

+



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA Y MEDICINA ORAL Y
ODONTOLOGIA CONSERVADORA.**

“Presencia y cuantificación de *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en pacientes con periodontitis crónica tratados con un probiótico a base de *Lactobacillus rhamnosus*, Azitromicina y placebo, adjunto a la terapia periodontal no quirúrgica.”

Juan Alberto Mendez Aliste

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

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Nora Silva Steffens

TUTORES ASOCIADOS

Profesor Dr. Nicolás Dutzan Muñoz

Dra. Alicia Morales Chvets

**Adscrito a Proyecto FONDECYT N° 11305705
Santiago - Chile
2017**

Agradecimientos

A mi madre, por su cariño y apoyo incondicional, durante toda la vida.

A la profesora Nora, por su apoyo, comprensión y por escucharme durante estos 6 años.

A la profesora Alicia, que pese a que la conocí hace poco, su ayuda fue fundamental para lograr este trabajo.

A mis amigos, que me entregaron las herramientas para superar los desafíos que tuve durante la carrera.

A mi equipo de Basketball de la facultad, que me entregaron fuerzas y ánimo mientras superaba las dificultades de esta carrera.

Me resulta difícil mencionar a todos los docentes que me formaron, sin embargo me tomare unas líneas para mencionar a los que me parecen mas importantes.

al profesor Gamonal, que me permitió expresar mis opiniones, pese a que no le gustaban a todos.

Al profesor Ocaranza, que me mostro lo feliz y profesional que uno puede ser en esta profesión.

Al profesor Miralles, que me encamino para enamorarme de esta profesión.

Y a muchos otros que se me quedan en la memoria, porque me llevaron al límite y me permitieron crecer como persona y odontólogo.

Gracias a todos

Índice

1) RESUMEN	4
2) MARCO TEORICO.....	6
3)HIPÓTESIS.....	16
4)OBJETIVO GENERAL.	16
5)OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
6)MATERIALES Y METODOS.....	17
7)ANÁLISIS DE RESULTADOS Y MÉTODOS ESTADÍSTICOS	25
8)DISCUSION	38
9)CONCLUSION	45
10) REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	46
11) ANEXO 1.....	54
12) ANEXO 2.....	57
13) ANEXO 3.....	61

Resumen

La periodontitis es una enfermedad inmuno-inflamatoria que destruye los tejidos de soporte dentario, su etiología es la presencia de bacterias generadoras de respuestas inmuno-inflamatorias en el hospedero. El tratamiento convencional es el destartraje supragingival en conjunto con el pulido y alisado radicular, el cual, dependiendo de las condiciones del paciente, puede ser asociado a un antibiótico sistémico, uno de los antibióticos más utilizados es la azitromicina, debido a su efecto sobre anaerobios Gram negativos, que posee vida media prolongada, posee una dosificación cómoda y mínimas reacciones adversas. Por otro lado, *Lactobacillus rhamnosus* es una bacteria Gram positivo, que al ser ocupada como probiótico, ha mostrado eficacia en el tratamiento de las caries, y capacidad inhibitoria de algunos periodontopatógenos.

El objetivo de este trabajo fue comparar la eficacia del uso de un probiótico, en base a *L. rhamnosus*, con azitromicina y controlado con un placebo, asociados a terapia periodontal convencional. Para esto se cuantificó la microbiota total cultivable, se determinó, comparó y cuantificó la presencia de *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*), *Tannerella forsythia* (*Tf*), y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Aa*), se midieron los parámetros clínicos (nivel de inserción clínica, profundidad de sondaje, índice de placa e índice de sangrado) durante 9 meses de seguimiento, en el tratamiento de un grupo de adultos chilenos con periodontitis crónica.

Materiales y métodos:

Se realizó un ensayo clínico aleatorizado, de diseño paralelo, enmascarado y controlado mediante placebo. Los pacientes seleccionados fueron seleccionados y randomizados en 3 grupos (probiótico, antibiótico y placebo). Se realizaron mediciones de los parámetros en el tiempo basal, y control a los 9 meses. Se evaluaron parámetros microbiológicos y clínicos (profundidad de sondaje, índice de placa, índice de sangrado y nivel de inserción clínica). La microbiota total cultivable y el recuento de *Pg* fueron analizados mediante técnicas microbiológicas clásicas. La prevalencia de *Pg*, *Tf* y *Aa* fue determinada mediante identificación molecular por PCR. Se consideró significancia estadística para valor $p < 0,05$ y un intervalo de confianza de un 95%.

Resultados:

Al control a los 9 meses post-tratamiento, se pudo observar una disminución estadísticamente significativa en el nivel de inserción clínica, el índice de sangrado, índice de placa y profundidad al sondaje en los 3 grupos evaluados ($p < 0,05$). Sin embargo a la comparación inter-grupal, estas mejorías no fueron estadísticamente significativas. La microbiota total cultivable no presentó disminución estadísticamente significativa en ninguno de los 3 grupos estudiados y tampoco mostraron diferencias de manera intergrupala. Al evaluar la prevalencia de *Tf*, *Pg* y *Aa* a los 9 meses se pudo observar una disminución estadísticamente significativa en la prevalencia de estos microorganismos ($p < 0,05$), sin embargo no existieron diferencias significativas a nivel intergrupala. Respecto al cultivo de estos periodontopatogenos, la detección de *Pg* para cada grupo fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$), sin embargo, no existieron diferencias entre cada tratamiento. No hubo desarrollo de colonias de *Tf* y *Aa*.

Conclusión

Según los resultados del presente estudio, el uso de azitromicina o probiótico en base a *L.rhamnosus* asociado al tratamiento periodontal no quirúrgico de la periodontitis crónica, es igualmente efectivo que el tratamiento periodontal por si solo.

Marco teórico

Periodontitis

Las enfermedades periodontales tienen una prevalencia en el mundo cercana al 90% (Pihlstrom y Cols, 2005). En Chile, la enfermedad periodontal afecta sobre el 90% de la población, en sus diferentes formas y severidades. Las personas entre 35-44 años, la prevalencia de periodontitis severa es de un 38,7%, mientras que en los sujetos de entre 65-74 años, es de un 69,4% (Gamonal y Cols. 2010). Debido a su alta prevalencia en la población existen medidas públicas destinadas a tratar a las personas con esta enfermedad que se encuentren bajo ciertas condiciones, como son los GES de embarazadas y 60 años (MINSAL, 2013), sin embargo, existe baja o nula cobertura para la población que se encuentra fuera de los parámetros de inclusión. Conjuntamente a esto, la población posee una baja educación respecto a las problemáticas de salud oral, por lo que muchas veces consultan de manera tardía o no lo hacen (Encuesta nacional de salud-MINSAL, 2009-10)

La periodontitis es una enfermedad que afecta los tejidos de sostén de los dientes (ligamento periodontal, hueso alveolar, cemento radicular y encía) (Nanci y Cols, 2006). Genera la destrucción irreversible de los tejidos periodontales, provocando movilidad dentaria, que puede terminar con la pérdida dentaria (Zeron, 2001). El factor etiológico que produce la enfermedad es la placa bacteriana, que inicia y perpetua una respuesta inmunoinflamatoria que provoca la destrucción de los tejidos periodontales (Dimitris y Cols. 2005). Además existen factores predisponentes que alteran la manifestación de la enfermedad, como factores conductuales (tabaco, higiene, consumo de medicamentos, etc.) o factores propios del hospedero (enfermedades sistémicas, factores anatómicos, etc.) (Genco, 1996)

Etiología de la periodontitis

En condiciones de salud, es posible encontrar variadas especies bacterianas colonizando la cavidad oral, ya sea de forma planctónica o como biofilm, los que viven en equilibrio con el hospedero (Herrera y cols, 2014). Deficiencias de higiene, factores anatómicos o condiciones sistémicas, pueden determinar que este equilibrio se rompa y se produzca enfermedad (Matezans-Perez y cols, 2008). En el surco gingival, es posible encontrar cerca de 700 especies

bacterianas distintas, en una cantidad de 10^3 bacterias en pacientes sanos, mientras que en pacientes con enfermedad esta cantidad aumenta sobre 10^8 bacterias, presentes en el surco. (Ji y cols, 2015). Entre los patógenos mayormente asociados a la etiología de la periodontitis, según la bibliografía actual, se encuentra *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Tannerella forsythia* (Tf), y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa). Se ha observado que estos microorganismos participan en la generación y perpetuación de la periodontitis, ya que estos se organizan y forman un biofilm, permitiéndoles protegerse del medio, crear nichos ecológicos y deteriorar la salud del hospedero (Picolos y cols, 2005).

A. actinomycetemcomitans es un cocobacilo, Gram negativo, inmóvil, que se puede presentar de forma aislada o agrupada y es anaerobio facultativo. Es posible encontrar este microorganismo en pacientes sanos. Dentro de sus factores de virulencia es posible identificar leucotoxinas, factores de inmunosupresión, endotoxina, antígeno de superficie, entre otros. Una de sus características importantes como patógeno periodontal, es la cualidad de adherirse a las superficies del hospedero, generando una respuesta inmunoinflamatoria que desencadena la destrucción de los tejidos periodontales (Kachlany y cols, 2010) Por otro lado, la evidencia muestra que este microorganismo también es capaz de producir enfermedades cardiovasculares (Zhang y cols, 2010)

P. gingivalis corresponde a un cocobacilo Gram negativo, anaerobio estricto, que participa activamente modulando la respuesta inmunoinflamatoria del hospedero (Imamura, 2003). Dentro de sus factores de virulencia podemos identificar cápsula, endotoxina, fimbrias, entre otros. Además, exhibe una variabilidad genotípica y serotípica, permitiendo una variabilidad intraespecie, generando inflamación y destrucción periodontal (Diaz y cols, 2012). Se asocia al inicio de enfermedades y complicaciones de otras, como puede ser el parto prematuro o endocarditis bacteriana (Offenbacher y cols, 2001).

T. forsythia es una bacteria anaerobia Gram negativo que se encuentra asociada a periodontitis crónica. Sus factores de virulencia están principalmente asociados a la proteólisis (prth-proteasa y *trypsine-like* proteasa), a la adhesión, proteínas Bsp e inducción a la apoptosis. Como especie bacteriana, es considerada asacarolítica, por su incapacidad de destruir carbohidratos para obtener energía, es por esto que obtiene la energía de los procesos proteolíticos (Posch y cols, 2013).

Tratamiento periodontal

El tratamiento convencional o no quirúrgico de la periodontitis consiste en el destartraje supragingival y la terapia mecánica de pulido y alisado radicular (PAR), en conjunto a nuevas técnicas de higiene y cambio de hábitos. Además, dependiendo del caso se puede asociar con antibióticos sistémicos como coadyuvantes (American Academy of Periodontology, 2000a; American Academy of Periodontology, 2000b).

Tratamiento antibiótico

Si bien el tratamiento *gold standard* de la periodontitis crónica es el PAR, existen sacos periodontales que no mejoran luego del tratamiento, ni clínica ni microbiológicamente. Comúnmente corresponde a aquellos sacos muy profundos y de difícil acceso, donde los periodontópatógenos han alcanzado penetración a nivel epitelial, los tejidos de soporte se deterioran con el tiempo y la enfermedad continúa progresando. Además, se debe considerar que los patógenos periodontales se encuentran presentes en toda la cavidad oral en distintas proporciones que no son afectados por la terapia periodontal, por lo que es posible la recolonización de los sitios afectados (Munis y cols, 2013).

Debido a lo anterior, se inició la búsqueda de alternativas para reforzar el tratamiento convencional. Conociendo las características microbiológicas de los principales periodontopatógenos, se comenzaron a utilizar, para el control de la infección, antibióticos con un espectro de acción sobre bacterias Gram negativo anaerobios obligados. El uso de estos medicamentos demostró tener un efecto en la microbiota total oral, y logró una disminución de los patógenos de los complejos rojo y naranja y un aumento de los del complejo violeta, con predominancia de las especies de *Actinomyces* (Feres y cols, 2015).

Esta evidencia, llevó a considerar la antibioterapia sistémica como un aporte al ser empleada en conjunto al PAR, ya que reducen significativamente la profundidad de sondaje en sacos periodontales muy profundos, mejoran el nivel de inserción clínica, son efectivos en lesiones periodontales activas y pueden ser utilizados contra perfiles microbiológicos específicos (Haffajee y cols, 2003).

