



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA Y MEDICINA ORAL**

Recuento de microbiota total cultivable y presencia de *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en individuos con periodontitis crónica tratados con azitromicina sistémica

Alessandro Manuel Gandolfo Peña

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA**

TUTOR PRINCIPAL

Profesora Nora Silva Steffens

TUTORES ASOCIADOS

Profesor Dr. Jorge Gamonal Aravena

Dra. Alicia Morales Chvets

**Adscrito a Proyecto Fondecyt 1130570
Santiago – Chile
2015**

ÍNDICE

Resumen.....	1
Marco teórico.....	2
Hipótesis y objetivos.....	13
Materiales y métodos.....	14
Resultados.....	23
Discusión.....	32
Conclusiones.....	42
Referencias bibliográficas.....	43
Anexos.....	50
Anexo 1.....	50
Anexo 2.....	51
Anexo 3.....	55
Anexo 4.....	57

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer profundamente:

A la Dra. Claudia Godoy, por creer siempre en mí y alentarme a seguir mis sueños y convicciones.

A la profesora Nora Silva, por transmitirme confianza, apoyo y tranquilidad durante todo el proceso.

A la Dra. Alicia Morales, por su genuina preocupación y ayuda en los momentos difíciles.

A Daniela Salinas y Darna Venegas, por su profesionalismo, excelente voluntad de enseñar y transmitir constantemente alegría.

A Carola Galaz, por su calidez y meticulosidad.

Y a mi padre, madre y hermana... pues gracias a su cariño... todo fue posible.

RESUMEN

Introducción: La periodontitis crónica es una enfermedad inflamatoria que destruye los tejidos de soporte dentarios. El factor etiológico responsable es la presencia de bacterias generadoras de una respuesta inmunológica en el hospedero. El tratamiento tradicional es el pulido y alisado radicular (PAR), pero puede complementarse con antibióticos sistémicos. Azitromicina es utilizada por su acción bacteriostática sobre anaerobios Gram negativo, cómoda dosificación, vida media prolongada y mínimas reacciones adversas. El objetivo de este trabajo de investigación fue cuantificar la microbiota total cultivable, determinar, comparar la presencia y cuantificar *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*), *Tannerella forsythia* (*Tf*) y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Aa*) en un grupo de individuos chilenos con periodontitis crónica previo al tratamiento azitromicina, en conjunto al PAR, y a los 3 meses de seguimiento, en comparación a un grupo que recibió placebo.

Materiales y métodos: Se realizó un ensayo clínico aleatorizado, de diseño paralelo, enmascarado y controlado mediante placebo. Se evaluaron parámetros clínicos (nivel de inserción clínica, profundidad al sondaje, índice de placa e índice de sangrado) y microbiológicos a nivel basal y 3 meses de seguimiento. La microbiota total cultivable fue analizada mediante técnicas microbiológicas clásicas (cultivo en jarras de anaerobiosis). La prevalencia de *Pg*, *Tf* y *Aa* fue determinada a través de identificación molecular por PCR. Se consideró significancia estadística con un $p < 0,05$, y un intervalo de confianza de un 95%.

Resultados: Los cuatro parámetros clínicos estudiados mejoraron significativamente a los 3 meses respecto al tiempo basal; tanto grupo experimental como control (valor $p < 0,05$). Además, disminuyó significativamente el recuento de microbiota total cultivable en el grupo experimental (valor $p = 0,0006$) y control (valor $p = 0,0029$). La prevalencia de *Tf* a los 3 meses de evaluación fue significativamente menor en el grupo experimental (valor $p = 0,0002$) y en el grupo control (valor $p = 0,03$). No hubo diferencias significativas inter-grupales en ninguno de los tiempos evaluados.

Conclusión: Azitromicina adjunta a PAR es igualmente efectiva en mejorar parámetros clínicos y microbiológicos respecto al PAR por sí solos.

MARCO TEÓRICO

PERIODONTITIS CRÓNICA

Entendemos periodontitis como una enfermedad inflamatoria crónica en la cual se destruyen los tejidos de soporte dentarios, produciendo eventualmente la pérdida de los dientes (Pihlstrom B y cols., 2005). El factor etiológico responsable es la biopelícula subgingival, donde bacterias específicas generan una respuesta inmunológica destructiva en el hospedero (Berglundh T, 2005). Dentro de los signos clínicos se destaca la presencia de saco periodontal (signo patognomónico de la enfermedad), pérdida de la inserción conectiva y evidencia de destrucción ósea alveolar (Van der Velden U, 2005).

Epidemiológicamente hablando, es una de las enfermedades más prevalentes en el mundo (Brown L y cols., 2002), que en Chile afecta a más del 90% de la población adulta en distintos grados de severidad (Gamonal J y cols., 2010). Al ser una de las principales enfermedades que conducen al desdentamiento, se considera a la periodontitis crónica como responsable de generar un gran impacto en la calidad de vida de los chilenos (Espinoza I y cols., 2013).

A esta enfermedad se le ha catalogado como un problema de salud pública a nivel nacional, siendo incluida en las Garantías Explícitas en Salud (GES) tanto para embarazadas como a individuos de 60 años de edad (Guías MINSAL 2013 a, b). Sin embargo, no existen actualmente garantías en este ámbito para el resto de la población adulta.

El tratamiento *gold standard* es el pulido y alisado radicular, el cual está dirigido a la eliminación de los patógenos. A esto se le puede sumar, dependiendo el caso, una antibioterapia sistémica para mejorar parámetros clínicos y microbiológicos (American Academy of Periodontology, 2000a; American Academy of Periodontology, 2000b).

MICROBIOLOGÍA PERIODONTAL

Al ser una patología inducida por biopelícula, el estudio de los microorganismos ha sido determinante para comprender la etiopatogenia de la enfermedad. Se han descrito principalmente aquellos que pueden ser cultivados y que presentan factores de virulencia asociados. Socransky S y cols. (1998) clasificaron los distintos tipos de colonizadores en diversos complejos de colores. Entre ellos tenemos los primarios (verde, amarillo, morado y azul), puente (naranja) y tardíos (rojo). Las bacterias del complejo rojo (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*) y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* serotipo b, presentan una prevalencia y recuento mayores en pacientes con periodontitis crónica que en individuos sanos (Ximénez-Fyvie L y cols., 2000).

En Chile, la prevalencia de *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* y *T. forsythia*, en pacientes adultos con periodontitis crónica, fue mayor a un 75%, 20% y 15% respectivamente (Gajardo M y cols., 2005; Herrera D y cols., 2008a). No obstante, los recuentos más altos corresponden a *P. gingivalis* y *T. forsythia* (López N y cols., 2004).

Porphyromonas gingivalis

P. gingivalis es un cocobacilo, anaerobio obligado, Gram negativo, que se asocia con la destrucción activa de los tejidos de soporte periodontal (Díaz J y cols., 2012). Además, también se ha relacionado con el inicio y severidad de otras enfermedades y condiciones sistémicas, tales como parto prematuro con bajo peso al nacer y trastornos cardiovasculares (Offenbacher S y cols., 2001; Meurman J y cols., 2004; León R y cols., 2007).

La literatura indica que entre los factores de virulencia se identifican, entre otros; fimbria, enzimas proteolíticas, hemaglutininas, lipopolisacárido (LPS) y cápsula (Holt S y cols., 1999). Dependiendo de la especificidad serotípica y genotípica se encuentran variaciones en la expresión de estos factores, siendo algunos asociados a mayor inflamación y destrucción de los tejidos de soporte de los dientes. Interesantemente, la expresión del genotipo para fimbria, específicamente

fimA tipo II y IV, están más asociados a enfermedad que el tipo I, el cual se presenta mayormente en individuos sanos (Teixeira S y cols., 2009).

Aggregatibacter actinomycetemcomitans

A. actinomycetemcomitans es un cocobacilo, Gram negativo, capnofílico, no móvil, que pertenece a la familia *Pasteurellaceae*. Se asocia principalmente a periodontitis agresiva, pero tal como se mencionó anteriormente, es prevalente en periodontitis crónica. También se ha relacionado con el desarrollo de trastornos cardiovasculares, como la aterosclerosis (Díaz J y cols., 2012).

Diversos factores de virulencia se han descrito para *A. actinomycetemcomitans*. Entre ellos encontramos LPS, leucotoxina, fimbria, toxina distensora del citoesqueleto (Cdt), adhesinas epiteliales (Aae) y proteínas de adhesión e invasión celular (Omp100 y EmaA). Éstas le permiten adherirse e invadir tejidos del hospedero, induciendo una respuesta inmuno-inflamatoria que puede causar la destrucción de la inserción periodontal (Iniesta M y cols., 2008).

Tannerella forsythia

T. forsythia es un periodontopatógeno Gram negativo, anaerobio, fastidioso, perteneciente a la familia *Cytophaga-Bacteroidetes*. Además de asociarse principalmente a periodontitis crónica, se puede encontrar en lesiones ateroscleróticas y vaginosis bacteriana (Tanner A e Izard J, 2006).

Algunos de los factores de virulencia que presenta son proteasas (tales como: PrtH, SiaH, NanH y contra tripsina), presencia de leucina en la superficie celular, secreción de proteína Bsp y methylglyoxal, alpha-D-glucosidasa y N-acetyl-beta-glucosaminidasa, actividad hemaglutinina e inducción de apoptosis (Sharma A, 2010).

ANTIBIOTERAPIA SISTÉMICA EN PERIODONTITIS CRÓNICA

Si bien el tratamiento *gold standard* de la periodontitis crónica es el pulido y alisado radicular (PAR), existen sacos periodontales que no mejoran clínicamente

ni microbiológicamente posterior a la intervención. En general, corresponden a aquellos con profundidades al sondaje >6mm, de difícil acceso y con invasión de periodontopatógenos a nivel epitelial, donde los tejidos de soporte continúan destruyéndose en el tiempo y la enfermedad progresa. Otra posible razón de fracaso es que los periodontopatógenos logran recolonizar los sitios. La razón está en que éstos pueden habitar otros nichos de la cavidad oral, por lo que no son afectados por la terapia convencional (Muniz F y cols., 2013).

A partir de estas desventajas y el conocimiento de la etiología de la periodontitis crónica, nació el interés al final de los años '70 por utilizar antibióticos para controlar la microbiota subgingival. En un comienzo, los resultados fueron variables e incluso contradictorios en algunos estudios. Sin embargo, junto al advenimiento de las nuevas técnicas microbiológicas y protocolos de ensayos clínicos, se logró avanzar en este tópico (Feres M y cols., 2015). Los antibióticos principalmente investigados fueron aquellos que presentan un espectro de acción sobre bacterias anaerobias Gram negativo, pues son las más prevalentes en esta enfermedad (Muniz F y cols., 2013).

Las mejoras clínicas que se obtuvieron a partir de los estudios que empleaban antibioterapia sistémica fueron producto del cambio transversal en la microbiota de la cavidad oral. Por una parte, a nivel del saco periodontal, los antibióticos logran afectar la biopelícula subgingival presente, disminuyendo significativamente los periodontopatógenos del complejo rojo y naranja. Además, logran un aumento de las especies hospedero-favorables, lo que se ve reflejado en un incremento del recuento de especies del complejo amarillo, morado y verde; incluyendo *Actinomyces*. Por otro lado, estos agentes antimicrobianos logran distribuirse ampliamente en los tejidos orales, eliminando nichos de bacterias que podrían eventualmente recolonizar los sitios tratados. En consecuencia, estos cambios microbianos generales logrados permiten una mayor estabilidad ecológica y favorecen clínicamente la salud periodontal (Feres M y cols., 2015).

Por lo tanto, actualmente se reconoce la antibioterapia sistémica como un aporte al ser empleada en conjunto al PAR. Estos reducen significativamente la

profundidad de sondaje en sacos periodontales >6mm, mejoran el nivel de inserción clínica, son efectivos en lesiones periodontales activas y pueden ser utilizados en perfiles microbiológicos específicos (Haffajee A y cols., 2003).

Se han estudiado distintas antibioterapias sistémicas. Dentro de los antibióticos más comunes encontramos: Tetraciclinas, metronidazol, combinación de metronidazol-amoxicilina y azitromicina. De ellas, la combinación de metronidazol y amoxicilina es la más estudiada, presentando resultados microbiológicos y clínicos favorables (Herrera D y cols., 2002; Herrera D y cols., 2008a, b). No obstante, la extensión de su tratamiento (7 días), la cantidad de dosis diaria (3 veces al día) y las reacciones adversas al medicamento, hacen que el cumplimiento de los individuos no sea óptimo (Haffajee A y cols., 2007). Por lo tanto, existe interés en ahondar en el conocimiento de otras terapias antibióticas, pues no hay consenso actual acerca del protocolo ideal (Haffajee A y cols., 2003), siendo la azitromicina un fármaco prometedor.

AZITROMICINA

La azitromicina es un antibiótico perteneciente al grupo de los macrólidos azálides, que fue sintetizado por primera vez en 1980 y aprobado por la institución *Food and Drug Administration* (FDA) en 1990. Es ampliamente utilizado en medicina para tratar enfermedades de etiología bacteriana en las vías respiratorias, oído medio, piel, tejidos blandos y algunas infecciones de transmisión sexual (González-Piñera J, 1998). Por otro lado, posee efectos inmunomoduladores y antiinflamatorios; lo que ha permitido aplicarla también en enfermedades inflamatorias crónicas no infecciosas a nivel pulmonar, principalmente (Parnham M y cols., 2014). Dadas sus propiedades particulares y la búsqueda de protocolos antibióticos idóneos como complemento a la terapia periodontal no quirúrgica, este macrólido es una alternativa farmacológica atractiva para tratar enfermedades periodontales. Entre ellas encontramos: periodontitis agresiva, periodontitis crónica y agrandamiento gingival; para las cuales existe evidencia favorable respecto de su uso (Hirsch R y cols., 2012).

