub>Inicial</sub> (mV)	C <sub>Inicial</sub> (mg/L)	E <sub>Final</sub> (mV)	C <sub>Final</sub> (mg/L)	% de recobro
1	180	0.145	172	0.197	104.15
2	180	0.145	172	0.197	104.15
3	179	0.150	171.5	0.201	100.45
4	180	0.145	172	0.197	104.15
5	180	0.145	172	0.197	104.15
6	181	0.139	173	0.189	100.23
7	180	0.145	172	0.197	104.15
8	180	0.145	172	0.197	104.15
9	179.5	0.148	172	0.197	98.54
10	180	0.145	172	0.197	104.15

De acuerdo a los resultados presentados en la tabla anterior el promedio de porcentaje de recobro es 102.83 %, por lo que la exactitud del método de determinación de fluoruro a estos niveles de concentración es aceptable.

El segundo ensayo para la determinación del porcentaje de recobro se realizó utilizando una curva de calibración con un rango de concentración comprendido entre 0.25 y 10.00 mg/L de fluoruro, el cual fue utilizado para el cálculo de los parámetros de linealidad, repetibilidad y reproducibilidad.

Para la determinación del porcentaje de recobro en estas condiciones se tomaron cinco alícuotas de una muestra de agua potable, a las que de forma individual se les determinó inicialmente la concentración de fluoruro y posteriormente se les adicionó una cantidad adecuada de estándar de fluoruro correspondiente a una concentración de 1.48 mg/L, registrando el cambio del potencial después de la adición, para determinar la concentración final.

En la Tabla 11 se presentan los resultados del segundo ensayo de la determinación del % de recobro; la curva de calibración utilizada para determinar las concentraciones iniciales y finales de cada alícuota se elaboró poco antes del ensayo, obteniéndose los siguientes resultados: el intercepto  $a = 140.74$ ; la pendiente  $b = -60.95$ ;  $r = -0.9999$ .

**Tabla 11** Resultados del ensayo (2) del % de recobro utilizando la curva de calibración típica.

No.	E Inicial (mV)	C Inicial (mg/L)	E Final (mV)	C Final (mg/L)	% de recobro
1	127	1.68	110	3.19	102.27
2	128	1.62	111	3.08	98.48
3	127	1.68	110	3.19	102.27
4	128	1.62	111	3.08	98.48
5	127	1.68	110	3.19	102.27
6	128	1.62	111	3.08	98.48
7	128	1.62	111	3.08	98.48
8	126	1.75	110	3.19	97.90
9	128	1.62	111	3.08	98.48
10	126	1.75	110	3.19	97.90

Los porcentajes de recobro se calcularon de acuerdo a la ecuación (21); los resultados obtenidos demuestran que la metodología utilizada posee una buena exactitud, ya que el recobro promedio es de 99.5 %.

### **Propiedades analíticas del método**

En la tabla 12 se presenta un resumen de las propiedades analíticas del método utilizado.

**Tabla 12** Propiedades Analíticas.

Límite de detección	0.02 mg/L
Limite de cuantificación	0.04 mg/L
Precisión	Muy preciso
Exactitud	99.5%
Rango Lineal	0.05 a 10 mg/L

## **4. PRUEBAS ESTADÍSTICAS A UTILIZAR**

Los análisis estadísticos fueron elaborados en el programa Minitab 14 con datos importados de Excel.

Para analizar la diferencia entre los centros escolares se realizó un análisis de varianza (ANOVA) este fue utilizado para determinar si existe o no diferencias significativas entre los resultados de los tres centros escolares comparando los contenidos promedios de fluoruro, utilizando para ello una hipótesis nula y la tabla de valor  $F$  para aceptar o rechazar dicha hipótesis. Además se realizó un calculo de correlación para estudiar el grado de asociación entre los contenidos de fluoruro en

saliva y un análisis de conglomerados que es un método que se utiliza para dividir un grupo de objetos en una serie de clases, de manera que los objetos similares se encuentren en la misma clase<sup>27</sup>.

La correlación entre las variables numéricas se aplicó el coeficiente de P; en donde los valores pueden ser de 1 para la correlación positiva, -1 para la correlación negativa y el valor de cero (0) la correlación es nula o no significativa.

## **5. LIMITANTES DE LA INVESTIGACIÓN.**

- ✓ Cantidad Insuficiente de fluido salival (20ml), ya que al momento de hacer la dilución con los reactivos (en la prueba ensayo) se obtenía un dato poco confiable; razón por la cual esta cantidad de muestra se elevó a 40ml.
- ✓ Falta de colaboración de los sujetos a investigar, ya que muchos se mostraron reacios al momento de hacer la recolección de fluido salival.
- ✓ Dificultad al momento en el que se detalló el contenido de cada uno de los apartados que conforman la investigación, debido a la falta de insumos metodológicos (guías).
- ✓ Falta el grupo control de escolares con cero caries y que no reciben terapia de fluorodentífricos.
- ✓ Incompatibilidad de horarios entre programación establecida en el servicio social como horarios escolares y visitas a las escuelas; debido a estar ubicado en distintos SIBASIS del país.

## **6. CONSIDERACIONES ETICAS.**

El método para obtener el consentimiento informando fue a través de una carta, en la cual se explico al padre o responsable del escolar en que consistió la investigación y cual fue su participación en el estudio. Además se les hizo saber, que no existían riesgos y que se implementaría barreras de protección, para controlar posibles infecciones cruzadas (mascarillas, gabacha, campo desinfectado, instrumental estéril y guantes por cada paciente). También, se hizo mención del beneficio de la consulta profesional.

## 7. RESULTADOS

### 7.1. Cuadros de resultados

**Cuadro 1.** Concentración de fluoruro en alumnas del centro Escolar España # 1.

Alumnas	Edad (Años)	Grado y Sección	Concentración de fluoruro	Desviación Estándar
Julia López	7	1°B	0.25 mg/l	± 0.015
Esmeralda Ramírez	9	2° A	0.25 mg/l	± 0.017
Karen López	7	1° A	0.25 mg/l	± 0.015
Joselin Cortés	9	3° A	0.23 mg/l	± 0.013
Daniela Muñoz	7	1°A	0.20 mg/l	± 0.012
Aurora Flores	10	3°A	0.19 mg/l	± 0.011
Sonia Peraza	8	2° A	0.19 mg/l	± 0.011
Iris Martínez	8	2° A	0.18 mg/l	± 0.010
Emma Dubon	8	2° B	0.16 mg/l	± 0.009
Estefani Montoya	7	1° A	0.15 mg/l	± 0.009
Roció Chicas	10	3° A	0.14 mg/l	± 0.008
Allison Vázquez	8	2°B	0.14 mg/l	± 0.008
Karla Pineda	10	3° A	0.13 mg/l	± 0.008
Lisbeth Gonzáles	10	3° A	0.11 mg/l	± 0.006
Maria Clímaco	8	2° B	0.10 mg/l	± 0.006
Rita del C. Guzmán	8	2° B	0.09 mg/l	± 0.005
Zoila Mendez	7	1° B	0.40 mg/l	
				X =0.18
				δ =0.078

Para determinar si la concentración obtenida para la estudiante Zoila Méndez (en el cuadro 1), podría ser considerado como anómalo, se utilizó el criterio que establece que los datos anómalos son aquellos que no están comprendidos en el rango ( $X \pm 3\sigma$ ). Por lo tanto, los datos fuera de este rango pueden clasificarse como anómalos con un

99% de certeza. Al hacer este cálculo se obtuvo un resultado de 0.354, debido a que el valor de la concentración de fluoruro en la saliva de Zoila Méndez es mayor que el resultado del criterio estadístico, se considera como dato anómalo, razón por la cual este no fue utilizado en los estudios estadísticos. En el cuadro 1 se puede observar que la concentración más alta encontrada fue de de 0.25 mg/L y el mas bajo de 0.09 mg/L obteniendo una media aritmética de  $\bar{X}=0.18$  y una desviación estándar  $\delta=0.058$ .

**Cuadro 2.** Concentración de fluoruro en alumnos del Centro Escolar República de Honduras.

Alumnas	Edad (Años)	Grado y Sección	Concentración de fluoruro	Desviación Estándar
Stephany Martínez	7	1°B	0.23 mg/l	± 0.008
Kevin Amaya	8	1°A	0.21 mg/l	± 0.007
Carmen M. Aguilar	8	2°A	0.18 mg/l	± 0.006
Katerine A. Fuentes	8	2°A	0.16 mg/l	± 0.006
Jackeline López	7	1°A	0.15 mg/l	± 0.005
Lidia Marengo	8	2°A	0.15 mg/l	± 0.005
Evelyn Amaya	8	1°B	0.14 mg/l	± 0.005
Juan S. Rosales	9	1°B	0.14 mg/l	± 0.005
Paola Vázquez	7	1°B	0.14 mg/l	± 0.005
Alejandra Alfaro	7	1°A	0.13 mg/l	± 0.005
Fátima Vázquez	7	1°A	0.13 mg/l	± 0.005
Brenda Castro	7	1°A	0.11 mg/l	± 0.004
Bryan Garay Gomez	8	1°B	0.10mg/l	±0.003
				X =0.15mg/l
				δ= 0.036

El cuadro 2 presenta las concentraciones de fluoruro obtenidas de los sujetos del centro escolar Honduras, observándose que la menor concentración encontrada fue de

0.10 mg/L y la mayor de 0.23 mg/L. Además, puede observarse en el mismo cuadro que la media aritmética para este grupo fue de  $\bar{X}=0.15$ , con una desviación estándar  $\delta=0.036$

**Cuadro 3:** Concentración de fluoruro en alumnos del Centro Escolar Villa Mariona

Alumnas	Edad (Años)	Grado y Sección	Concentración de Fluoruro	Desviación Estándar
Evelyn Ayala	7	1°A	0.20 mg/l	± 0.008
David Hernández	9	2°A	0.19 mg/l	± 0.008
José Ardon	11	1°A	0.13 mg/l	± 0.006
Zuleyma Rivas	7	1°A	0.13 mg/l	± 0.006
Ángela Aguirre	8	2°A	0.11 mg/l	± 0.005
Juan José Aragón	8	1°A	0.11 mg/l	± 0.005
Iris Rivas	8	1°A	0.10 mg/l	± 0.004
Jonathan García	10	2°A	0.09 mg/l	± 0.004
Wendy Sosa	8	2°A	0.09 mg/l	± 0.004
Adriana Cáceres	11	4°A	0.08 mg/l	± 0.004
Walter Chávez	10	4°A	0.07 mg/l	± 0.003
Laura Mejia	9	2°A	0.06 mg/l	± 0.003
				$\bar{X} = 0.11$
				$\delta = 0.043$

La concentración de fluoruro más alta encontrada para este centro escolar fue de 0.20 mg/L y la menor de 0.06 mg/l, obteniéndose una media aritmética de  $\bar{X} = 0.11$  y una desviación estándar  $\delta=0.043$

## 7.2. Diferencias entre centros escolares

### Análisis de varianza (anova)

**Cuadro 4.** Resultados obtenidos del análisis de varianza de los centros escolares (España), (Honduras) y (Villa Mariona).

