

**CAMBIOS MICROBIOLÓGICOS TRAS LA IRRIGACIÓN SUBGINGIVAL CON ÁCIDO
HIPOCLOROSO Y CLORHEXIDINA EN PACIENTES CON PERIODONTITIS**

**Viviana Marcela Cantero Giraldo
Paula Lorena Endo Cabrera**

**UNIVERSIDAD EL BOSQUE
PROGRAMA DE ODONTOLOGÍA PERIODONCIA Y MEDICINA ORAL
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
BOGOTA DC - JULIO 2022**

HOJA DE IDENTIFICACIÓN

Universidad	El Bosque
Facultad	Odontología
Programa	Especialización en Periodoncia y Medicina Oral
Título	Cambios microbiológicos tras la irrigación subgingival con ácido hipocloroso y clorhexidina en pacientes con periodontitis
Grupo de Investigación:	Unidad de Investigación Básica Oral - UIBO
Línea de investigación	Medicina periodontal
Tipo de investigación:	Posgrado/Grupo
Estudiantes	Viviana Marcela Cantero Giraldo Paula Lorena Endo Cabrera
Director:	Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil
Co- director:	Dra. Nathaly Delgadillo
Asesor metodológico:	Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil
Asesor y análisis estadístico:	Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil

DIRECTIVOS UNIVERSIDAD EL BOSQUE

OTTO BAUTISTA GAMBOA	Presidente del Claustro
JUAN CARLOS LÓPEZ TRUJILLO	Presidente Consejo Directivo
MARIA CLARA RANGEL GALVIS	Rector(a)
NATALIA RUÍZ ROGERS	Vicerrector(a) Académico
RICARDO ENRIQUE GUTIÉRREZ MARÍN	Vicerrector Administrativo
GUSTAVO SILVA CARRERO	Vicerrectoría de Investigaciones.
CRISTINA MATIZ MEJÍA	Secretaria General
JUAN CARLOS SANCHEZ PARIS	División Postgrados
MARIA ROSA BUENAHORA TOVAR	Decana Facultad de Odontología
MARTHA LILILIANA GOMEZ RANGEL	Secretaria Académica
DIANA MARIA ESCOBAR JIMENEZ	Director Área Bioclínica
ALEJANDRO PERDOMO RUBIO	Director Área Comunitaria
JUAN GUILLERMO AVILA ALCALÁ	Coordinador Área Psicosocial
INGRID ISABEL MORA DIAZ	Coordinador de Investigaciones Facultad de Odontología
IVAN ARMANDO SANTACRUZ CHAVES	Coordinador Postgrados Facultad de Odontología
MIGUEL FERNANDO VARGAS DEL CAMPO	Director Programa de periodoncia y medicina oral
MARIA ALEJANDRA SABOGAL BASIL	Coordinadora Programa de periodoncia y medicina oral

“La Universidad El Bosque, no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia”.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Dios en primer lugar por darnos la oportunidad de culminar un proyecto más en nuestra vida.

A nuestros padres por el apoyo incondicional en este camino.

Al programa de Posgrado de Periodoncia y Medicina Oral de la Universidad el Bosque por los conocimientos brindados y apoyo durante este proceso.

Doctora Gloria Inés Lafaurie Villamil, directora del instituto UIBO, por la oportunidad de poder estar en esta investigación, por su apoyo, orientación y colaboración.

Al grupo de Investigadores del instituto UIBO, Doctoras Diana Castillo, Nathaly Delgadillo, Luz Amparo Gómez, Yineth Neuta y el doctor David Díaz por brindarnos su conocimiento y apoyo en el desarrollo de esta investigación.

A todas esas personas que nos han acompañado durante este proceso en nuestra vida.

DEDICATORIA

Dedicamos este trabajo principalmente a Dios, por habernos dado la vida y permitirnos haber llegado hasta este momento tan importante de nuestra formación profesional.

A la Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil puesto que nos brindó sabiduría y apoyo.

A la vez también dedicamos este trabajo a la UNIVERSIDAD El BOSQUE por encomendarnos la labor de realizar la presente investigación que amplía nuestra capacidad intelectual.

Dedicamos este trabajo a nuestros padres puesto que nos apoyaron y nos fortalecieron en el desarrollo y transcurso de este, ayudándonos a concluir satisfactoriamente lo encomendado.

TABLA DE CONTENIDO

Resumen	
Abstract	
	Pág.
Introducción	1
2. Marco teórico	3
3. Planteamiento del problema	10
<i>3.1 Descripción del problema</i>	10
<i>3.2 Pregunta de investigación</i>	11
4. Justificación	12
5. Situación Actual	13
6. Objetivos	16
<i>6.1 Objetivo general</i>	16
<i>6.2 Objetivos específicos</i>	16
7. Metodología del Proyecto	17
7.1. Tipo de estudio	17
7.2. Población y muestra	17
7.3. Materiales y métodos	18
7.4. Distribución de los grupos	21
7.5 Hipótesis de estudio	21
7.6 Plan de tabulación y análisis.	22
8. Consideraciones éticas.	26
9.. Resultados	27
10. Discusión	35
11. Conclusiones	39
12. Referencias bibliográficas	40
13. Anexos	46

LISTA DE TABLAS

		Págs.
Tabla 1	Listado de primers y sondas empleadas para la detección de bacterias de interés en placa subgingival. <i>Diseño de la tabla realizado por Cantero, et al; 2022.</i>	21
Tabla 2	Lista de chequeo. <i>Diseño de la tabla realizado por Cantero, et al; 2022.</i>	25
Tabla 3	Características sociodemográficas y clínicas de los pacientes de estudio. <i>Análisis realizado por Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil, datos obtenidos por la unidad de investigación UIBO, Cantero, et al ;2022.</i>	28
Tabla 4	Profundidad de bolsa y nivel de inserción. <i>Análisis realizado por Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil, datos obtenidos por la unidad de investigación UIBO, Cantero, et al;2022.</i>	29
Tabla 5	Análisis de profundidad de bolsa. <i>Análisis realizado por Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil, datos obtenidos por la unidad de investigación UIBO, Cantero, et al;2022.</i>	29
Tabla 6	Análisis nivel de inserción. <i>Análisis realizado por Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil, datos obtenidos por la unidad de investigación UIBO, Cantero, et al;2022.</i>	30
Tabla 7	Concentración de microorganismos a través del tiempo en los grupos evaluados. <i>Análisis realizado por Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil, datos obtenidos por la unidad de investigación UIBO, Cantero, et al;2022.</i>	34

LISTADO DE FIGURAS

		Págs.
Figura 1	Flujograma general. <i>Diseño de la figura realizado por Cantero, et al; 2022.</i>	23
Figura 2	Flujograma citas. <i>Diseño de la figura realizado por Cantero, et al; 2022</i>	24
Figura 3	Comparación de sustancias en T0 y T1 frente a P.g. <i>Análisis realizado por Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil y Dr. David Diaz-Baez, datos obtenidos por la unidad de investigación UIBO, Cantero, et al;2022</i>	30
Figura 4	Comparación de sustancias en T0 y T1 frente a T.f. <i>Análisis realizado por Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil y Dr. David Diaz-Baez, datos obtenidos por la unidad de investigación UIBO, Cantero, et al;2022.</i>	31
Figura 5	Comparación de sustancias en T0 y T1 frente a T.d. <i>Análisis realizado por Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil y Dr. David Diaz-Baez, datos obtenidos por la unidad de investigación UIBO, Cantero, et al;2022.</i>	32
Figura 6	Comparación de sustancias en T0 y T1 frente a E.n. <i>Análisis realizado por Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil y Dr. David Diaz-Baez, datos obtenidos por la unidad de investigación UIBO, Cantero, et al;2022.</i>	32
Figura 7	Comparación de sustancias en T0 y T1 frente a A.a. <i>Análisis realizado por Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil y Dr. David Diaz-Baez, datos obtenidos por la unidad de investigación UIBO, Cantero, et al;2022.</i>	33