Estructura Química y Farmacocinética

La azitromicina es un análogo semisintético de la eritromicina, en el cual se inserta un átomo de nitrógeno adicional en el anillo de lactona macrocíclico, pasando de 14 miembros a 15 miembros en la molécula. El nitrógeno extra le provee un mayor grado de estabilidad estructural a la azitromicina en comparación a la eritromicina. (Bakheit A y cols., 2014).

- Dosis y Absorción

El régimen más común de tratamiento sistémico con azitromicina, como complemento a la terapia periodontal no quirúrgica, es de: un comprimido oral diario de 500mg, una hora antes de comer, por 3 a 5 días (Smith S y cols., 2002; Haffajee A y cols., 2007; Oteo A y cols., 2010; Sampaio E y cols., 2011; Emingil G y cols., 2012; Han B y cols., 2012). Si bien es más resistente a los ácidos gástricos que su predecesor, es susceptible al pH presente a nivel estomacal. Por lo tanto, la forma farmacéutica del comprimido es con recubrimiento entérico (González-Piñera J, 1998). Su absorción es de aproximadamente un 37% después de una dosis oral de 500mg y la tolerancia digestiva es buena. Se recomienda no administrar en conjunto con las comidas, pues su absorción puede disminuir hasta en un 50% (Drew R y Gallis H, 1992).

- Distribución y Vida media

Una de las principales características farmacocinéticas de la azitromicina es su gran volumen de distribución (23 L/kg), bajo máximo de nivel sérico (0,4 µg/mL) y larga vida media (68 horas). Esto es consistente con los datos que demuestran su extensa distribución y acumulación intracelular, donde alcanza concentraciones muy altas en estructuras como próstata, pulmones y senos paranasales (Drew R y Gallis H, 1992; Hirsch R y cols., 2012).

Estudios de Blandizzi C y cols. (1999) a nivel oral, demuestran que las concentraciones a nivel del plasma, saliva, encía sana y tejidos patológicos alcanzan sus mayores valores a las 12 horas posteriores a su administración ($0,37 \pm 0,05$ mg/L; $2,12 \pm 0,30$ mg/L; $6,30 \pm 0,68$ mg/kg; y $11,60 \pm 1,50$ mg/kg,

respectivamente); disminuyendo gradualmente posterior al máximo. No obstante, la azitromicina pudo ser detectada tanto en tejidos sanos como patológicos hasta 6,5 días después de la última dosis; revelando que se mantiene en los tejidos blanco por un tiempo considerable. Además, los niveles detectados en ambos tejidos excedían los niveles mínimos inhibitorios de la mayoría de los patógenos en periodontitis crónica. Cabe destacar que los niveles de antibiótico fueron significativamente mayores en tejidos patológicos en comparación a las encías sanas.

En otro estudio de mayor duración, se observaron concentraciones de azitromicina a nivel de los tejidos relacionados a los sacos periodontales. Su duración fue de 14 días después de su administración sistémica y se midió a través de ensayos de biodifusión en agar. Los autores determinaron que los niveles del antibiótico eran detectables aún a los 14 días y que existían mejorías clínicas y microbiológicas asociadas a su uso (Gomi K y cols., 2007).

- **Metabolismo y eliminación**

La eliminación de la azitromicina se lleva a cabo bifásicamente. En una primera instancia es inactivada a través del metabolismo hepático en el citocromo p450, donde es desmetilada. Luego, en una segunda fase, es excretada principalmente a través de la secreción biliar (Drew R y Gallis H, 1992).

Reacciones adversas al medicamento, interacciones, embarazo y resistencia

- **Reacciones adversas al medicamento (RAMs)**

Las RAMs de una terapia única de azitromicina son poco comunes; entre los más frecuentes encontramos dispepsia gástrica leve, epigastralgia (menor que la eritromicina), cefaleas y mareos (Tripathi K, 2008). Aún menos frecuentes son las reacciones alérgicas al medicamento, donde se han registrado casos de anafilaxia y angioedema. Por lo tanto, está contraindicado en pacientes alérgicos a macrólidos en general (Hirsch R y cols., 2012)

- Interacciones con otros medicamentos

Entre ellos encontramos teofilina, carbamacepina, warfarina (su efecto podría ser potenciado), terfenadina, cisaprida, digoxina y derivados de ergóticos (Tripathi, K, 2008; Hirsch R y cols., 2012).

- Embarazo

Se considera un antibiótico de categoría B (Amsden G, 1996). La dosis planteada anteriormente es segura para el tratamiento de infecciones (Sarkar M y cols., 2006; Chico R y cols., 2013), pero faltan estudios prospectivos para descartar por completo efectos negativos sobre la madre y el feto. Por lo tanto, su indicación va a depender siempre de que los beneficios sean mayores que el riesgo probable (Fischer J y cols., 2012).

- Resistencia

Otro aspecto a considerar es la creciente preocupación por la generación de resistencia hacia los antibióticos (Alvarez-Elcoro S y Enzler M, 1999). Un estudio realizado por Haffajee A y cols. (2008) a nivel oral reveló que el porcentaje de patógenos resistentes aumentó considerablemente a las 2 semanas posteriores a la administración de azitromicina en el tratamiento periodontal, manteniéndose hasta los 6 meses. No obstante, a los 12 meses de análisis, el porcentaje de especies resistentes disminuyó a niveles similares a los existentes previos a la terapia. En general, los tratamientos que requieren mayor cuidado en este ámbito son aquellos que utilizan la azitromicina en patologías crónicas; tales como asma severa, enfermedades pulmonares obstructivas crónicas y más recientemente, fibrosis quística. Esto se debe a que a mayor tiempo de exposición al medicamento, mayores niveles de resistencia se generan. Por lo tanto, el tratamiento con azitromicina en periodoncia no generaría mayor problema, pues es una dosificación de corta duración (Parnham M y cols., 2014).

Mecanismo de acción

La azitromicina es un antibiótico bacteriostático, pues inhibe la síntesis de proteínas bacterianas al unirse a la subunidad 50S del ribosoma, interfiriendo en el

crecimiento de la cadena peptídica naciente. De esta manera se impide, entre otras funciones, la multiplicación celular (Parnham M y cols., 2014). Además, logra atravesar la membrana celular eucarionte, alcanzando grandes concentraciones en fagocitos y fibroblastos (McDonald P y Pruul H, 1991). Gracias a los efectos quimiotácticos de los fagocitos, el antibiótico puede ser transportado a los tejidos inflamados (Schentag J y Ballow C, 1991).

En medicina se considera a la azitromicina como un antibiótico de amplio espectro, abarcando tanto aerobios como anaerobios. Entre los microorganismos sensibles encontramos bacterias Gram positivo tales como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*. Además, posee particularmente una fuerte actividad antibacteriana frente a Gram negativos en comparación a macrólidos anteriores como eritromicina y claritromicina; siendo efectivo ante patógenos como *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Bordetella pertussis*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Treponema pallidum*, entre otros (Hirsch R y cols., 2012). La razón de esta mejoría es la basicidad de la azitromicina, la cual le confiere una penetración rápida de las membranas externas y una entrada más efectiva a la bacteria (Dinos G, 2001).

Azitromicina y Periodontitis Crónica

Poco tiempo después de su aprobación por la FDA, Pajukanta R y cols. (1992) compararon la actividad *in vitro* de la eritromicina y la azitromicina frente a *A. actinomycetemcomitans*. Sus resultados no solo demostraron que la azitromicina presentó una mayor acción, inhibiendo el desarrollo de la bacteria comparado con la eritromicina, sino que además tenía una alta efectividad sobre ésta. La evidencia indica que todas las cepas de *A. actinomycetemcomitans* fueron inhibidas a una concentración de 2,0 µg/mL; teniendo los mejores efectos sobre el serotipo a, el cual fue inhibido en un 100% a una concentración de 1,0 µg/mL. Sin embargo, los resultados más bajos de concentración mínima inhibitoria fueron en el serotipo b a los 0,25µg/mL.

Müller H y cols. (2002) compararon la susceptibilidad de 45 cepas de *A. actinomycetemcomitans* frente a 7 antibióticos. En ellos se determinó que el rango de concentración mínima inhibitoria para la azitromicina estuvo entre 0,125 y 4 µg/mL; siendo la CMI₅₀ de 1,5 µg/mL y la CMI₉₀ de 3 µg/mL. Estos resultados difieren de los obtenidos por Pajukanta R y cols. (1992), pero hay que considerar que ambos estudios están separados por un tiempo de diez años y existen variaciones en las técnicas y metodologías empleadas.

Otro estudio, realizado por Lai P y Walters J (2013), investigaron los efectos de la azitromicina sobre *A. actinomycetemcomitans* cuando invade células epiteliales *in vitro*. En él se observó que la azitromicina logra traspasar eficazmente la membrana de las células epiteliales y se mantiene activa dentro de la misma. Además, logra mantener su efecto inhibitorio sobre *A. actinomycetemcomitans* localizado intracelularmente. Este hallazgo es importante, pues debemos considerar que el poder invasivo epitelial de *A. actinomycetemcomitans* hace que su erradicación sea más difícil y se mantenga la enfermedad. Como indican las evidencias la azitromicina se distribuye bien en el epitelio periodontal, lo que justificaría utilizarla como antibioterapia sistémica en la clínica odontológica.

Por otro lado, existe evidencia que demuestra la efectividad de la azitromicina sobre *P. gingivalis*. Maezono H y cols. (2011) compararon la actividad de este antibiótico y de eritromicina. Los resultados revelaron que los niveles de ATP intracelular de la bacteria disminuyen al utilizar azitromicina en concentraciones inferiores a la mínima inhibitoria; lo que no ocurrió con eritromicina. Además, se observó que la azitromicina lograba disminuir la densidad de la biopelícula de *P. gingivalis* de manera efectiva a estas concentraciones. Por tanto, los autores sugirieron que podría ser útil en el tratamiento de infecciones inducidas por biopelícula, tales como la periodontitis crónica.

En otro estudio, Lo Bue A y cols. (1997) contribuyeron estudiando la azitromicina a concentraciones subinhibitorias para determinar los efectos de la misma sobre la fimbria de *P. gingivalis*. Sus resultados demostraron que es capaz de bloquear la síntesis de este factor de virulencia, el cual es importante en la adherencia del

microorganismo. Los autores concluyen que estos efectos observados *in vitro* justificarían el uso del antibiótico a nivel clínico.

En cuanto a *T. forsythia*, no se reportan estudios *in vitro* que evalúen su sensibilidad frente a azitromicina. No obstante, Lakhssassi N y cols. (2005) evaluaron los efectos de su predecesor, eritromicina, realizando pruebas con discos de difusión para determinar su susceptibilidad. Los resultados obtenidos por estos autores indican que la eritromicina tiene una pobre actividad frente a *T. forsythia*.

RELEVANCIA DEL PROBLEMA

A la fecha, existe un gran número investigadores que han evaluado los efectos microbiológicos periodontales de la azitromicina sistémica como complemento al PAR a nivel de clínica odontológica. Sin embargo, debido a la diversidad de protocolos utilizados para estudiarla, los resultados han sido variables y no concluyentes respecto a la presencia y cuantificación de periodontopatógenos. Entre ellos tenemos *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*, los cuales representan unas de las bacterias más dañinas y prevalentes en la periodontitis crónica. Por lo tanto, procede realizar ensayos clínicos en la población chilena, que permitan determinar la utilidad que posee sobre la microbiota oral, pues su farmacocinética, dosificación, bajos efectos adversos y posibles propiedades antiinflamatorias la hacen un atractivo antibiótico para controlar la enfermedad periodontal.

HIPÓTESIS

El uso sistémico de azitromicina, en el tratamiento de un grupo de individuos chilenos con periodontitis crónica, disminuye la cuantificación de la microbiota total cultivable y la detección de *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans*; al ser utilizada en conjunto a la terapia periodontal no quirúrgica, comparado con placebo.

OBJETIVO GENERAL

Determinar y comparar la cuantificación de microbiota total cultivable y la presencia de *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans* en un grupo de individuos chilenos con periodontitis crónica pre y post tratamiento con azitromicina, en conjunto con la terapia periodontal no quirúrgica, comparado con placebo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Obtener muestras de biopelícula subgingival en individuos con periodontitis crónica en los sitios afectados antes y después del tratamiento con azitromicina y placebo.
2. Cuantificar la microbiota total cultivable en individuos con periodontitis crónica antes y después del tratamiento con azitromicina y placebo.
3. Comparar la microbiota total cultivable en individuos con periodontitis crónica antes y después del tratamiento con azitromicina y placebo.
4. Detectar la presencia de *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans* en individuos con periodontitis crónica antes y después del tratamiento con azitromicina y placebo.
5. Comparar la presencia de *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans* en individuos con periodontitis crónica antes y después del tratamiento con azitromicina y placebo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un ensayo clínico aleatorizado, de diseño paralelo, enmascarado y controlado mediante placebo para evaluar el efecto de azitromicina sistémica en conjunto con el tratamiento de pulido y alisado radicular (PAR).

UNIVERSO

Individuos de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile e individuos voluntarios que manifestaron su intención de participar en el estudio.

MUESTRA

El tamaño de la muestra, en individuos con periodontitis crónica, fue calculado entre los grupos considerando diferencias de al menos 1 mm en el nivel de inserción clínica en sitios ≥ 7 mm. Se asumió una desviación estándar de 0,9 mm, un poder estadístico de un 80% y un alfa de 0,05. Basado en estos cálculos, se determinó un número de 14 individuos para el grupo PAR más azitromicina y la misma cantidad para el grupo PAR más placebo.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Los individuos debieron:

- Tener al menos 35 años de edad.
- Presentar ≥ 14 dientes naturales, excluyendo los terceros molares, y ≥ 10 dientes posteriores.

Se diagnosticaron con periodontitis crónica si tenían ≥ 5 dientes con profundidad al sondaje ≥ 5 mm, pérdida de inserción clínica ≥ 3 mm, sangrado al sondaje $\geq 20\%$ de los sitios y pérdida ósea alveolar determinada radiográficamente.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Individuos que hayan recibido tratamiento periodontal previo al examen periodontal.
- Individuos con enfermedades sistémicas, estado de gravidez o lactancia.