Curva	Desviación ( $S_r$ )	Datos (n)	$F_{Exp}$	$F_{Tab}$	Conclusión
España	0.078	16	$\frac{(S_{r2})^2}{(S_{r1})^2} = 4.69$	$F_{14,11,5\%} = 2.74$	$F_{Exp} > F_{Tab}$
Honduras	0.036	13			
España	0.078	16	$\frac{(S_{r3})^2}{(S_{r2})^2} = 3.29$	$F_{14,10,5\%} = 2.86$	$F_{Exp} > F_{Tab}$
Villa Mariona	0.043	12			
Honduras	0.043	13	$\frac{(S_{r3})^2}{(S_{r1})^2} = 1.42$	$F_{11,10,5\%} = 2.94$	$F_{Exp} < F_{Tab}$
Villa mariona	0.036	12			

### Calculo del coeficiente de correlación

**Cuadro 5.:** Coeficientes de correlación entre los centros escolares

Centro Escolar	España	Honduras
Honduras	R= 0.837	
Villa Mariona	R= 0.375	R= 0.726

En el cuadro 6 los centros escolares que presentan una mejor correlación de los contenidos de fluoruro en saliva son España # 1 y Honduras, es decir que tiene una mejor asociación en sus datos estadísticos con respecto a la concentración de fluoruro en saliva.

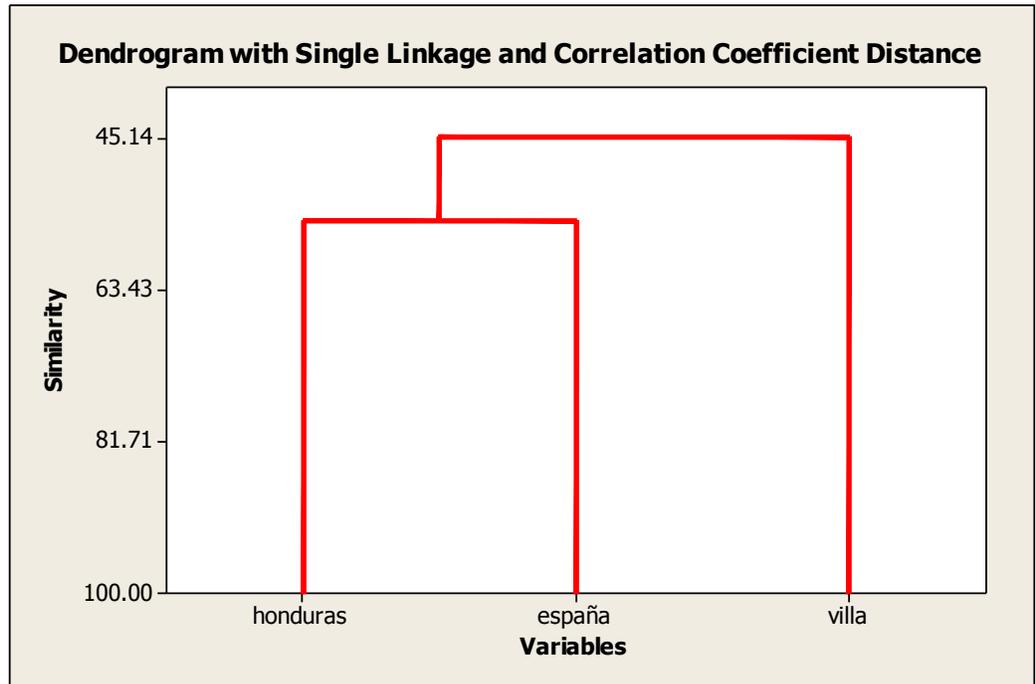
Sin embargo, al calcular el coeficiente de correlación para las escuelas España y villa mariona, se obtiene un resultado de 0.375, indicando que la correlación entre ambas escuelas es muy baja.

**Cuadro 6.** Análisis de Conglomerados.

Pasos	Numero de Columnas	Nivel de Similitud	Nivel de Distancia	Columnas Incluidas	Nueva Columna	Numero de objetos en la nueva columna
1	2	53.1634	0.93673	1 2	1	2
2	1	44.6162	1.10768	1 3	1	3

En el cuadro 6 se pueden observar los diferentes pasos (primera columna) que se llevan a cabo para la realización del análisis de conglomerados. En la tercera columna se presenta el nivel de similitud entre las observaciones que agrupa en cada paso y en la cuarta la distancia existente entre estas agrupaciones y las columnas restantes indican las columnas agrupadas en los conglomerados obtenidos.

El análisis de conglomerados también se puede representar en forma gráfica por medio de un dendograma, como puede observarse en la Figura 17.



**Figura 17** Dendrograma con unión simple y distancia de coeficiente de correlación. (Minitab 14)

Como puede observarse en el dendrograma obtenido y mostrado en la Figura 17 y de acuerdo a los datos presentado en el cuadro 6, los centros escolares honduras y España presentan un mejor nivel de similitud y una menor distancia entre ellos, por lo que conforman el primer conglomerado, lo que se observa en el dendrograma por la unión de estos dos centros escolares por medio de una línea horizontal, lo que significa existe una mayor similitud entre los resultado de estos dos centros escolares y una menor similitud al compararlos con los de la escuela villa mariona.

### **7.3. Cuadros con índice de actividad cariogénica de los centros escolares en estudio.**

Los cuadros 7, 8, 9, muestran el índice de actividad de caries que presentan los alumnos que pertenecen a la investigación, resumiendo los índices de CPO/D y ceo/d

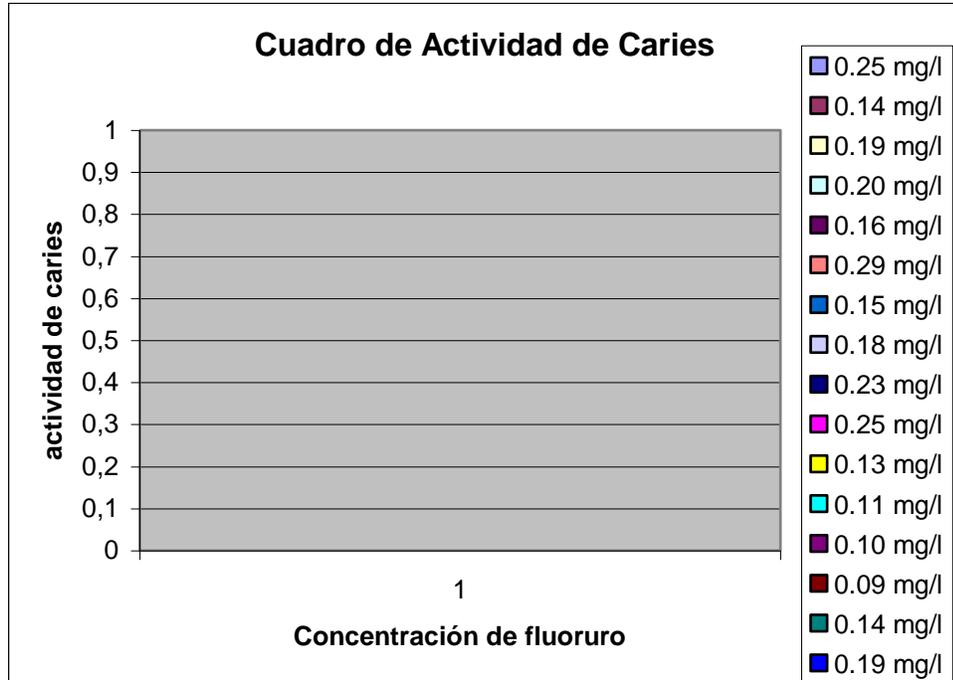
encontrados al realizar los diagnósticos clínicos (Tomando en cuenta solo factor caries). Comparándolos con las concentraciones de fluoruro respectivamente de cada alumno.

**Cuadro 7. Centro escolar España.**

Alumnas	Edad (Años)	Grado y Sección	Concentración de fluoruro	Actividad de Caries
Julia López	7	1°B	0.25 mg/l	0
Esmeralda Ramírez	9	2° A	0.25 mg/l	0
Karen López	7	1° A	0.25 mg/l	0
Joselin Cortés	9	3° A	0.23 mg/l	0
Daniela Muñoz	7	1°A	0.20 mg/l	0
Aurora Flores	10	3°A	0.19 mg/l	0
Sonia Peraza	8	2° A	0.19 mg/l	0
Iris Martínez	8	2° A	0.18 mg/l	0
Emma Dubon	8	2° B	0.16 mg/l	0
Estefani Montoya	7	1° A	0.15 mg/l	0
Roció Chicas	10	3° A	0.14 mg/l	0
Allison Vázquez	8	2°B	0.14 mg/l	0
Karla Pineda	10	3° A	0.13 mg/l	0
Lisbeth Gonzáles	10	3° A	0.11 mg/l	0
Maria Clímaco	8	2° B	0.10 mg/l	0
Rita del C. Guzmán	8	2° B	0.09 mg/l	0
			X =0.18	X= 0

El cuadro 7 muestra la concentración de fluoruro de cada alumno, así como su actividad de caries; en la Figura 18 se muestra el gráfico que corresponde a estos datos de los sujetos en estudio pertenecientes al Centro Escolar España #1.

Figura 18. Gráfico de Centro escolar España.



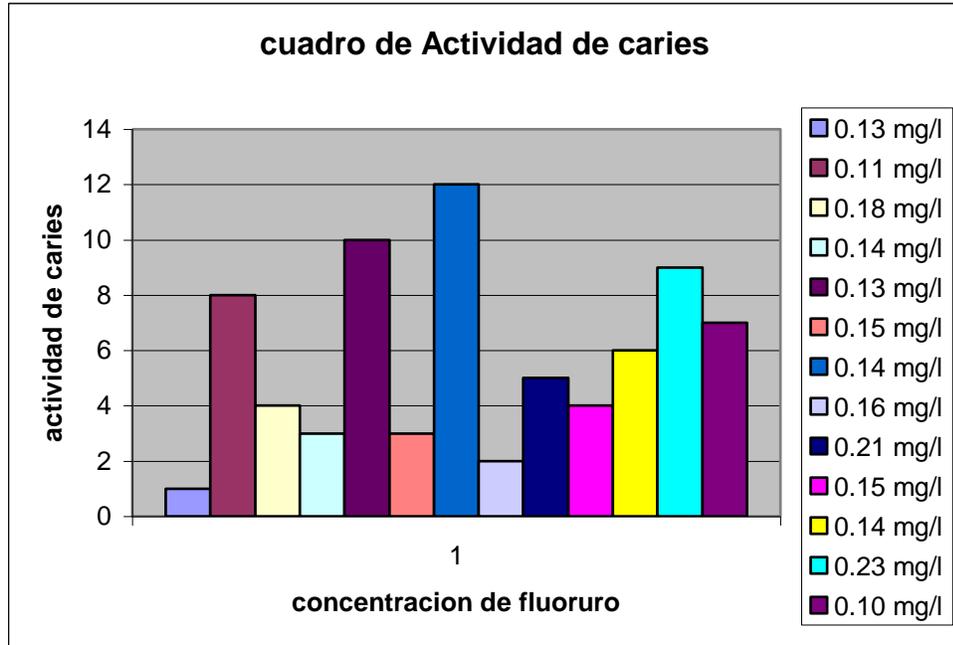
Fuente: Elaboración propia

**Cuadro 8. Centro escolar Honduras**

Alumnas	Edad (Años)	Grado y Sección	Concentración de fluoruro	Actividad de Caries
Stephany Martínez	7	1°B	0.23 mg/l	9
Kevin Amaya	8	1°A	0.21 mg/l	5
Carmen M. Aguilar	8	2°A	0.18 mg/l	4
Katerine A. Fuentes	8	2°A	0.16 mg/l	2
Jackeline López	7	1°A	0.15 mg/l	3
Lidia Marengo	8	2°A	0.15 mg/l	4
Evelyn Amaya	8	1°B	0.14 mg/l	3
Juan S. Rosales	9	1°B	0.14 mg/l	12
Paola Vázquez	7	1°B	0.14 mg/l	6
Alejandra Alfaro	7	1°A	0.13 mg/l	1
Fátima Vázquez	7	1°A	0.13 mg/l	10
Brenda Castro	7	1°A	0.11 mg/l	8
Bryan Garay Gomez	8	1°B	0.10mg/l	7
			X = 0.15 mg/l	X= 5.69

El cuadro 8 muestra la concentración de fluoruro de cada alumno, así como su actividad de caries. En la Figura 19 se muestra el grafico que corresponde a estos datos de los sujetos en estudio pertenecientes al Centro Escolar Republica de Honduras.