Se han estudiado distintas antibioterapias sistémicas. Entre las más comunes encontramos: tetraciclinas, metronidazol, azitromicina o combinación de

metronidazol-amoxicilina. De ellas, la combinación de metronidazol y amoxicilina es la más estudiada, presentando resultados microbiológicos y clínicos favorables (Herrera y cols, 2002). No obstante, el uso de amoxicilina con metronidazol, presenta una amplia extensión de tratamiento (7- 14 días), elevada cantidad de dosis diarias (3 veces al día) y las reacciones adversas a los medicamento hacen que el cumplimiento de los pacientes no sea óptimo (Haffajee y cols., 2007). Por lo tanto, existe un interés en ahondar el conocimiento de otras terapias antibióticas, pues no hay consenso actual acerca del protocolo ideal (Herrera y cols 2008)

Azitromicina

Azitromicina (AZM) es un antibiótico, perteneciente al grupo de los macrolidos azalides. Posee una gran gama de utilidades en medicina, asociándole su uso a enfermedades de etiología bacteriana en las vías respiratorias, oído medio, piel, tejidos blandos y algunas infecciones de transmisión sexual (González-Piñera y cols., 1998). La azitromicina es un antibiótico de amplio espectro, abarcando tanto aerobios y anaerobios, Gram positivo y negativo (Hirsch y cols., 2012). Se considera un antibiótico bacteriostático, inhibe la síntesis proteica al unirse a la subunidad 50s del ribosoma, deteniendo la multiplicación celular (Parnham y cols, 2014). Además, posee la cualidad de atravesar las membranas plasmáticas, alcanzando altas concentraciones dentro de fagocitos y fibroblastos, sus cualidades quimiotácticas, le permiten alcanzar los tejidos inflamados (Schentag y cols, 1991).

Reacciones adversas a los medicamentos(RAM), interacciones, embarazo y resistencia

- **Embarazo**

Se considera un antibiótico de categoría B, es decir, que no existe evidencia de riesgo en la especie humana, y en los estudios en animales no presentan efectos sobre el feto, sin embargo carece de suficientes estudios clínico en mujeres embarazadas para determinar que no presenta riesgo en su consumo (Amsden GW, 1996). La administración de dosis de 500mg al día ha demostrado ser efectivo en el tratamiento de la infección (Chico 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 y cols., 2011).

- Reacciones adversas al medicamento

Los efectos adversos de una terapia única de azitromicina son poco comunes; entre los más frecuentes encontramos dispepsia gástrica leve, epigastralgia (menores al tratamiento con eritromicina), cefaleas y mareos (Tripathi y cols, 2005). Mucho más raras 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 y cols., 2012).

- Interacciones con otros medicamentos

Entre ellos encontramos teofilina, carbamazepina, warfarina (su efecto podría ser potenciado), terfenadina, cisaprida, digoxina y derivados de ergóticos (Hirsch y cols, 2012).

- Resistencia microbiana a la azitromicina

Otro aspecto a considerar es la creciente preocupación por la generación de resistencia a los antibióticos (Alvarez-Elcoro y cols, 1999). Un estudio 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 (Haffajee y cols., 2008). En general, los tratamientos que requieren mayor cuidado en este ámbito son aquellos que utilizan 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 y cols., 2014).

Azitromicina y Periodontitis Crónica

Al evaluar los factores microbiológicos con el uso de azitromicina (AZM), es posible encontrar múltiple evidencia que sustenta su uso durante el tratamiento de la periodontitis crónica.

Se comparó la actividad *in vitro* de la eritromicina y la azitromicina frente a *A. actinomycetemcomitans*. Sus resultados no solo demostraron que la azitromicina presentó una mejor 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 (Pajukanta y cols 1992). 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) en un estudio *in vitro* 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), investigó 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 *in vitro*, 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 (Maezono y cols. 2011)

Parámetros periodontales durante el uso de azitromicina:

- Profundidad al sondaje: Existen autores que concluyen que es significativa la diferencia en la reducción de los sacos periodontales moderados y profundos, al comparar el uso de PAR+ATB *versus* PAR (Mascarenhas P y col., 2005)
- Nivel de inserción clínica: Hubo mejora significativa en la inserción clínica de los sitios estudiados en el grupo tratado con AZM en comparación al placebo (Martande y cols., 2014).
- Índice de placa: Se determinó que la administración de AZM lograba una disminución mayor del índice de placa, *versus* pacientes a los que se les administraba placebo, ambos en conjunto con PAR (Plaza JC y cols., 2003).
- Volumen de fluido gingival crevicular: Hubo mejora significativa del grupo tratado con AZM en comparación al grupo placebo (Yashima A y cols., 2009).
- Índice gingival: Hubo mejora significativa del grupo tratado con AZM en comparación al grupo placebo (Yashima A y cols., 2009).
- Sangrado al sondaje: Hubo mejora significativa del grupo tratado con AZM en comparación al grupo tratado con placebo (Yashima A y cols., 2009).

Es importante mencionar que, si bien existe evidencia de las cualidades positivas de la azitromicina, esta es controversial, ya que hay autores que señalan que este no posee efectos positivos mayores que la terapia periodontal por si sola. (Sampaio y cols. (2011), Han y cols. (2012)).

Probióticos

La generación de cepas bacterianas resistentes, el incumplimiento del paciente durante el tratamiento farmacológico y las múltiples reacciones adversas a su uso, ha provocado que el uso excesivo de antibióticos sea considerado un problema global, lo que ha generado la necesidad de buscar nuevas herramientas para

tratar enfermedades infecciosas (Muñoz y cols, 2010). Un enfoque que ha tomado fuerza en los últimos años corresponde al uso de probióticos, son complementos alimenticios con agregados microbiológicos, que poseen un efecto fisiológico en el organismo donde son aplicados (Organización Mundial de la Salud, 2006). Se ha observado que pueden participar en el reforzamiento de la respuesta inmune, contribuir al equilibrio en la mucosa intestinal, disminuir la astenia o reforzar los períodos de lactancia e incluso disminuir la intolerancia a la lactosa en el consumo de lácteos, debido a la auto fermentación de los lácteos probióticos. Algunos de los alimentos que contienen probióticos son los chucrut, yogurts u otros lácteos fermentados. El probiótico, podría modular la actividad inmune de la cavidad oral o prevenir el efecto nocivo de algunos microorganismos (Saier y cols, 2005)

Los estudios potenciales respecto a los probióticos han revelado la probabilidad de tener un efecto positivo en la reducción del número de *Streptococcus mutans*, presente en la caries dental. También se ha visto efecto en la reducción de la candidiasis oral o en la halitosis de origen oral (Twetman y Cols, 2008).

Las especies probióticas más comúnmente utilizadas en la actualidad son *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* y *Lactobacillus rhamnosus*, los cuales son considerados importantes, ya que pueden ser encontradas naturalmente en el ser humano. *Lactobacillus rhamnosus* ha sido aislado del intestino humano y ha demostrado capacidad inhibitoria de diversas especies bacterianas, dentro de ellas *S. mutans* (Caglar y Cols, 2008)

Lactobacillus plantarum ha demostrado capacidad de modificar la microbiota bacteriana de la cavidad oral y gastrointestinal, mediante una diseminación bacteriana, lo cual mejora la digestión y aumenta el peso corporal en animales a los cuales se les realizó quimioterapia (Von Bultzingslowen I, 2003).

Por otro lado, se demostró que cepas de *Lactobacillus* spp. son útiles en la reducción de la inflamación gingival y en el número de bacilos pigmentados como *P. gingivalis*, en saliva y placa subgingival (Matsuoka y cols, 2006).

Streptococcus salivarius una especie bacteriana que es posible encontrar en la saliva de seres humanos sanos, es un colonizador temprano y predominante en microbiota de lengua en individuos sanos, es capaz de reducir el volumen de gases de sulfuro, reduciendo la halitosis (Burton y cols. 2006).

En un estudio clínico aleatorio doble ciego en pacientes fumadores y no fumadores con periodontitis, se administraron tabletas de *L. salivarius* y xilitol en el grupo experimental y placebo en el grupo control. Se reportó que la administración oral del probiótico *Lactobacillus salivarius* disminuye significativamente el índice de placa y la profundidad de sondaje de los pacientes fumadores. También se observó una diferencia significativa de los niveles salivales de lactoferrina, la cual está asociada con los parámetros clínicos de periodontitis, a las ocho semanas para los pacientes fumadores; concluyendo así que los probióticos son útiles para la mejora y mantenimiento de la salud periodontal (Shimaushi y cols, 2008)

Lactobacillus reuteri es una bacteria Gram positivo, que ha mostrado capacidad de inhibir a la placa bacteriana, cualidades antiinflamatorias y efecto antimicrobiano, previo al tratamiento periodontal no quirúrgico, o durante la terapia de mantención (Vivekananda, 2010).

Lactobacillus Rhamnosus es un bacilo Gram positivo que puede ser aislado del tracto intestinal del ser humano. Ha demostrado afección por las células de la mucosa intestinal y produce ácido láctico a partir de glucosa. Entre sus usos como probiótico ha mostrado capacidad para tratar la alergia al maní y prevenir de diarrea por rotavirus en niños o para disminuir la incidencia y progresión de las caries (Juntunen y cols. 2001).

En 2011, en un estudio in vitro, se reportó que distintas cepas de *Lactobacillus*, entre ellas *L. rhamnosus* SD5, mostraron un fuerte efecto inhibitorio en contra de *S. mutans* y *Streptococcus sobrinus*, así como de periodontopatógenos Gram negativos como *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans*, al inhibir el crecimiento de estos en placas de agar (Teapaisan y cols, 2011).

Aunque aún existen pocos estudios que respalden la efectividad del uso de probióticos en el tratamiento periodontal, la evidencia que existe actualmente da indicios de que puede ser un determinante a ser considerado en el tratamiento de la periodontitis, dando una alternativa al uso de antibioterapia sistémica que se utiliza como coadyuvante para mejores resultados clínicos (Grunery cols, 2016).

Relevancia del problema

En Chile la periodontitis crónica severa afecta a cerca del 40% de la población adulta y es considerada la segunda causa de pérdida dentaria, además por las características progresivas de esta enfermedad, provoca un gran daño acumulado en la población, lo que interfiere en la calidad de vida las personas afectadas (Gamonal y Cols. 2010)

Si bien el tratamiento mecánico no quirúrgico es el tratamiento “*gold standard*”, la dificultad para realizar el tratamiento y el bajo nivel de compromiso por parte de los pacientes, hacen necesario considerar alternativas coadyuvantes para el tratamiento periodontal tradicional, donde el más comúnmente usado son los antibióticos, pero las reacciones adversas a su uso y el aumento de la resistencia bacterianas, hacen necesario buscar nuevas alternativas de tratamiento (Kon y cols, 2016)

Por otro lado, el tratamiento periodontal sumado al tratamiento de las secuelas de la enfermedad, como puede ser la pérdida dentaria, generan un alto costo, tanto a nivel personal como a nivel público.

Todo lo antes descrito, nos hace considerar a la periodontitis como un problema de salud pública, que necesita mejores alternativas de tratamiento, para usarlas en conjunto con el tratamiento periodontal no quirúrgico, que reduzca los costos, pueda ser de uso masivo y que tenga bajas o nulas implicancias a su uso.

2. HIPÓTESIS.

El uso sistémico de probiótico en base a *Lactobacillus rhamnosus* SP1 en pacientes con periodontitis crónica en conjunto con el tratamiento periodontal no quirúrgico genera una mayor disminución en la frecuencia de detección y la cantidad de periodontopatógenos seleccionados (Aa, Pg y Tf) en placa subgingival en comparación con el tratamiento convencional mas azitromicina y control.

3. OBJETIVO GENERAL.

Determinar el efecto del uso sistémico de un probiótico en base a una cepa de *Lactobacillus rhamnosus* asociado a tratamiento periodontal no quirúrgico en pacientes con periodontitis crónica en la presencia y niveles de *Tf*, *Pg* y *Aa* después de 9 meses de seguimiento, y comparar con grupo azitromicina y control.

4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1. Detectar y cuantificar *Tf*, *Pg* y *Aa* en pacientes con periodontitis crónica antes y después de 9 meses de tratamiento, en muestras de pacientes de grupos probiótico (probiótico + destartraje + pulido y alisado radicular), azitromicina (antibiótico + destartraje + pulido y alisado radicular) y control (placebo + destartraje y pulido y alisado radicular).
2. Comparar la detección y cuantificación de *Tf*, *Pg* y *Aa* en pacientes con periodontitis crónica antes y a los 9 meses después del tratamiento, para grupos probiotico (probiótico + destartraje y pulido y alisado radicular), azitromicina(antibiótico + destartraje + pulido y alisado radicular) y control (placebo + destartraje y pulido y alisado radicular).