- Individuos en terapia con anticoagulantes o antiinflamatorios no esteroideos en los seis meses anteriores al estudio.
- Individuos que recibieron terapia con antibióticos o antisépticos en los 6 meses anteriores al estudio.
- Individuos alérgicos a macrólidos en general.

IMPLEMENTACION DEL ENSAYO CLÍNICO

Luego del reclutamiento, el cual se realizó mediante un sondeo inicial (Anexo 1), los individuos fueron asignados aleatoriamente al grupo control o al grupo experimental, considerando el género, edad y si eran fumadores o no fumadores, luego del examen de las características basales.

La aleatorización fue ocultada mediante el uso de contenedores de igual apariencia, numerados secuencialmente, que contenían las dosis de azitromicina o placebo para el período comprendido del estudio. La secuencia de asignación fue generada por un investigador, quien tuvo una mínima relación con las mediciones y el tratamiento, mediante el uso de una tabla de número aleatorios. Ésta fue ocultada hasta el final del análisis de datos. El código de la aleatorización fue develado cuando todos los datos clínicos fueron recolectados después del tiempo de intervención.

Posteriormente, cada participante fue asignado al grupo experimental o al grupo control. Todos recibieron una instrucción de higiene oral y un tratamiento periodontal completo, consistente en terapia periodontal no quirúrgica con pulido y alisado radicular (PAR) por cuadrante, y una terapia de soporte periodontal cada 3 meses. Los grupos fueron:

-Grupo experimental: Posterior al tratamiento de PAR, recibieron 5 cápsulas de 500mg de azitromicina. Debieron tomar 1 cápsula diaria por 5 días, una hora antes de ingerir alimento.

-Grupo control: Posterior al tratamiento de PAR, recibieron 5 cápsulas de talco, el cual tenía el mismo sabor, textura y apariencia que el grupo experimental. Debieron tomar 1 cápsula diaria por 5 días, una hora antes de ingerir alimento.

Después de la asignación a cualquiera de los grupos, ya sea experimental o control, los individuos, tratantes, evaluador de resultado, recolector de datos, y analista de datos fueron enmascarados.

Los parámetros clínicos, incluyendo profundidad al sondaje (PS), posición de encía, pérdida de nivel de inserción clínica (NIC), sangrado al sondaje (IS) e índice de placa (IP), fueron obtenidos de todos los dientes presentes al inicio del estudio, en seis sitios periodontales por diente, sin incluir los terceros molares. Se utilizó una sonda manual de primera generación (UCN-15, Hu Friedy, Chicago, IL, USA). Se aproximó la medición al milímetro superior. Un examinador calibrado realizó todas las mediciones en los individuos. Los parámetros clínicos fueron registrados en una ficha clínica confeccionada especialmente para este fin al inicio del estudio (día 0) y a los 3 meses de seguimiento (Anexo 2).

TOMA DE MUESTRA SUBGINGIVAL

Muestras de placa subgingival fueron colectadas desde un sitio afectado periodontalmente por cada cuadrante. Estos cuatro sitios en total, debían tener una profundidad al sondaje mayor a 5 mm, pérdida de inserción clínica mayor a 3mm y sangrado al sondaje. Luego de aislar el área con tómulas de algodón, y secar suavemente con aire, los depósitos supragingivales fueron cuidadosamente removidos con curetas (HuFriedy, Chicago, IL, USA). Las muestras microbiológicas fueron obtenidas desde la parte más profunda del saco periodontal mediante la inserción de dos puntas de papel nº 30 estandarizadas y estériles (Johnson & Johnson, Tokyo, Japan) durante un tiempo de 20 s, periodo después del cual fueron retirados los conos y depositados en un vial con 1 mL de fluido de transporte prereducido (RTF) sin EDTA a 4°C. Los viales con las muestras fueron transportados a esta temperatura, y procesados antes de 2 h en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad de

Chile.

La colección de muestras de placa subgingival fue realizada el día 0 y a los 3 meses post tratamiento.

PROCESAMIENTO MICROBIOLÓGICO

Las muestras de placa subgingival fueron dispersadas y mezcladas durante 45 s agitando en un vórtex-mixer (Select BioProducts ®, Select Vortexer ™), seguido de diluciones seriadas en PBS (buffer fosfato pH 7,4) de la suspensión bacteriana mantenida en el RTF.

Los procedimientos para la detección y cuantificación de la microbiota total cultivable, *P. gingivalis* y *T. forsythia* consistieron en: alícuotas de 100 µL de la dilución apropiada (10^{-2} y 10^{-3} v/v), se sembraron en un medio agar sangre no selectivo enriquecido con hemina (0,5 µg/mL) y menadiona (0,5 µg/mL). Las placas fueron incubadas anaeróbicamente a 35°C durante 14 días en jarras herméticas con generadores de anaerobiosis (Anaerogen, Oxoid ®).

Para *A. actinomycetemcomitans*, alícuotas de 100 µL de una muestra sin diluir y diluida 10^{-1} v/v fueron sembradas en un medio agar TSVB (Slots J, 1986). Las placas fueron incubadas en capnofilia a 37°C en jarras con vela durante 24 h hasta 5 días.

IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA CLÁSICA

La identificación microbiológica por técnica clásica se realizó según el protocolo de Slots J (1986).

La microbiota total cultivable fue analizada una vez cumplido el plazo de incubación con jarra de anaerobiosis. Se observó, en primera instancia, a la lupa estereoscópica (Stemi 2000-C ®) para la detección morfológica de las colonias.

Una vez analizada fenotípicamente la microbiota total cultivable, se observó la producción de pigmentos. Luego, se realizó una prueba de emisión de fluorescencia roja por las colonias pigmentadas de negro, bajo luz UV en un visor

de onda larga (360 nm) (UVP Upland™, modelo CC-10). La ausencia de fluorescencia (colonias con coloración negra), indicó que los microorganismos pertenecen al género *Porphyromonas*. *T. forsythia*, por su parte, fue diferenciado únicamente observando características fenotípicas de las colonias a la lupa estereoscópica (Stemi 2000-C®) (Slots J, 1986; Tanner A e Izard J, 2006).

En cuanto a *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, una vez concluido el tiempo de incubación, se observó en primera instancia a la lupa estereoscópica (Stemi 2000-C®) para la detección morfológica de las colonias. Luego, se realizó la prueba de catalasa; considerándose el microorganismo en cuestión si es que fue positivo (Slots J, 1986).

RECUESTO MICROBIANO DE COLONIAS

Mediante método directo en lupa estereoscópica (Stemi 2000-C®), se realizó el recuento viable, estableciendo las Unidades Formadoras de Colonias (UFC), el que se expresó por mL de medio de transporte (RTF). La contabilización se realizó únicamente para la microbiota total cultivable obtenida de las siembras en jarras de anaerobiosis.

IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA MOLECULAR

La identificación molecular se realizó a través de la reacción en cadena de polimerasa (PCR), de acuerdo a Ashimoto A y cols. (1996).

Se extrajo ADN microbiano a través de la técnica de *boiling* (Ashimoto A y cols., 1996): Se calentaron las muestras en un *termoblock* (Thomas Scientific®) a 105-110°C durante 8 min. Luego se colocaron en un *freezer* a -20°C durante 8 min. Posteriormente, se centrifugaron las muestras a 13.500 rpm, a una temperatura de 4°C, durante 5 min (Eppendorf Centrifuge 5417R®). El sobrenadante fue utilizado para el análisis por PCR.

La preparación de los reactivos de PCR, para una muestra (0,5 µL de sobrenadante) de *P. gingivalis*, *T. forsythia* o *A. actinomycetemcomitans*, fue de 14,9 µL de H₂O milli Q, 2,5 µL de Buffer 10x, 1,0 µL de MgCl₂ 50mM, 0,5 µL de

dNTPs 10 mM, 1,0 µL de mezcla de partidores 25 µM y 0,1 µL de Taq ADN polimerasa 5 U/µL.

La amplificación se llevó a cabo en un termociclador (Axygen ® Maxyegen™), en el cual las muestras fueron sometidas a 35 ciclos para *P. gingivalis* y *T. forsythia* que incluían una denaturación inicial a 95°C por 2 min, seguidos por denaturación a 95°C por 30 s, alineamiento a 60°C por 1 min y extensión a 72°C por 3 min. Además, se contempló una desnaturalización inicial de 95°C por 3 min y una extensión final de 72°C por 10 min.

A. actinomycetemcomitans fue sometido a los mismos ciclos, variando la temperatura de alineamiento, a 55°C por 1 min. Los productos de la reacción de PCR para identificación de las especies bacterianas, fueron analizados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,0 % con Gelred™ (Biotium). El estándar de tamaño molecular utilizado fue de 100 bp (100 bp DNA Ladder, Favorgen™). El amplicón obtenido para cada aislado se determinó usando una fotografía digital de cada gel sometido a electroforesis. Los geles de agarosa fueron observados en un transiluminador UV (Gel Logic™ 112) a una longitud de onda de 302 nm. Cada gel se registró digitalmente a través del sistema de captura de imágenes Gel Logic 112 (Carestream™).

En la tabla 1 se resume la secuencia de los partidores utilizados para amplificar los genes de especie de *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans*.

Tabla 1: Secuencia de los partidores utilizados para la detección de especies.

Secuencia del partidor (5'-3')	Tamaño del amplificado (pb)	Ref.
<i>P. gingivalis</i> AGG CAG CTT GCC ATA CTG CG ACT GTT AGC AAC TAC CGA TGT	729-1.132 (404)	Ashimoto A y cols., 1996
<i>T. forsythia</i> GCG TAT GTA ACC TGC CCG CA TGC TTC AGT GTC AGT TAT ACC T	120-760 (641)	Ashimoto A y cols., 1996
<i>A. actinomycetemcomitans</i> AAA CCC ATC TCT GAG TTC TTC TTC ATG CCA ACT TGA CGT TAA AT	478-1.034 (557)	Ashimoto A y cols., 1996

pb: pares de bases; *Ref.:* referencia.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

El protocolo de este estudio fue revisado y aprobado el Comité de Ética Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile (Anexo 3). Además, cumplió según el marco legal que regula a los Ensayos Clínicos en Chile, y estuvo acorde a la Declaración Universal de los Derechos Humanos de Helsinki.

A cada individuo enrolado le fue entregado un consentimiento informado para que fuese revisado y consentido por él, guardando una copia el individuo y una el investigador (Anexo 4). A todos los individuos evaluados se les informó de su salud oral. Todos los individuos fueron instruidos para mejorar su higiene oral y recibieron un tratamiento periodontal completo y terapia de mantención periodontal cada 3 meses.

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Tabla 2: Variables Nominales.

Variable	Tipo de variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Codificación	Unidad de medida	Índice
Sangrado al Sondaje	Categórica dicotómica	Presencia de sangrado en el surco gingival o saco periodontal luego de realizar el sondaje de un sitio	Porcentaje de sitios con sangrado gingival producido hasta 15 s después de la introducción de la sonda periodontal en el surco gingival o saco periodontal del total de sitios	Sitio sin sangrado: 0 Sitio con sangrado: 1	Porcentaje	Índice de sangrado = N° sitios (+)/total sitios*100
Nivel de Placa	Categórica dicotómica	Presencia de depósitos blandos ubicados en la porción cervical del diente	Porcentaje de sitios con presencia de depósitos blandos ubicados en la porción cervical de las superficies bucal, mesial, lingual y distal del total	Sitio sin placa: 0 Sitio con placa: 1	Porcentaje	Índice de placa = N° sitios (+)/total sitios*100
Identificación <i>P. gingivalis</i> , <i>A. actinomycetemcomitans</i> y <i>T. forsythia</i>	Categórica dicotómica	Presencia de microorganismos en un individuo	Porcentaje de individuos con presencia de cada periodontopatógeno	Ausencia: 0 Presencia: 1	Porcentaje	-

Tabla 3: Variables Numéricas.

Variable	Tipo de variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Codificación	Unidad de medida
Profundidad al sondaje	Cuantitativa continua	Distancia desde el margen gingival al punto de mayor penetración apical de la sonda en cada sitio examinado	Distancia en milímetro desde el margen gingival al punto de mayor penetración apical de la sonda en cada sitio examinado	Valor numérico	Milímetros
Nivel de inserción clínica	Cuantitativa continua	Distancia desde la unión amelocementaria al punto de mayor penetración apical de la sonda en cada sitio examinado	Registro en mm, mediante el cálculo aritmético: Profundidad de Sondaje - Posición de la encía	Valor numérico	Milímetros
Recuento de microbiota total de cultivable	Cuantitativa continua	Cantidad de anaerobios totales cultivables de los sacos periodontales seleccionados	Número total de colonias anaeróbicas cultivables de los sacos periodontales seleccionados por mL de muestra microbiológica obtenida.	Valor numérico	UFC/mL

ANÁLISIS DE RESULTADOS Y MÉTODOS ESTADÍSTICOS

El análisis de datos se realizó según intención de tratar.

Se consideró al individuo como unidad de análisis.

Las variables cuantitativas continuas se reportaron calculando la media aritmética y desviación estándar. Estos promedios fueron comparados dentro de los grupos y entre los grupos en los diferentes puntos de tiempo (al inicio y a los 3 meses de seguimiento). Además, se calculó la variación de las variables clínicas (medición final - medición inicial).

Se utilizó el test de Shapiro Wilk para determinar la normalidad de las variables cuantitativas continuas. El análisis de las diferencias inter-grupales fue realizado con el test de U- Mann Whitney y el test exacto de Fisher. El análisis de las diferencias intra-grupo fue realizado con el test de Mc Nemar y prueba de rango con signo de Wilcoxon para muestras pareadas. Se consideró $p = 0,05$ para considerar significancia estadística, y un intervalo de confianza de un 95%.

Para el análisis, se utilizó Microsoft Excel® 2011 y el paquete estadístico Stata® 11 para Mac (StataCorp, College Station, TX).