RESUMEN

CAMBIOS MICROBIOLÓGICOS TRAS EL RIEGO SUBGINGIVAL CON ÁCIDO HIPOCLOROSO Y CLORHEXIDINA EN PACIENTES CON PERIODONTITIS

Antecedentes. El tratamiento periodontal incluye cambios en los hábitos de higiene bucal por parte del paciente y raspaje y alisado radicular (SRP). Sin embargo, se ha intentado mejorar su eficacia utilizando agentes antimicrobianos locales con irrigaciones subgingivales durante la SRP. La clorhexidina es un antiséptico catiónico con interesantes propiedades de sustantividad, pero múltiples estudios han reportado que este no obtuvo los posibles efectos beneficiosos debido a la escasa concentración de la sustancia en el líquido crevicular especialmente en el fondo de la bolsa después de la irrigación subgingival. Otras sustancias antimicrobianas como el ácido hipocloroso han sido estudiadas por su gran acción sobre microorganismos periodontopatógenos. **Objetivo:** Comparar la eficacia de dos métodos de irrigación (activa o pulsátil y pasiva a fondo de la bolsa) con dos sustancias antimicrobianas; ácido hipocloroso al 0.05% o clorhexidina al 0.2% en la reducción de microorganismos subgingivales en pacientes con periodontitis. **Métodos:** Este ensayo controlado aleatorio, doble ciego, incluyó diez (10) pacientes diagnosticados con periodontitis grado B en estadio III, que no han recibido terapia periodontal. La irrigación de las bolsas periodontales se realizó en seis (6) bolsas periodontales con una profundidad de 6 a 8 mm. Se tomó una muestra subgingival pretratamiento para análisis microbiano y se introdujo la punta ultrasónica en las zonas seleccionadas, rompiendo el biofilm, y luego, se activaron dos sistemas de irrigación subgingival para irrigación de las bolsas. con CHX o HOCl con irrigación pulsátil (jet) o irrigación pasiva (pas) que llevan la sustancia al fondo de la bolsa. Se realizó el análisis microbiológico mediante la reacción en cadena de la polimerasa qPCR para evaluar el microorganismo del complejo rojo. **Resultados:** Se mostró el 100% de placa bacteria y hemorragia en los 11 pacientes evaluados con enfermedad periodontal estadio II-IV grado B. La profundidad de bolsa ($p < 0.016$) y nivel de inserción ($p < 0.0155$), mostraron diferencias entre pacientes, sin embargo, no se observaron diferencias entre los sitios evaluados con los diferentes tratamientos ($p > 0.05$). En la reducción de la concentración de microorganismos, se observaron diferencias significativas en *P.g.* con tratamiento SRP +CHX a goteo ($p < 0.04$) y con *E.n* con tratamiento SRP+ Placebo goteo (0.08) y HClO goteo ($p < 0.02$). **Conclusiones:** El tratamiento SRP +CHX - HOCl - Placebo con el método de goteo demostró beneficios clínicos y podría utilizarse como coadyuvante del RAR, pero falta implementar más estudios.

Palabras clave: Riego subgingival, Microbiota, Ácido hipocloroso, Clorhexidina, Descascarillado y alisado radicular.

ABSTRACT

MICROBIOLOGICAL CHANGES DUE TO SUBGINGIVAL IRRIGATION WITH HYPOCHLOROUS ACID AND CHLORHEXIDINE IN PATIENTS WITH PERIODONTITIS

Background: Periodontal treatment includes changes in oral hygiene and scaling and root planning (SRP) and there have been attempts to improve its efficacy using local antimicrobial agents with subgingival irrigations during SRP. Chlorhexidine is an antiseptic with interesting properties but studies have reported that it did not generate the desired effects due to the low concentration in the crevicular fluid, mainly in the bottom of the pocket after irrigation. Other substances, such as hypochlorous acid, have been studied due to their action on periodontopathogenic microorganisms. **Objective:** to compare the efficacy hypochlorous acid 0.05% and chlorhexidine 0.2% as irrigation methods (active or positive and negative in the pocket) to reduce subgingival microorganisms due to periodontitis. **Methods:** This double-blind randomized controlled trial included ten patients with stage III grade B periodontitis who had not received treatment. Six pockets were irrigated at depths between 6 mm and 8 mm, a subgingival sample was taken for analysis and an ultrasound probe was introduced breaking the biofilm. The pockets were irrigated with the two systems: CHX or HOCl with active (jet) and passive irrigation leading the substance to the pocket's bottom. Microbiological analysis was with polymerase chain reaction qPCR. **Results:** 100% of plaque and haemorrhage was shown in the ten patients with stages II to IV grade B. Pocket depth ($p < 0.016$) and insertion level ($p < 0.0155$) revealed differences among patients; however, there were none among the evaluated areas with different treatments ($p < 0.05$). Significant differences were observed in the reduction of microorganisms with drip SRP+CHX ($p < 0.04$) and drip SRP+placebo (0.08) and drip HClO ($p < 0.02$). **Conclusions:** the treatment with SRP+CHX-HOCl-placebo drip generated clinical benefits and could be used as a complement of RAR but further studies are required.

Key words: subgingival irrigation, microbiota, hypochlorous acid, chlorhexidine, scaling and root planing.

1. Introducción

La periodontitis es una enfermedad inflamatoria, progresiva, multifactorial que se caracteriza por la pérdida de los tejidos duros y blandos que rodean al diente (Olsson & Lindhe, 1991). El tratamiento periodontal consiste en la implementación de hábitos de higiene oral por parte del paciente y la eliminación mecánica profesional con raspaje y alisado radicular, eliminando el biofilm subgingival (Van Dijk *et al.*, 2018). El biofilm subgingival está constituido por anaerobios Gram negativos, entre ellos *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Haffajee *et al.*).

Algunos autores utilizan otros coadyuvantes como la irrigación en bolsas periodontales profundas que podría mejorar los resultados del tratamiento, produciendo un efecto antiséptico, de arrastre y/o dilución de las bacterias subgingivales como lo son povidona yodada, clorhexidina, fluoruro de estaño, peróxido de hidrógeno, agua, solución salina, agua ozonizada, clorhexidina, metronidazol y carbonato de sodio, los cuales han sido utilizados en diferentes estudios (Van Dijk *et al.*, 2018; Sahrman *et al.*, 2015; Blanc *et al.*, 2014; Apatzidou & Kinane, 2010; Costa *et al.*, 2007; Cosyn *et al.*, 2006; Haffajee *et al.*, 2003; Wikesjö *et al.*, 1989; Schmid *et al.*, 1985).

Lo efectos de irrigación subgingival (IS) con o sin raspaje radicular han sido evaluados en resultados clínicos y microbiológicos en diferentes revisiones sistemáticas. Nagarakanti *et al.*, [2015] reportaron que presenta un beneficio clínico con dicho tratamiento con el uso adjunto de Clorhexidina; Por otro lado, Munagala *et al.*, [2011] demostró que la irrigación con tetraciclina, sin raspaje radicular mejoran significativamente los parámetros clínicos y microbiológicos.

En contraste, Lafaurie *et al.*, [2015] evaluaron que el ácido hipocloroso inhibe las bacterias presentes en el biofilm dental cuando este es utilizado a una concentración 500 ppm durante un minuto, donde se indicó que el ácido hipocloroso es una alternativa antimicrobiana para bacterias patógenas en cavidad oral (Krück *et al.*, 2012; Olsson & Lindhe, 1991).

La ventaja de la aplicación de agentes tópicos en solución de irrigación junto con la terapia convencional como la terapia de raspaje y alisado radicular es que ofrece un pequeño beneficio ayudante a largo plazo.

El presente trabajo de grado espera determinar si existen diferencias estadísticamente significativas en la irrigación subgingival antes y después con ácido hipocloroso versus clorhexidina al 0,2% versus agua en la disminución de microorganismos subgingivales en pacientes con enfermedad periodontal (Addy, 1994).

