

“Sobredosis del flúor detectada en orina de niños en edad escolar después de enjuagues con solución de fluoruro de sodio, utilizado en prevención de caries dental” - Parte I.

*FANNY LUCIA YEPES DELGADO **
*RAUL MEJIA VILLA ***
*MARIA INES ARBELAEZ MARIN ****

RESUMEN:

Con el propósito de determinar presencia de flúor sistémico después de la aplicación de enjuagues con fluoruro de sodio al 2% en niños en edad escolar, se hizo análisis de flúor en la orina de dos grupos de niños: experimental y control.

Se comprobó que antes del enjuague la presencia del flúor en la orina era similar para el grupo control y el grupo experimental, pero 4 horas después del enjuague, el Flúor excretado en la orina del grupo experimental pasó de 0.43 a 4.3 ppm., para decrecer a 0.67 ppm. a las 24 horas. El Flúor en la orina del grupo control permaneció sin modificación.

Se llama la atención sobre el peligro de fluorosis por sobre dosis de Flúor al aplicarse éste, tanto sistémica como localmente.

De alguna forma, por absorción o por deglución normal de la saliva, el flúor utilizado localmente en enjuagues, pasa a nivel sistémico en cantidad considerable.

INTRODUCCION

El propósito de esta investigación fue determinar si después de la utilización de soluciones de Flúor en enjuagues bucales en los programas preventivos de caries dental en niños, se incrementa la excreción de flúor en la orina y determinar, además, si el flúor se absorbe por mucosa bucal.

La literatura odontológica describe desde hace muchos años el proceso del metabolismo del flúor tanto en animales de laboratorio (1-6) Mc Clure - (1931), Zipkin (1952), (1954), (1957); Mc Cann

* Exmonitora Centro de Investigaciones, Facultad de Odontología, Universidad de Antioquia - Odontóloga U. de A. Medellín - Colombia.

** Jefe Centro de Investigaciones - Facultad de Odontología, U. de A. - Medellín - Colombia.

*** Bacterióloga - Responsable del análisis de flúor - Facultad de Odontología - U. de A. Medellín

- (1957); Likins - (1957), como en el organismo humano (7-13) Mc Clure - (1941), (1950), (1951), (1958); Geever - (1958); Leone - (1954); Ekstrand - (1979), entre otros.

Algunos autores (14-23) de los más reconocidos en el tema del metabolismo de este halógeno: Möller, (1965); Backer - (1967); Brudevold - (1968); Mcnnt - (1962); Jenkins - (1960); Silverstone, (1985); Thilstrup, (1988); Ten Cate - (1990); Margolis - (1990); Whitford - (1990), entre otros, presentan puntos de vista diferentes al respecto de los mecanismos físico-químicos que se operan durante el período preeruptivo en la formación de los tejidos duros del diente, cuando hay experiencia de flúor sistémico de manera continuada por largos períodos, resultando mayor discusión en las teorías sobre los mecanismos anticariogénicos del flúor.

Al respecto de su absorción a nivel de intestino no hay controversia. Así mismo, en la literatura no se encuentra información acerca de la absorción del flúor por mucosa bucal.

El hecho de encontrar casualmente en el Laboratorio de Flúor de la Facultad de Odontología de la Universidad de Antioquia (24), altas concentraciones de flúor en los análisis de orina de un grupo de escolares de la ciudad de Medellín, hizo pensar en la posibilidad de la absorción, durante técnicas preventivas de enjuagues con soluciones de flúor, al descartar la posibilidad de ingesta, puesto que se controlaba rigurosamente a los niños para evitar que ingirieran la solución de flúor durante dichos procedimientos.

La observación citada llamó especialmente la atención por ser un resultado con cifras muy por encima de las que eran habituales en monitoreos de flúor en los cuales se conoce bien la correlación normal que existe entre la cantidad de flúor sistémico ingerido en dosis conocida y la cantidad de flúor excretado por orina, según Mejía y otros para nuestro medio (25); Marthaler y otros (26).

Esos resultados no podían explicarse por la ingesta de sal de cocina con una dosis controlada de flúor por kilogramo de sal.

Por ello se planteó la posibilidad de que esos resultados fueran debido a absorción, a través de mucosa oral, del flúor contenido en la solución utilizada en los enjuagues bucales para prevención de caries. Otra posibilidad sería la excreción de Flúor Sistémico proveniente de otras fuentes diferentes de suministro.