CONFLICTOS DE INTERÉS

El investigador principal y cualquiera de los otros investigadores de este estudio no tienen conflictos de interés. Ninguna compañía farmacéutica u otra entidad recibirán beneficios directos o importantes si los resultados de este estudio favorecen el uso de azitromicina.

RESULTADOS

Retención de individuos, efectos adversos medicamentosos y adherencia al tratamiento.

El reclutamiento de individuos fue realizado entre abril de 2014 y junio de 2015. Durante ese periodo se evaluaron 69 individuos. De estos, 41 no cumplieron los criterios de inclusión y 1 de ellos fue excluido del estudio por no presentarse 2 veces a la cita inicial agendada (Figura 1).

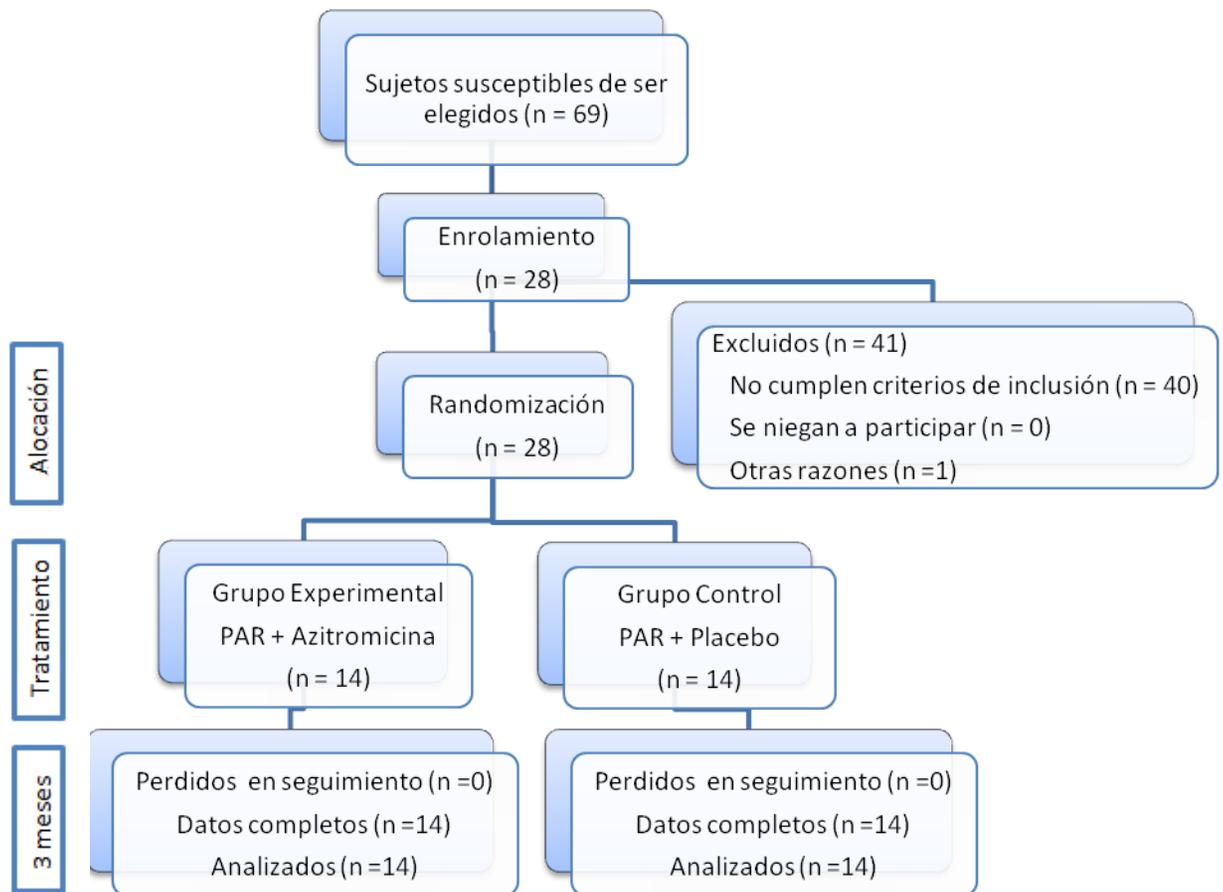


Figura 1: Flujo grama del diseño del estudio

PAR: Pulido y alisado radicular

En el grupo experimental, se asignaron 14 individuos de manera aleatoria. De estos, 8 eran hombres y 6 eran mujeres. Los rangos etarios fluctuaron entre los 38

y 70 años de edad, con un promedio de $52,14 \pm 8,16$. En cuanto a fumadores de tabaco, 6 individuos eran fumadores y 8 no fumadores.

En el grupo control, se asignaron 14 individuos de manera aleatoria. De estos, 8 eran hombres y 6 eran mujeres. Los rangos etarios fluctuaron entre los 37 y 60 años de edad, con un promedio de $50,35 \pm 7,44$. En cuanto a fumadores de tabaco, 3 individuos eran fumadores y 11 no fumadores.

En el tiempo basal, las variables sociodemográficas (sexo, fumadores o no fumadores y edad) entre ambos grupos no presentaron diferencias significativas. Por lo tanto, los individuos fueron considerados estadísticamente como similares (Tabla 4).

Tabla 4: Antecedentes sociodemográficos.

Variable	Grupo Control (n=14)	Grupo Experimental (n=14)	Valor p
Sexo (mujer/hombre)	6/8	6/8	1,000 ^a
Fumadores	6	3	0,420 ^a
Edad \pm DE (rango)	$50,35 \pm 7,44$ (37 – 60)	$52,14 \pm 8,16$ (38 – 70)	0,800 ^b

DE: Desviación estándar; ^a: Test Exacto de Fisher; ^b: Test U- Mann Whitney.

Ningún individuo abandonó el estudio, cumpliendo con las visitas clínicas basal y control de 3 meses post tratamiento. Tras el monitoreo telefónico, se pesquisaron reacciones adversas a medicamentos en algunos individuos del grupo experimental: Mal sabor (n = 1) y malestar gastrointestinal (n = 2). En el grupo control, un individuo refirió malestar gastrointestinal (n = 1). Sin embargo, el 100% de los individuos cumplió con la dosis establecida del medicamento, ya sea placebo o antibiótico.

Parámetros clínicos

Se destaca que ambos grupos de individuos fueron considerados de similares características desde el inicio el estudio, pues no existieron diferencias estadísticamente significativas inter-grupales a nivel basal en ningún parámetro

clínico. La totalidad de los resultados obtenidos, tanto basales como 3 meses, se resumen en la tabla 5.

Tabla 5: Promedio y variación de los parámetros clínicos basales y de 3 meses.

Variable	Tiempo	Grupo de tratamiento				Valor <i>p</i> inter-grupal	
		Control (n = 14)		Experimental (n = 14)		Media	Δ
		Media ± DE	Δ	Media ± DE	Δ		
NIC	Basal	4,38 ± 0,97	-0,52	4,45 ± 1,42	-0,52	0,8357	0,5041
	3 meses	3,82 ± 0,73*		3,91 ± 1,46*			
PS	Basal	2,90 ± 0,42	-0,65	3,03 ± 0,88	-0,70	0,9265	0,9816
	3 meses	2,22 ± 0,32*		2,33 ± 0,54*			
IP	Basal	57,06 ± 19,70	-31,60	54,11 ± 10,30	-26,00	0,2322	0,5812
	3 meses	25,43 ± 14,40*		28,12 ± 12,80*			
IS	Basal	49,12 ± 12,20	-10,15	56,27 ± 10,50	-17,32	0,1823	0,9085
	3 meses	38,97 ± 5,76*		38,95 ± 12,30*			
Dientes	Basal	23,21 ± 3,53	-	23,57 ± 3,58	-	0,8349	-

DE: Desviación estándar; Δ: Variación; NIC: Nivel de inserción clínica; PS: Profundidad al sondaje; IP: Índice de placa; IS: Índice de sangrado. Valor *p* inter-grupal obtenido con Test de Mann – Whitney. *Disminución estadísticamente significativa intra-grupal basal – 3 meses, obtenida a través del Test de Wilcoxon.

Para el grupo control, al tiempo basal, el nivel de inserción clínica (NIC) fue de $4,38 \pm 0,97$ mm, la profundidad al sondaje (PS) $2,90 \pm 0,42$ mm, el índice de placa (IP) $57,06 \pm 19,70$, índice de sangrado (IS) $49,12 \pm 12,20$ y el número de dientes $23,21 \pm 3,53$.

Para el grupo experimental, al tiempo basal, NIC fue de $4,45 \pm 1,42$ mm, PS fue $3,03 \pm 0,88$ mm, IP fue de $54,11 \pm 10,30$, IS fue de $56,27 \pm 10,50$ y el número de dientes $23,57 \pm 3,58$.

Por otro lado, al comparar de manera inter-grupal el promedio de los parámetros estudiados a los 3 meses, no hubo diferencias estadísticamente significativas.

Para el grupo control, a los 3 meses, el NIC fue de $3,82 \pm 0,73$ mm, la PS $2,22 \pm 0,32$ mm, el IP $25,43 \pm 14,40$, el IS $38,97 \pm 5,76$ y el número de dientes $23,21 \pm 3,53$ (tabla 5).

Para el grupo experimental, a los 3 meses, el NIC fue de $3,91 \pm 1,46$ mm, la PS $2,33 \pm 0,54$ mm, el IP $28,12 \pm 12,80$, el IS $38,95 \pm 12,30$ y el número de dientes $23,57 \pm 3,58$.

En cuanto a la variación del promedio de los parámetros clínicos estudiados, entre la visita basal y los 3 meses, tampoco hubo una diferencia estadísticamente significativa al comparar los grupos control y experimental.

Esto es, para el grupo control, una variación del nivel de inserción clínica (Δ NIC) de -0,52; una variación de profundidad de sondaje (Δ PS) de -0,65; una variación del índice de placa (Δ IP) de -31,60; y una variación del índice de sangrado (Δ IS) de -10,20.

Para el grupo experimental, el Δ NIC fue de -0,52; Δ PS fue de -0,70; Δ IP fue de -26,00; y el Δ IS fue de -17,30.

Por otra parte, al análisis intra-grupal, se observó que en el grupo control hubo una mejora estadísticamente significativa de los promedios de los parámetros clínicos estudiados; comparando la visita basal y el control de 3 meses. El NIC mejoró de $4,38 \pm 0,97$ mm basal a $3,82 \pm 0,73$ mm a los 3 meses; disminuyendo 0,52mm (valor $p = 0,002$). La PS mejoró de $2,90 \pm 0,42$ mm basal a $2,22 \pm 0,32$ mm a los 3 meses; disminuyendo 0,65 mm (valor $p = 0,001$). El IP mejoró de $57,06 \pm 19,70$ basal a $25,43 \pm 14,40$ a los 3 meses; disminuyendo 31,6 (valor $p = 0,001$). Finalmente, el IS mejoró de $49,12 \pm 12,20$ basal a $38,97 \pm 5,76$ a 3 meses, disminuyendo 10,20 (valor $p = 0,0012$).

En el grupo experimental, también se observó una mejora estadísticamente significativa de los promedios de los parámetros clínicos estudiados; comparando la visita basal y el control de 3 meses: El NIC mejoró de $4,45 \pm 1,42$ mm basal a $3,91 \pm 1,46$ mm a los 3 meses; disminuyendo 0,52mm (valor $p = 0,0021$). La PS

mejoró de $3,03 \pm 0,88$ mm basal a $2,33 \pm 0,54$ mm a los 3 meses; disminuyendo $0,70$ mm (valor $p = 0,001$). El IP mejoró de $54,11 \pm 10,30$ basal a $28,12 \pm 12,80$ a los 3 meses; disminuyendo $26,00$ (valor $p = 0,0012$). Finalmente, el IS mejoró de $56,27 \pm 10,50$ basal a $38,95 \pm 12,30$ a los 3 meses; disminuyendo $17,30$ (valor $p = 0,0157$).

Parámetros microbiológicos

A) Recuento de Microbiota total cultivable:

En la tabla 6 se resume la media y variación de la microbiota total cultivable, medida en UFC/mL, en el tiempo basal y 3 meses.

Tabla 6: Análisis inter-grupal de la microbiota total cultivable basal y a los 3 meses post tratamiento.

Variable	Tiempo	Grupo de tratamiento				Valor p inter-grupal	
		Control (n = 14)		Experimental (n = 14)		Media	Δ
		Media \pm DE	$\Delta \pm$ DE	Media \pm DE	$\Delta \pm$ DE		
MTC (10^5 UFC /mL)	Basal	$22,52 \pm 23,90$	$-19,90 \pm 23,65$	$14,83 \pm 13,22$	$-7,37 \pm 16,06$	0,5503	0,1752
	3 meses	$2,60 \pm 2,53^*$		$7,45 \pm 14,5^*$		0,7645	

*MTC: Microbiota total cultivable; UFC: Unidades formadoras de colonias; DE: Desviación estándar. Se utiliza el test de Mann – Whitney para determinar el valor p inter-grupal. * Disminución estadísticamente significativa intra-grupal basal – 3 meses, obtenida a través del Test de Wilcoxon.*

A nivel basal, no se observaron diferencias estadísticamente significativas inter-grupales en el promedio de la microbiota total cultivable (MTC) (valor $p = 0,5503$); siendo $22,52 \pm 23,90 \times 10^5$ UFC/mL para el grupo control y $14,83 \pm 13,22 \times 10^5$ UFC/mL para el grupo experimental.

Tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas al comparar este valor en ambos grupos a los 3 meses (valor $p = 0,7645$); siendo de $2,60 \pm 2,53 \times 10^5$ UFC/mL para el grupo control y $7,45 \pm 16,06 \times 10^5$ UFC/mL para el grupo experimental.

De manera similar ocurre al comparar las variaciones entre grupos control y experimental (valor $p = 0,1752$); siendo de $-19,90 \pm 23,65 \times 10^5$ UFC/mL y $-7,37 \pm 16,06 \times 10^5$ UFC/mL, respectivamente.