2. Marco teórico conceptual

Según la evidencia científica, el tratamiento periodontal no quirúrgico mejora los parámetros clínicos y microbiológicos del tejido gingival, pero sus efectos reportan perder efectividad a largo plazo. Por ello, se intenta prolongar su acción mediante la aplicación local de agentes antimicrobianos con irrigaciones subgingivales durante el raspaje y alisado radicular (Olsson & Lindhe, 1991).

Por esta razón, se ha conducido al uso de la irrigación subgingival con antisépticos como el digluconato de clorhexidina (CHX) al 0.12%, povidona yodada (PY) y en otros casos la simple irrigación con agua destilada (AD) o AD fisiológico (Krück *et al.*, 2012). La revisión de la literatura ha mostrado diversos estudios en donde se han evaluado los diferentes resultados de las sustancias y de la irrigación subgingival.

Wieder, *et al* [1983] en Estados Unidos, realizaron un estudio de casos y controles (n = 14) utilizando fluoruro de estaño VS clorhexidina (CHX) sin evidenciar el tiempo utilizado de irrigación, reportando que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, sin embargo, se concluyó que sólo un tratamiento de raspado y alisado radicular seguido de irrigación subgingival una vez al día con clorhexidina durante un mes, produjo una reducción en la periodontitis incluso dos meses después del cese de la irrigación subgingival. Este régimen permite un intervalo de tres meses entre las visitas de higiene oral. Posteriormente, Wan Yusof, *et al.*, en 1984 en Estados Unidos, desarrollaron un estudio de casos y controles (n=10) utilizando metronidazol vs. clorhexidina, reportando que el metronidazol redujo en mayor proporción el índice de placa y la profundidad de la bolsa en comparación con la clorhexidina. El estudio reporta que los resultados se mantuvieron durante al menos 8 semanas después de la intervención clínica.

En 1986 Watts, *et al.*, también en Estados Unidos, realizaron un ensayo clínico aleatorizado (n = 11) comparando clorhexidina vs. agua, concluyéndose que el sistema simplificado de higiene oral fue efectivo para reducir la inflamación periodontal y la profundidad de la bolsa, aunque no se observó ningún beneficio adicional significativo con el uso de CHX. Así mismo, Vignarajah, *et al.*, en 1989, en Londres, con una muestra de (n = 20) durante 60 segundos,

compararon clorhexidina con solo terapia periodontal. En este estudio, se evidenció que los valores medios para los 3 parámetros fueron claramente más bajos en el grupo de clorhexidina, tanto al final del período de tratamiento activo como hasta 2 meses después. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas. Por lo general, más sitios mostraron mejoría en el grupo de clorhexidina en todo momento. Otro estudio similar, pero evaluando *Porphyromona gingivalis*, mostró que existía una correlación positiva entre *P. gingivalis* ($r_s = 0.68$) y sangrado al sondaje ($r_s = 0.77$) (Southard *et al.*, 1989).

Jolkovsky, *et al.*, [1990] en Estados Unidos a través de un estudio longitudinal ($n = 60$) evaluaron el uso de clorhexidina VS agua durante 2 a 7 minutos. A los 3 meses, el índice gingival y las profundidades de bolsa se redujeron significativamente ($P < 0.05$) en todos los grupos de irrigación en comparación con el valor inicial. No hubo cambios significativos en los parámetros clínicos en el grupo control desde el inicio hasta los 3 meses. Igualmente, el estudio realizado por Reynolds, *et al.* [1992] en Estados Unidos, en un ensayo clínico aleatorizado ($n = 60$) demostraron que la irrigación con CHX resultó en una reducción significativamente mayor que en el grupo del agua entre los sitios que inicialmente sondeaban 4-6 mm en los 14 y 28 días posteriores al tratamiento (25% vs 13% respectivamente).

Al analizar esta misma comparación con el uso de solución salina, Morrow, *et al.* [1992] en Londres, en un ensayo clínico aleatorizado ($n = 23$) concluyeron que no hubo una reducción significativa en la profundidad de la bolsa o el índice de placa. Además, no se encontraron diferencias significativas entre el efecto de la clorhexidina o la solución salina para ninguna de las medidas de resultado.

Por otro lado, Nylund, *et al.*, [1990] en Estados Unidos en un ensayo clínico aleatorizado ($n = 20$), evaluaron la irrigación subgingival con tetraciclina VS placebo durante 6 a 9 minutos, donde se reportó que no hubo diferencias significativas entre los dientes de prueba y control para ninguno de los subgrupos en cualquier intervalo de observación.

Posteriormente, Linden, *et al.*, [1991] en Londres, mediante un ensayo clínico aleatorizado ($n = 19$) con metronidazol VS agua durante 10 segundos por sitio, no se encontraron diferencias significativas entre los procedimientos en ningún momento. Se concluyó que un

régimen de higiene oral simplificado combinado con irrigación subgingival diaria con metronidazol al 0,5% o un placebo fue eficaz para reducir la periodontitis durante al menos otras 8 semanas, y que proporcionalmente más sitios mejoraron en el grupo de metronidazol.

En contraste, los resultados reportados en el estudio de Stabholz, *et al.*, [1998] en Jerusalén, mediante un ensayo clínico aleatorizado (n=15) con clorhexidina y tetraciclina durante 60 segundos se evidenció que el BoP se redujo significativamente en tetraciclina en comparación con CHX y los sitios de control de la semana 8 después de la irrigación.

Un estudio similar realizado por Karthick, *et al.*, [2011] en India, a partir de un ECA, con clorhexidina VS tetraciclina durante 5 minutos (inicial) y posteriormente 60 segundos. La irrigación subgingival con tetraciclina HCl a una concentración de 50 mg / ml demostró una mejora significativa en los parámetros clínicos y microbianos en comparación con el control.

En cuanto al uso de aceites esenciales en la irrigación subgingival, diversos estudios han reportado los cambios clínicos en un seguimiento a corto plazo. Entre estos estudios se encuentra el de Pistorius, *et al.*, [2003] en Alemania donde compararon mediante un ensayo clínico aleatorizado los aceites esenciales VS agua durante 5 minutos. Las diferencias entre los grupos fueron significativas ($P < 0.05$). Del mismo modo, Feng, *et al.*, [2011] en Brasil, en un ensayo clínico aleatorizado (n=64) reportó una reducción significativa en PPD y BOP, así como una ganancia de CAL significativa en los dos grupos ($p < 0.001$).

Posteriormente, Yilmaz, *et al.*, [2011] en Turquía en un ECA (ensayo clínico aleatorizado) al comparar el uso de aceites esenciales VS clorhexidina durante 30 segundos (n=45) reportaron reducciones significativas en PI, GI, PD y BOP, y un aumento en CAL y HAL, a 1 y 3 meses en comparación con el valor inicial. Del mismo modo, hubo reducciones significativas en las puntuaciones de BOP del grupo de aceites esenciales en comparación con los grupos CHX y control.

Por otro lado, Krück, *et al.*, [2012] en Alemania a partir de un ECA, con povidona yodada VS clorhexidina durante 5 minutos (inicial) y posteriormente 30 segundos. Concluyeron que, la PD, CAL y BOP mejoraron significativamente en todos los grupos después de 12 meses ($P < 0.001$ a $P = 0.044$). A pesar de esto, no se observaron diferencias significativas entre los grupos para todos los sitios y sitios con PD de 4 a 6 mm al inicio del estudio.

No obstante, Nagarankanti, *et al* [2015] en Estados Unidos, en su revisión de 32 artículos mostró que debido a la evidencia insuficiente que respalda la eficacia de irrigación subgingival como un complemento de la terapia periodontal en el tratamiento de periodontitis crónica más. Se requiere una investigación científica rigurosa para evaluar la eficacia.

Sin embargo, solo algunos de estos informaron sobre el tiempo de irrigación (Nagarakanti *et al.*, 2015; Lafaurie *et al.*, 2015; Krishna *et al.*, 2011; Addy, 1994; Morrow *et al.*, 1992; Listgarten *et al.*, 1989; Vignarajah *et al.*, 1989; Southard *et al.*, 1989). Dentro de los estudios donde reportan el tiempo de irrigación, mencionan 60 segundos de irrigación (Nagarakanti *et al.*, 2015; Lafaurie *et al.*, 2015; Vignarajah *et al.*, 1989; Pistorius *et al.*, 2003) aunque en algunos se evaluaron de tiempos de 5 a 9 minutos (Krück *et al.*, 2012; Yilmaz *et al.*, 2012; Feng *et al.*, 2011; Listgarten *et al.*, 1989).