En la actualidad se combinan frecuentemente distintos métodos simultáneos de control de la caries dental por medio del flúor, tal como el caso que se describe, en el cual se combina el flúor suministrado a través de la sal de cocina, con enjuagues de soluciones de fluoruro de sodio, lo cual puede provocar sobredosis, quizás por absorción del flúor a través de mucosa bucal.

Así mismo, en la actualidad es frecuente el uso diario de las cremas dentales con contenidos de flúor de 1.000 a 1.500 partes por millón, debido a que en el mundo entero las grandes compañías fabricantes de pastas dentales con flúor, cada día intensifican con mayor agresividad y éxito su mercadeo.

Por años, sólo le preocupó a la comunidad científica el flúor sistémico, a través del agua, la sal y comprimidos, puesto que se desconocía la realidad de una presencia sistémica del flúor utilizado tópicamente y localmente.

MATERIALES Y METODOS

Se tomó como grupo experimental 10 niños entre 10 y 12 años de edad, los cuales se expusieron durante 2 minutos a un enjuague con solución de fluoruro de sodio al 2%. Previamente se les tomó muestra de orina. Después del enjuague se repitió la muestra de orina a las 4 y 24 horas, para el análisis de contenido de flúor.

Como grupo control, se tomaron también 10 niños de las mismas edades del grupo experimental, a los cuales se les expuso durante 2 minutos a un enjuague bucal con preparado placebo, y se tomaron muestras de orina de la misma manera como se procedió con el grupo experimental.

Los niños son alumnos de una escuela pública del área metropolitana de la ciudad de Medellín,

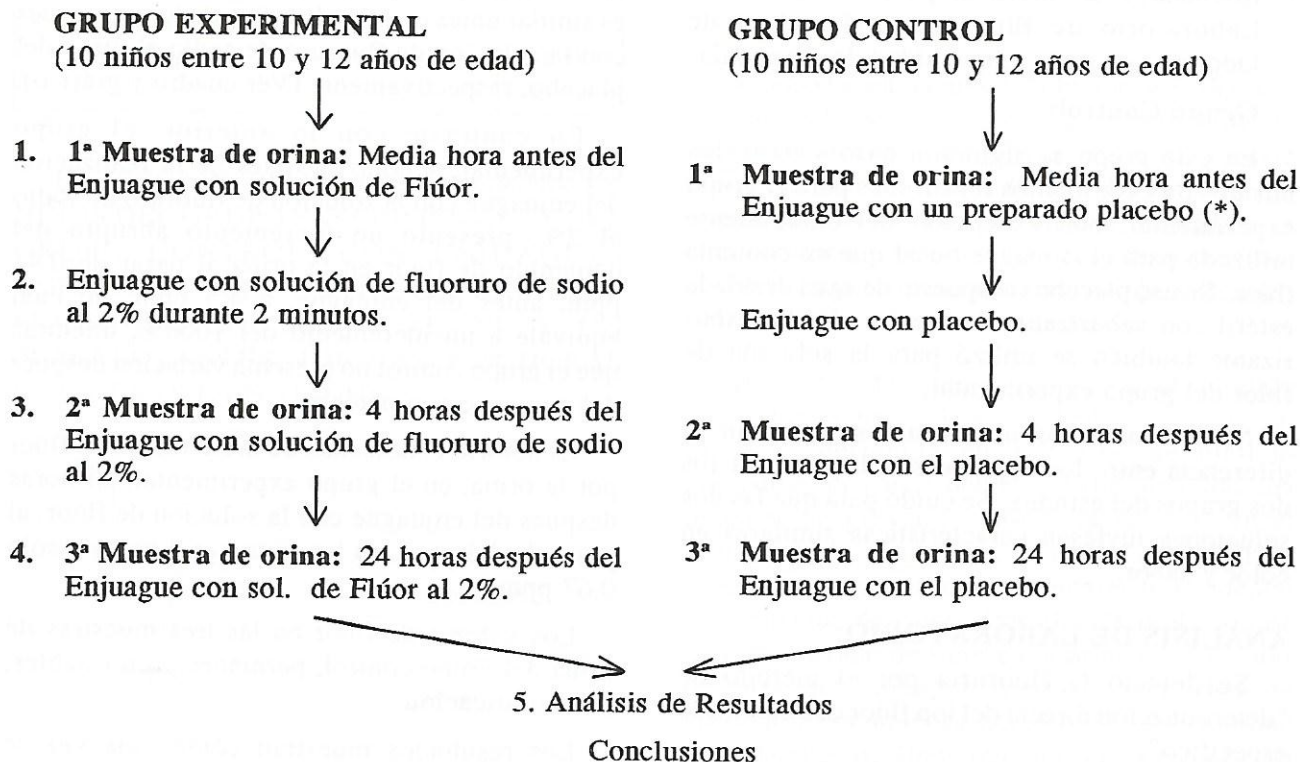
en la que se realizan periódicamente medidas de control de caries, como los enjuagues con solución de flúor al 2%, lo cual significa que son niños habituados a estos procedimientos.