**Figura 19. Grafico de Centro escolar Honduras**



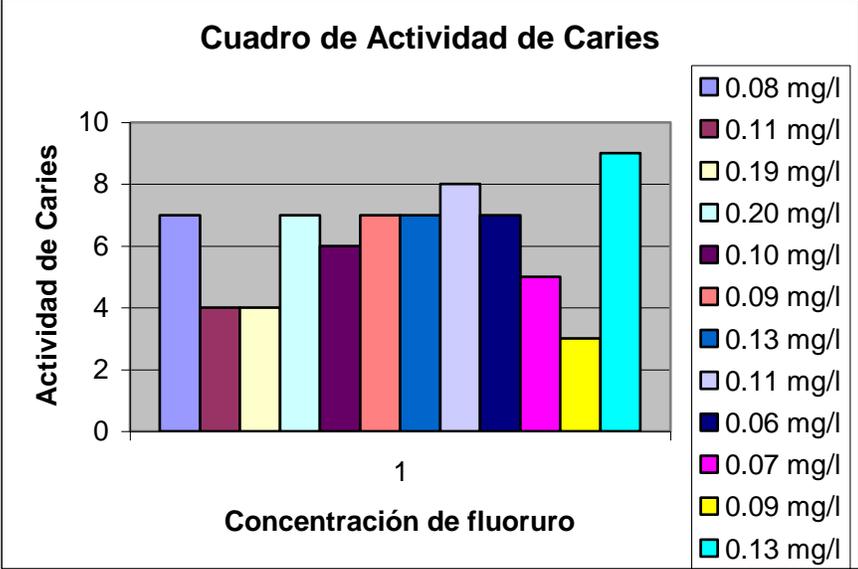
**Fuente: Elaboración Propia**

**Cuadro 9. Centro Escolar Villa Mariona.**

Alumnas	Edad (Años)	Grado y Sección	Concentración de Fluoruro	Actividad de Caries
Evelyn Ayala	7	1°A	0.20 mg/l	7
David Hernández	9	2°A	0.19 mg/l	4
José Ardon	11	1°A	0.13 mg/l	7
Zuleyma Rivas	7	1°A	0.13 mg/l	9
Ángela Aquino	8	2°A	0.11 mg/l	4
Juan José Aragón	8	1°A	0.11 mg/l	8
Iris Rivas	8	1°A	0.10 mg/l	6
Jonathan García	10	2°A	0.09 mg/l	7
Wendy Sosa	8	2°A	0.09 mg/l	3
Adriana Cáceres	11	4°A	0.08 mg/l	7
Walter Chávez	10	4°A	0.07 mg/l	5
Laura Mejia	9	2°A	0.06 mg/l	7
			X = 0.11 mg/l	X = 6.17

El cuadro 10 muestra la concentración de fluoruro de cada alumno del C.E. Villa Mariona, así como la actividad de caries. En la Figura 20 el gráfico que corresponde a estos datos.

Figura 20. Gráfico de Centro escolar Villa Mariana.



Fuente: Elaboración propia

**7.4. Cuadro de correlación entre actividad cariogénica y concentración de fluoruro en saliva.**

Nombre	Concentración de Fluoruro en Saliva	Actividad de Caries
<b>Stephany Martínez</b>	0.23 mg/l	9
Kevin Amaya	0.21 mg/l	5
Carmen M. Aguilar	0.18 mg/l	4
Katerine A. Fuentes	0.16 mg/l	2
Jackeline López	0.15 mg/l	3
Lidia Marengo	0.15 mg/l	4
Evelyn Amaya	0.14 mg/l	3
Juan S. Rosales	0.14 mg/l	12
Paola Vázquez	0.14 mg/l	6
Alejandra Alfaro	0.13 mg/l	1
Fátima Vázquez	0.13 mg/l	10
Brenda Castro	0.11 mg/l	8
Bryan Garay Gomez	0.10mg/l	7
<b>Julia López</b>	0.25 mg/l	0
Esmeralda Ramírez	0.25 mg/l	0
Karen López	0.25 mg/l	0
Joselin Cortés	0.23 mg/l	0
Daniela Muñoz	0.20 mg/l	0
Aurora Flores	0.19 mg/l	0
Sonia Peraza	0.19 mg/l	0
Iris Martínez	0.18 mg/l	0
Emma Dubon	0.16 mg/l	0
Estefani Montoya	0.15 mg/l	0
Rocío Chicas	0.14 mg/l	0
Allison Vázquez	0.14 mg/l	0
Karla Pineda	0.13 mg/l	0
Lisseth Gonzáles	0.11 mg/l	0
Maria Clímaco	0.10 mg/l	0
Rita del C. Guzmán	0.09 mg/l	0
<b>Evelyn Ayala</b>	0.20 mg/l	7
David Hernández	0.19 mg/l	4
José Ardon	0.13 mg/l	7
Zuleyma Rivas	0.13 mg/l	9
Ángela Aquino	0.11 mg/l	4
Juan José Aragón	0.11 mg/l	8

Iris Rivas	0.10 mg/l	6
Jonathan García	0.09 mg/l	7
Wendy Sosa	0.09 mg/l	3
Adriana Cáceres	0.08 mg/l	7
Walter Chávez	0.07 mg/l	5
Laura Mejia	0.06 mg/l	7
		X= 3.61
		σ= 3.58
		<b>P = 0.031</b>

C. E. Honduras
  C. E. España #1
  C.E. Villa Mariona

En el cuadro anterior se puede observar todas las concentraciones de fluoruro en saliva encontrada en la población de estudio, así como también el total de actividad cariogénica con un promedio es de  $X= 3.61 \pm 3.58$ .

Además se estableció un análisis de correlación entre las dos variables (concentración de fluoruro en saliva y actividad cariogénica) para poder definir la correlación existente entre ellas, obteniendo como resultado de  $P = 0.031$  la correlación entre actividad de caries y concentración de fluoruro en saliva.

## 8. DISCUSION

Los resultados obtenidos en la presente investigación son estadísticamente no significativos en establecer una correlación entre concentración de fluoruro en saliva con actividad cariogénica.

A pesar de haber encontrado una correlación positiva no significativa, las pruebas estadísticas evidencia que los escolares con una alta concentración de fluoruro en saliva no mostraban tener una baja actividad cariogénica. De igual manera los escolares con una baja concentración de fluoruro en saliva presentaron una actividad cariogénica similar a los que poseen una concentración mayor.

De la población total se determinó la concentración de fluoruro en saliva, obteniendo de esta manera que en el C.E. España #1 la concentración más baja medida fue de 0.09 mg/L de fluoruro (F) y en el centro escolar Republica de Honduras de 0.10 mg/L de F. De igual manera la concentración más alta para ambos centros escolares es de 0.25 mg/L F obteniendo así como media poblacional de concentración de fluoruro en saliva, en el centro Escolar España # 1 de 0.18mg/L y en la escuela honduras de 0.15 mg/L de fluoruro.

En cuanto al C.E Villa Mariona el rango de concentración encontrado estuvo entre 0.06 mg/L F como mínima y 0.20 mg/L F como máxima obteniendo así una media poblacional de 0.11 mg/L F.

Con los resultados obtenidos se demostró la presencia de fluoruro en el fluido salival en los niños de los tres centros escolares. En términos generales estas concentraciones están dentro del rango de 0.06 mg/L F a 0.25 mg/L F, los cuales son valores representativos de la menor y mayor concentración de fluoruro en las muestras

de saliva.

Para demostrar que el contenido de fluoruro difería en las tres escuelas bajo estudio y presentaban diferencias, se desarrollo un análisis de varianza como puede observarse en el cuadro 5, en el cual se comparan los promedios de la concentración de fluoruro de los tres centros escolares. Se puede determinar que el  $F$  experimental es mayor que el valor  $F$  de tabla cuando se comparan el centro escolar España con los otros dos centros en estudio, lo que implica rechazar la hipótesis nula; y por lo tanto se comprueba que existen diferencias estadísticas significativas entre ellos. Sin embargo, entre el centro escolar republica de Honduras con el centro escolar Villa mariona, se observa que el  $F$  experimental es menor que el de tabla, por lo que la hipótesis nula es aceptada, lo que significa que no existen diferencias significativas entre las escuelas es decir que los contenidos promedio de fluoruro son similares.

De igual forma se realizó un análisis de correlación, con el objetivo de establecer cuales son los centros escolares que poseen una mejor asociación en sus datos estadísticos con respecto a la concentración de fluoruro en saliva, determinando así que la mejor correlación obtenida más no ideal fue la establecida entre C.E. España y Honduras  $P=0.84$ , y al momento de establecer una correlación entre C.E. Villa mariona y Honduras el valor obtenido fue de  $P=0.73$  siendo esta una correlación menor que la anterior. Es de hacer notar que mientras más cercano a uno resulta el coeficiente de correlación, existe una mayor relación entre los resultados de los parámetros en comparación.

Además se realizó un análisis de conglomerados para asociar a los grupos con características estadísticas similares lo cual se expreso gráficamente en un dendograma (figura 17), en el cual se demuestra que el C.E Honduras presenta una mejor asociación con el C.E España #1, debido a que las concentraciones de fluoruro encontradas son

muy similares entre ellas (estableciendo una cohesión interna del grupo). Con respecto a las concentraciones encontradas en el C.E. Villa Mariona estas presentan una separación del grupo España-Honduras debido a que no presentaban similitud con las concentraciones de fluoruro en saliva del grupo conformado por las escuelas antes mencionadas.

Con base al índice de caries se realizó el análisis de CPOD/coed previamente modificado por el grupo investigador tomando en cuenta solamente las lesiones cariosas.