Del mismo modo, en cuanto a las sustancias más evaluadas se encuentra la CHX seguido de los aceites esenciales, otros estudios evaluaron incluso irrigación con antibióticos como la tetraciclina y metronidazol. En cuanto a las soluciones que han presentado mejores respuestas en los pacientes como disminución de la hemorragia y profundidad al sondaje son reportadas principalmente sustancias como la Clorhexidina (CHX) (Van Dijk *et al.*, 2018; Nagarakanti *et al.*, 2015; Pithon *et al.*, 2015; Sağlam *et al.*, 2013; Krishna *et al.*, 2011; Feng *et al.*, 2011; Addy, 1994; Listgarten *et al.*, 1989; Southard *et al.*, 1989).

Tomando en cuenta el papel de las bacterias en la iniciación y progresión de la enfermedad periodontal, se despertó un gran interés en el uso de antibióticos y antimicrobianos como coadyuvantes del tratamiento periodontal (Yilmaz & Bayindir, 2012; Olsson, 1991; Jolkovsky *et al.*, 1990; Wieder *et al.*, 1983). Sin embargo, la administración sistémica de antibióticos tiene el riesgo de incrementar la resistencia bacteriana, así como presentar efectos colaterales potencialmente desagradables, además de los problemas de incumplimiento por parte del paciente en seguir la posología indicada. Todas estas desventajas generadas por la administración sistémica y la razón de elegir áreas localizadas de destrucción periodontal, como furcaciones y bolsas periodontales residuales, han conducido a la puesta en práctica de dispositivos de irrigación subgingival para la administración de antisépticos, en especial el

Digluconato de Clorhexidina al 0,12%, por ser útil para desorganizar y destoxificar la placa subgingival y quitar los desechos no estructurados de las zonas inaccesibles (Van Dijk *et al.*, 2018; Nagarakanti *et al.*, 2015; Sağlam *et al.*, 2013; Krishna *et al.*, 2011; Feng *et al.*, 2011; Addy, 1994).

En cuanto a los periodontopatógenos específicos tales como *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* y *T. forsythia*, si bien se han demostrado reducciones significativas de todos ellos tras el tratamiento, el raspado y alisado radicular es insuficiente erradicarlos del nicho subgingival (Nagarakanti *et al.*, 2015; Morrow *et al.*, 1992; Wikesjö *et al.*, 1989; Wan Yusof *et al.*, 1984).

Estos hechos nos llevan a la búsqueda de diferentes estrategias para aumentar y prolongar la eficacia del tratamiento periodontal básico. En este sentido, se ha descrito una nueva modalidad terapéutica realizada con ácido hipocloroso, el cual, a pesar de poca evidencia ha demostrado ser un potente antimicrobiano posterior a la irrigación subgingival (Ravishankar *et al.*, 2015; Karadas *et al.*, 2011; Stabholz *et al.*, 1998; Watts & Newman, 1986).

Por un lado, Galván, *et al.*, [2014], en Estados Unidos mediante un ECA, con ácido hipocloroso VS agua durante 30 segundos. El grupo de enjuague de hipoclorito de sodio y el grupo de enjuague con agua, respectivamente, mostraron aumentos desde el inicio hasta los 3 meses de 94% y 29% (diferencia de 3.2 veces) en superficies vestibulares sin placa, de 19.5% y 30% (diferencia de 6.5 veces) en superficies linguales sin placa, y de 42.1% y 29% (14,5 veces de diferencia) en número de dientes sin sangrado al sondaje.

Por otro lado, Lafaurie, *et al.*, [2015] en Colombia, mediante una revisión narrativa con ácido hipocloroso mostró que el HOCl posee acción antimicrobiana sobre los microorganismos de sus efectos sobre la proliferación tisular, abren nuevos campos de estudio del HOCl como agente antiplaca y en la reducción de la inflamación gingival especialmente en pacientes con periodontitis.

Sin embargo, Gualtero, *et al.*, [2015] en Colombia, durante un estudio *in vitro* con ácido hipocloroso, mostró que ninguna de las concentraciones evaluadas de HOCl afectó la capacidad de la saliva en amortiguar los ácidos en solución a una proporción 1:1.

Finalmente, Lafaurie, *et al.*, [2018] en Colombia, en un ECA, con HOCl VS CHX VS agua, mostraron un HOCl condujo a una reducción del 33% en los recuentos bacterianos en la saliva después de 30 segundos en comparación con una reducción de 58% por CHX. El tratamiento con placebo llevó al mayor recuento de placa después de 7 horas en comparación con los grupos CHX y HOCl, aunque las diferencias no fueron significativas.

Lo anterior permite resaltar que, la irrigación subgingival se puede utilizar como monoterapia en ausencia de raspado y alisado radicular. En este sentido, si se demuestra una significativa disminución del microbiota subgingival, así como una mejoría en los índices de placa y gingival, aunque no tiene ningún efecto en detener la pérdida ósea o la pérdida de inserción (Olsson & Lindhe, 1991). Yilmaz & Bayindir, 2012; Jolkovsky *et al.*, 1990; Wieder *et al.*, 1983). Por último, se puede utilizar como coadyuvante a la terapia de mantenimiento, con unos resultados que demuestran que el uso de antisépticos mejora la higiene oral de pacientes con inadecuado control de placa. Pero existe una falta de evidencia en cuanto a su utilidad para prevenir la recolonización de la bolsa por bacterias periodontopatógenas o ayudar a incrementar el tiempo entre visitas de mantenimiento (Van Dijk *et al.*, 2018; Pithon *et al.*, 2015; Sağlam *et al.*, 2013; Yilmaz & Bayindir, 2012; Krishna *et al.*, 2011; Nylund & Egelberg, 1990).

En cuanto al estudio de Southard, *et al.*, [1989] en Estados Unidos, mediante un ECA (n= 8), con clorhexidina con y sin raspado y alisado radicular durante 60 segundos mostraron que el nivel de *P. gingivalis* se redujo aún más mediante la adición de clorhexidina al 2% y el alisado radicular. Del mismo modo el estudio realizado por Jolkovsky, *et al.*, [1990] en Estados Unidos, mediante un estudio longitudinal (n= 60), con clorhexidina VS agua durante 2 a 7 minutos. Casi todos los parámetros microbiológicos medidos mostraron una tendencia hacia una disminución en de 10 UFC durante el período de 3 meses para todos los grupos.

Resultados similares se encontraron en el estudio de Reynolds, *et al.*, [1992] en Estados Unidos, en un ECA, con clorhexidina VS agua durante 60 segundos. Donde los recuentos de espiroquetas se redujeron de manera modesta pero no significativa a los 14 días después del tratamiento entre los sitios de 4-6 mm dentro de ambos grupos de tratamiento.

De manera similar, Stabholz, *et al.*, [1998] en Jerusalén, mediante un ensayo clínico aleatorizado (n=15) con clorhexidina y tetraciclina durante 60 segundos. La evaluación por microscopía de contraste de fase reveló una reducción marcada en la distribución de organismos móviles (espiroquetas y bacilos móviles) desde la irrigación previa para todos los grupos ($p < 0,001$). Igualmente, Karthick, *et al.*, [2011] en India, a partir de un ECA, con clorhexidina VS tetraciclina durante 5 minutos (inicial) y posteriormente 60 segundos. El recuento medio de espiroquetas y bacilos móviles mostró una reducción estadísticamente significativa después del riego para todos los grupos, excepto el grupo de CHX.