5. MATERIALES Y METODOS

Se realizó un ensayo clínico aleatorizado, de diseño paralelo, enmascarado y controlado mediante y placebo para evaluar el efecto de probióticos y antibiótico en conjunto con el tratamiento periodontal no quirúrgico de pulido y alisado radicular (PAR).

UNIVERSO

Pacientes de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile y voluntarios que manifestaron su intención de participar en el estudio.

MUESTRA

El tamaño muestral (Camacho-Sandoval J, 2008) fue calculado considerando:

-Diferencia (d) \geq 1mm entre los grupos para cambios en el promedio del nivel de inserción clínica.

-Desviación estándar (S) de 1mm

- $\alpha=0.05$

-Poder estadístico (1- β)= 80%

$$n = \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \cdot S^2}{d^2}$$

$Z_{\alpha}=1.960$

$Z_{\beta}=0.842$

S=1

d=1

El tamaño de cada grupo deberá ser de 15 individuos en cada grupo de estudio.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Los pacientes debían:

- 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 tienen ≥ 5 dientes con profundidad al

sondaje ≥ 4 mm, pérdida de inserción clínica ≥ 1 mm, sangrado al sondaje $\geq 20\%$ de los sitios y pérdida ósea alveolar determinada radiográficamente (Van der Velden 2005).

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes que hayan recibido tratamiento periodontal previo al examen periodontal.
- Pacientes con enfermedades sistémicas que afecten el curso natural de la enfermedad (diabetes mellitus no controlada), estado de gravidez o lactancia.
- Pacientes en terapia con anticoagulantes o antiinflamatorios no esteroidales en los seis meses anteriores al estudio.
- Pacientes que recibieron terapia antibiótica sistémica en los 6 meses anteriores al estudio (Herrera y cols, 2008).
- Se excluyeron personas con alergia a la azitromicina.

DISTRIBUCION

A cada participante del estudio se le asignó un número durante la inscripción por parte del coordinador del estudio. Los pacientes con periodontitis crónica, fueron distribuidos aleatoriamente en 3 grupos de tratamiento: 1) Control (destartraje + pulido y alisado radicular (PAR) + placebo), 2) Azitromicina (destartraje + PAR + azitromicina) y 3) Probiótico (destartraje + PAR + probiótico). La distribución aleatoria se determinó por computadora, con asignación secreta, utilizando sobres opacos, sellados y numerados secuencialmente. El coordinador del estudio estuvo a cargo de la asignación secreta. Los pacientes reclutados, se distribuyeron aleatoriamente a los grupos control y experimental, acorde a edad, sexo y nivel de tabaquismo utilizando una tabla de aleatorización.

CALIBRACION PARA EL TRATAMIENTO PERIODONTAL

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, HuFriedy, 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), 3, 6 y 9 meses.

TRATAMIENTO PERIODONTAL

Todos los grupos fueron instruidos en técnicas de higiene oral y cepillado manual. El destartraje y PAR, se realizó de 1 sextante por sesión, 1 sesión por semana, utilizando ultrasonido e instrumentos manuales, una vez terminada la última sesión de destartraje y PAR, se comenzó la administración del probiótico. Se realizó terapia periodontal de soporte cada 3 meses, monitoreando el cumplimiento individual, su historia médica y su dieta a lo largo del estudio. El estudio fue ciego para los pacientes y el personal a cargo, solo el coordinador del estudio supo la distribución. Solo una vez terminado el estudio, fue revelada la distribución

ADMINISTRACION DE PROBIOTICO, AZITROMICINA Y PLACEBO

-Grupo Probiótico: se le administró *L. rhamnosus SP1* (2×10^7 unidades formadoras de colona (UFC)/día), durante 3 meses posterior al tratamiento periodontal. La dosis fue de 1 sachet por día, tomado por vía oral. Se instruyó a los pacientes para que disolvieran el contenido del sachet en 150mL de agua de la llave y tomarlo una vez al día, después de que se cepillaran los dientes.

-Grupo Azitromicina: se le administró 1 cápsula de 500mg de azitromicina 1 vez al día, durante 5 días, posterior al tratamiento periodontal. Además, se les administró un placebo con igual apariencia, textura y sabor que el probiótico, pero sin el microorganismo.

-Grupo Placebo: debieron consumir un placebo con idéntica textura, sabor y apariencia que los sachet de probiótico, durante el mismo periodo de tiempo que el grupo probiótico y una cápsula placebo con la misma apariencia que el antibiótico, pero sin el fármaco. .

TOMA DE MUESTRA SUBGINGIVAL

En primera instancia, se removieron los depósitos supragingivales con ultrasonido, y posteriormente se aisló con torúlas de algodón y secó con aire. Luego, un examinador calibrado previamente, con puntas de papel esteriles, colectó muestras subgingivales desde el saco periodontal, del sitio mas afectado de cada

cuadrante, acorde al protocolo existente. Las muestras microbiológicas subgingivales 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.) por un tiempo de 20 segundos. Las muestras de cada paciente fueron almacenadas en un vial con 2 ml de fluido de transporte pre-reducido (RTF) sin EDTA a 4°C. Los viales con las muestras fueron transportados a esta temperatura al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, y procesadas antes de 2 horas.

La colección de muestras de placa subgingival será realizada el día 0, a los 3, 6, y 9 meses posteriores al tratamiento periodontal no quirúrgico.

PROCESAMIENTO MICROBIOLÓGICO

Las muestras fueron dispersadas y mezcladas por 45 segundos agitando en un vórtex-mixer, seguido de diluciones seriadas en PBS (buffer fosfato esteril pH 7,4) de la suspensión bacteriana mantenida en RTF.

Para la detección y cuantificación de *Tf* y *Pg* se realizó lo siguiente: Alícuotas de 100 µl de la dilución apropiada (10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3}) se sembró en Agar Sangre Hemina Menadiona (Moffatt y cols, 2011). Las placas fueron incubadas anaeróticamente a 37°C por 14 días en jarras herméticas con generadores de anaerobiosis (Anaerogen®, Oxoid®).

Para la detección y cuantificación de *Aa*, alícuotas de 100 µl de una muestra sin diluir y diluida 10^{-1} se sembró en Agar TSVB (Slots 1982), Las placas fueron incubadas en jarra con vela a 37°C por 24 horas hasta 5 días.

IDENTIFICACION MICROBIOLÓGICA

La identificación microbiológica por técnica clásica: se efectuó de acuerdo a Slots J. (1986). Se realizó un análisis de la microbiota total cultivada en condiciones de anaerobiosis, una vez cumplido el plazo de incubación. Se ejecutó una detección macro morfológica de colonias con una lupa estereoscópica (Stemi 2000-C ®), y posteriormente se realizó un análisis fenotípico y de producción de pigmentos. Se midió la emisión de fluorescencia para colonias pigmentadas de negro, bajo luz UV en un visor de onda larga (360nm) (UVP Upland™, modelo CC-10). Este

proceso permitio la identificación de los géneros bacterianos, *Prevotella* y *Porphyromonas*, este último no fluoresce bajo la luz ultravioleta y *Prevotella* emite una fluorescencia roja. Para *Aa*, una vez identificada la morfología colonial se realizó la prueba de catalasa, positiva para este microorganismo (Slots J, 1986).

La identificación molecular: se efectuó por PCR, de acuerdo a Ashimoto (1996). Se realizó la extracción de DNA, con la técnica de boiling (Ashimoto y cols. 1996), en breve, a partir de la muestra en RTF, las muestras se calentaron en termoblock (Thomas Scientific ®) a 105-110°C durante 8 minutos, para posteriormente colocarlas en un freezer a -20°C por 8 minutos. Las muestras se centrifugaron a 13500rpm, a 4 °C por 5 minutos (EppendorfCentrifuge 5417R ®), posteriormente se extrajo el sobrenadante que contenía el ADN y se congeló a -20 C°, para ser utilizado en el análisis por PCR. La preparación de reactivos para 5µL de sobrenadantes de DNA bacteriano fueron 14,9 µL de H2O milli Q, 2,5 µL de Buffer 10x, 1,0 µL de MgCl2 50mM, 0,5 µL de 19 dNTPs 10 mM, 1,0 µL de mezcla de partidores 25 µM y 0,1 µL de Taq ADN polimerasa 5 U/MI. Se llevó a cabo el proceso de amplificación con un termociclador (Axygen ® Maxyegen ™). Para la amplificación de DNA de Tf y Pg se aplicó el siguiente protocolo de termociclado: 35 ciclos, que incluyó una desnaturalización inicial a 95°C por 2 minutos, seguidos por desnaturalización a 95°C por 30 s, alineamiento a 60°C por 1 minutos y extensión a 72°C por 3 minutos. Además, se contempló una desnaturalización inicial a 95°C por 3 minutos y una extensión final de 72°C por 10 minutos. Para la amplificación del DNA de *Aa* se realizó los mismos ciclos, variando la temperatura de alineamiento a 55°C por 1 minuto. Los productos de la reacción de PCR, fueron analizados mediante electroforesis en gel de agarosa 1,0% con Gelred™ (Biotium). Se utilizó un tamaño estándar de 100bp (100 bp DNA Ladder, Favorgen ™). El amplicon obtenido para cada aislado se determinó utilizando una fotografía digital de cada gel sometido a electroforesis. Los geles de agarosa fueron observados con un transiluminador UV (Gel Logic ™ 112) a una longitud de 302nm. Cada gel se registró digitalmente a través del sistema de captura de imágenes Gel Logic 112 (Carestream ™).

RECUESTO MICROBIANO

Mediante observación directa en lupa estereoscópica (Stemi 2000), se realizó el recuento viable de Unidades Formadoras de Colonias (UFC), el que se expresará por ml de RTF.

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variables nominales:

Variable	Tipo de variable	Definición conceptual	Definición operacional	Codificación	Unidad de medida	Índice
Sangrado al sondaje	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	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
Presencia de Pg, Tf y Aa	Dicotómica	Presencia de microorganismos en un individuo	Porcentaje de individuos con presencia de cada periodontopatógeno	Ausencia: 0 Presencia: 1	Porcentaje	

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 microbiota total cultivable (anaerobios y facultativos) de los sacos periodontales seleccionados	Número total de colonias cultivables de los sacos periodontales seleccionados por mL de RTF .	Valor numérico	UFC/mL

CONSIDERACIONES ETICAS

El protocolo de este estudio fue revisado y aprobado por el Comité Ético-Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile. Además, se rige según el marco legal que regula a los Ensayos Clínicos en Chile, y está acorde a la Declaración de Helsinki.

A cada participante que cumplió con los criterios de inclusión y exclusión, le fue entregado un consentimiento informado, que revisó y fue consentido por él,

guardando una copia el paciente y una el investigador. A todos los participantes se le informó de su salud oral. Todos los participantes fueron instruidos para mejorar su higiene oral y recibieron un tratamiento periodontal completo y terapia de mantención periodontal cada 3 meses. En caso de que el participante manifestase no seguir participando en el ensayo clínico, no se le negó el tratamiento.