La correlación que se realizó fue en base a la actividad de caries, el índice de correlación obtenido entre concentración de fluoruro en saliva y la actividad de caries dio un resultado de  $p = 0.031$ , lo cual significa que existía una baja correlación entre ambas variables.

La falta de correlación de las variables en estudio probablemente se debe a diversas razones, por ello se concluye que las concentraciones de fluoruro en saliva encontrado en los(as) niños(as) con diferentes concentraciones, *no es un factor determinante en el aumento de riesgo en la actividad cariogénica* bajo las condiciones en las que este estudio se llevó a cabo, sin dejar de lado que existen diversos factores que no fueron tomados en cuenta en el desarrollo del presente estudio los cuales pueden contribuir a desarrollar un estado cariogenicamente activo, entre estos tenemos: **Dieta** (falta de consumo de sal fluorada) ya que “algunos resultados encontrados sugirieron que una mayor frecuencia en el consumo de alimentos preparados con sal fluorada sustituyendo la sal normal, podría ayudar ligeramente a elevar las concentraciones de fluoruro en saliva por periodos mas prolongados en el día, y de esta manera potenciar los efectos cariostático de saliva en el diente”<sup>18</sup>. de igual manera se ha podido constatar por medio de otra investigación realizada en diferentes marcas comerciales de sal en El

Salvador que “en efecto las diferentes marcas comerciales distribuidas en el país cuentan con la presencia del ión fluoruro, pero los fabricantes no advierten del contenido de este elemento, no obstante se pueden encontrar en algunas marcas que el fabricante si advierte la presencia del ion fluoruro pero no especifica su concentración, lo que equivale a que un 92.3% de las marcas no advierten la presencia de este elemento”<sup>9</sup>. Otros factores que forman parte de la dieta normal, tales como el calcio de los productos lácteos, el magnesio de algunas frutas y el hierro, dificultan y retardan la absorción del fluoruro, pero no la impiden<sup>10</sup>.

De igual manera otro de los factores que como ya hemos mencionado anteriormente ayudara un estado cariogenicamente activo son los **deficientes hábitos de higiene oral** ( inadecuada técnica de cepillado, poca frecuencia de cepillado) así como **el lugar de residencia** ( por la cantidad de fluoruro natural presente en el agua) “ ya que en el país el agua ya contiene fluoruro en su forma natural, pero no en concentraciones apropiadas, el agua que abastece al área metropolitana de San Salvador se encuentra con una gran variabilidad en las concentraciones de fluoruro y cada una de las fuentes tiene sus propias variaciones que pueden ir desde 0.01 mg/L hasta 0.9 mg/L de fluoruro”<sup>32</sup>.

Por lo tanto podemos afirmar que el fluoruro es necesario como elemento preventivo para un estado dental optimo y a la vez como agente remineralizante, sin embargo este no es un factor determinante para ejercer una disminución en la actividad cariogénica, ya que es necesario controlar de una manera eficaz las diversas variables intervinientes (dieta, mala técnica de cepillado, y otros) que favorecen al desarrollo de la lesión cariosa.

## 9. CONCLUSIONES.

- Por lo antes expuesto y tomando en cuenta las diferentes condiciones bajo las que se realizó este estudio se puede concluir que los resultados estadísticamente demuestran una correlación positiva no altamente significativa entre las variables en estudio.
- Con respecto a las concentraciones de fluoruro encontradas en cada una de las muestras de saliva de los alumnos pertenecientes a cada uno de los centros escolares; se concluye que estas se encuentran en un rango entre 0.06 mg/L y 0.25mg/L no presentando diferencias muy significativas entre cada uno de ellos.
- En cuanto a la actividad cariogénica se determinó el nivel de actividad de caries en base a las medias estadísticas de actividad, presentando los siguientes valores: Centro Escolar España #1 es de  $X= 0$ , C.E. Honduras  $X= 5.69$ , y el C. E. Villa Mariona  $X= 6.17$ .
- No se comprobó si la concentración de fluoruro en saliva incide o no sobre la actividad cariogénica.
- En cuanto a la validación del método 9214 se concluye que fue objetivo y efectivo, ya que por medio de este se logró concretar la determinación de concentración de fluoruro en saliva presente en las muestras de saliva, por medio de un electrodo selectivo de iones.

## ***10. RECOMENDACIONES.***

Con base a lo antes mencionado en las conclusiones sobre la concentración de fluoruro en saliva y actividad cariogénica es posible hacer las siguientes recomendaciones para las instituciones que están involucradas en este estudio:

- 1.** A la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador, se le sugiere que preste un mayor control en la calidad del fluoruro que esta siendo utilizado en el programa preventivo, realizando análisis anuales, los cuales permitan corroborar si la concentración presente es la ideal para lograr óptimos resultados en la población a la cual es administrado.
- 2.** Al Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social que detalle en los sobres que contienen fluoruro la fecha de fabricación, número de lote y fecha de vencimiento.
- 3.** Realizar estudios similares en otras localidades del país, para contrastar los resultados encontrados.
- 4.** A futuras investigaciones enfocadas a este tipo de estudio se les hace el llamado a considerar que incluyan las diversas variables intervinientes.

## **BIBLIOGRAFIA**

1. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, American Water Works Association y Water Pollution Control Federation. *Métodos Normalizados*. (Para el Análisis de Aguas Potables y Residuales). 17<sup>a</sup> Ediciones Díaz de Santos, S. A. EUA. 1989.
2. BIOESTADÍSTICA: “Métodos y Aplicaciones,”. [on line]; URL disponible en <http://www.bioestadistica.uma.es/libro/node89.htm>. Muestreo Aleatorio Estratificado.
3. BORDONI N; SQUASSI A. Curso 1 Odontología preventiva, Modulo 3: Medidas y programas preventivos, Submodulo 1: programa e Educación continua odontológico no convencional. OPS. Buenos aires, Argentina. 1992
4. BOROS I, KESZLER P, ZELLER T. Study of Saliva Secretion and the Salivary Fluoride Concentrations of the Human Minor Labial Glands by a new Method. Archives of Oral Biology 1999; 44: 559-562.
5. BRASKAR SN. Histología y Embriología Bucal de Orban. 9<sup>a</sup> ed. Buenos Aires, Argentina; 1996.
6. CAMPUS G, LALLAI MR, CARBONI R. Fluoride concentration in saliva after use of oral hygiene products. Caries Res. 2003; 37(1): 66-70.
7. CIANCIO G. Farmacología Clínica para Odontólogos. México, D.F. 3<sup>a</sup> ed. Editorial El Manual Moderno, 1990.

8. CONESA Diagnostico y toma de decisiones en odontología minimamente invasiva y no restauradora. In HEMOSTROSA G, Estética y operatoria dental. Asociación Peruana de Odontología, 2002.
9. CORDOVA CAMPOS, H. Evaluación de la Presencia del Ion Fluor en las Distintas Marcas de Sal distribuidas en la ciudad de San Salvador, Durante el periodo comprendido de septiembre a noviembre de 1999.
10. EKANAYAKE, L., VAN DER HOEK, W. Dental Caries and Developmental Defects of Enamel in Relation to Fluoride Levels in Drinking Water in an Arid Area of Sri Lanka. Caries Res. 2002, 36:398-404.
11. EKLUND S. Calibración de examinadores para estudios epidemiológicos en salud oral. OMS, 1995.
12. FDI. The prevention of dental caries and periodontal disease. Tech. Report N°. 20. 1984.
13. FEJERSKOV O. Changing paradigms in concepts on Dental Caries: Consequences for oral health care. Caries Res. 2004; 38: 182-191.
14. FEJERSKOV O, THYLSTRUMP A, LARSEN MJ. Clinical and Structural features and possible pathogenic Mechanism of Dental Fluorosis. Scand J dent Res. 1977; 85: 510-534.
15. FRANT, M.S. "Use of Chemical-Sensing Electrodes for Low Level Measurements." Orion Research Incorporated-11: Massachusetts, EUA; 1974.

16. FEATHERSTONE J.B.D. Prevention and reversal of dental caries: Role of low level fluoride. *Community Dent. Oral Epidemiol.* V.27 1999.
17. GOMEZ DE FERRARI, CAMPOS MUÑOS. *Histología y Embriología Bucodental*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Medico Panamericana; 2001.
18. GOMEZ SOLER, S. Generalidades Sobre los Fluoruros y Metabolismo del Fluor. *El Fluor en Odontología Preventiva*. Talleres Gráficos de la imprenta de la Armada, Chile, 2ª Ed. 1991, c 1-4, p. 15-69.
19. “LOS CARBOHIDRATOS Y LA CARIES”. [on line]; URL disponible en [http://www.imperialholly.com/fw/main/La Nutrición Puede Afectar La Salud Bucal-207.html](http://www.imperialholly.com/fw/main/La_Nutricion_Puede_Afectar_La_Salud_Bucal-207.html).
20. INTERNATIONAL UNION OF PURE APPLIED CHEMISTRY (IUPAC). *Compendium of Chemical Terminology*. 2003 agosto [on line]; URL disponible en: <http://www.iupac.org/publications/compendium/indxx.html>
21. IRIGOYEN CAMACHO ME. Caries Dental en escolares del Distrito Federal 2001 julio 3. [on line] (8) URL disponible en: <http://www.Scielo.org/egi-bin/7btext>.
22. JENKINS G. NEIL. *Fisiología y Bioquímica Bucal*. México. Editorial Limusa, 1983.
23. KORBER U. Fluoruro 2004 Enero 25 [on line]; 1 URL disponible en: <http://www.dr.koberg.de>

24. MACPHERSON LMD, STEPHEN KW. The effect on Human Salivary Fluoride Concentration of consuming Fluoridated Salt-Containing baked food items. *Archives of oral Biology*; 46(2001): 983-988.
25. MCINTRYE J. Características y progresión de la Caries Dental. En: MOUNT GJ, HUME WR. *Conservación y Restauración de la Estructura Dental*. España: Harcourt; 1999 p. 9-18.
26. McKay, F.S. An investigation of mottled teeth. *Dent. Cosmos*. 1916; 58:477.
27. MILLER, J.C., MILLER, J.N. *Estadística para Química Analítica*. R. Izquierdo H. y C. Maté J, traductores. Addison Wesley Iberoamericana. Delaware, EUA. 2ª Ed. 1993.
28. MORENO F. Estudio biológico y cosmético del fluor, premio Dolores trigo. Servicio de mecanización de la Universidad de Santiago. 1979.
29. MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA Y ASISTENCIA SOCIAL. Estudio Epidemiológico de caries y fluorosis dental en escolares de 6, 7-8, 12 y 15 años de centro de Enseñanza pública de El Salvador. 2000.
30. MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA Y ASISTENCIA SOCIAL. Estudio de Pastas y Suplementos fluorados en la niñez salvadoreña. 2002.
31. NICO 2000. *Glossary of Terms*. 2003 September [on line]; URL disponible en: <http://www.nico2000.net/DataSheets/glossary.html>
32. PINERO R. El Fluor en la Prevención 2001 febrero [on line]; URL disponible

en: <http://www.Mairym@odontologica.8k.com>.