En cuanto al estudio de Krück, *et al.*, [2012] en Alemania a partir de un ECA, con povidona yodada VS clorhexidina durante 5 minutos (inicial) y posteriormente 30 segundos. Los recuentos de *A. actinomycetemcomitans* y *P. gingivalis* se redujeron significativamente después de 12 meses ($P = 0.045$ y $P=0.002$) usando povidona-yodo. Se observaron diferencias significativas entre los grupos después de 3 meses para *A. actinomycetemcomitans* y *P. gingivalis*, y después de 12 meses para *I. forsythia*.

Resultados opuestos fueron reportados en el estudio de Saglam, *et al.*, [2013] en Turquía, a partir de un ECA, con ácido bórico (B) VS clorhexidina durante 30 segundos. Las cantidades de *P. gingivalis*, *T.forsythia* y *I. denticola* se redujeron significativamente en todos los grupos de tratamiento después de 1 mes ($P < 0.05$). No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos para los parámetros microbiológicos en ningún momento después del tratamiento ($P > 0.05$).

Por último, el estudio realizado por Lafaurie, *et al.*, [2015] en Colombia, mediante una revisión narrativa con ácido hipocloroso. Reportaron que, el HOCl logró inhibición bacteriana para bacterias del biofilm dental a una concentración de 0,05% a 1 min para *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Eikenella corrodens*, *Campylobacter rectus*, *Fusobacterium nucleatum*. *Candida albicans* mostró inhibición a una concentración de 0,05% a 10 minutos lo que indica más bajo poder antifúngico. A una concentración del 0,025% el HOCl mostró una inhibición parcial de las bacterias Gram positivas y bacterias entéricas evaluadas.

3. Planteamiento del problema

3.1. Descripción del problema

Aunque el tratamiento periodontal no quirúrgico ha mostrado suficiente evidencia en cuanto a mejorar los parámetros clínicos y microbiológicos del tejido gingival, sus efectos pierden efectividad en el tiempo. Por ello se pretende mejorar o alargar dichos efectos mediante el uso de agentes antimicrobianos de aplicación local, lo que ofrece un acceso sitio-específico a la terapia periodontal consiguiendo altas concentraciones del producto en las zonas infectadas y evitando las reacciones adversas inherentes al uso de medicación sistémica (Van Dijk *et al.*, 2018).

Antes de introducir esta modalidad terapéutica en la práctica diaria periodontal se deben tomar en cuenta varios requisitos, como la seguridad y eficacia del producto. En orden a establecer unos criterios en cuanto a la eficacia de estos tratamientos, el Consejo terapéutico dental, el Consejo de materiales, equipamiento e instrumentales dentales, así como la AAP, publicaron unas líneas de actuación acerca del uso de la irrigación subgingival (Ravishankar *et al.*, 2015).

De acuerdo con lo anterior, este debe conseguir un efecto significativo en cuanto a la composición de la placa subgingival, debe conseguir resultados positivos sobre los parámetros clínicos periodontales, debe obtener mejores resultados sobre la periodontitis que el raspado y alisado radicular como único tratamiento (Wikeshjö *et al.*, 1989). Asimismo, para que un agente antimicrobiano utilizado en irrigación periodontal sea efectivo debe acceder a la totalidad de la bolsa periodontal (Watts & Newman, 1986).

Sin embargo, aunque un agente antiséptico consiga llegar al fondo de la bolsa es bastante improbable, debido a la anatomía de la bolsa y al difícil acceso. Si la punta del irrigador se localiza 3 mm subgingival, el irrigante puede alcanzar una extensión apical aproximada del 70 o 90%, aunque en presencia de cálculo subgingival la penetración se ve marcadamente reducida (Renvert *et al.*, 1997).

Por consiguiente, la agregación bacteriana en biofilm puede impedir la difusión o incluso inactivar el agente antimicrobiano. Existe una falta de estudios que indiquen que la concentración mínima inhibitoria del antimicrobiano debe ser 50 veces mayor que el crecimiento bacteriano bajo condiciones planctónicas. Aun así, la sustentividad del agente puede incrementarse espontáneamente si se adhiere al tejido blando de la bolsa o al tejido dentario, lo que establece un reservorio del fármaco consiguiendo una liberación lenta del mismo (Escobar *et al.*, 2015).

Es por esto, que el presente estudio tiene como objetivo determinar si existen diferencias estadísticamente significativas en la irrigación subgingival antes y después con ácido hipocloroso versus clorhexidina al 0,2% versus agua destilada en la disminución de microorganismos subgingivales en pacientes con enfermedad periodontal.

3.2. *Pregunta de Investigación*

¿Existen diferencias estadísticamente significativas en la irrigación subgingival con ácido hipocloroso versus clorhexidina al 0,2% versus agua destilada en la disminución de microorganismos periodontopatógenos en pacientes con enfermedad periodontal?

4. Justificación

La enfermedad periodontal, es una de las principales causas de pérdida dental. La gingivitis, la forma más leve de enfermedad periodontal, es ocasionada por el biofilm que se acumula en la superficie dentaria adyacente al tejido gingival causando un rompimiento de la simbiosis presente en los microorganismos de la salud periodontal. Secundaria a esto, ocurre la disbiosis como respuesta inflamatoria a la infección por periodontopatógenos diversos como *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, entre otros; desencadenando la destrucción del tejido conectivo y del soporte óseo para dar lugar a la pérdida dental (Galván *et al.*, 2014).

El Cuarto Estudio Nacional de Salud Bucal (ENSAB IV) realizado en Colombia, comunicó para todas las formas de enfermedad periodontal (gingivitis y periodontitis) una prevalencia de 50.2% de la población; de esta cifra 17.7% de los casos corresponden a periodontitis de moderada a severa (Lafaurie *et al.*, 2015).

Es por ello, la importancia de tratamientos óptimos para la enfermedad periodontal. La irrigación subgingival como adjunto del tratamiento periodontal mecánico no quirúrgico posee capacidad de penetración hasta el fondo de las bolsas periodontales, lo cual permite un efecto sinérgico con el tratamiento mecánico periodontal logrando un mayor éxito de niveles de inserción y mantenimiento de la salud periodontal mejorando así los resultados del tratamiento (Van Dijk *et al.*, 2018; Southard *et al.*, 1989).

De esta manera, se obtienen resultados beneficiosos al incluir la irrigación subgingival dentro de la terapéutica periodontal. Por lo tanto, es importante poseer un entendimiento apropiado del manejo y aplicación clínica de los irrigantes subgingivales basada en la evidencia (Shiloah & Hovious, 1993).

Debido a esta razón, se pretende realizar este estudio el cual tiene como objetivo determinar si existen diferencias estadísticamente significativas en la irrigación subgingival antes y después con ácido hipocloroso versus clorhexidina al 0,2% versus agua destilada (AD) en la disminución de microorganismos subgingivales en pacientes con enfermedad periodontal.

5. Situación actual en el área de investigación

Después de establecer la relación que existe entre la acumulación de placa dental en el área dentro gingival y el desarrollo de inflamación periodontal adyacente a dicha área, la forma de visualizar el proceso salud/enfermedad ha cambiado en relación con la prevención, tratamiento y procedimientos de mantenimiento (Hallmon & Rees, 2003).

El tratamiento periodontal que se relacionaba solo con los procedimientos quirúrgicos ha variado mucho. El entendimiento del proceso de salud/enfermedad periodontal como un proceso infeccioso, ha hecho que este proceso se observe de una forma diferente, pasando de un punto de vista estrictamente mecánico de eliminación de bolsas a una aproximación más coherente con su etiología, tratándola mediante el control de sus agentes etiológicos (Heitz-Mayfield *et al.*, 2002).

De esta forma, en la Odontología moderna, los tratamientos periodontales no quirúrgicos, que se identifican con el control de la patogénesis de la enfermedad, vienen siendo, ahora en día, la vía más aceptable para el tratamiento de la enfermedad periodontal (Ryan, 2005).

Sin embargo, se ha comprendido que, las formas mecánicas de tratamiento de la enfermedad periodontal sean estas quirúrgicas o no quirúrgicas, tienen muchas limitaciones. Por lo tanto, se han desarrollado agentes químicos para el control de la placa, tratando de mejorar el efecto de los procedimientos mecánicos (Mejías *et al.*, 2019).