ANÁLISIS DE RESULTADOS Y MÉTODOS ESTADÍSTICOS

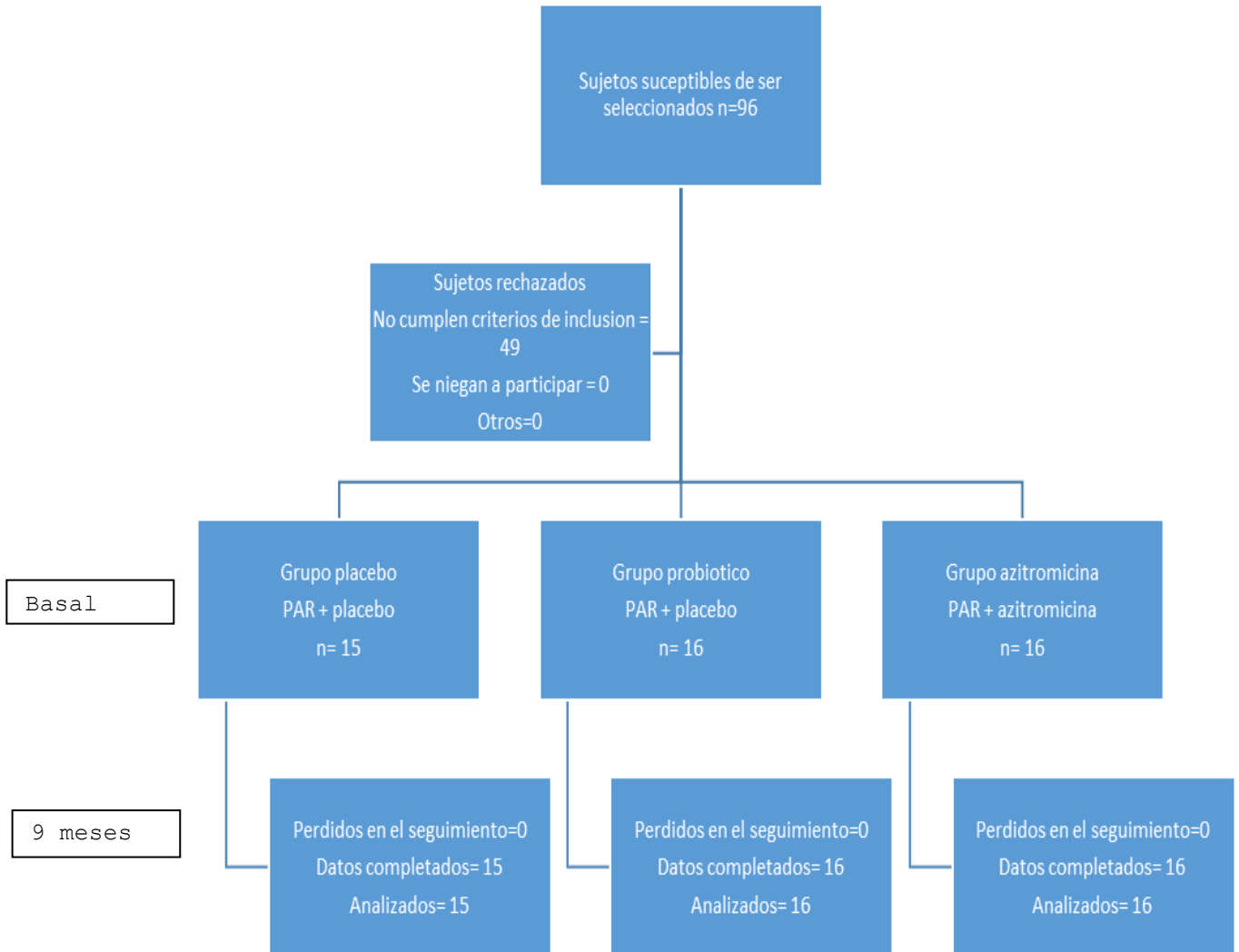
El análisis de datos se realizó según intención de tratar. Se consideró al individuo como unidad de análisis. Las variables cuantitativas continuas se reportaron calculando la media aritmética y desviación estándar, para distribución normal y mediana (p 50) y rango intercuartílico (RIC) para distribuciones dispersas. Estos valores fueron comparados dentro de los grupos y entre los grupos en los diferentes puntos de tiempo (al inicio (basal) y a los 9 meses de seguimiento). Además, se calculó la variación de las variables clínicas (medición final - mediciones intermedias y 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 ANOVA para variables cuantitativas continuas normales y para variables con distribución no normal, el test de Kruskal-Wallis, en conjunto con la prueba exacta de Fisher para las variables categóricas. El test de Wilcoxon y McNemar se utilizaron para la comparación intra-grupal.

Se consideró como significativo $p < 0,05$ 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, CollegeStation, TX).

RESULTADOS

FLUJOGRAMA



Parámetros demográficos

Se seleccionaron 47 pacientes, que cumplían con los parámetros de inclusión, los cuales fueron aleatorizados en 3 grupos, Placebo (n=15), Probiótico (n=16) y Azitromicina (n=16).

El grupo placebo presentaba 15 sujetos, 8 hombres y 7 mujeres, de los cuales 6 fumaban y 9 no. Sus edades fluctuaron entre los 42 y 70 años, con una edad media de $46,5 \pm 9,3$ años.

El grupo antibiótico presentó 16 sujetos, 10 hombres y 6 mujeres, de los cuales 3 fumaban y 13 no. Sus edades fluctuaron entre los 37 y 60 años, con una media de $49,0 \pm 7,8$.

El grupo probiótico, presento 16 sujetos, 8 hombres y 8 mujeres, de los cuales 7 fumaban y 9 no. Sus edades fluctuaban entre los 35 y 64 años, con una media de $46,5 \pm 9,3$.

En tiempo basal se compararon los grupos de manera intergrupar en los parámetros de edad, consumo de tabaco y sexo. No se observaron diferencias significativas en los parámetros demográficos ni hábitos (Tabla 1).

Tabla 1. Parámetros demográficos

Parámetro	Probiótico	Placebo	Antibiótico	p value
Fuma	7(43,7%)	6(40%)	3(18,7%)	0,344 ^a
Hombre	8(50%)	8(53,3%)	10(62,5%)	0,815 ^a
Edad(media+DE)	$46,5 \pm 9,3$	$52,6 \pm 7,5$	$49 + 7,8$	0,281 ^b

^a = Test exacto de Fisher, ^b = Test ShapiroWilk
DE: Desviación estándar

Ningún individuo abandonó el estudio, cumpliendo con las visitas clínicas basal y control de 3 meses post tratamiento. Durante el monitoreo, solo se detectó un paciente del grupo antibiótico, que presento náuseas. Sin embargo, el 100% de los individuos cumplió con la dosis establecida del medicamento, ya sea placebo, probiótico o antibiótico.

Parámetros clínicos

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

Tabla 2 Comparación intra-grupo e inter-grupo de las mediciones clínicas en tiempo basal y seguimiento (media \pm DE)

Parámetro	Tiempo	Placebo		Azitromicina		Probiótico		p value	
		Media \pm DE	Δ	Media \pm DE	Δ	Media \pm DE	Δ	media \pm DE	Δ
NIC (mm)	Basal	4,7 \pm 1,4		4,4 \pm 0,9		3,7 \pm 0,6		0,08	
	9 meses	4,2 \pm 1,4*	-0,4 \pm 0,4	4,1 \pm 1,1*	-0,3 \pm 0,4	3,4 \pm 0,6*	-0,3 \pm 0,3	0,14	0,644
PS (mm)	Basal	3,1 \pm 0,8		2,9 \pm 0,4		2,7 \pm 0,5		0,24	
	9 meses	2,4 \pm 0,5*	-0,7 \pm 0,5	2,3 \pm 0,2*	-0,5 \pm 0,3	2,2 \pm 0,3*	-0,4 \pm 0,3	0,52	0,054
IP (%)	Basal	52,5 \pm 12,5		57,3 \pm 10,2		49,1 \pm 18,1		0,08	
	9 meses	45,9 \pm 12,9*	-28,6 \pm 14,8	48,1 \pm 14,1*	-26,8 \pm 14,4	42,4 \pm 14,6*	-26,4 \pm 19,3	0,9	0,45
IS (%)	Basal	56,1 \pm 9,3		58,6 \pm 18,8		54,5 \pm 18,7		0,53	
	9 meses	27,4 \pm 13*	-6,5 \pm 16,3	31,7 \pm 14,8*	-9,2 \pm 14,9	28,0 \pm 14,6*	-6,8 \pm 13,5	0,67	0,78

DE = desviación estandar

*Análisis intra-grupal: Test de Wilcoxon, $p < 0.05$

Análisis intergrupar media \pm DE : Test de Kruskal-wallis

Análisis intergrupar Δ : Test ANOVA

- Analisis resultados:

En la tabla 2 se reportan las comparaciones inter e intra-grupales de las diferencias de las mediciones clínicas en el tiempo basal y a los 9 meses de seguimiento.

Para el grupo probiótico, a tiempo basal, el nivel de inserción clínica (NIC) fue de $3,7 \pm 0,6$ mm, una profundidad al sondaje (PS) de $2,7 \pm 0,5$ mm, un índice de placa (IP) de $49,1 \pm 18,1\%$ y un índice de sangrado de $54,5 \pm 18,7\%$.

Para el grupo antibiótico, a tiempo basal, el NIC fue de $4,4 \pm 0,9$ mm, PS de $2,9 \pm 0,4$ mm, IP de $57,3 \pm 10,2\%$ y un índice de sangrado (IS) de $58,6 \pm 18,8\%$.

Para el grupo Placebo, a tiempo basal, el NIC fue de $4,7 \pm 1,4$ mm, PS de $3,1 \pm 0,8$ mm, IP de $52,5 \pm 12,5\%$ y un índice de sangrado (IS) de $56,1 \pm 9,3\%$.

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

Para el grupo probiótico, a los 9 meses, el NIC fue de $3,4 \pm 0,6$ mm, la PS $2,2 \pm 0,3$ mm, el IP $42,4 \pm 14,6\%$ y el IS $28,1 \pm 14,6\%$. Al análisis intra-grupal, los 4 parámetros presentaron diferencias estadísticamente significativas a los 9 meses comparadas con el nivel basal.

Para el grupo Antibiótico, a los 9 meses, el NIC fue de $4,1 \pm 1,1$ mm, la PS $2,3 \pm 0,2$ mm, el IP $48,1 \pm 14,1\%$ y el IS $31,7 \pm 14,8\%$. Al análisis intra-grupal, los 4 parámetros presentaron diferencias estadísticamente significativas a los 9 meses comparadas con el nivel basal.

Para el grupo placebo, a los 9 meses, el NIC fue de $4,2 \pm 1,4$ mm, la PS $2,4 \pm 0,5$ mm, el IP $45,9 \pm 12,9\%$ y el IS $27,4 \pm 13,1\%$. Al análisis intra-grupal, los 4 parámetros presentaron diferencias estadísticamente significativas a los 9 meses comparadas con el nivel basal.

El promedio de los parámetros clínicos estudiados, entre la visita basal y los 9 meses, no fue significativamente diferente al comparar los grupos placebo, antibiótico y probiótico.

Para el grupo probiótico, la variación de inserción clínica entre el nivel basal y

los 9 meses (Δ NIC) es de $-0,3 \pm 0,3$ mm, con una variación de profundidad de sondaje (Δ PS) de $-0,4 \pm 0,3$ mm, una variación del índice de placa (Δ IP) de $-26,4 \pm 19,3\%$ y una variación de índice de sangrado (Δ IS) de $-6,8 \pm 13,5\%$.

Para el grupo Antibiótico, la variación entre el nivel basal y los 9 meses es de Δ NIC es de $-0,3 \pm 0,4$ mm, con un Δ PS de $-0,5 \pm 0,3$ mm, un Δ IP de $-26,8 \pm 14,4\%$ y Δ IS de $-9,2 \pm 14,9\%$.

Para el grupo Placebo, Δ NIC es de $-0,4 \pm 0,4$ mm, con un Δ PS de $-0,7 \pm 0,5$ mm, un Δ IP de $-28,6 \pm 14,8\%$ y Δ IS de $-6,5 \pm 16,3\%$.

Al realizar un análisis intergrupar, no fue posible encontrar diferencias significativas entre las variaciones intergrupales al comparar los grupos placebo, antibiótico y probiótico.

Parametros microbiológicos

- **Recuento de Microbiota total cultivable (MTC)**: En la tabla 3 se informan las medianas, rangos intercuartílicos (RIC) y variación de estos mismos, de la microbiota total cultivable, para cada grupo de estudio, informados en 10^5 UFC/mL, durante el tiempo basal y 9 meses de seguimiento.

Tabla 3 MTC basal y 9 meses post tratamiento para grupos placebo, probiótico y antibiótico

	Tiempo	Placebo				Probiótico				Antibiótico				p value mediana	p value Δ
		p50	RIC	Δ p50	Δ RIC	P50	RIC	Δ p50	Δ RIC	P50	RIC	Δ p50	Δ RIC		
MTC ($\times 10^5$ UFC/mL)	basal	10	20,2			7,6	31,85			15,5	19,9			0,51	0,51
	9 meses	2,8	24,7	-5,4	34,2	0,65	2,9	-4,6	19,95	2,2	5,9	-9,5	21,2	0,53	0,402

Mtc= Microbiota Total Cultivable

Ufc= Unidades Formadoras De Colonias

Analisis Intragrupal= Test De Shapiro-Wilk

Analisis Intergrupal Mediana = Test De Kruskal-Wallis

Analisis Intergrupal Δ = Test De Kruskal-Wallis

A nivel basal, no se observaron diferencias estadísticamente significativas intergrupales, en la mediana y RIC para la MTC (valor $p = 0,51$); con una mediana de 10×10^5 UFC/mL y un RIC de $20,2 \times 10^5$ UFC/mL para el grupo placebo, una mediana de $7,6 \times 10^5$ UFC/mL y un RIC de $31,9 \times 10^5$ UFC/mL para el grupo Probiótico y una mediana de 16×10^5 UFC/mL y un RIC de $19,9 \times 10^5$ UFC/mL para el grupo antibiótico.