33. PINKHAM. Odontología Pediátrica. Editorial Iberoamericana; 1996.
34. RODRIGUEZ MELARA, G. Reunión sobre el plan de Acción para el Mejoramiento del acceso y Calidad de Agua Potable en El Salvador. Proyecto de Fluoración para la planta del Sistema Río Lempa, San Salvador, El Salvador, Abr. 19,1999 (Actualizado Sept, 8, 1999), p. 1-9.
35. SALAS MT, GOMEZ J, DUARTE V, HERNANDEZ A, RAMIREZ G, DIAZ G. Fluor en Saliva: Estandarización del Método de Difusión y su relación con Fluorosis y Caries Dentales. Fluoración al día 1997; 16-23.
36. SEIF T. Cariología, Prevención, Diagnostico y Tratamiento Contemporáneo de la Caries Dental. Colombia: Actualidades Médico- Odontológicas; 1997.
37. "SALIVA AND ORAL HEALTH" British Dental Journal, 2ª Ed. 1996.
38. SHEIMAN, A. PLAMPING D. Documentos técnicos de salud pública 1: Bases científicas de la acción del fluoruro ¿Prevención o tratamiento? Departamento de sanidad y consumo, Dirección de Salud Publica Gobierno Vasco, Vitoria gasteiz 1990.
39. SHEIMAN, A. PLAMPING D. Documentos técnicos de salud publica 3: Bases científicas para la prevención y el tratamiento precoz de enfermedades dentales más comunes. Departamento de sanidad y consumo, Dirección de Salud Publica Gobierno Vasco, Vitoria gasteiz 1990.

40. SANCHEZ L. Producción Salival en niños de 7-12 años y su asociación con Caries. Rev. Mex. De ADM 1997; Vol 54 (1): 41-45.
41. TEN CATE AR. Histología, Desarrollo, Estructura y Función Oral. 2ª ed. Buenos Aires, Argentina. Editorial Medico Panamericana, 1994.
42. TEN CATE JM. Fluorides in caries prevention and control: Empiricism or Science. Caries Res. 2004; 38: 254-257.
43. WHITFORD GM, THOMAS JE, ADAIR S. Fluoride in Whole Saliva, Parotid Ductal Saliva and Plasma in Children. Archives of oral Biology 1999; 44: 785-788.

# **ANEXOS**

## ANEXO 1

### LISTADO DE ALUMNAS SELECCIONADAS CENTRO ESCOLAR ESPAÑA #1 (CERO CARIES Y RECIBEN FLUORURO)

#### 1 GRADO "A".

- |    |                           |         |
|----|---------------------------|---------|
| 1. | Julia López               | 7 años  |
| 2. | Daniela Muñoz             | 7 años  |
| 3. | Karen Tatiana López       | 7 años  |
| 4. | Stephany Yamileth Montoya | 7 años. |

#### 1 GRADO "B".

- |    |                      |        |
|----|----------------------|--------|
| 5. | Karla Ortiz          | 7 años |
| 6. | Zoila Méndez         | 7 años |
| 7. | katherine Monteagudo | 7 años |

#### 2 GRADO "A"

- |     |                        |        |
|-----|------------------------|--------|
| 8.  | Sonia Peraza           | 8 años |
| 9.  | Rita del Carmen Guzman | 8 años |
| 10. | Iris Martínez          | 8 años |
| 11. | Esmeralda Ramírez      | 9 años |

#### 2 GRADO "B"

- |     |                        |        |
|-----|------------------------|--------|
| 12. | Emma Dubon             | 8 años |
| 13. | Maria José Clímaco     | 8 años |
| 14. | Yolanda Corado         | 9 años |
| 15. | Allison Johann Vásquez | 8 años |

#### 3 GRADO "A"

- |     |                                 |         |
|-----|---------------------------------|---------|
| 16. | Aurora Abigail Alfaro Flores    | 10 años |
| 17. | Joseline Cortéz                 | 9 años  |
| 18. | Karla Michelle Pineda           | 10 años |
| 19. | Rocío Marielos Chicas Henríquez | 10 años |
| 20. | Lisseth González                | 10 años |

## **ANEXO 2**

### **LISTADO DE ALUMNOS SELECCIONADOS CENTRO ESCOLAR REPUBLICA DE HONDURAS (CON CARIES Y RECIBEN FLUORURO)**

#### **1 GRADO "A"**

- |           |                               |               |
|-----------|-------------------------------|---------------|
| <b>1.</b> | <b>Jackeline Jazmín López</b> | <b>7 años</b> |
| <b>2.</b> | <b>Brenda Castro</b>          | <b>7 años</b> |
| <b>3.</b> | <b>Fátima Vásquez</b>         | <b>7 años</b> |
| <b>4.</b> | <b>Kevin Villena Amaya</b>    | <b>8 años</b> |
| <b>5.</b> | <b>Alejandra Alfaro</b>       | <b>7 años</b> |

#### **1 GRADO "B"**

- |            |                                    |               |
|------------|------------------------------------|---------------|
| <b>6.</b>  | <b>Juan Sánchez Rosales</b>        | <b>9 años</b> |
| <b>7.</b>  | <b>Stephany Martines Rodríguez</b> | <b>7 años</b> |
| <b>8.</b>  | <b>Evelyn Elena Amaya</b>          | <b>8 años</b> |
| <b>9.</b>  | <b>Bryan Garay Gómez</b>           | <b>8 años</b> |
| <b>10.</b> | <b>Paola Vázquez</b>               | <b>7 años</b> |

#### **2 GRADO "A"**

- |            |                                  |               |
|------------|----------------------------------|---------------|
| <b>11.</b> | <b>Carmen M. Aguilar</b>         | <b>8 años</b> |
| <b>12.</b> | <b>Catherine Acevedo Fuentes</b> | <b>8 años</b> |
| <b>13.</b> | <b>Catherine Marroquín</b>       | <b>8 años</b> |
| <b>14.</b> | <b>Lidia Marengo Ramírez</b>     | <b>8 años</b> |
| <b>15.</b> | <b>Elena Molina</b>              | <b>8 años</b> |

### **ANEXO 3**

#### **LISTADO DE ALUMNOS SELECCIONADOS CENTRO ESCOLAR VILLA MARIONA (CON CARIES Y NO RECIBEN FLUORURO)**

##### **1 GRADO "A"**

- |   |                |
|---|----------------|
| <b>1. Juan José Aragón Barrera</b>        | <b>8 años</b>  |
| <b>2. Evelyn Samantha Ayala Mejia</b>     | <b>7 años</b>  |
| <b>3. Iris Consuelo Rivas Alfaro</b>      | <b>8 años</b>  |
| <b>4. Zuleyma del Carmen Rivas Santos</b> | <b>7 años</b>  |
| <b>5. José Rolando Aarón Tejada</b>       | <b>11 años</b> |

##### **2 GRADO A**

- |                                      |                |
|--------------------------------------|----------------|
| <b>6. Wendy Arely Sosa Rodríguez</b> | <b>8 años</b>  |
| <b>7. Ángela Gabriela Aguirre</b>    | <b>8 años</b>  |
| <b>8. Laura Evelyn Mejia</b>         | <b>9 años</b>  |
| <b>9. Jonathan Ernesto García</b>    | <b>10 años</b> |
| <b>10. David Ernesto Hernández</b>   | <b>9 años</b>  |

##### **4 GRADO A**

- |  |                |
|--|----------------|
| <b>11. Verónica Stefani Bonilla</b>          | <b>10 años</b> |
| <b>12. Adriana Ivette Cáceres</b>            | <b>11 años</b> |
| <b>13. Tatiana Imelda Amaya</b>              | <b>12 años</b> |
| <b>14. Doncel Alexander Amaya Ruiz</b>       | <b>11 años</b> |
| <b>15. Walter Aristides Chávez Hernández</b> | <b>10 años</b> |

## ANEXO 4

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE ODONTOLOGIA  
UNIDAD DE INVESTIGACION  
FICHA CLINICA DE OBSERVACION**



### Objetivos:

- Recoger la información que corresponde al CPOD/ceod al momento de realizar el diagnóstico clínico intraoral.

### Indicaciones

1. Extraer la información que corresponde a caries y mancha blanca y plasmarlo en el apartado II (Odontograma)
2. Llenar la casilla (Apartado III) con la Lectura de la concentración de fluoruro en saliva correspondiente a la muestra analizada.

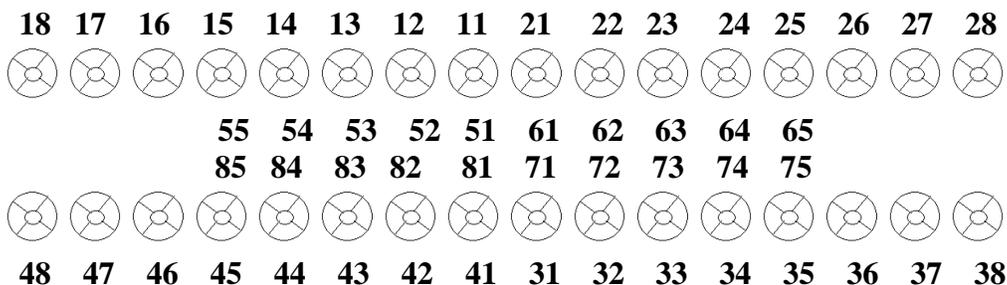
### FICHA CLINICA DE OBSERVACION

Nombre: \_\_\_\_\_ Edad \_\_\_\_\_

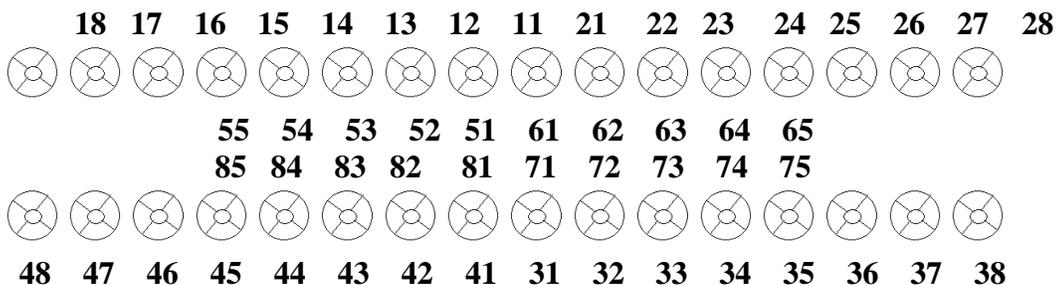
Centro de Estudio \_\_\_\_\_ Grado: \_\_\_\_\_ Sexo \_\_\_\_.