Se buscó la colaboración de las directivas y profesores de la escuela y a través de ellos se logró la selección de los escolares participantes en la investigación, teniendo como parámetros básicos: buena salud general, la edad y la voluntad de colaboración que garantizara su continuidad durante todo el estudio, y su capacidad receptiva para seguir estrictamente las instrucciones acerca de la técnica y cuidados a tener durante los procedimientos en los cuales tomarían parte. Se determinó el número de 10 niños para cada grupo, por no ser necesario un número mayor, dado que el comportamiento del organismo humano frente a sus funciones de absorción y excreción de flúor, han sido bien estudiadas y por ello conocidas sus fluctuaciones, ya que presenta variaciones individuales de acuerdo con edad, tiempo de ingestión constante del flúor, variación individual de ingesta de alimentos y líquidos con contenido de flúor, temperatura ambiente, función renal, etc.

En el modelo experimental escogido para este estudio, se controlan las variables de confusión más significativas al igualar las características de los participantes, la dosis y el tiempo de exposición a la solución de flúor. Con ello, la respuesta del organismo será ocasionada constante y altamente consistente, debido a la variable introducida, o sea el enjuague con la solución de flúor al 2%, durante 2 minutos, lo cual determina un comportamiento similar en grupo grande o pequeño, puesto que el número no se requiere debido a que no existen discrepancias mayores de respuesta en estas circunstancias del trabajo determinado.

Una vez seleccionados los niños participantes, tanto a los integrantes del grupo experimental, como a los del grupo control, se les hizo motivación individual y de grupo, por parte de uno de los investigadores, orientada a la búsqueda de su colaboración y actitud positiva para lograr que no se registrase ingestión accidental o voluntaria de la solución de flúor durante el enjuague.

MODELO EXPERIMENTAL



(*) Placebo: Agua destilada estéril con saborizante de menta

PROCEDIMIENTOS:

Grupo Experimental:

1º De 8 a 8:30 a.m., se tomó una primera muestra de orina, previa al enjuague con la solución de flúor. Anotamos que esta primera muestra recogida, corresponde a la segunda micción de los niños después de levantarse, lo cual es recomendado para los análisis de excreción de flúor en la orina.

2º Una vez recogida la muestra de orina con la participación de los 10 niños experimentales, se le dio a cada uno una porción medida de 15 c.c. de solución de fluoruro de sodio al 2%, para hacer enjuague bucal durante 2 minutos debidamente controlados. El enjuague fue estrictamente supervisado para evitar cualquier alteración del procedimiento normalizado para esta técnica. Transcurridos los 2 minutos, los niños arrojaron el contenido del enjuague, en presencia del supervisor del procedimiento, a un recipiente destinado para este efecto. Luego se recogieron nuevas muestras de orina a las 4 y 24 horas después del enjuague.

Cada una de las 3 muestras fue depositada en recipientes de plástico, debidamente identificados y se enviaron para su análisis al Laboratorio de Flúor de la Facultad de Odontología de la Universidad de Antioquia.

Grupo Control:

En este grupo se siguieron paso a paso, los mismos procedimientos registrados para el grupo experimental, con excepción del componente utilizado para el enjuague bucal que no contenía flúor. Se usó placebo compuesto de agua destilada estéril con saborizante de menta. Dicho saborizante también se utilizó para la solución de flúor del grupo experimental.