En cuanto al análisis intra-grupal, al comparar en el grupo control la MTC basal y de 3 meses, se observa una disminución estadísticamente significativa (valor $p = 0,0029$). De manera similar ocurre al analizar el grupo experimental en ambos tiempos de evaluación (valor $p = 0,0006$).

B) Prevalencia de *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans*

No hubo desarrollo en cultivo de *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans* en ninguno de los tiempos evaluados. En cuanto a *P. gingivalis*, no fue posible diferenciar las colonias de manera fenotípica respecto a otras especies pigmentadas de negro. Por lo tanto, a continuación se presentan los resultados obtenidos a partir de técnica molecular. A modo de ejemplo, en la Figura 2 se exponen algunos resultados obtenidos mediante electroforesis.

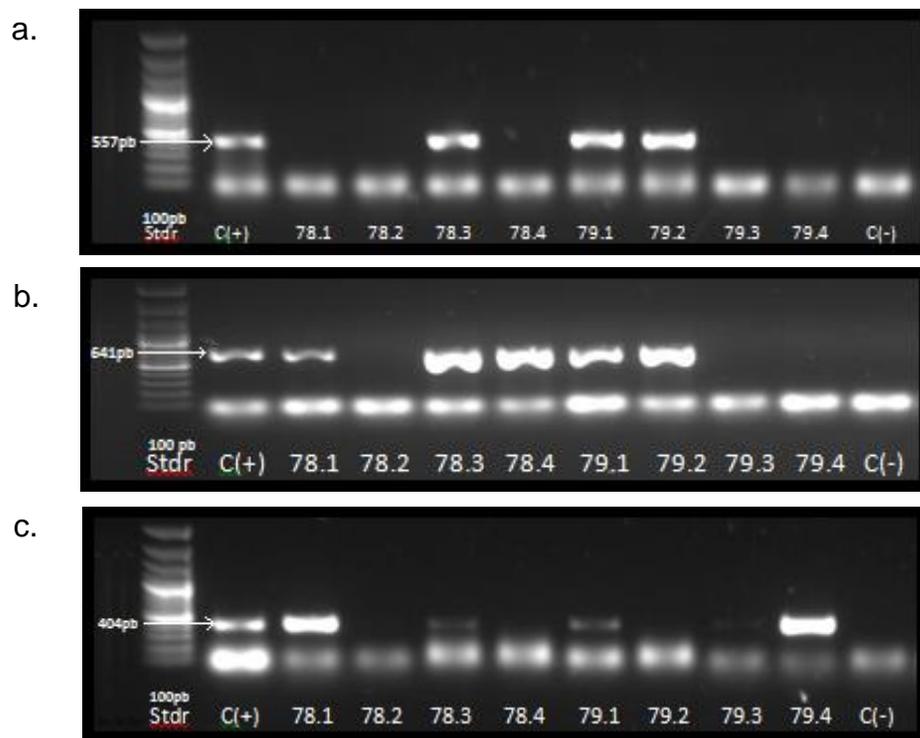


Figura 2: Geles de electroforesis de los individuos 78 y 79, control de 3 meses. *a:* *A. actinomycetemcomitans*; *b:* *T. forsythia*; *c:* *P. gingivalis*; *Std:* Estándar de peso molecular; *pb:* pares de bases; *C(+):* control positivo; *C(-):* control negativo.

En la tabla 7 se resume el análisis inter-grupal de la prevalencia de *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans* en los tiempos basal y 3 meses; para los grupos control y experimental.

No hubo diferencias inter-grupales estadísticamente significativas en el tiempo basal para *P. gingivalis*; siendo de un 92,86% para el grupo control y un 78,57% para el grupo experimental (valor $p = 0,298$). De manera similar ocurre con *T. forsythia*; cuya prevalencia es de 100% tanto para placebo como azitromicina (valor $p = 1,000$). *A. actinomycetemcomitans*, por su parte, tampoco presenta diferencias inter-grupales basales; siendo su prevalencia de 14,29% en el grupo control y 28,57% en el grupo experimental (valor $p = 0,648$).

Al análisis de 3 meses, no hubo diferencias significativas inter-grupales en la prevalencia de *P. gingivalis*; siendo de un 85,71% para el grupo control y un 57,14% para el grupo experimental (valor $p = 0,209$). Lo mismo ocurre con *T. forsythia*; cuya prevalencia es de 57,14% para el grupo control y 50% para el grupo experimental (valor $p = 1,000$). *A. actinomycetemcomitans*, por su parte, tampoco presenta diferencias inter-grupales basales; siendo su prevalencia de 14,29% en el grupo control y 7,14% en el grupo experimental (valor $p = 1,000$).

Tabla 7: Comparación inter-grupal de la frecuencia de detección por paciente de *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans*.

Tiempo	<i>Pg</i> (%)			<i>Tf</i> (%)			<i>Aa</i> (%)		
	Control	Exp.	valor p	Control	Exp.	valor p	Control	Exp.	valor p
Basal	92,86	78,57	0,298	100,00	100,00	1,000	14,29	28,57	0,648
3 meses	85,71	57,14	0,209	57,14*	50*	1,000	14,29	7,14	1,000

Exp.: Experimental; *Pg:* *P. gingivalis*, *Tf:* *T. forsythia* y *Aa:* *A. actinomycetemcomitans*. El valor p inter-grupal es el resultado de la aplicación del Test exacto de Fisher. *valor p intra-grupal según Test de Mc Nemar.

Para el análisis intra-grupal, las figuras 3 y 4 resumen la variación de la prevalencia de *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans* en el tiempo de los grupos control y experimental, respectivamente.

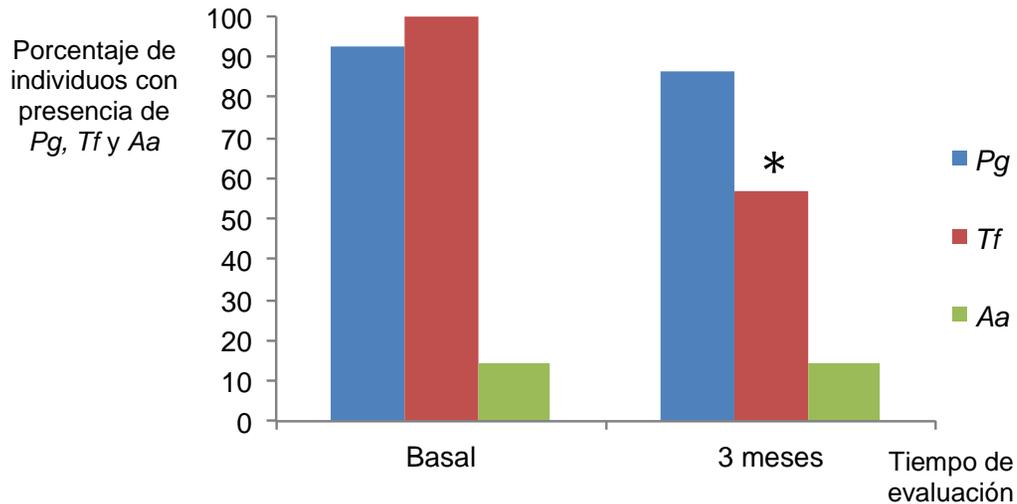


Figura 3: Prevalencia en el tiempo de *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans* en el grupo control.

Pg: *P. gingivalis*, *Tf*: *T. forsythia* y *Aa*: *A. actinomycetemcomitans*. *valor $p = 0,03$ según Test de Mc Nemar.

En el grupo control, existió una disminución de la prevalencia de *P. gingivalis* de un 7,15% a los 3 meses, respecto al tiempo basal. Sin embargo, esta disminución no fue estadísticamente significativa (valor $p = 1,000$).

A. actinomycetemcomitans, por su parte, no sufre ninguna modificación en su prevalencia en el grupo control, manteniéndose en 14,29% (valor $p = 1,000$).

En cambio, *T. forsythia* sufre una disminución de su prevalencia de un 42,86% a los 3 meses, respecto al tiempo basal. Esta disminución es estadísticamente significativa (valor $p = 0,03$).

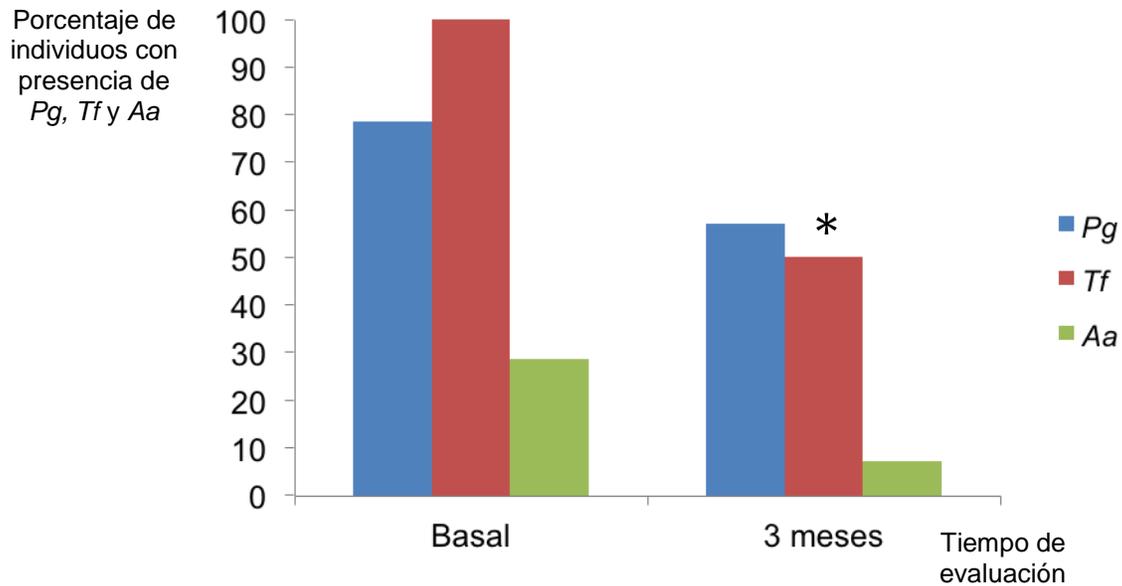


Figura 4: Prevalencia en el tiempo de *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans* en el grupo experimental.

Pg: *P. gingivalis*, *Tf*: *T. forsythia* y *Aa*: *A. actinomycetemcomitans*. * valor $p = 0,0002$ según Test de Mc Nemar.

En el análisis intra-grupal del grupo experimental, existe una disminución de la prevalencia de *P. gingivalis* de un 21,43% a los 3 meses, respecto al tiempo basal. Sin embargo, esta disminución no es estadísticamente significativa (valor $p = 0,3438$).

A. actinomycetemcomitans, por su parte, disminuye su prevalencia en un 21,43% en el grupo experimental a los 3 meses, respecto al tiempo basal. No obstante, esta mejora no es estadísticamente significativa (valor $p = 0,4531$).

En cuanto a *T. forsythia*, se observa una disminución de su prevalencia de un 50% a los 3 meses, respecto al tiempo basal. Esta disminución es estadísticamente significativa (valor $p = 0,0002$).

DISCUSIÓN

En el ensayo clínico, luego del tratamiento realizado, se investigó la existencia de los efectos adicionales de la azitromicina sobre el pulido y alisado radicular (PAR). Los individuos aleatorizados en los grupos experimental y control, fueron considerados estadísticamente similares en parámetros sociodemográficos, clínicos y microbiológicos al comienzo del estudio.

Al control de 3 meses, establecieron que la azitromicina sistémica, como complemento a la terapia periodontal no quirúrgica, es igual de efectiva que el PAR por sí solo en mejorar los parámetros clínicos (nivel de inserción clínica, profundidad al sondaje, índice de placa e índice de sangrado) y microbiológicos (microbiota total cultivable y prevalencia de *T. forsythia*).

Por lo tanto, si consideramos los resultados en su totalidad, el PAR fue efectivo para tratar la periodontitis crónica de los individuos evaluados de ambos grupos. Esto es congruente con la evidencia actual, que establece la terapia periodontal no quirúrgica como el tratamiento *gold standard* (American Academy of Periodontology, 2000a; American Academy of Periodontology, 2000b).

Es importante destacar que las técnicas microbiológicas clásicas, no fueron efectivas para detectar *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans*, ya que no hubo desarrollo de estos en sus respectivos medios de cultivo. En cuanto a *P. gingivalis*, la variabilidad fenotípica de las colonias pigmentadas de negro con fluorescencia negativa hizo compleja la diferenciación respecto a otras especies de similares características. Por esta razón, solo fueron incluidas en este ensayo las identificaciones realizadas a través de técnicas moleculares (PCR).

Al igual que este trabajo de investigación, diversos autores han realizado ensayos clínicos de individuos con periodontitis crónica, tratándolos con azitromicina sistémica como complemento a la terapia periodontal no quirúrgica; estudiando parámetros clínicos y microbiológicos (presencia y cuantificación de periodontopatógenos). Todos ellos son aleatorios, controlados con placebo,

paralelos, ciegos o doble ciegos (Mascarenhas P y col., 2005; Haffajee A y cols., 2007).

En cuanto a parámetros microbiológicos, al analizar los ensayos clínicos que reportan diferencias significativas entre grupo experimental y control, algunos autores plantean que la azitromicina aporta efectos adicionales. (Sefton A y cols., 1996; Oteo A y cols., 2010)

Entre ellos, Sefton A y cols. (1996), realizaron la primera investigación microbiológica, donde evaluó, a través de técnicas clásicas, la presencia y cuantificación de anaerobios pigmentados de negro y espiroquetas a las 0, 2, 3, 6, 10 y 22 semanas posteriores al tratamiento. En él, hubo diferencias significativas entre grupos experimental y control en el recuento total promedio de microorganismos (\log_{10} UFC) a las 3 (valor $p < 0,01$) y 6 semanas (valor $p < 0,05$). Sin embargo, se mantuvo relativamente constante en las semanas 10 y 22 para ambos grupos. El recuento total de pigmentados de negro se redujo significativamente en las semanas 3 y 6 (valor $p = 0,01$) en el grupo tratado con azitromicina comparado con el grupo tratado con placebo. Además, el recuento de *P. gingivalis* fue significativamente menor en las semanas 3, 6 y 10 en el grupo experimental en comparación al tratado con placebo (valor $p < 0,05$). Por otro lado, no se pudo establecer los efectos *in vivo* de azitromicina sobre *A. actinomycetemcomitans*, ya que solo fue detectado en 6 individuos, imposibilitando cualquier tipo de comparación estadística.