Total CPOD/ceod

Odontograma Inicial: \_\_\_\_\_

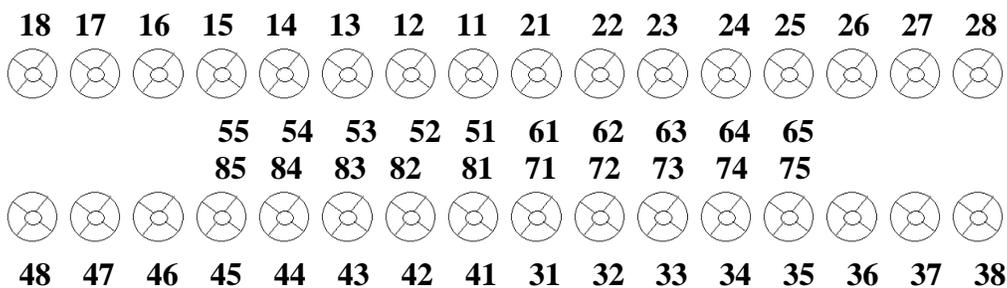


Primera Visita: \_\_\_\_\_



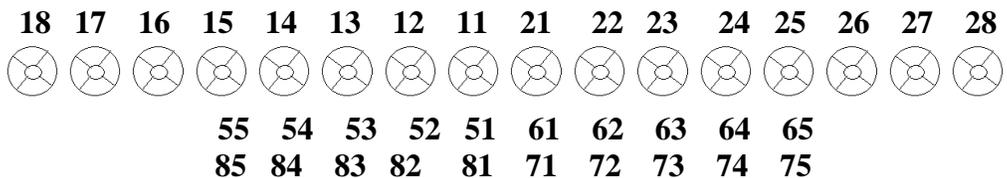
Concentración de Fluoruro en saliva:

Segunda Visita: \_\_\_\_\_



Concentración de Fluoruro en Saliva

Tercera Visita: \_\_\_\_\_



⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗  
**48 47 46 45 44 43 42 41 31 32 33 34 35 36 37 38**

Concentración de Fluoruro en Saliva

Visita Control: \_\_\_\_\_

**18 17 16 15 14 13 12 11 21 22 23 24 25 26 27 28**  
⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗  
**55 54 53 52 51 61 62 63 64 65**  
**85 84 83 82 81 71 72 73 74 75**  
⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗ ⊗  
**48 47 46 45 44 43 42 41 31 32 33 34 35 36 37 38**

Total CPOD/ceod

## ANEXO 5

### CUADRO DE RELACION INDICADORES, TECNICAS E INSTRUMENTOS

<b>INDICADOR</b>	<b>TECNICA</b>	<b>INSTRUMENTO</b>
% de Concentración de fluoruro en saliva	Observación Directa	Ficha Clínica de Observación
Actividad de caries	Observación Directa	Ficha Clínica de Observación

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE ODONTOLOGIA  
DIRECCION DE EDUCACION ODONTOLOGICA  
TESIS DE GRADUACION



PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

“CORRELACION ENTRE ACTIVIDAD CARIOGENICA Y CONCENTRACION DE  
ION FLUORURO EN SALIVA EN ALUMNOS QUE ASISTEN A ESCUELAS QUE  
PARTICIPAN EN EL PROGRAMA PREVENTIVO DE LA FACULTAD DE  
ODONTOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR”

POR:

LISSETH ARELY PALMA FIGUEROA

REINALDO ANTONIO LOPEZ RAMIREZ.

HERBERT MAURICIO CUELLAR ZELAYANDIA

DANNY ALBERTO LOPEZ RUIZ

DOCENTES DIRECTORES

Dr. OSCAR ARMANDO GOMEZ

Dr. NESTOR GUILLERMO ORELLANA

ASESOR METODOLOGICO

Lic. JULIO DOMINGO APARICIO

Ciudad Universitaria, 2004

## RESUMEN

Los fluoruros desempeñan un papel muy importante en el proceso desmineralización-rem mineralización que ocurre a nivel dental en la boca y los estudios sobre su eficacia descubren su importancia como agente preventivo contra la caries, así como para el tratamiento de esta en su fase inicial. El objetivo de esta investigación será determinar la Correlación entre actividad cariogénica y concentración de ion fluoruro en saliva.

El estudio se realizara en una población total de 50 niños de ambos sexos entre las edades de 7 a 14 años, de los cuales 35 pertenecen a escuelas que están bajo el programa preventivo de la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador y los 15 restantes pertenecen al programa Escuela Saludable del Ministerio de Salud Publica.

Uno de los fines de esta investigación es comprobar si la concentración de fluoruro en saliva es determinante para mantener un bajo nivel de actividad cariogénica, cabe la pena mencionar que solo se estará investigando la concentración del ion fluoruro y su influencia sobre la actividad cariogénica sin tomar en cuenta las diferentes variables como lo son dieta, hábitos de higiene, morfología dentaria, etc.

Existen estudios que se han llevado a cabo en diferentes países los cuales han estado orientados a determinar la efectividad de los métodos y vehículos con los que se puede administrar fluoruro como agente preventivo en una población determinada, es por ello que el presente estudio será orientado para verificar la importancia de tomar en cuenta la concentración del ion fluoruro en la saliva como un factor en el aparecieminto o no de una lesión cariosa.

## INTRODUCCION

La saliva es el fluido corporal menos estudiado y apreciado del cuerpo humano y es otro factor que influye en el medio bucal. Dentro de sus funciones, existen una serie de mecanismos protectores contra la caries dental, determinados por cierto componentes de la misma. Estos mecanismos protectores consisten en:

- Disminución de la adherencia bacteriana a las superficies dentarias;
- Actividad antibacteriana directa ;
- Acción neutralizante;
- Intervención en fenómenos de desmineralización-remineralización.

Sin embargo, no han podido correlacionarse ninguno de los componentes involucrados en estos mecanismos con la actividad de la caries; Solo se observó que una reducción marcada en la tasa de flujo salival actúa como predictor de caries.

El propósito de esta investigación será brindar información de las variaciones que existen en las concentraciones de fluoruro en saliva en un grupo de escolares pertenecientes al programa preventivo de la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador con diferentes características y poder determinar así si hay correlación alguna entre la concentración de fluoruro presente en la saliva de niños con edades comprendidas entre siete y catorce años y el riesgo de contraer caries.

En tal sentido, el presente protocolo brinda al lector la información teórica acerca de los diferentes elementos que forman parte de la investigación, de igual manera lo que se pretende alcanzar a lo largo del estudio; así como la metodología a seguir durante la investigación.

Al final también se encuentran las limitantes que se corren con este tipo de estudio y las consideraciones que deben tenerse al realizar pruebas con seres humanos.

## INDICE

RESUMEN.....	iv
INTRODUCCION.....	v
1. Marco Teórico.....	6
1.1. Antecedentes.....	6
1.2. Base Teórica .....	7
2. Justificación.....	12
3. Objetivos.....	13
3.1. General.....	13
3.2. Específicos.....	13
4. Diseño Metodológico.....	14
4.1. Tipo de Investigación.....	14
4.2. Hipótesis.....	14
4.2.1. General.....	14
4.2.2. Operacional.....	15
4.2.3. Estadística.....	15
4.3. Variables e Indicadores.....	16
4.4. Materiales y Métodos.....	17
4.4.1. Materiales.....	17
4.4.2. Equipo y Reactivos Químicos.....	18
4.4.3. Métodos.....	18
4.5. Técnicas e Instrumentos.....	20
4.5.1. Técnicas.....	20
4.5.2. Instrumentos.....	20
4.5.3. Descripción y Elaboración del Instrumento.....	20

4.6. Procedimiento de Recolección de Datos.....	21
4.7. Universo y Muestra.....	22
4.8. Plan de Análisis.....	22
5. Resultados Esperados .....	23
6. Supuestos Riesgos .....	24
7. Cronograma de Actividades.....	25
8. Consideraciones Éticas.....	26

**BIBLIOGRAFIA**

**ANEXOS**

## **1. MARCO TEORICO**

### **1.1 Antecedentes**

Los fluoruros son importantes, y los estudios sobre su eficacia han atravesado diversos periodos durante décadas después de descubrir su importancia como agente preventivo contra la caries<sup>26</sup>, así como para el tratamiento de esta en su fase inicial<sup>15</sup>.

En 1930 estudios epidemiológicos en humanos, establecieron una relación de causa y efecto entre el fluoruro presente en el agua de consumo y la fluorosis dental<sup>6</sup>, pero fue hasta 1938 año en que se determinó que “la incidencia de caries dental es inversamente proporcional a la frecuencia de esmalte moteado, lo cual a su vez procede del exceso de fluoruro”<sup>15</sup>.

En El Salvador estudios realizados por el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, en los años 2000 y 2002 relacionan la implementación de fluoruros como estrategias o métodos costo-efecto para la prevención de caries dental, y concluyen de igual manera que la administración del fluoruro por medio de la sal debe estar delimitada a las poblaciones que no obtengan el fluoruro necesario por medio del agua de consumo. Así mismo todas aquellas poblaciones que si puedan obtener niveles óptimos de este elemento por medio del agua solo se les distribuirá sal yodada para no favorecer al desarrollo de fluorosis dental.

Tomando en cuenta todo lo anterior se puede determinar que, las investigaciones que se han llevado a cabo hasta el momento tanto en Europa como en América, han estado orientadas a determinar la efectividad de los métodos y vehículos con los que se puede administrar fluoruro como agente preventivo en una población determinada.

En la actualidad no se cuenta con información sobre alguna investigación que estudie la correlación que podría tener la concentración de fluoruro presente en saliva con la actividad cariogénica; Es por ello que el presente estudio se orienta para verificar la importancia de tomar en cuenta al fluoruro como un factor en el apareamiento o no de una lesión cariosa en niños de 7 a 14 años que pertenecen al programa preventivo de la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador.

## **1.2. Base Teórica**

### **Desarrollo Dental**

Los dientes se desarrollan a partir de brotes epiteliales que normalmente comienzan a formarse en la porción anterior de los maxilares y luego avanzan en dirección posterior. Las dos capas germinativas que participan en la formación de los dientes son: **el epitelio ectodérmico**, que origina el esmalte y **el ectomesenquima** que forma los tejidos restantes (Complejo dentinopulpar, cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar).

### **Esmalte**

El esmalte es un tejido relativamente inerte (escaso de metabolismo), duro y acelular. Que se forma a partir de células llamadas ameloblastos, que desaparecen cuando el diente hace erupción en la cavidad bucal. Este cubre la corona anatómica del diente, y esta constituido químicamente por una matriz orgánica (1-2%), una matriz inorgánica (95%) y agua (3-5%)<sup>7</sup>.

Debido a que el contenido inorgánico del esmalte es muy alto, este es particularmente vulnerable a la desmineralización, causada por un medio ácido creado por las bacterias de la placa dental, dando como resultado la caries<sup>25</sup>.

## **Caries Dental desarrollo, factores etiológicos.**

La caries dental es una enfermedad multifactorial, asociada a la interrelación de varios factores, imprescindibles para que se inicie la lesión. Dichos factores son el huésped, las bacterias, dieta, y el factor tiempo <sup>22</sup>, sin embargo existe un equilibrio muy delicado entre salud y enfermedad en el que intervienen los ácidos procedentes de la placa bacteriana que compiten con los factores protectores, que dependen del flujo salival normal y de una buena higiene <sup>14</sup>.