Ni los maestros ni los niños conocían la diferencia entre los enjuagues utilizados por los dos grupos del estudio. Se cuidó para que las dos soluciones tuviesen características similares en color y sabor.

ANALISIS DE LABORATORIO:

Se detectó la fluoruria por el método de "determinación directa del ion flúor con electrodo específico".

Para este método se utilizó como equipo analizador de iones un microprocesador com-

putarizado, al cual va conectado un electrodo específico de flúor y un electrodo de referencia, para medir la concentración de flúor en orina en partes por millón (ppm.).

MUESTRA:

Orina recogida en envase de plástico, la cual se preservó mediante la adición de timol (0.5 grs.) y luego se llevó a refrigeración a 4º C.

PROCEDIMIENTO:

Se prepara una solución de fluoruro de 100 ppm. ("stock"). Luego de esta solución madre se prepara un "Standar" de 10 ppm. por dilución de la solución concentrada o ("stock") y a partir de ésta se hace una curva de calibración que el microprocesador lee sacando la pendiente frente a la cual se leen las muestras. Se utilizan 10 ml. de éstas, más 10 ml. de "tisab".*

* Tisab Contiene un sistema buffer acético-acetato y un PH (5.0 - 5.5), con lo cual se evitan interferencias y se obtienen así lecturas confiables.

RESULTADOS:

Se observa que el contenido de flúor en la orina del grupo experimental y del grupo control es similar antes de la realización de los enjuagues con la solución de fluoruro de sodio al 2% y del placebo, respectivamente (Ver cuadro y gráfico).

En contraste con lo anterior, el grupo experimental, 4 horas después de la realización del enjuague con la solución de fluoruro de sodio al 2%, presentó un incremento abrupto del contenido de flúor en la orina al pasar de 0.43 ppm. antes del enjuague, a 4.3 ppm., lo cual equivale a un incremento del 1000%, mientras que el grupo control no presenta variación después del enjuague con placebo.

Es notorio el descenso de la excreción de flúor por la orina, en el grupo experimental, 24 horas después del enjuague con la solución de flúor, al pasar de 4.3 ppm. en las primeras 4 horas a sólo 0.67 ppm.

Los valores de flúor en las tres muestras de orina del grupo control, permanecieron estables, sin modificación.

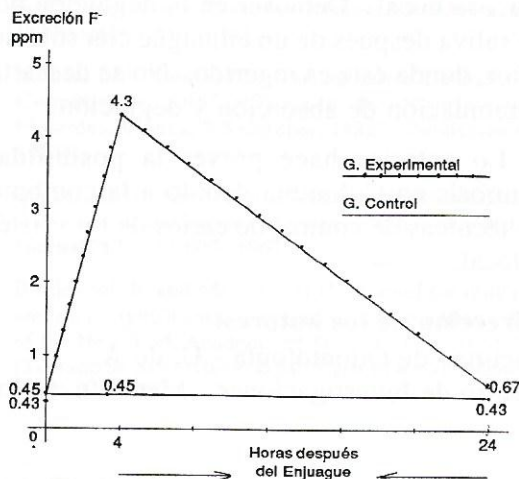
Los resultados muestran cómo, una vez se interrumpe el suministro de flúor sistémico por cualquier método, desciende la fluoruria, variando

estos descensos de acuerdo con el tiempo que haya durado el suministro sistémico de flúor. En el caso de esta investigación, sólo hubo una exposición de 2 minutos a una solución de fluoruro de sodio al 2%, utilizada localmente como enjuague.

EXCRECION DE FLUOR EN ORINA DE NIÑOS DEL GRUPO EXPERIMENTAL Y DEL GRUPO CONTROL, CON ENJUAGUE DURANTE 2 MINUTOS DE SOLUCION DE FLUORURO DE SODIO AL 2% Y UN PLACEBO, ANTES, 4 HORAS Y 24 HORAS DESPUES DEL ENJUAGUE.

Diferentes Muestras de Orina	ppm de Flúor	
	Grupo Experimental (Enjuague Sol. de NaF al 2%)	Grupo Control (Placebo)
1 ^a : Antes del Enjuague 8:00 a 8:30 a.m.	0.43	0.45
2 ^a : 4 horas después del Enjuague	4.3	0.45
3 ^a : 24 horas después del Enjuague	0.67	0.43

EXCRECION DE FLUOR EN ORINA DE NIÑOS DEL GRUPO EXPERIMENTAL Y DEL GRUPO CONTROL, CON ENJUAGUES DURANTE 2 MINUTOS DE SOLUCION DE FLUORURO DE SODIO AL 2% Y UN PLACEBO, ANTES, 4 HORAS Y 24 HORAS DESPUES DEL ENJUAGUE.