Al realizar el análisis intra-grupal y comparar los niveles basales de MTC y la existente a los 9 meses, se puede apreciar una disminución en los 3 grupos, si analizamos sus respectivas variaciones de p 50 para cada grupo, se obtiene que placebo $-5,4 \times 10^5$ UFC/mL (p value=0,39), probiótico $-4,6 \times 10^5$ UFC/mL (p value=0,16) y antibiótico $-9,5 \times 10^5$ UFC/mL (p value=0,07), sin ser estadísticamente significativa para ningún grupo ($p > 0,05$).

A los 9 meses no se observaron diferencias estadísticamente significativas intergrupales, en la mediana y RIC para la MTC (valor $p = 0,53$), con una mediana de $2,8 \times 10^5$ UFC/mL y un RIC de $24,7 \times 10^5$ UFC/mL para el grupo placebo, una mediana de $0,7 \times 10^5$ UFC/mL y un RIC de $2,9 \times 10^5$ UFC/mL para el grupo Probiótico y una mediana de $2,2 \times 10^5$ UFC/mL y un RIC de $5,9 \times 10^5$ UFC/mL para el grupo antibiótico.

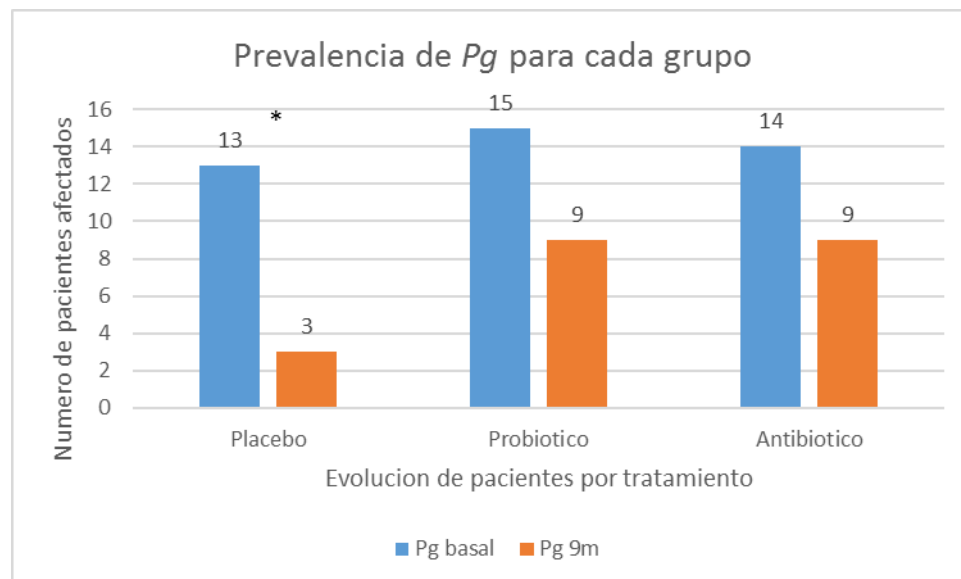
- **Prevalencia de *Pg*, *Aa* y *Tf***

No hubo diferencias inter-grupales estadísticamente significativas en el tiempo basal para *P. gingivalis*; con una prevalencia de un 87% para el grupo placebo, un 94% para el grupo probiótico y un 88% para el grupo antibiótico (valor $p = 0,86$). *A. actinomycetemcomitans*, por su parte, tampoco presenta diferencias inter-grupales basales; siendo su prevalencia de 0% en el grupo placebo, un 23% para el grupo probiótico y un 23% en el grupo antibiótico (valor $p = 0,22$). Para *T. forsythia*; su prevalencia es de 100% para los 3 grupos; placebo, probiótico y azitromicina (valor $p = 1,000$).

Al análisis de los 9 meses, no hubo diferencias significativas inter-grupales en la prevalencia de *P. gingivalis*; siendo de un 20% para el grupo placebo, un 56% para el grupo probiótico y un 44% para el grupo antibiótico (valor $p = 0,07$). Para *A. actinomycetemcomitans*, por su parte, tampoco presenta diferencias inter-grupales; siendo su prevalencia de 33% en el grupo placebo, un 6% para el grupo probiótico y un 38% en el grupo experimental (valor $p = 1,000$). Para *T. forsythia*; su prevalencia es de 67% para el grupo placebo, un 75% para el grupo probiótico y un 69% para el grupo antibiótico (valor $p = 0,92$).

Para el análisis intra-grupal, las figuras 1, 2 y 3 resumen la variación de la prevalencia de *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans* en el tiempo de los grupos placebo, probiótico y antibiótico, respectivamente.

Figura 1: Prevalencia de *P. gingivalis*, por grupo de estudio

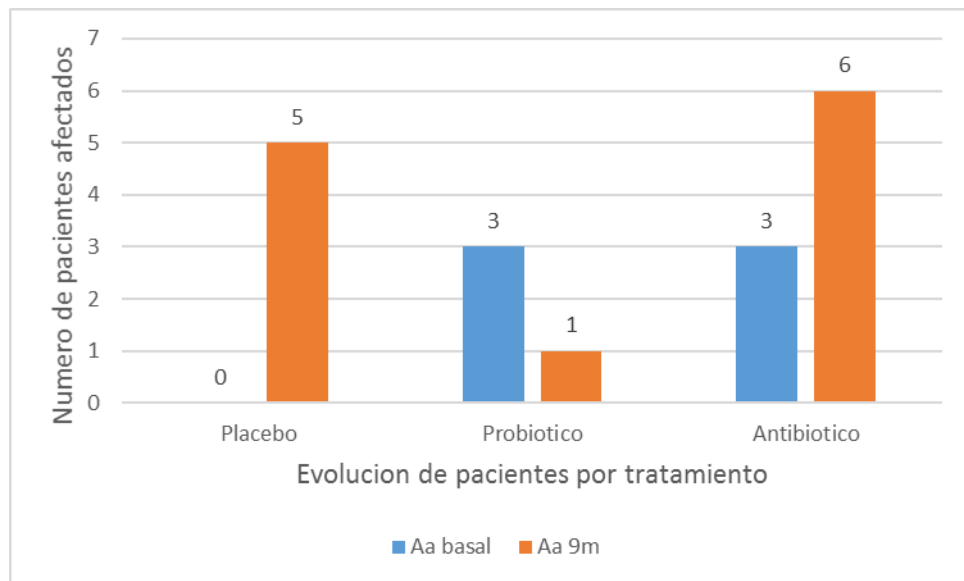


*Análisis intragrupal=Test de Wilcoxon ($p < 0,05$)

Al observar la prevalencia de *Pg* en el tiempo es posible apreciar que en el grupo placebo, esta disminuyó en un 67% a los 9 meses, respecto al tiempo basal, esta disminución fue estadísticamente significativa (*valor $p = 0,002$), en el análisis intra-grupal del grupo probiótico, existe una disminución de la prevalencia de *P. gingivalis* de un 38% a los 9 meses, respecto al tiempo basal. Sin embargo, esta disminución no es estadísticamente significativa

(valor $p = 0,07$), y finalmente en el análisis intra-grupal del grupo antibiótico, existe una disminución de la prevalencia de *P. gingivalis* de un 44% a los 9 meses, respecto al tiempo basal. Sin embargo, esta disminución no es estadísticamente significativa (valor $p = 0,06$).

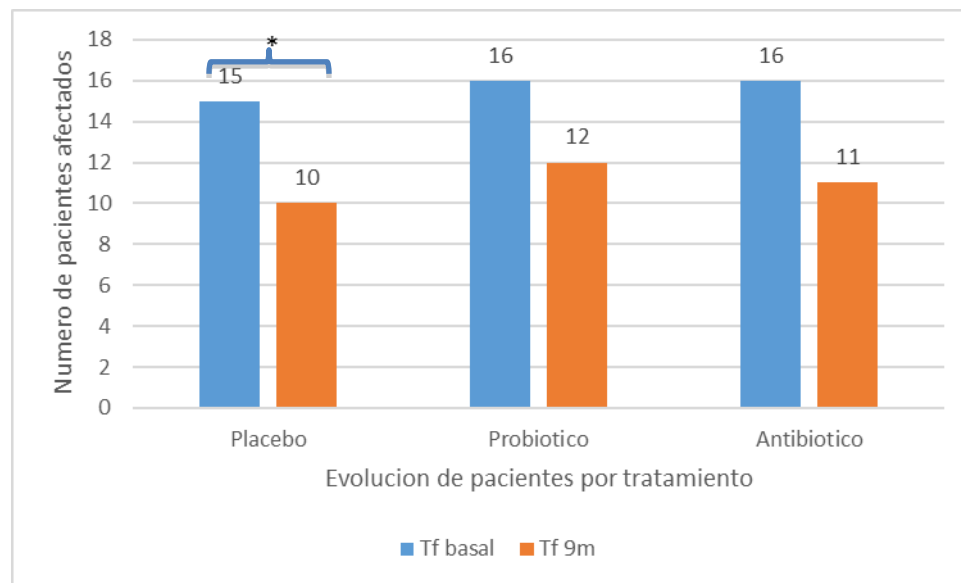
Figura 2: Prevalencia de Aa, por grupo de estudio



Análisis intragrupal=Test de Wilcoxon ($p < 0,05$)

Al observar la prevalencia en el tiempo de Aa, en el grupo placebo hubo un aumento de la presencia de Aa, un 33% del total de pacientes, sin ser este significativo estadísticamente (valor $p = 0,06$), mientras que en el grupo probiótico por su parte, disminuye su prevalencia en un 17% en el grupo experimental a los 9 meses, respecto al tiempo basal (valor $p = 0,63$), finalmente para el grupo antibiótico, aumenta su prevalencia en un 15% en el grupo experimental a los 9 meses, respecto al tiempo basal. No obstante, este aumento no es estadísticamente significativa (valor $p = 0,6$)

Figura 3: Prevalencia de *Tf*, por grupo de estudio



*Análisis intragrupal=Test de Wilcoxon ($p < 0,05$)

Al evaluar la prevalencia de *Tf* en los diferentes grupos es posible apreciar que, para el grupo placebo hay una disminución de su prevalencia de un 33% a los 3 meses, respecto al tiempo basal, esta disminución es estadísticamente significativa (valor $p = 0,03$), para el grupo probiótico se observa una disminución de su prevalencia de un 25% a los 3 meses, respecto al tiempo basal, esta disminución no es estadísticamente significativa (valor $p = 0,13$), finalmente para el grupo antibiótico, se observa una disminución de su prevalencia de un 31% a los 9 meses, respecto al tiempo basal. Esta disminución no es estadísticamente significativa (valor $p = 0,06$).

Tabla 4 Recuento de Colonias de Pg para cada tratamiento realizado

Recuento Pg	tiempo	Placebo				Probiótico				Antibiotico				p value	
		p50	RIC	Δ p50	Δ RIC	p50	RIC	Δ p50	Δ RIC	p50	RIC	Δ p50	Δ RIC	Mediana	Δ
Pg (10^5 UFC/mL)	basal	10,8	25,6			4,95	15,9			9,5	30,85			0,97	
	9 meses	0*	0	-10	25,8	0*	0	-4,95	15,9	0*	0	-6,85	25,8	0,79	0,99

*Análisis intragrupal = test de Wilcoxon ($p < 0,05$)

Cuantificación de Pg, Tf y Aa

No hubo desarrollo en cultivo de *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans* en ninguno de los tiempos evaluados.

Para *P. gingivalis* no existieron diferencias significativas a nivel intergrupar entre los 3 grupos estudiados a nivel basal (p value = 0,97). El grupo placebo a nivel basal presentó un $p50 = 10,8 \times 10^5$ UFC/mL y un RIC de $25,6 \times 10^5$ UFC/mL, para el grupo probiótico a nivel basal el $p50$ fue de $4,95 \times 10^5$ UFC/mL y un RIC de $15,9 \times 10^5$ UFC/mL, finalmente para el grupo antibiótico, el $p50 = 9,5 \times 10^5$ UFC/mL, mientras que el RIC = $30,85 \times 10^5$ UFC/mL.