La lesión inicial del esmalte aparece cuando el pH (5.5) a nivel de la superficie del diente supera el nivel que puede contrarrestar la remineralización. Los iones ácidos penetran profundamente en las porosidades de las vainas de los prismas del esmalte, provocando una desmineralización subsuperficial <sup>14</sup> que macroscopicamente se aprecia primero en la superficie lisa del esmalte y representa la pérdida de la transparencia que se traduce en un aspecto tizoso, conocida como mancha blanca, la cual con el tiempo si este proceso no se detiene avanzara hacia una cavitación franca del esmalte <sup>22</sup>.

### **Saliva**

La saliva es un fluido formado aproximadamente de 99% de agua, mientras que el 1% restante consiste en moléculas orgánicas grandes (proteínas, glucoproteínas y lípidos), moléculas orgánicas pequeñas (glucosa, urea) y de electrolitos (Sodio, potasio, calcio, cloro y fosfatos) <sup>22</sup>.

La saliva posee muchas funciones tales como proteger la integridad de la mucosa, eliminar restos alimenticios y bacterias de la cavidad bucal, neutralizar ácidos y proveer de los iones necesarios para la remineralización de los tejidos dentarios <sup>22</sup>.

El flujo salival determina la capacidad amortiguadora de la saliva, que ejerce un efecto sobre el pH de la placa e influye en la velocidad de desarrollo de caries <sup>24</sup>.

Por otra parte la cantidad de saliva disponible en la boca y su contenido de fluoruro, calcio y fósforo permiten la remineralización de las superficies dentales afectadas <sup>8</sup>, jugando un papel muy importante en el proceso desmineralización-remineralización del esmalte, ya que después de la ingesta de azúcar y la fermentación de ácido por parte de la placa, el esmalte es disuelto hasta que los ácidos sean neutralizados por iones amortiguadores difusos presentes en la saliva <sup>21</sup>.

## **Fluoruro**

El fluorofosfato o fluorita ( $\text{Ca F}_2$ ) es el fluoruro más natural y común ya que se encuentra distribuido en diferentes concentraciones en el suelo, agua, plantas, y el hombre lo ingiere en cantidades variables haciendo al esmalte más resistente a los ácidos y evitando la caries <sup>4</sup>.

Los iones fluoruro están presentes en la estructura dental en concentraciones que alcanzan 2500 a 4000 ppm (132-210  $\mu\text{mol/l}$ ) a nivel de la superficie del esmalte, en la saliva la concentración del fluoruro es aproximadamente 0.03 ppm (1.6 $\mu\text{mol/l}$ ) <sup>14</sup>.

Los fluoruros desempeñan un papel muy importante en el proceso desmineralización – remineralización que ocurre a nivel dental en la boca. En un medio ácido los iones fluoruro reaccionan intensamente con los iones  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{HPO}_4^{2-}$  libres, formando cristales de fluoroapatito  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH.F})_2$ , en los que el fluoruro reemplaza algunos iones hidroxilo.

Entre los métodos más utilizados para la determinación de fluoruro en saliva humana se encuentran los siguientes: Potenciometría directa, Espectrofotometría y Cromatografía Iónica. De estos, el más utilizado es el método de potenciometría directa con electrodo selectivo de iones fluoruro. Las principales ventajas de este, sobre los otros es que es sencillo, económico, reproducible, exacto y produce una respuesta rápida

## **METODO DEL ELECTRODO SELECTIVO DE IONES FLUORURO**

El método utilizado para determinar fluoruro en saliva humana en este trabajo, es el recomendado por la Sociedad Americana para Ensayo y Materiales, conocida por sus siglas en inglés como ASTM (American Society for Testing and Materials), método 9214 modificado: “Determinación potenciométrica de fluoruro en muestras de saliva con electrodo selectivo de iones” (Potenciometric determination of fluoride in saliva samples with Ion selective electrode) modificado, siendo adecuado para concentraciones de fluoruros comprendidas entre 0.1mg/L y más de 10mg/L (21).

El fluoruro se determina por potenciometría directa, utilizando un electrodo selectivo de iones y un electrodo de referencia conectados a un potenciómetro con escala expandida en milivoltios (22).

La calibración se realiza por el método de calibración directa, este es el procedimiento más simple y más comúnmente utilizado. (23). La curva de calibración se construye diluyendo agua destilada y TISAB en una relación 1:1, a esta solución en la cual se encuentra inmersos los electrodos de fluoruro y de referencia, se adiciona una serie de cantidades de volúmenes conocidos del estándar de fluoruro y por cada adición se mide la diferencia del potencial.

La curva de calibración se construye graficando el potencial contra el logaritmo de la concentración, a la cual nos referimos también como curva de calibración típica en los siguientes apartados. (24).

Este método analítico es aceptable para los propósitos establecidos ya que este cuenta con un mínimo de criterios que lo hacen válido como lo son: **linealidad, precisión, repetibilidad, reproducibilidad, límite de detección y cuantificación, y exactitud.**

## **2. JUSTIFICACIÓN**

Existen muchos informes indicando que las lesiones cariosas en estado de mancha blanca (antes de que se haya perdido suficiente esmalte para formar una cavidad), pueden dejar de desarrollarse, hacerse más pequeñas o aun desaparecer por completo agregando fluoruro a una solución saturada o sobresaturada inestable de fosfato de calcio (solución mineralizadora), la apatita se precipita y si una superficie de esmalte que ha sido desgastada con ácido se coloca en esta solución, la Apatita se depositara en el área lesionada.

La saliva por si sola como solución saturada en el mineral del esmalte produce remineralización, pero este proceso puede acelerarse o intensificarse si se acompaña con un enjuague bucal que contenga fluoruro de sodio. Ya que el rol protector de la saliva cada vez se reconoce con mayor importancia, tanto sus beneficios como los de los fluoruros deben ir juntos como coadyuvantes en la prevención de la caries dental.

Existe una falta de atención en conocer a fondo las propiedades con las que cuenta esta secreción de la cavidad oral, esta falta de interés se ve reflejada en estudios realizados en nuestro país en estudios que indican que el 71.8% de los escolares a los seis años de edad tienen caries, disminuyendo hasta un 43.6% a los 12 años.

Motivo por el cual a lo largo de la investigación se tratara de demostrar si la concentración de fluoruro en saliva presenta correlación con la actividad cariogénica encontrada en la población de estudio.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. OBJETIVO GENERAL**

- Correlacionar la concentración de fluoruro en saliva con la presencia o ausencia de caries dental, tanto en niños que participan en el programa preventivo como de aquellos que no forman parte de él.

#### **3.2. OBJETIVO ESPECIFICO.**

- Determinar la concentración de fluoruro presente en saliva de alumnos que asisten a las escuelas que participan en el programa preventivo de la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador.
- Comparar los contenidos de fluoruro encontrados en los niños que participan en el programa preventivo de la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador con los niños que no forman parte de él.
- Validar el método 9214 para la Determinación potenciométrica de fluoruro en muestras de saliva con electrodo selectivo de iones.
- Verificar si la concentración de fluoruro presente en saliva puede ser un factor de riesgo en la susceptibilidad del tejido dental.

## **4. DISEÑO METODOLOGICO**

### **4.1 Tipo de investigación.**

La presente investigación fue de tipo Aplicada Mixta Cualitativa-cuantitativa, porque busca la utilización o la aplicación de los conocimientos que se adquieren, mixta porque involucra un problema tanto teórico como práctico y cualitativa-cuantitativa según el nivel de medición y análisis de información.

1) Aplicada partiendo de que se utilizan los conocimientos que se van adquiriendo o ya se tienen para luego implementarlos en el desarrollo de la solución a un problema.

2) Es de naturaleza mixta por que es enfocada, a resolver problemas de una manera teórica ya que se encuentra sustentado en la revisión de literatura y practica debido a que es posible plasmarla en un plano experimental.

3) Cualitativa-cuantitativa: cualitativa por que tiene como objetivo describir sucesos que se encuentran en el marco de toda la investigación; cuantitativa debido a que es basada en los análisis de los resultados que arroje la investigación.

### **4.2. Hipótesis**

#### **4.2.1. Hipótesis general.**

Si la concentración de Fluoruro en saliva encontrada en las muestras de los sujetos de estudio de los diferentes Centros Escolares es alta influirá en la disminución de caries dental.

#### **4.2.2. Hipótesis operacional**

H<sub>1</sub> . ¿Si el porcentaje de concentración de fluoruro en saliva es alto disminuirá la caries dental?

H<sub>2</sub> ¿Si el porcentaje de concentración de fluoruro en saliva es bajo aumentara la caries dental?

H<sub>3</sub> ¿A mayor concentración de fluoruro en saliva no existirá presencia de mancha blanca?

H<sub>4</sub> ¿A menor concentración de fluoruro en saliva existirá presencia de mancha blanca?

#### **4.2.3. Hipótesis estadística**

H<sub>1</sub> - Si el porcentaje de concentración de fluoruro en saliva es alto disminuirá la caries dental.

- Si el porcentaje de concentración de fluoruro en saliva es alto no disminuirá la caries dental.

H<sub>2</sub> - Si el porcentaje de concentración de fluoruro en saliva es bajo aumentara la caries dental.

- Si el porcentaje de concentracion de fluoruro en saliva es bajo no aumentara la caries dental.

H<sub>3</sub> - A mayor concentración de fluoruro en saliva existirá presencia de mancha blanca.

- A mayor concentración de fluoruro en saliva no existirá presencia de mancha blanca.

H<sub>4</sub> - A menor concentración de fluoruro en saliva existirá presencia de mancha blanca.

- A menor concentración de fluoruro en saliva no existirá presencia de mancha blanca.

#### 4.3. Variables e indicadores

<b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b>	<b>INDICADOR</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Concentracion de ión fluoruro</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Porcentaje de concentracion de fluoruro en saliva de los centros escolares en estudio</li></ul>
<b>VARIABLE DEPENDIENTE</b>	
<ul style="list-style-type: none"><li>• Actividad de caries</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• CPOD/ceod</li></ul>

## **4.4. Materiales y métodos.**

### **4.4.1. Materiales**

En este apartado se detallara los materiales que serán utilizados durante el desarrollo de la investigación, así como también el instrumental, equipo e indumentaria de protección tanto del paciente como el operador:

Para la evaluación clínica y radiográfica de los sujetos en estudio se utilizaran los siguientes materiales:

- Set de Diagnostico Odontológico (espejo, explorador, pinza).
- Dos bandejas plásticas (una para colocar instrumental estéril y una para utilizar en la desinfección del instrumental utilizado).
- Solución germicida (Glutarex con dilución 1:1) para desinfección de instrumental contaminado.
- Campos estériles para la colocación de instrumentos
- Baberos para los niños.
- Barreras de bioseguridad para los investigadores: Gabacha, mascarillas y guantes.
- Radiografías N° 2 aleta.
- Bolsa para desecho.

Equipo utilizado para la recolección de muestra de saliva:

- Frascos plásticos, transparentes con tapón rosca con 120 ml. De capacidad, estériles y previamente rotulados (nombre, edad, grado).
- Recipiente hermético a 10°C. para almacenar las muestras.
- Contenedores refrigerantes para mantener temperatura adecuada y conservar las muestras.
- Baja lenguas.