Estos resultados difieren de los presentados en nuestro estudio, probablemente debido a que los tiempos de evaluación determinados que tuvieron diferencias estadísticamente significativas entre grupos, fueron en tiempos de evaluación más cortos (3, 6 y 10 semanas). En cambio, el presente ensayo clínico comparó ambos grupos a los 3 meses (12 semanas). Por lo tanto, podría sugerirse que los cambios microbiológicos de la azitromicina sistémica son más evidentes en el corto plazo.

Haffajee A y cols. (2008), mediante la técnica de Checkerboard DNA para 40 periodontopatógenos, determinaron que existe una diferencia significativa en el recuento de bacterias del complejo rojo y algunas especies del complejo naranja a las 2 semanas en el grupo de tratamiento con azitromicina en comparación al control. La disminución del recuento de *T. forsythia* fue significativa en el grupo de azitromicina a través del tiempo (valor $p < 0,05$). Esto coincide con nuestros resultados, pues al análisis intra-grupal, se observó una disminución estadísticamente significativa (valor $p < 0,0002$) de un 50% para *T. forsythia* en el grupo experimental; a pesar de que las técnicas moleculares empleadas son diferentes en ambos estudios.

Otro estudio, realizado por Oteo y cols. (2010), determinó como criterio de inclusión que todos los individuos presentaran *P. gingivalis* al estado basal. Los resultados indicaron que el grupo experimental disminuyó la frecuencia de detección de *P. gingivalis* significativamente después del mes 1 (valor $p = 0,001$), 3 (valor $p = 0,003$) y 6 (valor $p = 0,01$); siendo a los 6 meses de 42,9%. En nuestro caso, al análisis intra-grupal del grupo experimental, se observó una disminución, siendo de un 57,14% a los 3 meses (valor $p = 0,34$). Probablemente, el criterio de inclusión determinado por estos autores es fundamental para comprender la diferencia entre los estudios, pues solo el 78,57% de nuestros individuos presentaban *P. gingivalis* al estado basal.

Por otro lado, los mismos autores indicaron que en el grupo control no hubo una reducción significativa de *P. gingivalis* al mes 3 (valor $p > 0,05$); con una prevalencia de 80%. Esto es similar a nuestros resultados, pues la prevalencia a los 3 meses fue de 85,71% en el grupo control; siendo no significativo respecto al estado basal (valor $p = 1,000$).

En el mismo estudio, *T. forsythia*, por su parte, obtuvo un 40% de frecuencia de detección basal en ambos grupos; difiriendo de nuestros resultados, pues fue detectado en ambos grupos con una frecuencia del 100%. Luego, posterior al tratamiento, no fue detectado en el grupo experimental al mes 1 ($p = 0,004$), 3 ($p = 0,010$) y 6 ($p = 0,006$). En el grupo control, los cambios no fueron significativos.

Nuevamente estos resultados no son congruentes con el presente ensayo, pues en los grupos placebo y azitromicina fue detectado en un 57,14% y 50%, respectivamente. No obstante, las reducciones fueron estadísticamente significativas para ambos grupos al análisis intra-grupal.

Finalmente, estos autores determinaron que *A. actinomycetemcomitans* tampoco fue detectado en los individuos después de los meses 1 y 6; siendo significativa la diferencia entre el grupo experimental respecto al placebo a los 6 meses. En cambio, en nuestro estudio no hubo diferencias estadísticamente significativas entre grupos en la prevalencia de *A. actinomycetemcomitans* en un tiempo de evaluación de 3 meses.

Es importante destacar que estos autores no utilizaron técnicas moleculares para detectar periodontopatógenos, sino que técnicas microbiológicas clásicas. Por lo tanto, se complejiza la comparación de resultados entre estudios, pues el análisis por PCR es más sensible en la identificación de microorganismos.

Martande y cols. (2014), como criterio de inclusión, determinaron que la totalidad de individuos presentaran *A. actinomycetemcomitans* al estado basal. Se seleccionaron 35 individuos por grupo (experimental y control). De los 35 individuos tratados con azitromicina, *A. actinomycetemcomitans* no pudo ser detectado en 33, 32 y 30 individuos a los 3, 6 y 12 meses, respectivamente. En cambio, en el grupo control, solo 12, 8 y 7 individuos resultaron negativo a los 3, 6 y 12 meses, respectivamente. En cambio, en nuestro estudio, solo 4 individuos presentaron *A. actinomycetemcomitans* al estado basal en el grupo experimental, y a los 3 meses fue detectado en 2 de ellos. En el grupo control fue detectado solo en 2 individuos al estado basal, manteniéndose esta cantidad a los 3 meses. Claramente el criterio de inclusión establecido por estos autores es determinante para hacer incompatible la comparación entre ensayos.

Por otro lado, al comparar los ensayos clínicos que reportan similares resultados entre grupo experimental y control; Gomi K y cols. (2007) evaluaron la prevalencia de *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans* a través de un análisis

molecular por PCR. Dentro de sus resultados, plantean que en el grupo experimental, *P. gingivalis* y *T. forsythia* no pudieron ser detectados en las semanas 2, 5 y 13; pero se detectaron nuevamente a la semana 25. *A. actinomycetemcomitans* no pudo ser detectado durante todo el estudio desde la semana 2. Sin embargo, ninguno de los valores de prevalencia planteados por este autor tuvo diferencias estadísticamente significativas inter-grupales (valor $p < 0,05$); lo que coincide con nuestro estudio.

En otra investigación, Yashima A y cols. (2009) compararon 3 grupos: PAR de boca completa con azitromicina sistémica, PAR de boca parcial con azitromicina y PAR más placebo. Los resultados indicaron que los recuentos totales de bacterias, a los 12 meses, fueron similares a los basales en todos los grupos. Además, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre grupos en cuanto al total de bacterias a lo largo de todo el ensayo (meses 1, 3, 6, 9 y 12). Estos resultados coinciden con nuestro estudio, pues no hubo diferencias al análisis inter-grupal a los 3 meses; atribuyendo la disminución de la microbiota total cultivable solo al PAR realizado en ambos grupos.

En cuanto al análisis molecular de PCR, estos autores refieren que *P. gingivalis* no pudo ser detectado hasta los 9 meses en los grupos de terapia de boca completa y parcial con azitromicina. En el grupo PAR boca completa con azitromicina, *A. actinomycetemcomitans* pudo ser detectado a los 3 meses. No obstante, es importante destacar que para esta evaluación de prevalencia, los autores no indican que estos resultados tengan significancia estadística. Esto coincide con nuestros resultados.

Al analizar el grupo control, estos autores reportan que *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans* fueron detectados al mes. No obstante, *T. forsythia* pudo ser detectado al mes en los tres grupos de tratamiento analizados. Esto coincide con nuestros resultados, pues en el grupo control, *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans* fueron detectados a los 3 meses. Sin embargo, la disminución de la prevalencia para *T. forsythia* fue estadísticamente significativa tanto para el grupo experimental (valor $p = 0,0002$) como el grupo control (valor p

= 0,03) a los 3 meses respecto a basal; a diferencia del estudio de estos autores, donde no hubo mejoras significativas de prevalencia para ningún periodontopatógeno.

Otra investigación, realizada por Sampaio E y cols. (2011), evaluaron la presencia y cantidad de 40 especies microbianas orales a través de Checkerboard DNA en 40 individuos. Sus resultados no arrojan diferencias significativas en prevalencia y recuento entre grupos experimental y control para ningún periodontopatógeno en ningún tiempo de evaluación; lo que es concordante con nuestros resultados.

En otro ensayo, realizado por Han B y cols. (2012), ambos grupos tuvieron un porcentaje similar de periodontopatógenos en todos los tiempos. No hubo diferencias significativas inter-grupales para las bacterias *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* ni *T. forsythia*. Además, refieren disminuciones estadísticamente significativas intra-grupales de *T. forsythia* al final del estudio comparado con basal, tanto en el grupo experimental como en control (valor $p < 0,05$). Ambos resultados congruentes con nuestra investigación.

Sin embargo, estos autores indican que la microbiota total cultivable no disminuyó significativamente en ambos grupos a los 3 meses. Esto difiere de nuestra investigación, pues al comparar tiempo basal y 3 meses, hubo una disminución significativa tanto en el grupo experimental (valor $p = 0,0006$) como en control (valor $p = 0,0029$).

En este mismo estudio, la baja prevalencia de *A. actinomycetemcomitans* impidió su evaluación estadística. Por tanto, no podemos comparar este dato con el obtenido en nuestra investigación.

Otra investigación, realizada por Hincapié J y cols. (2014), evaluaron a través de PCR la prevalencia de periodontopatógenos en 105 individuos con diabetes tipo I y II. Determinaron que la detección de *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans* fue estadísticamente similar al comparar grupos azitromicina y placebo a los 3, 6 y 9 meses. Estos resultados son congruentes con el presente estudio.

En este mismo estudio, intra-grupalmente, *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans* sufrieron una disminución estadísticamente significativa en ambos grupos a los 3 meses (valor $p < 0,05$), excepto *T. forsythia*. Esta última tenía mayores cantidades a los 9 meses en PAR que en los otros grupos. Además, *T. forsythia* tendía a aumentar a los 3 meses en todos los grupos. Las otras especies aumentaban progresivamente hasta los 9 meses. Los resultados obtenidos en nuestra investigación fueron opuestos, pues *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans* no tuvieron disminuciones intra-grupales significativas en su prevalencia para ninguno de los dos grupos. *T. forsythia*, por su parte, sí tuvo disminuciones significativas en ambos grupos al análisis intra-grupal.

En cuanto a parámetros clínicos, algunos autores determinan que al combinar PAR con azitromicina sistémica existen mejoras estadísticamente significativas en relación a PAR por sí solo. En el nivel de inserción clínica (NIC), por ejemplo, se ha establecido que el grupo experimental presenta una mejora estadísticamente significativa mayor en comparación al grupo control (Mascarenhas P y cols., 2005; Haffajee A y cols., 2007; Gomi K y cols., 2007; Yashima A y cols., 2009; Oteo A y cols., 2010; Martande S y cols., 2014). Esto difiere con nuestros resultados, pues si bien en ambos mejoró el NIC, no hubo diferencias significativas entre ellos.

En la profundidad al sondaje (PS), algunos autores concluyen que la reducción promedio de sacos periodontales en el grupo experimental es estadísticamente mayor que en el grupo control (Gomi K y cols., 2007; Yashima A y cols., 2009; Oteo A y cols., 2010; Martande S y cols., 2014). Otros autores categorizan los sacos periodontales según profundidad, determinando diferencias significativas en sacos pequeños ($<4\text{mm}$), moderados (4 – 5mm) y profundos ($\geq 6\text{mm}$); siendo el grupo experimental estadísticamente más efectivo que el grupo control (Smith S y cols., 2002; Mascarenhas P y cols., 2005). No obstante, Haffajee A y cols. (2007) indicaron que esta diferencia significativa de la azitromicina respecto al grupo control se da principalmente en sacos periodontales profundos.

Este punto es fundamental para comprender las diferencias entre autores. La evidencia es clara al establecer los efectos adicionales de las terapias antibióticas

en sacos profundos, pues son los que mejoran en mayor medida posterior al tratamiento. Si tomamos en cuenta que en nuestra evaluación consideramos un promedio de todos los sitios (tanto leves, moderados y profundos), el valor no es significativo entre grupos. Sin embargo, en ambas las terapias fueron efectivas en reducir PS.

En el índice de sangrado, por su parte, algunos autores refieren que hubo una disminución mayor en el grupo experimental en comparación al grupo control; siendo esta diferencia estadísticamente significativa (Mascarenhas P y cols., 2005; Haffajee A y cols., 2007; Gomi K y cols., 2007; Yashima A y cols., 2009; Oteo A y cols., 2010; Martande S y cols., 2014). Esto difiere de nuestros resultados inter-grupales, pues ambos grupos mejoran el índice de manera similar.

El índice de placa tuvo mejoras significativas intra-grupales (Plaza JC y cols., 2003; Yashima A y cols., 2009), lo cual es congruente con nuestros resultados.

No obstante, autores como Sampaio E y cols. (2011), Han B y cols. (2012) e Hincapié y cols. (2014) plantean, al igual que nuestro estudio, que no existen efectos adicionales de la azitromicina a la terapia periodontal no quirúrgica. Si bien los efectos intra-grupales son positivos y estadísticamente significativos en llevar al individuo a un estado de salud, no puede apreciarse dicha diferencia en ningún parámetro periodontal clínico cuando se realizan comparaciones inter-grupales.

Es importante destacar que, nuestro estudio, junto con los analizados anteriormente, indican que existe un excelente cumplimiento de las dosis de azitromicina. Esto es corroborado al evaluar con encuestas y recuento de píldoras a los individuos, durante y posterior al estudio. La razón está en que este macrólido tiene menores efectos adversos y la dosis única diaria por tres a cinco días es cómoda que otras terapias antibióticas (Haffajee A y cols., 2007). La adherencia al tratamiento es fundamental para que el estudio sea útil al momento de evaluar los efectos antibióticos sobre parámetros periodontales y microbiológicos.

Existen diversas dificultades para establecer comparaciones entre ensayos clínicos. Dentro de ellas se encuentra número de individuos reclutados, el cual varió de 28 a 105 en los estudios anteriormente citados. Si bien entre mayor sea el número de individuos existe mayor potencia estadística, la cantidad analizada en el presente estudio fue suficiente para alcanzar los objetivos y contrastar los resultados con la literatura mundial.