A los 9 meses, en todos los grupos analizados la cuantificación de Pg fue de $p50 = 0$ y RIC = 0, lo que fue significativo de manera intra- grupal. Sin embargo, el análisis inter-grupal no fue estadísticamente significativo (p value = 0,79).

Al comparar los valores basales y los valores obtenidos a los 9 meses, para el grupo placebo se obtiene un $\Delta p50 = -10 \times 10^5$ UFC/mL y un Δ RIC $25,8 \times 10^5$ UFC/mL, para el grupo probiótico, el $\Delta p50 = -4,95 \times 10^5$ UFC/mL y el Δ RIC = $15,9 \times 10^5$ UFC/mL, y finalmente para el grupo antibiótico, el $\Delta p50 = -6,85 \times 10^5$ UFC/mL y el Δ RIC = $25,8 \times 10^5$ UFC/mL. No se encontraron diferencias significativas intergrupales.

Discusión

En el presente estudio, se realizó una comparación en el uso de azitromicina, un probiótico (en base a *Lactobacillus rhamnosus* SP1) y un placebo, como coadyuvantes al tratamiento periodontal no quirúrgico. Los individuos aleatorizados en los grupos placebo, probiótico y antibiótico, fueron considerados estadísticamente similares en los parámetros sociodemográficos, clínicos y microbiológicos al comienzo del estudio.

Al realizar el control a los 9 meses, se estableció que tanto azitromicina como probiótico, como complemento a la terapia periodontal no quirúrgica, son igual de efectivos que la terapia periodontal por sí sola (grupo placebo) en la mejoría de los parámetros clínicos (NIC, PS, IS y IP) y microbiológicos (MTC y prevalencia de *Pg*, *Tf* y *Aa*). Respecto a la cuantificación de periodontoptógenos, se observó una reducción de colonias de *Pg*, sin embargo, debido a la imposibilidad de obtener cultivos de *Tf* y *Aa*, no es posible establecer una disminución cuantitativa de estos patógenos, mas bien cualitativa.

Considerando los resultados obtenidos en su totalidad, el PAR fue efectivo en el tratamiento de ambos grupos. Comprobando que la terapia periodontal no quirúrgica es el procedimiento “*gold standard*”, que es congruente con la evidencia actualmente disponible (American Academy of Periodontology, 2000a; American Academy of Periodontology, 2000b).

Se han realizado diversos estudios en sujetos con periodontitis crónica, evaluando la eficacia de la azitromicina sistémica como complemento de la terapia periodontal no quirúrgica, estudiando los parámetros clínicos y microbiológico.

Respecto a los parámetros clínicos, algunos autores determinan que al combinar PAR con azitromicina, genera mejorías estadísticamente significativas comparado con PAR por sí sola. En el nivel de inserción clínica (NIC), por ejemplo, el grupo experimental (azitromicina) presentó mejorías estadísticamente significativas en comparación al grupo control (placebo). (Yashima y cols., 2009; Oteo y cols., 2010; Martande y cols., 2014; Mascarenhas y cols., 2005; Haffajee y cols., 2007; Gomi y cols., 2007). Estos resultados difieren de los obtenidos en el presente estudio, donde a los 9 meses, todos los grupos presentaron mejorías significativas en este parámetro, y no uno sobre otro.

Los estudios previos, establecen que existen diferencias intergrupales en pacientes tratados con azitromicina comparado al grupo sin azitromicina (Plaza y cols., 2003; Yashima y cols., 2009), resultados que difieren con nuestro estudio, donde las diferencias intra-grupales son significativas, pero no a nivel inter-grupal, en el cual PAR es suficientemente bueno por sí solo.

Respecto a la profundidad al sondaje (PS), algunos autores categorizan los sacos según su profundidad, pequeños (<4mm), moderados (4-5mm) y profundos (>6mm), los resultados de sus estudios muestran que en pacientes tratados con azitromicina, presentan mejorías estadísticamente significativas comparado con los pacientes tratados sin azitromicina, sobre todo en los sacos de mayor profundidad, versus los sacos pequeños y medianos. (Smith y cols., 2002; Mascarenhas y cols., 2005). Otros autores, no categorizan la profundidad de los sacos periodontales, sin embargo, de igual forma obtienen diferencias significativas al comparar los grupos control y experimental (Gomi y cols., 2007; Yashima y cols., 2009). Estos resultados son congruentes con este estudio, ya que la profundidad al sondaje presenta mejorías significativas para los 3 grupos evaluados, sin embargo, sería interesante evaluar el comportamiento de los grupos estratificando las profundidades de sondaje, y observar si existen diferencias entre el porcentaje de mejoría y el tiempo de esta.

Es posible observar que no todos los estudios analizados utilizan la misma dosis para administrar el antibiótico, donde solo un autor (Sampaio y cols. (2011)) consideró administrar 1 capsula de 500mg al día, por 5 días, mientras que otros autores, utilizaban 2 comprimidos de 250mg el primer día y 1 de 250mg los otros 4 días (Macarenhas y cols. (2005)), u otros autores 1 comprimido de 500mg 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). En el presente estudio se considera que administrar azitromicina de 500mg 1 vez al día, por 5 días, facilita el cumplimiento del paciente, al ser solo una vez por día y además respeta un periodo de tiempo adecuado para que el antibiótico tenga un efecto antimicrobiano adecuado, y no genere resistencia.

Por otra parte, al evaluar los parámetros microbiológicos, es posible observar una disminución de la microbiota total cultivable de los 3 grupos, sin embargo, esta no es estadísticamente significativa, de manera inter-grupal o intra-grupal. Estos

resultados contrastan con alguna de la evidencia disponible, que muestran que si existe una diferencia significativa entre usar o no azitromicina como coadyuvante. (Sefton A y cols., 1996; Oteo A y cols., 2010)

Sefton y cols (1996) realizaron el primer estudio, donde a través de técnica clásica, se evaluó la presencia y cuantificación de anaerobios pigmentados de negro durante 22 semanas, posteriores al tratamiento con azitromicina. Finalizado el estudio se observaron diferencias significativas entre la microbiota total cultivable basal y la final. (Sefton y cols., 1996)

Los resultados de ese estudio, difieren de los nuestros, debido a que los tiempos de evaluación utilizados, son mucho más cortos, mientras que el nuestro contempla un tiempo considerablemente mayor, para su evaluación. A la luz de los resultados, es posible sugerir, que los cambios microbiológicos, son más evidentes a corto plazo.

En otro estudio, realizado por Oteo y cols. (2010), evaluaron la eficacia en el tratamiento de *Pg*, *Tf* y *Aa*. Sus resultados arrojaron que existían diferencias estadísticamente significativas en la disminución de estos periodontopatógenos, al evaluarlo al mes, 3 meses y 6 meses. Resultados que contrastan con los nuestros, donde la reducción de *Pg*, *Tf* y *Aa*, no fue estadísticamente significativa para el grupo antibiótico, y tampoco fue posible encontrar diferencias entre los grupos estudiados.

Resultados que nuevamente refuerzan la idea de que la azitromicina, posee un efecto y acción temprana en el tratamiento, pero que a largo plazo no presenta mayores efectos.

En otra investigación, Yashima y cols (2009), compararon 3 grupos, uno con terapia periodontal boca completa mas azitromicina, otro con terapia periodontal boca parcial más azitromicina y el ultimo terapia periodontal boca completa más placebo, y los pacientes fueron evaluados a los 1, 3, 6 9 y 12 meses. No encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Estos resultados son congruentes con los obtenidos en este estudio, donde podemos atribuir la mejoría de los parámetros clínicos y microbiológicos, a la terapia periodontal solamente.

Los resultados del presente estudio, refuerzan la idea de que no existen efectos adicionales a la terapia periodontal no quirúrgica al combinarla con azitromicina, ya que, si bien los efectos intra-grupales son positivos y estadísticamente significativos, no puede apreciarse una diferencia intergrupala, en ningún parámetro clínico ni microbiológico. (Sampaio y cols. (2011), Han y cols. (2012)).

De acuerdo a la evidencia actual, los ensayos clínicos que utilizan a *Lactobacillus rhamnosus* SP1 se están comenzando a realizar recientemente, por lo que la bibliografía disponible para comparar su efecto es escasa. Sin embargo, revisiones sistemáticas proponen que podrían tener un efecto positivo en el tratamiento de la enfermedad periodontal, mejorando el manejo clínico, y disminuyendo el uso de terapia antibiótica conjunta (Gruner y cols, 2016).

Al igual que como ocurrió con el grupo antibiótico, se evaluaron los mismos parámetros clínicos, donde se pudo observar una mejoría en la evaluación a los 9 meses, en los 4 parámetros clínicos observados, sin embargo, esta fue estadísticamente significativa solo para el índice de placa y los valores de profundidad de sondaje, mientras que la mejoría en el nivel de inserción clínica y el índice de sangrado no fue estadísticamente significativa.

Los resultados obtenidos en este estudio, son congruentes con la literatura. Estudios realizados con otros probióticos, como *Lactobacillus reuteri* (Prodentis) han demostrado tener similares resultados al obtenido en este estudio, (Vicario y cols, 2013), realizaron un ensayo con 20 pacientes, distribuidos en 2 grupos, uno recibiría terapia periodontal convencional más probiótico de *L. reuteri*, mientras que el otro grupo sería controlado con placebo. El estudio tuvo una duración de 1 mes, durante el cual todos los días se administró placebo y probiótico. Al finalizar el estudio y controlar los pacientes, se observaron mejorías, pero no hubo diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y experimental.

Por otro lado, en 2013, se realizó un estudio para evaluar la eficacia de la terapia periodontal no quirúrgica en conjunto con un probiótico en base a *L. rhamnosus* SP1, comparado a la terapia por sí sola. Se reclutaron 28 pacientes, distribuidos aleatoriamente en 2 grupos, de 14 personas cada uno, y fueron evaluados cada 3 meses y durante un año, a los pacientes se les administró un sachet de probióticos una vez al día, durante 3 meses, al finalizar el estudio se compararon los parámetros clínicos y microbiológicos con los basales y se observó que si bien

existían mejorías en ambos grupos, estas no eran estadísticamente significativas, por lo que concluían que la terapia periodontal no quirúrgica por sí sola, era igualmente efectiva que la combinada con el probiótico (Morales y cols, 2016).

Una de las ventajas de este estudio, es el largo tiempo de evaluación que utiliza, lo que permite observar los cambios que ocurren en el mediano plazo. Similar en duración a este estudio fue realizado por Tekce y cols (2015), donde evaluaron el efecto de pastillas de *L.reuteri* en conjunto con terapia periodontal, en pacientes con periodontitis crónica controlado con placebo, en este estudio, llegaron a la conclusión, que los pacientes que recibieron el probiotico como coadyuvante, presentaron mejorías significativas comparadas con el grupo control.(Tekce, 2015).

En otro estudio de similar duración, se evaluó los efectos clínicos y bioquímicos de un suplemento con *L. reuteri* adjunto a la terapia periodontal convencional en pacientes con periodontitis crónica. Sus resultados mostraron un beneficio clínicamente relevante en sacos periodontales poco profundos, comparados con el grupo control. Dentro de sus conclusiones, establecen que el uso de *L. reuteri* podría presentar efectos protectores y participar como un reductor de riesgo para que la enfermedad progrese. (Ince y cols, 2015).

Los resultados de estos estudios se contradicen con el obtenido en el presente, ya que *L.rhamnosus* no aparenta presentar mayor efecto sobre el tratamiento de la enfermedad comparada con el grupo placebo o antibiótico.

Es necesario considerar el tratamiento y la dosificación del probiótico, ya que puede presentar distintos efectos dependiendo de esta. En otro estudio realizado por Teughels y cols, utilizaron *L. reuteri*, el cual fue administrado 2 veces al día durante 3 meses, además ellos utilizaron la técnica de boca completa para realizar la terapia periodontal. Ellos concluyeron que el uso del probiotico presenta mejorías extras asociado a la terapia periodontal. A diferencia de lo que ocurre con nuestro estudio, el probiotico fue administrado 1 vez al día durante 3 meses y la terapia periodontal, fue realizada por 1 cuadrante por sesión. Estas diferencias de administración, y de tratamiento, podrían explicar las diferencias en los resultados de ambos estudios, ya que en el nuestro el probiótico, no muestra aportar mejorías significativas al tratamiento (Teughels, 2013).