#### **4.4.2. Equipo y reactivos químicos utilizados para el procedimiento de análisis de la concentración de fluoruro en saliva.**

##### **EQUIPO UTILIZADO:**

8. Electrodo de fluoruro, INGLOD, tipo 15 215 3000.(figura 11)
9. Electrodo de referencia, METLER TOLEDO Inlab ®, modelo 301(figura 11).
10. Potenciómetro HANNA Instruments, modelo 8514
11. Agitador magnético, HANNA Instruments, modelo 200 M
12. Micro pipeta de 100 µL, Eppendorf, serie 130159
13. Micro pipeta de 200 µL, Wilson, serie B8514040
14. Balanza analítica, Sartorius, modelo BP210 S

##### **REACTIVOS PARA LA DETERMINACIÓN DE FLUORURO**

- Solución ajustadora de fuerza iónica total (TISAB)
- Solución patrón de fluoruro de 100mg/L
- Solución madre de fluoruro de 1000 mg/L

#### **4.4.3 Métodos**

El estudio se realizara en alumnos que asisten a los centros escolares España #1, Republica de Honduras, y Villa mariona en el periodo de Mayo 2004 a Marzo del 2005, para lo cual primero se solicitara el correspondiente permiso con las autoridades encargadas para realizar dicha investigación, Dicha solicitud incluirá además una explicación a los padres de familia responsable de cada uno de los sujetos de estudio y a sus respectivos directores, acerca del procedimiento a seguir y el objetivo de la investigación.

Se realizara el estudio en 50 alumnos de los cuales 35 reciben terapia de fluocolutorios, 20 de ellos pertenecientes al Centro Escolar España #1 con la

característica de cero caries, y 15 sujetos del Centro Escolar Republica de Honduras con presencia de lesiones cariosas.

Los otros 15 alumnos del total de la población en estudio pertenecen al Centro Escolar Villa Mariona, el cual no cuenta con terapia de fluocoloturios ya que pertenece al programa escuela saludable del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, además contando con característica de presentar caries en la cavidad bucal.

Para seleccionar dichos sujetos se ha determinado previamente la obtención de:

- Fichas clínicas de diagnóstico odontológico 2004, específicamente en el apartado del índice CPOD Y ceod; elaboradas por parte del proyecto preventivo de la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador, para los centros escolares España N° 1 y Republica de Honduras.
  
- Fichas clínicas de diagnóstico odontológico 2004, específicamente en el apartado del índice CPOD Y ceod; elaborada por el Ministerio de Salud para el centro escolar Villa Mariona.

Después de esto se darán indicaciones específicas a los alumnos donde se les explicara el procedimiento a seguir en la recolección de muestra de flujo salival y su participación en la investigación. Una vez seleccionados los alumnos y obtenido el permiso correspondiente por los padres de familia de cada uno de ellos y el de los directores responsables de cada centro escolar se procederá a calendarizar cada una de las visitas en las cuales se desarrollaran las actividades a lo largo de la investigación, en diferentes fechas del año escolar previamente establecidas con la ayuda de cada director.

Antes de realizar la toma de muestra de saliva se llevara a cabo una prueba piloto con la cual se observara las posibles fallas y problemas tratando de prever y corregir futuros errores que se podrían presentar en el paso de recolección y análisis de muestras de saliva.

## **4.5. Técnicas e Instrumentos**

### **4.5.1. Técnicas**

En la presente investigación se utilizaran una técnica: la observación directa, en la que el investigador podrá identificar y tomar nota de los aspectos o condición del estado buco dental de cada sujeto a investigar.

### **4.5.2. Instrumentos**

Se utilizara una ficha clínica de observación que permitirá registrar información de manera objetiva sobre los aspectos que puedan ser evaluados mediante un examen clínico y análisis químico tomando en cuenta las distintas características a observar durante el desarrollo de la investigación.

### **4.5.3. Descripción y Elaboración del Instrumento**

Este instrumento constara en primera instancia de un apartado (I) en el cual se verificara la presencia de mancha blanca, piezas cariadas, perdidas/exfoliadas y obturadas las cuales corresponderán a un CPOD / ceod. Este índice (CPOD/ceod) será simplificado en dos aspectos específicos (mancha blanca y caries), ya que estos serán utilizados durante el desarrollo del estudio; esta información se trasladara a un odontograma (apartado II) que corresponderá a cada una de las visitas realizadas en el transcurso del año escolar.

Otra de las cualidades con la que contara este instrumento será que a cada odontograma le corresponderá una casilla (apartado III) en la cual se plasmara la concentración de fluoruro en saliva de la muestra recolectada correspondiente a la fecha en que se realizara cada uno de los diagnósticos clínicos.

Para elaborar el instrumento se utilizara el cuadro de relación de indicadores, técnicas e instrumentos con respecto a las dos variables

La ficha clínica de observación constara de una carátula la cual contendrá el nombre de la institución, el logotipo de la misma, el objetivo de aplicar el instrumento y las indicaciones que el investigador deberá seguir para hacer un llenado correcto de dicho instrumento.

La segunda pagina de la ficha clínica de observación poseerá en su parte superior los datos respectivos del sujeto de investigación (Nombre, edad, sexo) así como también el nombre del centro escolar a al que pertenecen; seguido de esto ira el cuadro de los totales CPOD / ceod, inmediatamente después se presentaran los cinco odontogramas que serán utilizados a lo largo de la investigación; el primero de estos reflejara el estado inicial de los sujetos sometidos a la investigación; en cuanto al segundo, tercero y cuarto contendrán los datos capturados en las visitas a realizar durante el año escolar así como las concentraciones de fluoruro encontradas en cada una de estas visitas y el quinto odontograma mostrara los resultados finales del estado dental correspondiente a cada unidad de análisis así como el total CPOD/ceod.

#### **4.6.Procedimiento de recolección de los datos**

La recolección de los datos se realizara durante el periodo comprendido entre Mayo de 2004 – Marzo 2005.

Para llevar a cabo este procedimiento el grupo tendrá que dividirse de manera que a cada investigador le corresponderán 5 alumnos (en el C.E. España #1). En el C.E. Honduras 3 investigadores tendrán a su cargo 4 alumnos y el otro investigador tendrá 3 alumnos. De igual manera este procedimiento de distribución será implementado en el

C.E. Villa Mariona por contar este con igual cantidad de alumnos (15) que participan en el estudio.

Esta ficha clínica de observación se llenara en los diferentes momentos previamente establecidos en cronograma de actividades de cada centro escolar.

#### **4.7.Universo y Muestra.**

Este constara de 50 sujetos de ambos sexos entre 7 y 14 años de edad que cumplan con las características de cero caries y reciban terapia de fluocolutorios (C.E. España#1), en el C.E. Republica de Honduras los sujetos reciben terapia de fluocolutorios y son cariogenicamente activos. El C.E. Villa Mariona presenta sujetos cariogenicamente activos sin terapia de fluocolutorios.

Con respecto al nivel educativo de los sujetos en estudio estos deberán poseer una educación básica.

#### **4.8.Plan de Análisis.**

Para realizar el análisis de los resultados se utilizaron los métodos cualitativos y cuantitativos.

Cuantitativo porque se hará una descripción de los datos utilizando los porcentaje de concentración de fluoruro en saliva obtenida en las diferentes muestras; y Cualitativo porque se realizara una interpretación de los datos plasmados en la ficha clínica de observación, en comparación con el riesgo cariogénico de cada uno de los sujetos.

## **5. RESULTADOS ESPERADOS**

Con el presente estudio se espera establecer la correlación de concentración de fluoruro en saliva como un factor que incidirá sobre el riesgo cariogénico de cada uno de las unidades de análisis.

## **6. SUPUESTOS RIESGOS.**

Para realizar esta investigación se necesitara la participación de seres humanos; para poder así establecer si la concentración de fluoruro presente en saliva se podrá correlacionar con la actividad cariogénica. El principal riesgo que se puede esperar es el hecho de que algunos alumnos no colaboren al momento de recolección de la muestra de saliva obteniendo por este motivo una cantidad insuficiente de este fluido el cual nos dará como resultado, datos poco confiables de concentración de fluoruro durante el análisis.



## **8. CONSIDERACIONES ETICAS.**

Toda investigación realizada en seres humanos esta sujeta a normas éticas que sirven para promover el respeto a su salud y a sus derechos individuales. Por tal razón, se tendrá la obligación de proteger la vida, la salud, la integridad y la dignidad del paciente que será sujeto de estudio.

Para tal efecto se tendrá la obligación de informar a los sujetos de estudio, padres de familia, encargado o responsable sobre los objetivos, metodología, beneficios calculados y posibles riesgos o incomodidades que podrían presentarse en la ejecución de los procedimientos.

Seguidamente se solicitara al padre de familia, encargado o responsable el consentimiento para que determinada unidad de análisis participe en el estudio.

Todo esto encaminado a la búsqueda de beneficios para la población en estudio como para la población en general.

El grupo investigador también tendrá el deber de mantener la exactitud de los datos y resultados, haciendo mención tanto de los resultados positivos como de los resultados negativos que se obtenga durante la investigación.

## **BIBLIOGRAFIA.**

1. CIANCIO G. Farmacología Clínica para Odontólogos. México, D.F. 3ª ed. Editorial El Manual Moderno, 1990.
2. FEJERSKOV O, THYLSTRUMP A, LARSEN MJ. Clinical and Structural features and possible pathogenic Mechanism of Dental Fluorosis. Scand J dent Res. 1977; 85: 510-534.
3. GOMEZ DE FERRARI, CAMPOS MUÑOS. Histología y Embriología Buco Dental. Buenos Aires, Argentina: Editorial Medico Panamericana; 2001
4. “Los Carbohidratos y la Caries”.[on line]; URL disponible en [http://www.imperialholly.com/fw/main/La Nutrición Puede Afectar La Salud Bucal-207.html](http://www.imperialholly.com/fw/main/La_Nutricion_Puede_Afectar_La_Salud_Bucal-207.html).
5. MCINTRYE J. Características y progresión de la Caries Dental. En: MOUNT GJ, HUME WR. Conservación y Restauración de la Estructura Dental. España: Harcourt; 1999 p. 9-18.
6. MORENO F. Estudio biológico y cosmético del fluor, premio Dolores trigo. Servicio de mecanización de la Universidad de Santiago. 1979
7. SALAS MT, GOMEZ J, DUARTE V, HERNANDEZ A, RAMIREZ G, DIAZ G. Fluor en Saliva: Estandarización del Método de Difusión y su relación con Fluorosis y Caries Dentales. Fluoración al día 1997; 16-23.

8. SANCHEZ L. Producción Salival en niños de 7-12 años y su asociación con Caries. Rev. Mex. De ADM 1997; Vol 54 (1): 41-45.
9. SEIF T. Cariología, Prevención, Diagnostico y Tratamiento Contemporáneo de la Caries Dental. Colombia: Actualidades Médico- Odontológicas; 1997.
10. TEN CATE JM. Fluorides in caries prevention and control: Empiricism or Science. Caries Res. 2004; 38: 254-257.
11. TEN CATE AR. Histología, Desarrollo, Estructura y Función Oral. 2<sup>a</sup> ed. Buenos Aires, Argentina. Editorial Medico Panamericana, 1994.