Muchos agentes químicos todavía están siendo estudiados, desde antisépticos hasta antibióticos, en formas de aplicación local o sistémica; pudiendo alcanzar mejores resultados clínicos con estas medidas de tratamiento periodontal (Yilmaz & Bayindir, 2012).

Dentro del grupo de agentes químicos estudiados, la clorhexidina parece ser uno de los más probados. Es un antiséptico catiónico, con interesantes propiedades de sustantividad, seguridad y eficacia. La forma de aplicación de estos agentes puede variar, a pesar de que la irrigación parece ser una forma simple de aplicación en la Odontología clínica (Ministerio de Salud y Protección Social, 2012). De igual manera han sido evaluadas sustancias como el

ácido hipocloroso, antibióticos, Povidona Yodada, ácido bórico entre otros (Yilmaz & Bayindir, 2012).

Actualmente nadie duda más acerca de la efectividad de los procedimientos mecánicos de control de placa. Este tipo de procedimientos siempre han sido una de las primeras herramientas clínicas para obtener salud periodontal. Sin embargo, las medidas mecánicas pueden no ser completamente efectivas. Por lo tanto, el uso de agentes químicos para el control de placa como terapia adjunta a la terapia periodontal mecánica, puede ser una buena elección. En relación con este tipo de terapia, la Clorhexidina viene siendo la opción universalmente más probada. El objetivo de usar este producto es minimizar las dificultades de la instrumentación mecánica (Watts & Newman, 1986).

La Clorhexidina ha sido utilizada en diferentes formas de aplicación: enjuagues, geles, dispositivos de liberación lenta, sprays, etc. Otra forma de aplicación de la clorhexidina es la irrigación. Han sido experimentadas diferentes formas de irrigación, por el paciente o por el profesional, supra o subgingivalmente y en periodos de tiempo diferentes. La irrigación ha sido sugerida por la Academia Americana de Periodoncia. Sin embargo, Hardy, Newman y Strahan 6 concluyeron que cuando se realiza la irrigación supragingival, el área subgingival no es alcanzada, y cuando se realiza la irrigación subgingival deliberadamente, las áreas de bolsas profundas son alcanzadas (Feng, *et al.*, 2011; Ministerio de Salud y Protección Social, 2012).

Por otra parte, muchos otros estudios no obtuvieron los mismos efectos benéficos con la irrigación con Clorhexidina, mostrando ausencia de diferencias estadísticas en los resultados, cuando fue utilizado un placebo o cuando no fue realizada una irrigación (de Freitas, 2016, Wennström, *et al.*, 1987, Haskel, *et al.*, 1986; Westling & Tynelius-Bratthall, 1984;).

A partir de esto, se han evaluado otro tipo de sustancias para la irrigación subgingival; Rahn comparó la eficacia de la povidona yodada y la clorhexidina en la prevención de bacteriemias tras una extracción dentaria. Antes de la extracción, las zonas fueron irrigadas subgingivalmente con 10% de povidona yodada o con 0,02% de clorhexidina, demostrando

un porcentaje de bacteriemias tras las exodoncias del 27% para el grupo irrigado con yodo frente al 45% para el grupo irrigado con clorhexidina (Rahn *et al.*, 1995).

En cuanto al ácido hipocloroso, Galván *et al.*, (2014) realizó un estudio donde reportó que en el grupo de enjuague de hipoclorito de sodio mostró aumentos desde el inicio hasta los 3 meses de 94% y 29% (diferencia de 3.2 veces) en superficies vestibulares sin placa, de 19.5% y 30% (diferencia de 6.5 veces) en superficies linguales sin placa, y de 42.1% y 29% (14,5 veces de diferencia) en número de dientes sin sangrado al sondaje, siendo una posible sustancia efectiva para la irrigación subgingival (Watts & Newman, 1986).

Del mismo modo, un reporte en la literatura realizado por Lafaurie *et al.*, (2018), indicó que el HOCl condujo a una reducción del 33% en los recuentos bacterianos en la saliva después de 30 segundos en comparación con una reducción del 58% por CHX. El tratamiento con placebo llevó al mayor recuento de placa después de 7 horas en comparación con los grupos CHX y HOCl, aunque las diferencias no fueron significativas. Sin embargo, esta es una sustancia que requiere de más estudios (Karadas *et al.*, 2011).

6. Objetivos

6.1. *Objetivo general*

Comparar la eficacia de la irrigación subgingival antes y después con ácido hipocloroso versus CHX al 0,2% versus agua en la disminución de microorganismos subgingivales en pacientes con enfermedad periodontal.

6.2. *Objetivos específicos*

- Evaluar de la irrigación subgingival con técnica activa pulsátil a chorro del ácido hipocloroso y la CHX como terapia adjunta a los procedimientos de raspaje y alisado radicular sobre *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *E. nodatum*, *T. denticola* y *A. actinomycetemcomitans*.
- Evaluar de la irrigación subgingival con técnica pasiva pulsátil a chorro del ácido hipocloroso y la CHX como terapia adjunta a los procedimientos de raspaje y alisado radicular sobre *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *E. nodatum*, *T. denticola* y *A. actinomycetemcomitans*.

7. Metodología del proyecto

7.1. *Tipo de estudio:* Estudio piloto con diseño experimental

7.2. *Población y muestra:* Paciente con enfermedad periodontal estadio III -B

Criterios de inclusión:

A continuación, se describen los criterios que se tendrán en cuenta para la selección de pacientes en el presente trabajo:

- Pacientes mayores de 18 años
- Pacientes sistémicamente sanos
- Pacientes con enfermedad periodontal
- Pacientes con bolsas entre 6 y 8 mm
- Pacientes que firmen el consentimiento informado

Criterios de exclusión:

- Pacientes con lesiones endo -periodontales
- Pacientes con abscesos periodontales
- Pacientes con bolsas menores a 6 mm y mayores de 8 mm
- Pacientes en estado de embarazo
- Paciente con diagnóstico de hipertensión o hipertiroidismo no controlado
- Paciente que sufren enfermedades o afecciones sistémicas (diabetes, defectos de neutrófilos polimorfonucleares cuantitativos y / o cualitativos, otros trastornos del sistema inmunitario, etc.)
- Pacientes con lesiones de furca grado II y III

7.3. *Materiales y métodos*

Se llevó a cabo un estudio piloto con diseño experimental con 10 participantes. Para el inicio del ensayo clínico se realizaron dos citas, la primera cita con un tiempo aproximado de dos horas en donde se seleccionó el paciente teniendo en cuenta protocolo Covid-19. Se tomaron datos generales, se diligenció el periodontograma y los seis sitios con bolsas periodontales mayores a 6 a 8 mm en sitios no adyacentes. Así mismo se le explicó en que consiste el procedimiento y se llenó el consentimiento informado y firma; En la segunda cita 8 días después se procedió a ejecutar el ensayo clínico, teniendo claro los puntos seleccionados anteriormente, se realizó la disgregación de la placa subgingival en el sitio específico con una punta delgada de cavitron durante 30 segundos.

a. *Toma de muestra de placa subgingival*

Para la toma de la muestra N° 1, se introdujo una punta de papel estéril N 40 en la bolsa seleccionada y se dejó durante 60 segundos cronometrados, una vez pasado el tiempo se depositó la punta usada en un tubo Eppendorf el cual se guardará -20°C hasta su procesamiento.

b. *Procedimiento clínico*

Posteriormente se realizó la irrigación del producto aleatoriamente a doble ciego en los sitios seleccionados, las cuales estuvieron compuestos de 6 grupos (HOCL 500 ppm goteo- chorro; CHX 0,2% goteo -chorro y Agua como placebo goteo -chorro) cada carpula debe contener 3 mL de cada producto, el tiempo estimado para los productos que se realizaron en chorro son 30 segundos y en goteo 1 minuto. Después de la irrigación se esperó 5 minutos para la toma de la muestra N° 2, con una punta de papel estéril N° 40 en el sitio previamente irrigado tal como se tomó la muestra anterior.

c. *Extracción de DNA para qPCR*

Para la extracción de DNA las muestras de placa subgingival N°1 y N°2 previamente guardadas en -20°C, se les agregó 200ul de Buffer TE pH 7.4 y se agitaron en un

homogenizador vortex durante 20 min, seguido de este paso se transfirió todo el líquido a un nuevo tubo Eppendorf de 1.5mL, el cual se congeló durante 1 hora a -80°C. Posterior a este paso se sometió a ebullición las muestras llevándolas a un beaker con agua destilada desionizada previamente en ebullición a 100°C por un tiempo de 20 minutos.

Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 14.000 rpm durante 10 minutos a 4°C, en centrífuga refrigerada (Microcentrifuga refrigerada, Himac-Hitachi). El sobrenadante se colocó en nuevo tubo Eppendorf estéril de 1,5mL previamente marcado como DNA, el cual fue conservado a -20°C hasta su uso.

d. Reacción de la cadena de la polimerasa qPCR

Para la cuantificación de las bacterias *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Eubacterium nodatum* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* se realizó la prueba de qPCR en donde se emplearon los primers y la sonda de hidrolisis reportados por Boutaga *et al.*, 2003 (**ver tabla #**)(51). La mezcla de reacción se hizo de acuerdo con los siguientes parámetros MgCl₂ 3 mM, buffer 1X [GoTaq Polimerasa® (Promega)], dNTPs 0,1 mM, sonda específica para *P. gingivalis* 0.9µM, primers 1µM y DNA GoTaq Polimerasa® (Promega) 0.125U.

Para la cuantificación de *T. forsythia* se realizó de acuerdo con el protocolo reportado por Morillo *et al.*, 2004 (**ver tabla #**)(52-53)., las concentraciones de reacción que se tuvieron en cuenta serán 3,5mM de MgCl₂, buffer 1X [GoTaq Polimerase®] (Promega), dNTPs a una concentración de 0.2mM, primers 2µM, sonda específica para *T. forsythia* 0,5 µM y DNA GoTaq Polimerase® (Promega) 0.125U.

Para *T. denticola* se siguió el protocolo de Yoshida *et al.*, 2004, la mezcla de reacción contenía 2.25mM de MgCl₂, buffer 1X [GoTaq Polimerase®] (Promega), dNTPs 1,5mM, primers 0,5 µM, sonda específica para esta bacteria 0,5 µM y DNA GoTaq Polimerase® (Promega) 0.125U.

Para la cuantificación *E. nodatum* fueron diseñados los primers usando la secuencia reportada en el GenBank número Z36274.1 que corresponde al gen que codifica para rRNA 16S, las secuencias de los primers y la sonda de hidrolisis se diseñaron usando el programa

Primer3Plus (<http://primer3plus.com/>), una vez obtenidas las secuencias la especificidad se genera la confirmada con Primer-BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>), el PCR *in silico*. Las condiciones de amplificación fueron estandarizadas y las finales fueron 3mM de MgCl₂, buffer 1X [GoTaq Polimerase®] (Promega), dNTPs 0,1mM, primers 1 μM, sonda específica 0,5 μM, DNA GoTaq Polimerase® (Promega) 0.125U.

La *A. actinomycetemcomitans* la mezcla de reacción contenía MgCl₂ 3 mM, buffer 1X [GoTaq Polimerase®] (Promega), dNTPs 0,2 mM, sonda específica para *A. actinomycetemcomitans* 0.5μM, primer sentido 0.3μM, primer antisentido 0.9μM y DNA GoTaq Polimerase® (Promega) 0.125U de acuerdo con el protocolo reportado por Boutaga et al, 2005

La amplificación de las muestras se realizó en un termociclador BioRad CFX 96. El protocolo a usar tuvo un ciclo de amplificación inicial de 95°C durante 10 min, seguido de 45 ciclos a 95°C durante 15 s y 60°C durante 1 min. La cuantificación absoluta se realizó con ayuda de curvas de calibración que se hicieron para cada bacteria con muestras de ADN previamente estandarizadas en el laboratorio de Microbiología Oral en la cual se puede cuantificar la cantidad de bacterias en UFC, los datos fueron convertidos a Log10 para realizar el análisis estadístico. Como controles positivos se usará ADN de cepas de referencia para cada una de las bacterias (Metodología tomada del Laboratorio UIBO Microbiología oral).

Tabla 1. Listado de primers y sondas empleadas para la detección de bacterias de interés en placa subgingival. *Diseño de la tabla realizado por Cantero, et al; 2022.*

Bacteria	Primers	Sonda	Referencia
<i>P. gingivalis</i>	F5-GCGCTCAACGTTTCAGCC-3 R5-CACGAATTCGCGCTGC-3	5- FAM- CACTGAACTCAAGCCCGGCAGTTTCA A-3- BHQ-2	Boutaga et al.,2003
<i>T. forsythia</i>	F5'-TCCCAAAGACGCGGATATCA-3' R 5'-ACGGTCGCGATGTCATTGT-3'	5'- HEX - CCGCGACGTGAAATGGTATTCTC-3' BHQ-1	Morillo et al., 2004
<i>T. denticola</i>	F-5'- AGAGCAAGCTCTCCCTTACCGT-3' R-5'-TAAGGGCGGCTTAAAATAATGA- 3'	Quasar 670- CAGCGTTCGTCTGAGCCAGGATCA- BHQ-2	Yoshida et al., 2004
<i>E. nodatum</i>	F: 5'-AAGCAACGCGAAGAACCTTA-3' R: 5'-CTCCACTGTCCGAAGAAGG-3'	FAM- CCAGGACTTGACATCCCCT- BHQ1	Instituto UIBO
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	F5'-GAA CCT TAC CTA CTC TTG ACA TCC GAA-3' R5'-TGC AGC ACC TGT CTC AAA GC-3'	S- FAM-AGA ACT CAG AGA TGG GTT TGT GCC TTAGGG- BHQ-1	Boutaga et al., 2005

7.4. Distribución de los grupos

La distribución de los grupos se realizó de acuerdo con el sistema de ingreso de la sustancia desde apical de la bolsa y desde ahí se difunde:

1. CHX activo
2. CHX pasivo
3. HOCl activo
4. HOCl pasivo
5. Placebo activo
6. Placebo pasivo

7.5. Hipótesis de estudio

Hipótesis nula: No existen diferencias estadísticamente significativas en la irrigación subgingival antes y después con ácido hipocloroso versus CHX al 0,2% versus AD en la disminución de microorganismos subgingivales en pacientes con enfermedad periodontal.

Hipótesis alterna: Si existen diferencias estadísticamente significativas en la irrigación subgingival antes y después con ácido hipocloroso versus CHX al 0,12% versus AD en la disminución de microorganismos subgingivales en pacientes con enfermedad periodontal.

7.6. *Plan de tabulación y análisis*

La tabulación se realizó por medio de una base de datos en Excel previamente establecida que permita el correcto orden y diligenciamiento. Se realizó un análisis descriptivo de las variables sociodemográficas, clínicas y de estado periodontal. Para la comparación de variables se reportan en promedio y desviación estándar se expresan en mediana y rango intercuartil.

Luego se realizó la prueba Shapiro Wilks para observar si las variables continuas presentaban distribución normal o no normal, al no tener una distribución normal se realiza un análisis no paramétrico. Al comparar entre tratamiento se Kruskal-Wallis seguidamente se complementó el análisis con (Post Hoc – Bonferroni) para establecer diferencias entre grupos para las diferencias entre el nivel base y postratamiento con un nivel de significancia del 5%.

Para el análisis de los datos de la comparación entre las bacterias antes y después se utilizó prueba de signos con rangos de Wilcoxon, que evalúa dos grupos relacionados. Todos los análisis estadísticos se realizaron en el software estadístico STATA 12 (Stata Corp, College Station, TX, EE. UU.).

Figura 1. Flujograma general. Diseño de la figura realizado por Cantero, et al; 2022.