Al igual como ocurre con los parámetros clínicos, la evidencia disponible respecto a la eficacia de *L. rhamnosus* en el tratamiento respecto a los parámetros microbiológicos es escasa, en el presente estudio, se pudo observar que existe una disminución de la microbiota total cultivable, y que, además, se presenta una disminución en la detección de *Pg*, *Tf* y *Aa*, sin embargo, estas no son estadísticamente significativas a nivel intergruparal o intragrupal. Este resultado no es congruente con la bibliografía disponible.

En otro estudio, a partir de 130 voluntarios, se aislaron, 5 bacterias, con características de ser bacterias lactobacillus-like, las cuales presentaron cualidades inhibitorias sobre los siguientes patógenos, *Escherichia coli*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus Aureus* o *Candida albicans*, entre otros patógenos orales. Uno de las 5 bacterias que presento cualidades inhibitorias, antibacterianas y antimicóticas fue *L. rhamnosus* (Sookkhee y cols 2001).

En otro estudio, establecieron, que *Pg* tenia cualidades de inhibir (CXCL8) que es un quimioquina, que permite que los neutrófilos lleguen a la zona infectada, disminuyendo la respuesta inmuno inflamatoria. Los autores, para comprobar la su premisa, extrajeron células gingivales de matriz (gingival stromal stem cells o G-MSSCs) de pacientes sanos entre 20 y 24 años, luego las invadieron con *L. rhamnosus* y fueron estimuladas con *Pg*, mediante test ELISA, midieron los niveles de CXCL8, y determinaron, que las células invadidas con *L. Rhamnosus*, fueron capaces de expresar la quimioquina, pese a la presencia de *Pg* y concluyeron que el probiótico, podría presentar cualidades para modular las respuesta inmunoinflamatoria. (Mendi y cols, 2016)

Al igual como ocurre con la azitromicina, es posible observar cambios positivos para la salud oral en el grupo al cual se administró probiótico, sin embargo, esta mejora no es estadísticamente significativa, a nivel intra-grupal, ni a nivel intergruparal. Por lo cual es posible pensar que no existen efectos positivos extras en el uso del probióticos asociado a la terapia periodontal no quirúrgica.

Al comparar los ensayos clínicos, se presentan diversas dificultades. Dentro de ellas es posible mencionar las diferencias en el número de individuos, que varía de 25 hasta 100, en los estudios previamente citados. Pese a que un mayor número de sujetos le entrega al estudio mayor representatividad, la cantidad analizada en el presente estudio fue suficiente para alcanzar los objetivos y contrastar los

resultados con la literatura mundial.

Los estudios que utilizan los probióticos, como alternativas al tratamiento de salud periodontal, son pioneros en esta serie de tratamientos, por lo que encontrar ensayos clínicos que evalúen los efectos del uso de los probióticos es limitada y poco específica. Se recomienda el uso de *L.rhamnosus*, ya que forma parte de la microbiota gastrointestinal del ser humano, modulando así la respuesta inmune en niños y adultos.

Las técnicas de identificación varían mucho de un estudio a otro, en términos de sensibilidad, lo que dificulta tener un contraste efectivo de resultados, Algunos autores citados analizan resultados a través de técnicas clásicas, otros de forma molecular o en una combinación de ambas, como se realizó en este estudio.

Los criterios de inclusión de este ensayo fueron similares a la mayoría de los estudios internacionales. Pese a esto, al establecer si existe o no un hábito tabáquico, crear un perfil de enfermedades sistémicas o perfiles microbiológicos específicos, se dificulta realizar comparaciones con otros estudios.

El presente estudio, permite evaluar el efecto de 2 tratamientos a largo plazo, en situaciones donde ya existe estabilidad ecológica y se puede apreciar su efecto en la reparación de los tejidos. Además, los datos obtenidos pueden ser comparados con estudios internacionales de similar duración.

Pese a las diversidades de metodologías entre trabajos de investigación, este ensayo, permite establecer que tanto azitromicina como probiótico en base a *Lactobacillus rhamnosus* SP1 adjuntos a la terapia periodontal no quirúrgica, no presentan beneficios que avalen su uso como coadyuvantes. Por ende, lo ideal es realizar el tratamiento “*gold standard*” por sí solo, sin la necesidad de combinarlo con azitromicina o el probióticos.

Conclusiones

El uso sistémico de azitromicina o probiótico en base a *L. rhamnosus*, en conjunto con la terapia periodontal no quirúrgica no presentan efectos positivos adicionales a la terapia periodontal convencional desde el punto de vista microbiológico o clínico, por ende, según los resultados obtenidos en este estudio, el tratamiento periodontal no quirúrgico por si solo, es suficiente para el tratamiento de la periodontitis crónica.

Por otro lado, frente a la evidencia, reservar el uso de la azitromicina sistémica para otras situaciones médicas, ayudaría a limitar el uso y abuso de estos medicamentos, evitando así, la resistencia a los antibióticos por los microorganismos.

El uso de probióticos, es una realidad presente en nuestra sociedad actual, desde bebidas lácteas, incluyendo otros alimentos, con el fin de potenciar el estado de salud del hospedero. Frente al cambio de paradigma de la salud que nos enfrentamos en la actualidad y los resultados de este estudio, sería sensato evaluar el efecto protector que tengan los probióticos, como fuente de prevención, más que de tratamiento.

Referencias Bibliograficas

- Alvarez-Elcoro S, Enzler MJ.(1999)The macrolides: erythromycin, clarithromycin, and azithromycin. Mayo ClinProc;74(6):613-34.
- American Academy of Periodontology (2000). Parameter on chronic periodontitis withslight to moderatelos of periodontal support. Journal of Periodontology; 71: 853-855.
- American Academy of Periodontology (2000). Parameter on chronic periodontitis withadvanceloss of periodontal support. Journal of Periodontology ; 71: 856- 858.
- American dental association (2005), Treating periodontal deseases. Journal of american dental association, volumen 136, issue 1,127
- Amsden GW (1996). Erythromycin, clarithromycin, and azithromycin: are the differences real? ClinTher ;18(1):56-72; discussion 55.
- Ashimoto A, Shen C, Bakker I, Slots J (1996). Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. Molecular oral microbiology; 11(4), 266-273
- Burton JP, Chilcott CN, Moore CJ, Speiser G, Tagg JR. (2006)A preliminary study of the effect of probiotic Streptococcus salivarius K12 on oral malodourparameters. J ApplMicrobiol; 100: 754-764
- Caglar E, Kargul B, Tanboga I (2005). Bacteriotherapy and probiotics role on oral health. Oral Diseases; 11: 131-137
- Camacho-Sandoval J (2008), “Tamaño de Muestra en Estudios Clínicos”, Acta Médica Costarricense (AMC), Vol. 50 (1):20-21
- Díaz J, Yáñez J, Melgar S, Álvarez C, Rojas C, Vernal R (2012). Virulence and variability on *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and their association to periodontitis.Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral vol.5 no.1: 40-45

- Dimitris-Purnima.(2005) Etiology and pathogenesis of periodontal diseases. *The dental clinics of northamerica*; 49; 491-516
- Feres M, Figueiredo LC, Soares GM, Faveri M (2015). Systemic antibiotics in the treatment of periodontitis. *Periodontol 2000.*;67(1):131-86.
- Fischer JH, Sarto GE, Habibi M, Kilpatrick SJ, Tuomala RE, Shier JM, et. Al (2012). Influence of body weight, ethnicity, oral contraceptives, and pregnancy on the pharmacokinetics of azithromycin in women of childbearing age. *AntimicrobAgentsChemother*;56(2):715-24.
- Gamonal J., Mendoza C., Espinoza I., Muñoz A., Urzúa I., Aranda W. (2010). Clinical Attachment Loss in Chilean Adult Population: First Chilean National Dental Examination Survey *Journal of Periodontology*; Vol. 81, No. 10 , Pages 1403-1410
- Gencos R (1996). Current View of Risk Factors for Periodontal Diseases. *Journal of Periodontology*; 67; 1041-1049
- Gomi K, Yashima A, Iino F, Kanazashi M, Nagano T, Shibukawa N, et. Al (2007). Drug Concentration in Inflamed Periodontal Tissues After Systemically Administered Azithromycin. *Journal of Periodontology*; 78: 918-923.
- González-Piñera JG, Barreto Penié J, Rodríguez Rodríguez MA, Pino PP, Lim N.(1998) Macrólidos. *Acta Médica*;8(1):71-4.
- Gruner D, Paris S, Schwendicke F (2016). Probiotics for managing caries and periodontitis: Systematic review and meta-analysis. *Journal of Dentistry*; 48 , 16 - 25
- Haffajee AD, Socransky SS, Gunsolley JC.(2003) Systemic anti-infective periodontal therapy. A systematic review. *Ann Periodontol*;8(1):115-81
- Haffajee A, Torresyap G, Socransky S.(2007) Clinical changes following four different periodontal therapies for the treatment of chronic periodontitis: 1-year results. *Journal of Clinical Periodontology*; 34: 243-253

- Haffajee A, Patel M, Socransky S (2008). Microbiological changes associated with four different periodontal therapies for the treatment of chronic periodontitis. *Oral Microbiology and Immunology*; 23: 148-157.
- Han B, Emingil G, Özdemir G, Tervahartiala T, Vural C, Atilla G, et al. (2012) Azithromycin as an adjunct treatment of generalized severe chronic periodontitis: clinical, microbiologic, and biochemical parameters. *Journal of Periodontology*; 83: 1480-1491.
- Herrera D, Sanz M, Jepsen S, Needleman I, Roldán S. (2002) A systematic review on the effect of systemic antimicrobials as an adjunct to scaling and root planing in periodontitis patients. *J Clin Periodontol*; 29 Suppl 3:136-59; discussion 160-2.
- Herrera D, Alonso B, León R, Roldán S, Sanz M (2008). Antimicrobial therapy in periodontitis: the use of systemic antimicrobials against the subgingival biofilm. *J Clin Periodontol*; 35(8 Suppl):45-66.
- Herrera D, Alonso B, de Arriba L, Santa Cruz I, Serrano C, Sanz M. (2014) Acute Periodontal lesions. *Periodontol 2000*; 65(1):149-77
- Hirsch R, Deng H, Laohachai MN (2012). Azithromycin in periodontal treatment: more than an antibiotic. *J Periodontal Res*; 47(2):137-48.
- Imamura T (2003) The role of gingipains in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol*; 71(1): 111-118.
- Ince G, Gu'rsöy H, Ipcxi SD, Cakar G, Emekli-Alturfan E, Yılmaz S (2015). Clinical and biochemical evaluation of lozenges containing *Lactobacillus reuteri* as an adjunct to non-surgical periodontal therapy in chronic periodontitis. *J Periodontol*; 86:746- 754.
- Ji S, Choi YS, Choi Y (2015). Bacterial invasion and persistence: critical events in the pathogenesis of periodontitis? *J Periodont Res*; 50: 570–585
- Juntunen, P. Kirjavainen, A. Ouweland, S. Salminen J, and Isolauri E. (2001) Adherence of Probiotic Bacteria to Human Intestinal Mucus in Healthy Infants and during Rotavirus Infection. *Clin Diagn Lab Immunol*; 8(2): 293–296.