DISCUSION:

Si la hipótesis de este estudio fuera positiva, tendría que aceptarse que hay absorción de flúor por la mucosa oral. De no ser así, quedaría comprobado que el flúor, aun utilizado de manera local, como es el caso de los enjuagues, de alguna manera es ingerido, independientemente de la utilización de una técnica que garantice que no haya ingestión accidental o voluntaria de la solución de flúor.

Wei y Kanellis (27) señalan la posible ingesta parcial o total de los enjuagues de flúor por parte de algunos niños, lo cual periódicamente incrementa los picos de flúor a nivel de plasma. Con enjuagues diarios al 0.05%, lo cual es aceptado, 7 c.c. de la solución contendrían aproximadamente 1.75 ppm. de F⁻, lo cual es comparable, si llegan a ingerirse totalmente, a beber agua con una concentración de 1.75 ppm.

Con base en lo anterior, la ingestión de 7 c.c. de los 20 que habitualmente usan los servicios de salud para los enjuagues con solución al 2% de fluoruro de sodio, equivaldrían a una ingestión de aproximadamente 7 ppm. Si se ingirieran los 20 c.c., la concentración de flúor ingerida sería aproximadamente de 20 ppm.

Aunque los enjuagues de soluciones de fluoruro de sodio al 2% sólo se usan mensualmente, la ingestión accidental, parcial o total, estaría produciendo un pico de incremento de la concentración de flúor en plasma, sumada a la concentración provocada por ingestión de flúor por otras fuentes, especialmente de tipo sistémico como flúor en el agua o en la sal.

El hecho de haber tenido en el modelo experimental niños de 10 a 12 años de edad, con previa experiencia en este tipo de método preventivo de caries dental, y haber recibido una preparación previa y estricta supervisión en el momento del enjuague, permite descartar la ingestión parcial o total voluntaria o accidental del enjuague de flúor. Por ello, la titulación de un pico elevado de flúor en la orina a las 4 horas después del enjuague, permite sospechar de absorción por mucosa bucal o de una cantidad considerable de flúor retenido en boca, el cual será luego ingerido en la deglución normal de saliva.

Una u otra de las posibles razones, o una combinación de ellas, pone de manifiesto el riesgo de utilizar soluciones de flúor en enjuagues, especialmente en sitios donde se está dando flúor sistémico.

La suma de concentración de las dosis de flúor por el uso de varios métodos, ha sido discutido por varios autores como Margolis (22); Whitford (23); Pendry (28) y Horowiyz (29) entre otros.

A la mayoría de ellos les preocupa especialmente los posibles altos consumos de elementos preventivos de caries con contenido de flúor, por el riesgo de fluorosis.

En este estudio no se detectó una dosis de flúor excretado en las muestras de orina previa al enjuague, ni en las muestras del grupo control, que permitan indicar la presencia de una dosis recomendada de flúor en la sal de cocina, como se supone se debería estar suministrando en Colombia. Así mismo, se descarta con ello la ingesta de flúor por otras fuentes. A pesar de ello, la excreción de flúor después del enjuague dio picos elevados especialmente a las 4 horas, lo cual permite indicar que aun sin flúor sistémico, los enjuagues diarios o aun los quincenales y mensuales constituyen un motivo de preocupación y deben motivar más investigación.

CONCLUSIONES:

1. Los enjuagues con soluciones de fluoruro de sodio al 2%, están sometiendo a nuestra población infantil en edades con riesgo de fluorosis dental, a sobredosis periódicas y quizás constantes en algunos sectores de población, por la presencia simultánea de varios métodos de control de caries, con utilización tanto de flúor sistémico, como de flúor local en forma de pastas dentales y los mismos enjuagues, puesto que el flúor local, como se ha detectado en este estudio, no permanece totalmente a nivel de boca, sino que se ha encontrado además a nivel sistémico.
2. Si en una población en edad de 10 a 12 años, con adecuada motivación y experiencia en la técnica de enjuagues bucales, se puede detectar flúor en alta concentración en muestras de orina después de enjuagues con fluoruro de sodio, no parecen recomendables dichas técnicas para niños en edad pre-escolar,

e incluso en los mismos escolares, aun con estricta supervisión que busque impedir la ingestión accidental y voluntaria.