Los criterios de inclusión de este ensayo fueron similares a la mayoría de los estudios internacionales. Sin embargo, establecer perfiles de enfermedades sistémicas, hábito tabáquico o microbiológicos específicos basales complejiza las comparaciones entre ensayos clínicos.

Por otro lado, las diversas técnicas de identificación varían mucho en sensibilidad, dificultando el contraste de resultados. Algunos autores citados analizaron a través de técnicas clásicas, otros a través de técnicas moleculares o una combinación de ambas, que sería el caso de nuestro estudio.

En cuanto a la dosis de medicamento empleada, solo Sampaio E y cols. (2011) y el presente ensayo consideraron 1 cápsula de 500 mg diario por 5 días. Macarenhas y cols. (2005), por su parte, establecieron una dosis de 2 comprimidos de 250mg el día 1; luego 1 comprimido diario de 250mg del día 2 al 5. En cambio, el resto de las investigaciones indicaron 1 comprimido de 500 mg diario por 3 días (Sefton A y cols., 1996; Gomi K y cols., 2007; Haffajee A y cols., 2008; Yashima A y cols., 2009; Oteo A y cols., 2010; Han B y cols., 2012; Hincapié J y cols., 2014; Martande y cols. 2014). Es importante destacar que no existen estudios en el área de la periodontología que hayan evaluado diferencias clínicas o microbiológicas entre estos protocolos antibióticos. No obstante, la decisión de indicar 5 días recae en el aumento de la resistencia a este medicamento en la actualidad; siendo 3 días un tiempo muy pequeño de exposición para los microorganismos (Alvarez-Elcoro S y Enzler M, 1999).

La frecuencia de controles en el tiempo de nuestro estudio fue a los 3 meses. Al parecer, los cambios microbiológicos más evidentes se observan durante las

primeras semanas posteriores al tratamiento. Sin embargo, el análisis de los 3 meses es crucial, pues se pueden apreciar los cambios en la estabilidad ecológica y su efecto en la regeneración de tejidos; llevando a mejoras clínicas sustanciales. Controles en meses posteriores serían necesarios para comparar resultados con estudios internacionales de mayor seguimiento; considerando que se ha observado que en general van disminuyendo los efectos de los antibióticos sistémicos en el largo plazo (Feres M y cols., 2015).

Si bien la diversidad de metodologías dificulta la comparación entre trabajos de investigación; el presente ensayo es claro en establecer que la azitromicina sistémica, adjunta a la terapia periodontal no quirúrgica, es igualmente efectiva a PAR por sí sola en individuos chilenos con periodontitis crónica.

Por lo tanto, el tratamiento convencional, considerado internacionalmente como *gold standard*, es eficaz en mejorar parámetros microbiológicos y clínicos. La azitromicina, al no aportar efectos adicionales, no se justifica como complemento al PAR.

El no indicar azitromicina sistémica, protege a este tipo de individuos de la generación de resistencia de los microorganismos al antibacteriano. De esta manera, se puede reservar su uso en otro tipo de enfermedades médicas.

CONCLUSIONES

El uso sistémico de azitromicina en el tratamiento de un grupo de individuos chilenos con periodontitis crónica, disminuye la cuantificación de la microbiota total cultivable y la detección de *Tannerella forsythia* en conjunto con la terapia periodontal no quirúrgica, al igual que PAR por sí solo.

La azitromicina sistémica como complemento a la terapia periodontal no quirúrgica mejora efectivamente, a los 3 meses post tratamiento, parámetros clínicos periodontales, tales como: Nivel de inserción clínica, profundidad al sondaje, índice de sangrado e índice de placa. El PAR, por si solo, es igualmente efectivo.

En consecuencia, la azitromicina sistémica como complemento a la terapia periodontal no quirúrgica es igualmente efectiva en mejorar parámetros microbiológicos y clínicos respecto al tratamiento convencional por sí mismo.

Por lo tanto, el uso de PAR es suficiente para el tratamiento de este tipo de individuos. El reservar la azitromicina sistémica para otras enfermedades médicas limitaría el uso y abuso de antibacterianos; evitando la resistencia de los microorganismos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarez-Elcoro S, Enzler M. The macrolides: erythromycin, clarithromycin, and azithromycin. *Mayo Clinic Proceedings*. 1999; 74: 613-634.
- American Academy of Periodontology. Parameter on chronic periodontitis with slight to moderate loss of periodontal support. *Journal of Periodontology*. 2000a; 71: 853-855.
- American Academy of Periodontology. Parameter on chronic periodontitis with advance loss of periodontal support. *Journal of Periodontology*. 2000b; 71: 856-858.
- Amsden G. Erythromycin, clarithromycin, and azithromycin: are the differences real? *Clinical Therapeutics*. 1996; 18: 56-72.
- Ashimoto A, Chen C, Bakker I, Slots J. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiology and Immunology*. 1996; 11: 266-273.
- Bakheit A, Al-Hadiya B, Abd-Elgalil A. Azithromycin. *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*. 2014; 39: 1-40.
- Berglundh T, Donati M. Aspects of adaptative host response in periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2005; 32: 87-107.
- Blandizzi C, Malizia T, Lupetti A, Pesce D, Gabriele M, Giuca M, Campa M, Del Tacca M, Senesi S. Periodontal tissue disposition of azithromycin in patients affected by chronic inflammatory periodontal diseases. *Journal of Periodontology*. 1999; 70: 960-966.
- Brown L, Johns B, Wall T. The economics of periodontal diseases. *Periodontology 2000*. 2002; 29: 223-234.
- Chico R, Hack B, Newport M, Ngulube E, Chandramohan D. On the pathway to better birth outcomes? A systematic review of azithromycin and curable sexually transmitted infections. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 2013; 11: 1303-1332.

- Díaz J, Yáñez J, Melgar S. Virulencia y variabilidad de *Porphyromonas gingivalis* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y su asociación a la periodontitis. *Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral*. 2012; 5: 40-45.
- Dinos G, Michelinaki M, Kalpaxis D. Insights into the mechanism of azithromycin interaction with an *Escherichia coli* functional ribosomal complex. *Molecular Pharmacology*. 2001; 59: 1441-1445.
- Drew R, Gallis H. Azithromycin-spectrum of activity, pharmacokinetics, and clinical applications. *Pharmacotherapy*. 1992; 12: 161-173.
- Emingil G, Han B, Ozdemir G, Tervahartiala T, Vural C, Atilla G, Baylas H, Sorsa T. Effect of azithromycin, as an adjunct to nonsurgical periodontal treatment, on microbiological parameters and gingival crevicular fluid biomarkers in generalized aggressive periodontitis. *Journal of Periodontal Research*. 2012; 47: 729-739.
- Espinoza I, Thomson W, Gamonal J, Arteaga O. Disparities in aspects of oral-health-related quality of life among Chilean adults. *Community of Dentistry and Oral Epidemiology*. 2013; 41: 242-250.
- Feres M, Figueiredo L, Soares G, Faveri M. Systemic antibiotics in the treatment of periodontitis. *Periodontology 2000*. 2015; 67: 131-186.
- Fischer J, Sarto G, Habibi M, Kilpatrick S, Tuomala R, Shier J, Wollett L, Fischer P, Khorana K, Rodvold K. Influence of body weight, ethnicity, oral contraceptives, and pregnancy on the pharmacokinetics of azithromycin in women of childbearing age. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2012; 56: 715-724.
- Gajardo M, Silva N, Gómez L, León R, Parra B, Contreras A. Prevalence of periodontopathic bacteria in aggressive periodontitis patients in a Chilean population. *Journal of Periodontology*. 2005; 76: 289-294.
- Gamonal J, Mendoza C, Espinoza I, Muñoz A, Urzúa I, Aranda W. Clinical Attachment Loss in Chilean Adult Population: First Chilean National Dental Examination Survey. *Journal of Periodontology*. 2010; 81: 1403-1410.

- Gomi K, Yashima A, Iino F, Kanazashi M, Nagano T, Shibukawa N, Ohshima T, Maeda N, Arai T. Drug Concentration in Inflamed Periodontal Tissues After Systemically Administered Azithromycin. *Journal of Periodontology*. 2007; 78: 918-923.
- González-Piñera J, Barreto Penié J, Rodríguez Rodríguez M, Pino P, Lim N. Macrólidos. *Acta Médica*. 1998; 8: 71-74.
- Haffajee A, Socransky S, Gunsolley J. Systemic anti-infective periodontal therapy. A systematic review. *Annals of Periodontology*. 2003; 8: 115-181.
- Haffajee A, Torresyap G, Socransky S. Clinical changes following four different periodontal therapies for the treatment of chronic periodontitis: 1-year results. *Journal of Clinical Periodontology*. 2007; 34: 243-253.
- Haffajee A, Patel M, Socransky S. Microbiological changes associated with four different periodontal therapies for the treatment of chronic periodontitis. *Oral Microbiology and Immunology*. 2008; 23: 148-157.
- Han B, Emingil G, Özdemir G, Tervahartiala T, Vural C, Atilla G, Baylas H, Sorsa T. Azithromycin as an adjunctive treatment of generalized severe chronic periodontitis: clinical, microbiologic, and biochemical parameters. *Journal of Periodontology*. 2012; 83: 1480-1491.
- Herrera D, Alonso B, León R, Roldán S, Sanz M. Antimicrobial therapy in periodontitis: the use of systemic antimicrobials against the subgingival biofilm. *Journal of Clinical Periodontology*. 2008a; 35: 45-66.
- Herrera D, Contreras A, Gamonal J, Oteo A, Jaramillo A, Silva N. Subgingival microbial profiles in chronic periodontitis patients from Chile, Colombia and Spain. *Journal of Clinical Periodontology*. 2008b; 35: 106-113.
- Herrera D, Sanz M, Jepsen S, Needleman I, Roldán S. A systematic review on the effect of systemic antimicrobials as an adjunct to scaling and root planing in periodontitis patients. *Journal of Clinical Periodontology*. 2002; 29: 136-159.
- Hincapié J, Castrillón C, Yepes F, Roldan N, Becerra M, Moreno S, Consuegra J, Contreras A, Botero J. Microbiological effects of periodontal therapy plus azithromycin in patients with diabetes: results from a randomized clinical trial. *Acta Odontológica Latinoamericana*. 2014; 27: 89-95.

- Hirsch R, Deng H, Laohachai M. Azithromycin in periodontal treatment: more than an antibiotic. *Journal of Periodontal Research*. 2012; 47: 137-148.
- Holt S, Kesavalu L, Walker S, Genco C. Virulence factors in *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontology* 2000. 1999; 20: 168-238.
- Iniesta M, Herrera D, Serrano J, Sanz M. Análisis de los factores de virulencia de los patógenos de asociación fuerte con la periodontitis: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Tannerella forsythia*. *Periodoncia y Oseointegración*. 2008; 18: 109-115.
- Lakhssassi N, Elhajoui N, Lodter J, Pineill J, Sixou M. Antimicrobial susceptibility variation of 50 anaerobic periopathogens in aggressive periodontitis: an interindividual variability study. *Oral Microbiology and Immunology*. 2005; 20: 244–252.
- Lai P, Walters J. Azithromycin kills invasive *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in gingival epithelial cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2013; 57: 1347-1351.
- León R, Silva N, Ovalle A, Chaparro A, Ahumada A, Gajardo M, Martinez M, Gamonal J. Detection of *Porphyromonas gingivalis* in the amniotic fluid in pregnant women with a diagnosis of threatened premature labor. *Journal of Periodontology*. 2007; 78: 1249-1255.
- Lo Bue A, Rossetti B, Cali G, Nicoletti G, Condorelli F. Antimicrobial interference of a subinhibitory concentration of azithromycin on fimbrial production of *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1997; 40: 653-657.
- López N, Socransky S, Da Silva I, Japlit M, Haffajee A. Subgingival microbiota of Chilean patients with chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2004; 75: 717-725.
- Mascarenhas P, Gapski R, Al-Shammari K, Hill R, Soehren S, Fenno J, Giannobile W, Wang H. Clinical response of azithromycin as an adjunct to non-surgical periodontal therapy in smokers. *Journal of Periodontology*. 2005; 76: 426-436.