- Kachlany S (2010). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Leukotoxin from Threat to Therapy. *DJR*;89(6): 561-570
- Kon K, Rai M. (2016) Antibiotic resistance: mechanism and new antimicrobial approaches. 1st edition; Academic press
- Lai PC, Walters JD (2013). Azithromycin kills invasive *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in gingival epithelial cells. *AntimicrobAgentsChemother*;57(3):1347-51.
- Maezono H, Noiri Y, Asahi Y, Yamaguchi M, Yamamoto R, Izutani N, et. Al (2011). Antibiofilm effects of azithromycin and erythromycin on *Porphyromonas gingivalis*. *AntimicrobAgentsChemother*;55(12):5887-92
- Mascarenhas P, Gapski R, Al-Shammari K, Hill R, Soehren S, Fenno J, Giannobile W, Wang H.(2005) Clinical response of azithromycin as an adjunct to nonsurgical periodontal therapy in smokers. *Journal of Periodontology*; 76: 426-436.
- Martande S, Pradeep A, Singh S, Kumari M, Naik S, Suke D, Singh P.(2014) 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*; 5: 1-9.
- Matesanz-Pérez P, Matos-Cruz R, Bascones-Martínez A (2008). Enfermedades gingivales: una revisión de la literatura. *AvPeriodonImplantol*; 20, 1: 11-25
- Matsuoka T, Sugano N, Takigawa S, Takane M, Yoshinuma N, Ito K, et al (2006). Effect of oral *Lactobacillus salivarius* TI 2711 administration on periodontopathic bacteria in subgingival plaque. *Jpn Soc Periodontol*;48:315–24.
- Mendi, A, Köse, S, Uçkan, D, Akca, G, Yilmaz, D, Aral, L, et. Al (2016). *Lactobacillus rhamnosus* could inhibit *Porphyromonas gingivalis* derived CXCL8 attenuation. *Journal of Applied Oral Science*, 24(1), 67-75.
- Meurman JH, Sanz M, Janket SJ (2004). Oral health, atherosclerosis, and cardiovascular disease. *CritRev Oral BiolMed*; 15: 403-413.

- Ministerio de salud, gobierno de Chile. Encuesta nacional de salud 2009-2010. 2009-10
- MINSAL (2013) Salud Oral Integral de la Embarazada . Serie Guías Clínicas del Minsal.
- MINSAL (2013) Salud Oral Integral para pacientes adultos de 60 años. Serie Guías Clínicas del Minsal.
- Morales A, Carvajal P, Silva N, et al (2016). Clinical effects of *Lactobacillus rhamnosus* in non-surgical treatment of chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled trial with 1-year follow-up. *J Periodontol*;1–12.
- Müller H, Holderrieth S, Burkhardt U, Höffler U(2002) In vitro antimicrobial susceptibility of oral strains of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* to seven antibiotics. *Journal of Clinical Periodontology*; 29: 736-742.
- Muniz FW, de Oliveira CC, de Sousa Carvalho R, Moreira MM, de Moraes ME, Martins RS (2013). Azithromycin: a new concept in adjuvant treatment of periodontitis *EurJPharmacol*;705(1-3):135-9.
- Muñoz K, Alarcón M (2010). Efecto de los Probióticos en las Condiciones Periodontales. *Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral Vol.* 3(3); 136-139,
- Nanci-Bosshardt (2006). Structure of periodontal tissues in health and disease. *Periodontol 2000*; 40; 11-28
- Offenbacher S, Lieff S, Boggess KA, Murtha AP, Madianos PN, Champagne CM, et al (2001). Maternal periodontitis and prematurity. Part I: Obstetric outcome of prematurity and growth restriction. *Ann Periodontol*; 6: 164-174.
- Oteo A, Herrera D, Figuero E, O'Connor A, González I, Sanz M(2010). Azithromycin as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of *Porphyromonas 48 gingivalis*-associated periodontitis: a pilot study. *Journal of Clinical Periodontology*; 37: 1005-1015.

- Pajukanta R, Asikainen S, Saarela M, Alaluusua S, Jousimies-Somer H(1992). In vitro activity of azithromycin compared with that of erythromycin against *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.*; 36: 1241-1243.
- Parnham MJ, Erakovic Haber V, Giamarellos-Bourboulis EJ, Perletti G, Verleden GM, Vos R (2014) Azithromycin: mechanisms of action and their relevance for clinical applications. *PharmacolTher*; 143(2):225-45.
- Philstrom BL, MiChalowic BS, Jhonson NW (2005) Periodontal diseases. *TheLancet*; 366(9499):1809-20
- Pocolos D(2005) Infection patterns in chronic and aggressive periodontitis. *J ClinPerio*; 32:1055–1061
- Plaza JC, Gallardo F, Davila L, Rioseco M (2003). Efectos de una terapia sistémica con azitromicina en el tratamiento de la periodontitis crónica. *Avances en Periodoncia e Implantología Oral*; 16: 35-42.
- Posch, G.; Andrukhov, O.; Vinogradov, E.; Lindner, B.; Messner. P.; Holst, O. &Schäffer, C (2013). Structure and immunogenicity of the rough-type lipopolysaccharide from the periodontal pathogen *Tannerella forsythia*. *Clin. VaccinImmunol*;20(6):945-53,
- Saier Jr. M, H, Mansour N, (2005), Probiotics and Prebiotics in Human Health. *J MolMicrobiolBiotechnol*;10:22-25
- Sampaio E, Rocha M, Figueiredo LC, Faveri M, Duarte P, Gomes Lira E, Feres M (2011). Clinical and microbiological effects of azithromycin in the treatment of generalized chronic periodontitis: a randomized placebo-controlledclinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*; 38: 838-846.
- Schentag JJ, Ballow CH (1991). Tissue-directed pharmacokinetics. *Am J Med*;91(3A):5S-11S.
- Sefton A, Maskell J, Beighton D, Whiley A, Shain H, Foyle D, Smith S, Smales F, Williams J.(1996) Azithromycin in the treatment of periodontal disease. Effect on microbial flora. *Journal of Clinical Periodontology*; 23: 998-1003.

- Shimauchi H, Mayanagi G, Nakaya S, Minamibuchi M, Ito Y, Yamaki K, Hirata H (2008) Improvement of periodontal condition by probiotics with *Lactobacillus salivarius* WB21: a randomized, double-blind, placebo controlled study. *J Clin Periodontol*; 35: 897-905.
- Slots J. (1986) Rapid identification of important periodontal microorganisms by cultivation. *Oral Microbiology and Immunology*; 1: 48-55.
- Smith S, Foyle D, Daniels J, Joyston-Bechal S, Smales F, Sefton A, Williams J.(2002) 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*; 29: 54-61.
- Sookkhee, S., Chulasiri, M. and Prachyabrued, W. (2001), Lactic acid bacteria from healthy oral cavity of Thai volunteers: inhibition of oral pathogens. *Journal of Applied Microbiology*, 90: 172–179.
- Teanpaisan R, Piwat S, Dahlén G (2011) Inhibitory effect of oral *Lactobacillus* against oral pathogens. *Lett Appl Microbiol*; 53: 452-459.
- Tekce M, Ince G, Gursoy H, et al (2015). Clinical and microbiological effects of probiotic lozenges in the treatment of chronic periodontitis: A 1-year follow-up study. *J Clin Periodontol*; 42:363-372.
- Teughels W, Durukan A, Ozcelik O, Pauwels M, Quirynen M, Haytac MC (2013) Clinical and microbiological effects of *Lactobacillus reuteri* probiotics in the treatment of chronic periodontitis: A randomized placebo-controlled study. *J Clin Periodontol*; 40:1025-1035.
- Travis J, Pike R, Imamura T, Potempa J (1997). *Porphyromonas gingivalis* proteinases as virulence factors in the development of periodontitis. *J Periodontal Res*; 32(1): 120-125.
- Tripathi KD.(2008) *Farmacología en Odontología*. Pág. 438. Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd, New Delhi, India.
- Twetman S, Stecksén-Blicks C (2008). Probiotics and oral health effects in children. *International Journal of Pediatric Dentistry*; 18: 3-10

- Van Der Velden, U. (2005), Purpose and problems of periodontal disease classification. *Periodontology* 2000, 39: 13–21.
- Vicario M, Santos A, Violant D, Nart J, Giner L (2013) Clinical changes in periodontal subjects with the probiotic *Lactobacillus reuteri* Prodentis: a preliminary randomized clinical trial. *Acta OdontolScand*; 71(3-4):813-819.
- Vivekananda M, Vandana K, Bhat K (2010) Effect of the probiotic *Lactobacilli reuteri* (Prodentis) in the management of periodontal disease: a preliminary randomized clinical trial. *Journal of Oral Microbiology*, 2000-2297.
- Von Bultzingslowen I, Adlerberth I, Wold AE (2003). Oral and intestinal microflora in 5-fluorouracil treated rats, translocation to cervical and mesenteric lymph nodes and effects of probiotic bacteria. *Oral MicrobiolImmunol*; 18: 278-284.
- World health organization (2006), food and agriculture organization of the united nations. Probiotics in food. Health and nutritional properties and guidelines for evaluation. Roma
- Yanine N, Araya I, Brignardello-Petersen R, Carrasco-Labra A, González A, Preciado A, et al (2013). Effects of probiotics in periodontal diseases: a systematic review. *Clinical Oral Investigation*; 17(7):1627-34.
- Yashima A, Gomi K, Maeda N, Arai T (2009). One-stage full-mouth versus partial mouth scaling and root planning during the effective half-life of systemically administered azithromycin. *Journal of Periodontology*; 80: 1406-1413.
- Zeron (2001). Nueva clasificación de las enfermedades periodontales. *Revista ADM*; 48; 16-20
- Zhang T, Kurita-Ochiai T, Hashizume T, Du Y, Ogushi S, Yamamoto M (2010). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* accelerates atherosclerosis with an increase in atherogenic factors in spontaneously hyperlipidemic mice. *ImmunolMedMicrobiol*; 59: 143-15.

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"/>
Grupo	Adolescente	Sano	Tipo de Intervención	
	<input type="checkbox"/>	Gingivitis	<input type="text"/>	
	Adulto	Sano		
	<input type="checkbox"/>	Periodontitis		
		<input type="text"/>		
		<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	D	C	M	D	C	M	C	D	M	C	D	M	C
D	C	M	D	C	M	D	C	M	C	D	M	C	D

Pos. de la encía

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	D	C	M	D	C	M	C	D	M	C	D	M	C
D	C	M	D	C	M	D	C	M	C	D	M	C	D

Pos. de la encía

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	D	C

Pos. de la encia

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

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	D	C

Pos. de la encia

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Sondaje

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Niv. Inserción

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Indice Placa

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Sangrado

INFORMACION COMPLEMENTARIA

1. Número de dientes perdidos:

Motivo de la pérdida de dientes:

Por caries
Por sueltos
Por indicación de ortodoncia

2. Tratamiento previo de ortodoncia:

No: 0
Si: 1

3. Uso de piercing en labios o lengua:

Ubicación

No: 0
Si: 1

4. Biotipo de encía

Fino: 1
Grueso: 2



UNIVERSIDAD DE CHILE
Facultad de Odontología – Departamento de Odontología Conservadora
Ed: 12/09/2012

Facultad de Odontología
Universidad de Chile

Proyecto de Investigación Fondecyt
Académico Responsable: Jorge Gamonal

CONSENTIMIENTO INFORMADO – ADULTOS

Antecedentes Generales

Usted ha sido invitado a participar voluntariamente en un estudio patrocinado por Fondecyt Regular, 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 enfermedades periodontales (gingivitis y periodontitis) corresponden 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 involucrados en inflamación.

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.

En el presente estudio habrá un grupo placebo, y las personas afectadas por gingivitis o periodontitis recibirán tratamiento estándar o experimental con probióticos.

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 de 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 la unión de la encía con el diente) 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 probióticos (microorganismos vivos que al ingerirse ejercen efectos benéficos para la salud) durante 6 meses y que grupo de pacientes estara sin usar probióticos.

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

Dpto. de Odontología Conservadora/Olivos N°943, Independencia ☎: 97818



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.

Los pacientes que luego de ingresar al estudio manifiesten después del análisis clínico que no han obtenido la mejoría deseada, serán atendidos profesionalmente sin costo alguno por los profesionales integrantes del proyecto de investigación.

Beneficios 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 la higiene bucal (cepillo dentario, cepillo interproximal, seda y enjuagatorios).

Otra ventaja es que se les dará a conocer y se consignará 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.

Riesgos 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.

En la situación de tener un imprevisto gastrointestinal por el uso de probióticos, contactarse con el Investigador Principal, quién derivará inmediatamente al Dr. José Manuel Manríquez, integrante del presente proyecto de investigación.

Se señala además que en el presente estudio no hay retribución económica.





FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

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 Ética de la Facultad de Odontología, Dr. Juan Cortés, en el fono: 9781701.

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 Testigo

Nombre _____
 Fono: _____
 Firma _____ Fecha: _____

Identificación del investigador que toma el CI

Nombre _____
 Fono: _____
 Firma _____ Fecha: _____

Identificación Inv. Resp.

Nombre: _____
 Fono: _____
 Firma _____ Fecha: _____



Anexo 3 Acta de aprobación de protocolo de investigación.



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.

María Angélica Torres V
DDS, MSc, PhD
 Presidente (S) del CEC



C/C.

Investigador Responsable

Secretaría C.E.C.