3. Con este estudio no puede indicarse que existe absorción de flúor por mucosa bucal, pero queda comprobado que el flúor utilizado localmente en boca, de alguna manera, sin la ingestión voluntaria, ni accidental que pueda ser controlable con excelente preparación - motivación y supervisión, llega a nivel sistémico y es detectado en alta concentración en la excreción de orina.
4. Se advierte el riesgo de fluorosis dental, por la presencia de altas dosis de flúor a nivel sistémico como consecuencia de la sumatoria de métodos preventivos, locales y sistémicos con flúor.
5. Los enjuagues mensuales al 2% de fluoruro de sodio deben cuestionarse y buscar otra alternativa por su alta concentración.
6. La cantidad de 20 c.c. de solución de flúor para el enjuague de cada niño, nos parece excesiva y podría ser móvil de ingestión accidental. Se sugiere 10 c.c. y en lugar de 2 ó 3 minutos, sólo 1 minuto. La fuerza preventiva del método varía poco y también se podría evitar con dicha reducción del tiempo, ingestión accidental por fatiga.
7. Se sugiere la necesidad de una mayor vigilancia epidemiológica de fluorosis dental en Colombia, por los altos riesgos que tiene su aparición como consecuencia de lo encontrado en esta investigación.

NOTA:

Como parte II de este trabajo se ha realizado otra investigación que demuestra que no hay claridad para afirmar la absorción del flúor por mucosa bucal. Debe ser en la deglución normal de saliva después de un enjuague con solución de flúor, donde éste es ingerido. No se descarta una combinación de absorción y deglución.

Lo anterior hace prever la posibilidad de fluorosis en Colombia debido a la combinación de técnicas de control de caries de tipo sistémico y local.

Dirección de los autores:

Facultad de Odontología - U. de A.
Centro de Investigaciones - Medellín, Colombia