- Maezono H, Noiri Y, Asahi Y, Yamaguchi M, Yamamoto R, Izutani N, Azakami H, Ebisu S. Antibiofilm effects of azithromycin and erythromycin on *Porphyromonas gingivalis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2011; 55: 5887-5892.
- Martande S, Pradeep A, Singh S, Kumari M, Naik S, Suke D, Singh P. Clinical and microbiological effects of systemic azithromycin in adjunct to nonsurgical periodontal therapy in treatment of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* associated periodontitis: a randomized placebo-controlled clinical trial. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry*. 2014; 5: 1-9.
- McDonald P, Pruul H. Phagocyte uptake and transport of azithromycin. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 1991; 10: 828-833.
- Meurman J, Sanz M, Janket S. Oral health, atherosclerosis, and cardiovascular disease. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*. 2004; 15: 403-413.
- MINSAL. Salud Oral Integral de la Embarazada. Serie Guías Clínicas del Minsal. 2013a.
- MINSAL. Salud Oral Integral para pacientes adultos de 60 años. Serie Guías Clínicas del Minsal. 2013b.
- Muniz F, de Oliveira C, de Sousa Carvalho R, Moreira M, de Moraes M, Martins RS. Azithromycin: a new concept in adjuvant treatment of periodontitis. *European Journal of Pharmacology*. 2013; 705: 135-139.
- Müller H, Holderrieth S, Burkhardt U, Höffler U. *In vitro* antimicrobial susceptibility of oral strains of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* to seven antibiotics. *Journal of Clinical Periodontology*. 2002; 29: 736-742.
- Offenbacher S, Lieff S, Boggess K, Murtha A, Madianos P, Champagne C, McKaig R, Jared H, Mauriello S, Auten R, Herbert W, Beck J. Maternal periodontitis and prematurity. Part I: Obstetric outcome of prematurity and growth restriction. *Annals of Periodontology*. 2001; 6: 164-174.
- Oteo A, Herrera D, Figuero E, O'Connor A, González I, Sanz M. Azithromycin as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of *Porphyromonas*

- gingivalis*-associated periodontitis: a pilot study. *Journal of Clinical Periodontology*. 2010; 37: 1005-1015.
- Pajukanta R, Asikainen S, Saarela M, Alaluusua S, Jousimies-Somer H. *In vitro* activity of azithromycin compared with that of erythromycin against *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1992; 36: 1241-1243.
 - Parnham M, Erakovic Haber V, Giamarellos-Bourboulis E, Perletti G, Verleden G, Vos R. Azithromycin: mechanisms of action and their relevance for clinical applications. *Pharmacology and Therapeutics*. 2014; 143: 225-245.
 - Pihlstrom B, Michalowicz B, Johnson N. Periodontal disease. *Lancet*. 2005; 366: 1809-1820.
 - Plaza JC, Gallardo F, Davila L, Rioseco M. Efectos de una terapia sistémica con azitromicina en el tratamiento de la periodontitis crónica. *Avances en Periodoncia e Implantología Oral*. 2003; 16: 35-42.
 - Sampaio E, Rocha M, Figueiredo LC, Faveri M, Duarte P, Gomes Lira E, Feres M. Clinical and microbiological effects of azithromycin in the treatment of generalized chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*. 2011; 38: 838-846.
 - Sarkar M, Woodland C, Koren G, Einarson A. Pregnancy outcome following gestational exposure to azithromycin. *BMC Pregnancy and Childbirth*. 2006; 30: 6-18.
 - Schentag J, Ballow CH. Tissue-directed pharmacokinetics. *American Journal of Medicine*. 1991; 12: 5-11.
 - Sefton A, Maskell J, Beighton D, Whiley A, Shain H, Foyle D, Smith S, Smales F, Williams J. Azithromycin in the treatment of periodontal disease. Effect on microbial flora. *Journal of Clinical Periodontology*. 1996; 23: 998-1003.
 - Sharma A. Virulence mechanisms of *Tannerella forsythia*. *Periodontology 2000*. 2010; 54: 106–116.
 - Slots J. Rapid identification of important periodontal microorganisms by cultivation. *Oral Microbiology and Immunology*. 1986; 1: 48-55.

- Smith S, Foyle D, Daniels J, Joyston-Bechal S, Smales F, Sefton A, Williams J. A double-blind placebo-controlled trial of azithromycin as an adjunct to non-surgical treatment of periodontitis in adults: clinical results. *Journal of Clinical Periodontology*. 2002; 29: 54-61.
- Socransky S, Haffajee A, Cugini M, Smith C, Kent R. Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of Clinical Periodontology*. 1998; 25: 134-144.
- Tanner A, Izard J. *Tannerella forsythia*, a periodontal pathogen entering the genomic era. *Periodontology 2000*. 2006; 42: 88-113.
- Teixeira S, Mattarazo F, Ferez M, Figueredo L, Favari M, Simionato M, Mayer M. Quantification of *Prohyromonas gingivalis* and *fimA* genotypes in smoker chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2009; 26: 482-487.
- Tripathi K. *Farmacología en Odontología*. Editorial Médica Panamericana. 2008; 1: 438.
- Van der Velden U. Purpose and problems of periodontal disease classification. *Periodontology 2000*. 2005; 39: 13-21.
- Wade W. Has the use of molecular methods for the characterization of the human oral microbiome changed our understanding of the role of bacteria in the pathogenesis of periodontal disease?. *Journal of Clinical Periodontology*. 38: 7-16.
- Ximénez-Fyvie L, Haffajee A, Socransky S. Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2000; 27: 648-657.
- Yashima A, Gomi K, Maeda N, Arai T. One-stage full-mouth versus partial-mouth scaling and root planing during the effective half-life of systemically administered azithromycin. *Journal of Periodontology*. 2009; 80: 1406-1413.

Anexo 2: Ficha clínica

FICHA CLINICA SALUD PERIODONTAL

Día	Mes	Año		Examinador		Número de cuestionario	
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Grupo		Adolescente	<input type="checkbox"/>	Sano	<input type="text"/>	Tipo de Intervención	
				Gingivitis	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
		Adulto	<input type="checkbox"/>	Sano	<input type="text"/>		
				Periodontitis	<input type="text"/>		

INFORMACIÓN GENERAL

Nombre:

Rut:

Fecha Nacimiento:

Día	Mes	Año

Edad en Años:

Sexo 0 mujer 1 hombre

Teléfono

C. Área	Número

ESTADO PERIODONTAL

Maxilar Superior Vestibular

17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
D	C	M	D	C	M	D	C	M	C	D	M	C	D
C	M	D	C	M	D	C	M	C	D	M	C	D	M
M	C	D	M	C	D	M	C	D	M	C	D	M	C

Pos. de la encia

Sondaje

Niv. Inserción

Indice Placa

Sangrado

Maxilar Superior Palatino

17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
D	C	M	D	C	M	D	C	M	C	D	M	C	D
C	M	D	C	M	D	C	M	C	D	M	C	D	M
M	C	D	M	C	D	M	C	D	M	C	D	M	C

Pos. de la encia

Sondaje

Niv. Inserción

Indice Placa

Sangrado

ESTADO PERIODONTAL

Maxilar Inferior Vestibular

47	46	45	44	43	42	41	40	39	38	37
D	C	M	D	C	M	D	C	M	C	D

Pos. de la encía

Sondaje

Niv. Inserción

Indice Placa

Sangrado

Maxilar Inferior Lingual

47	46	45	44	43	42	41	40	39	38	37
D	C	M	D	C	M	D	C	M	C	D

Pos. de la encía

Sondaje

Niv. Inserción

Indice Placa

Sangrado

INFORMACION COMPLEMENTARIA

1. Número de dientes perdidos:

Motivo de la pérdida de dientes:

**Por carie:
Por sueltos
Por indicación de ortodoncia**

2. Tratamiento previo de ortodoncia:

No: 0
Si: 1

3. Uso de piercing en labios o lengua:

No: 0
Si: 1

Ubicación

4. Biotipo de encía

Fino: 1
Grueso: 2

Anexo 3: Aprobación comité de ética



12/09/2012

ACTA DE APROBACIÓN DE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

ACTA N°: 2012/08

1. Acta de aprobación de protocolo de estudio N° 2012/11
2. Miembros permanentes del Comité Ético-Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile participantes en la aprobación del Proyecto:

Dr. Juan Cortés
Presidente del CEC

Dr. Eduardo Rodríguez
Miembro permanente del CEC

Dra. Karin Lagos
Miembro permanente del CEC

Dr. Alejandro Escobar
Miembro permanente del CEC

3. Fecha de Aprobación: 12/09/2012
4. Título completo del proyecto: "Biological plaque control in periodontal diseases: understanding variability of microbiome/immune response and implementation of a conventional periodontal treatment combined with probiotics" FONDECYT REGULAR id_12566-3-1. Versión 04/07/2012
5. Investigador responsable: Dr. Jorge Gamonal Aravena, académico del Departamento de Odontología Conservadora Facultad de Odontología, Universidad de Chile
6. Institución: Facultad de Odontología, Universidad de Chile y Fondecyt
7. Documentación Revisada:
 - Protocolo versión en inglés del Proyecto: "Biological plaque control in periodontal diseases: understanding variability of microbiome/immune response and implementation of a conventional periodontal treatment combined with probiotics" FONDECYT REGULAR id_12566-3-1. Versión 04/07/2012
 - Documentos de Consentimiento informado para Pacientes adultos, para padres de adolescentes y Asentimiento informado versión 12/09/2012
 - Currículo del investigador responsable y de Coinvestigadores



12/09/2012

ACTA DE APROBACIÓN DE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

8. **Carácter del estudio y de la muestra:** Ensayo Clínico Aleatorizado en doble ciego con uso de placebo. Se compararán dos tipos de tratamiento para la enfermedad periodontal en una población de adultos y de adolescentes.

9. **Fundamentación de la aprobación ética**

Este proyecto busca probar, basándose en el análisis de la microbiota oral, que un tratamiento para la enfermedad periodontal combinado con probióticos es mejor que los tratamientos estándares.

Los investigadores han incorporado en los documentos de consentimiento y asentimiento informado las siguientes modificaciones sugeridas por este Comité:

- La Modalidad de Notificación de efectos adversos.
- Un punto que señala que si los pacientes con periodontitis del grupo experimental no logran mejoría -como los pacientes del grupo control- serán tratados nuevamente sin costo asociado.

En consecuencia, el Comité Ético Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, aprueba el estudio "Biological plaque control in periodontal diseases: understanding variability of microbiome/immune response and implementation of a conventional periodontal treatment combined with probiotics" FONDECYT REGULAR id_12566-3-1, Versión 04 de Julio de 2012.

C/C.

Investigador Responsable

Secretaría C.E.C.



[Handwritten signature]
María Angélica Torres V
 DDS, MSc, PhD
 Presidente (S) del CEC

Anexo 4: Consentimiento informado



UNIVERSIDAD DE CHILE

Facultad de Odontología – Departamento de Odontología
Conservadora

Facultad de Odontología
Universidad de Chile

Proyecto de Investigación
Académico Responsable: Jorge Gamonal

Consentimiento Informado – Adultos

Antecedentes Generales

Usted ha sido invitado a participar voluntariamente en un estudio titulado "Control biológico en las enfermedades periodontales: conociendo la variabilidad de la respuesta microbioma/inmune y la implementación de un tratamiento periodontal convencional mas probióticos.". Estas enfermedad periodontales (gingivitis y periodontitis) corresponde a una infección de los tejidos alrededor del diente y con el tiempo y sin tratamiento puede generar una lesión destructiva en los tejidos que rodean la raíz del diente. El tratamiento de estas lesiones es la eliminación de la placa bacteriana acumulada alrededor del diente, con el objetivo de eliminar la infección y evitar las complicaciones asociadas a esta enfermedad.

En términos generales, el objetivo del presente estudio es caracterizar la presencia de las bacterias localizadas alrededor del diente y conocer la presencia de algunos indicadores de la respuesta defensiva del sujeto, como la detección de ciertos mediadores inflamatorios (citoquinas y defensinas).

Con este fin se incluirán adultos con periodontitis crónica (enfermedad en estudio) y otros adultos sanos, en los que además del tratamiento periodontal de eliminar la placa bacteriana, el tártaro presente y efectuar la enseñanza de técnica de cepillado, se procederá a tomar muestras biológicas de la placa bacteriana y del fluido gingival crevicular.

Este formulario será explicado por el investigador y se entregará a los participantes para su lectura. El participante podrá retirarse del estudio en cualquier momento que lo desee y sus datos serán eliminados a partir de ese momento.

Procedimiento toma de las muestras

Se incluirán pacientes con diagnóstico de periodontitis crónica y controles sin la enfermedad, que no presenten enfermedades generales. Una vez realizado el diagnóstico se tomarán las muestras biológicas (mediante un cono de papel y una tira de papel absorbente en el surco gingival) al inicio del estudio, luego a los 6 y 12 meses.

Durante el tratamiento en forma aleatoria se designara que grupo de pacientes estará usando probioticos durante 6 meses y que grupo de pacientes estara sin usar probioticos.

La duración del estudio será por tanto de un año en pacientes que se realicen tratamiento periodontal. El financiamiento del tratamiento será responsabilidad del estudio, y los análisis de muestras serán financiados por el proyecto, así como el estudio radiográfico requerido para éste.

El total de muestras y datos obtenidos serán registrados e identificados por el investigador responsable mediante códigos para su utilización exclusiva en el desarrollo del presente estudio. Los datos personales e identificación de los sujetos participantes serán confidenciales y se utilizarán códigos para mantener oculta la identidad de los participantes. En caso de manifestar interés en los resultados de los análisis efectuados, los interesados pueden acceder a esta información solicitándola al investigador responsable. Los sujetos participantes pueden retirarse del estudio en cualquier momento que estimen conveniente, sin

perjuicio de su tratamiento odontológico. En este caso, sólo se estudiarán las muestras obtenidas con anterioridad al retiro del sujeto.

Ventajas de participar en el estudio

Como ventaja de participar en el presente estudio, a todos los pacientes participantes del mismo se les hará entrega de todos los elementos necesarios para el higiene bucal (cepillo dentario, cepillo interproximal, seda y enjuagatorios).

Otra ventaja es que se les dará a conocer y se consignara en su ficha clínica los resultados de los análisis que resultan de las muestras biológicas tomadas a los pacientes.

En relación con el tratamiento periodontal, en el tratamiento realizado por el suscrito, se hará una rebaja de un 50% del arancel que la Facultad tiene dispuesto cobrar para tales efectos.

Desventajas de participar el estudio

La desventaja de participar en el presente estudio, es que los pacientes seleccionados serán sometidos a la toma de muestra de fluido gingival crevicular y de placa bacteriana (que no requiere anestesia, y es inocua para el paciente).

En caso de alguna dificultad, los teléfonos de contacto del investigador responsable: Jorge Gamonal, son: 9781839, 9781838, y 2324232

Declaro

Haber comprendido las explicaciones que se me han facilitado, en un lenguaje claro y sencillo, y el facultativo me ha permitido realizar todas las observaciones y preguntas necesarias, resolviéndome todas las dudas que le he planteado, señalándome además que habrá absoluta confidencialidad en los datos por mi entregados.

También comprendo que, en cualquier momento y sin necesidad de dar explicación alguna puedo revocar el consentimiento que ahora presto para participar en el presente Proyecto de Investigación, y que frente a cualquier duda puedo además consultar con el Presidente del Comité de Etica de la Facultad de Odontología, Dr. Juan Cortes, en el fono: 9781702.

Además se me ha aclarado, que en caso de no dar mi consentimiento, el profesional procederá de todas maneras a realizar el mencionado tratamiento periodontal.

Identificación Paciente

Nombre:

Rut:

Fono:

Firma

Fecha:

Identificación Dentista

Nombre:

Rut:

Fono:

Firma

Dpto. de Odontología Conservadora/Olivos N°943, Independencia ☎:
9781839/Casilla 1903