BIBLIOGRAFIA

1. McClure, F.J. and Mitchell, H.H.: The Effect of Fluorine on the Calcium Metabolism of Albino Rats and the Composition of the Bones. *J. Biol. Chem.* 60: 207, 1931.
2. Zipkin, I. and McClure, F. J.: Deposition of Fluorine in the Bones and Teeth of the Growing Rat. *J. Nut.* 47: 611-620, 1952.
3. Zipkin, I, and McClure, F.J.: Cariostatic Effect and Metabolism of Ammonium Fluosilicate. *Pub. Health Rep.* 69: 730-733, 1954.
4. Zipkin, I. and Likins, R.C.: The Absorption of Various Fluorine Compounds from the Gastrointestinal Tract of the Rat. *Amer. J. Physiol.* 191: 549-550, 1957.
5. McCann, H.G. and Bullock, F.A.: The Effect of Fluoride Ingestion on the Composition and Solubility of Mineralized Tissues of the Rat. *J. Dent. Res.* 36: 391-308, 1957.
6. Likins, R.C., Zipkin, I. and McCann, H.G.: Distribution and Excretion of Hexafluorophosphate. *Proc. Soc. Exper Biol. and Med.* 95: 527-529, 1957.
7. McClure, F.J.: Domestic Water and Dental Caries. Fluorine in Human Saliva. *Am J. Diseases of Children* 62: 512-515, 1941.
8. McClure, F.J.: Fluorine, Ash, Calcium and Phosphorus in Human Teeth. *J. Dent. Res.* 29: 315-319, 1950.
9. McClure, F.J. and Likins, R.C.: Fluorine in Human Teeth Studied in Relation to Fluorine in the Drinking Water. *J. Dent. Res.* 30: 172-176, 1951.
10. McClure, F.J. McCann, H.G., and Leone, N.C.: Excessive Fluoride in Water and Bone Chemistry. Comparison of two Cases. *Pub. Health Rep.* 73: 741-746, 1958.
11. Geever, E.F., Leone, N.C., Geiser, P. and Lieberman, J.: Pathologic Studies in Man after Prolonged Ingestion of Fluoride in Drinking Water. II. Findings in Bones in Communities with Water Levels from 1.0 to 4.0 p.p.m. Fluoride. *Pub. Health Rep.* 73: 721-731, 1958.
12. Leone, N.C., Shimkin, M.B., Arnold, F.A., Stevenson, C.A. Zimmerman, E.R. Geiser, P.A. and Lieberman, S.E.: Medical Aspects of Excessive Fluoride in a Water Supply. *Pub. Health Rep.* 69: 925- 936, 1954.
13. Ekstrand, J.G., Alvan, L. Borus y Norlin: "Pharmacokinetics of Fluoride in man after single and Multiple oral doses", *Europ. J. Clin. Pharmacol.* 12, 311, 1977. (Tomado de: "Conference on Fluorides, Vienna, 3-5 October, 1982". Publicación OMS, 1983).
14. Möller, I.J.: "Dental Fluorose og caries", Rhodos Publ. Copenhagen, 1965. (Tomado de: "Conference on Fluorides, Vienna, 3-5 October, 1982". Publicación OMS, 1983).
15. Backer, D.O. The relation between the Fluoridation of water and dental caries experience. *International Dental Journal*, 17: 582-605, 1967.
16. Brudevold, F. and McCann, H.G. Enamel solubility tests and their significance in regard to dental caries. *Annals of the New York Academy of Science*, 153: 20-51, 1968. (Tomado de Silverstone, L.M.: *Caries Dental - Manual M. México, 1985*).
17. McCann, H.G. and Brudevold, F. Environmental variables in oral disease. *American Association for the Advancement of science*, Washington D.C. p.p. 103-28, 1962. (Citado por Silverstone - "Caries Dental" - M.M. - México, 1985).
18. Jenkins, G.N. Lectures on the Scientific Basis of Medicine, Vol. 8, University of London, Athlone Press, London, p.p. 442-59, (Citado por Silverstone, L.M.: "Caries Dental" - M.M. - México, 1985).
19. Silverstone, L.M.: Johnson, N.W. and Hardie, J.M.: "Caries Dental" - Manual Moderno - México, p.p. 207-225, 1985.
20. Thylstrup, A. and Fejerskov, O.: "Caries", Doyma, Barcelona - p.p. 254-285, 1988.
21. Ten Cate, J.M., In Vitro Studies on the effects of Fluoride on De-and Remineralization. *J. Dent Res* 69 (Spec Iss): 614-619, 1990.
22. Margolis, H.C. and Moreno, E.C., Physicochemical Perspectives on the Cariostatic Mechanims of Systemic and Topical Fluorides, *J. Dent Res* 69 (Spec Iss): 606-613, 1990.
23. Whitford, G.M., The Physiological and Toxicological Characteristics of Fluoride. *J. Dent Res* 69 (Spec Iss): 539-549, 1990.
24. Aguirre, Martha. Determinación de flúor en orina de escolares en la ciudad de Medellín, Laboratorio de Flúor - Facultad de Odontología - U. de A. - (Comunicación personal - 1991).
25. Mejía, Raúl; Espinal, F.; Vélez, H.; Aguirre, M.: "Fluoruración de la Sal - Publicación Científica N° 335, OMS - OSP, Washington. p.p. 67-80, 1976.
26. Marthaler, T.M.; Mejía, R.; Toth, K. and Viñes, J.J., Caries - Preventive Salt Fluoridation, *J. Caries Res.* 12 (Suppl. 1): 15-21, 1978.
27. Wei, S.H. and Kanellis, M.J., fluoride retention after sodium fluoride Mouthrinsing by preschool children, *JADA.* 106: 626-629, 1983.
28. Pendry, D.G. and Stamm, J.M., (Relationship) of total fluoride Intake to Beneficial Effects and Enamel Fluorosis. *J. Dent Res* 69 (Spec Iss): 529-538, 1990.
29. Horowitz, H.S., The future of water Fluoridation and Other Systemic Fluorides. *J. Dent Res* 69 (Spec Iss): 760-764, 1990.

NOTA:

Las investigaciones reportadas en las referencias (1-6) y (7-12) - son tomadas de: McClure, F.J.: "Fluoride Drinking Waters", National Institute of Dental research, Public Health Publication N° 825, Bethesda Maryland, pp. 343-360 y 495-560, 1962.