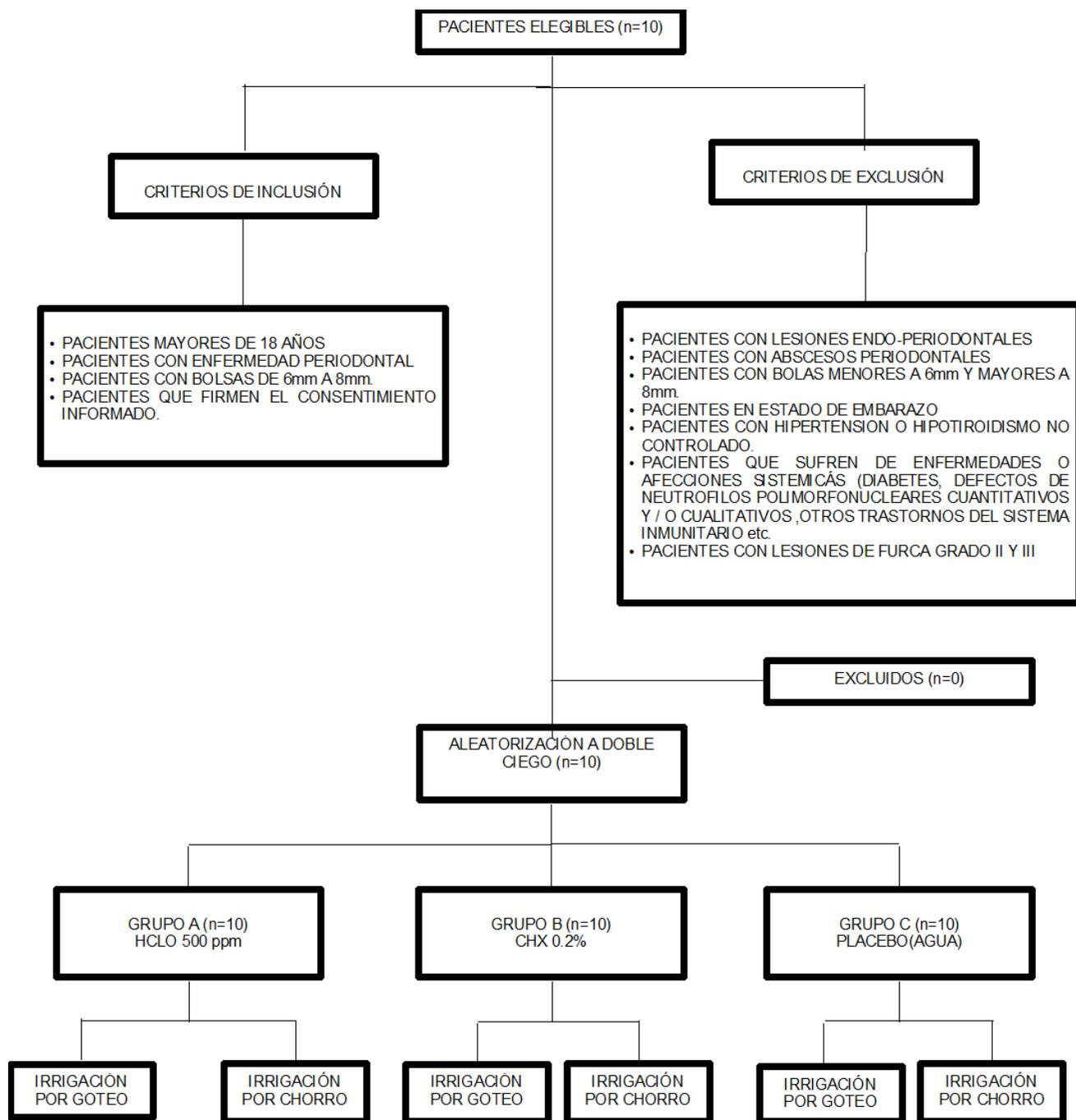


Figura 2. Flujograma citas. Diseño de la figura realizado por Cantero, et al; 2022

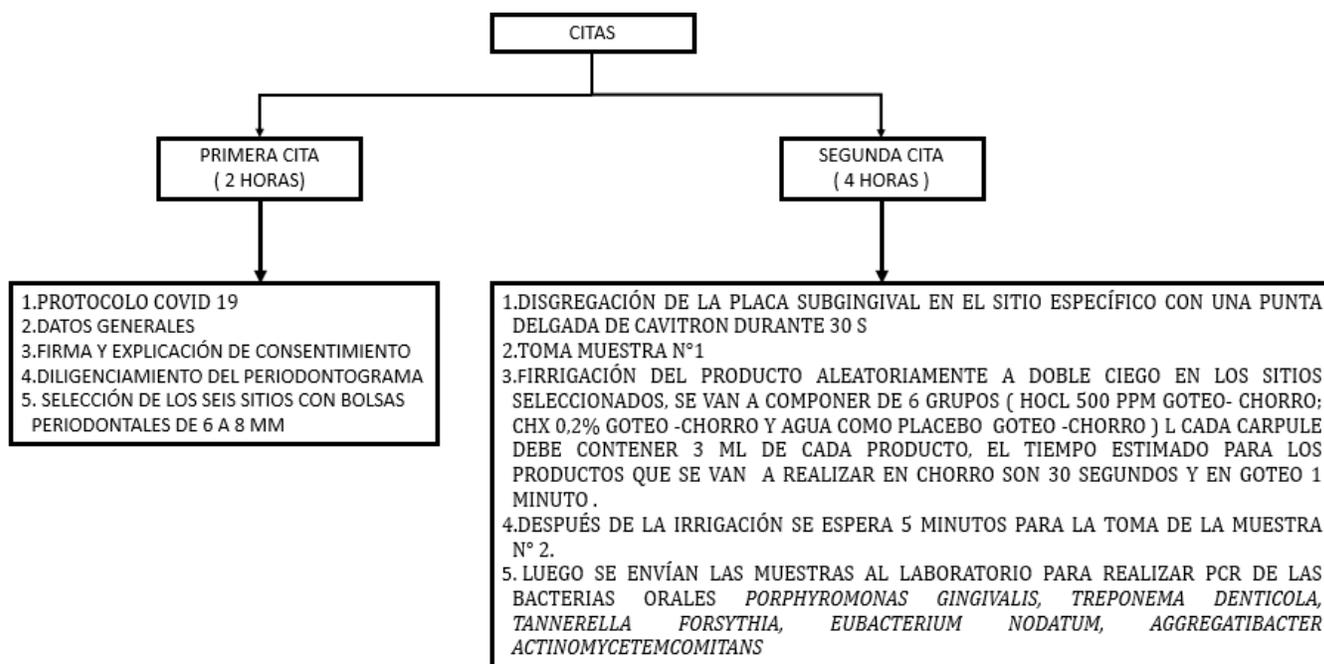


Tabla 2. Lista de chequeo. Diseño de la tabla realizado por Cantero, et al; 2022.

CITA 1 (2 HORAS)
Protocolo COVID 19
Datos generales
Firma y explicación de consentimiento
Diligenciamiento del periodontograma
Selección de los seis sitios con bolsas periodontales de 6 a 8 mm
CITA 2 (4 HORAS)
Disgregación de la placa subgingival en el sitio específico con una punta delgada de cavitrón durante 30 S
Toma muestra N°1
Irrigación del producto aleatoriamente a doble ciego en los sitios seleccionados, se van a componer de 6 grupos (HOCL 500 ppm goteo- chorro; CHX 0,2% goteo -chorro y Agua como placebo goteo -chorro) l cada cárpule debe contener 3 mL de cada producto, el tiempo estimado para los productos que se van a realizar en chorro son 30 segundos y en goteo 1 minuto .
Después de la irrigación se espera 5 minutos para la toma de la muestra N° 2.
Luego se envían las muestras al laboratorio para realizar PCR de las bacterias orales <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Treponema denticola</i> , <i>Tannerella forsythia</i> , <i>Eubacterium nodatum</i> , <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>

8. Consideraciones Éticas

Este estudio experimental, no representan ningún riesgo en la salud de los pacientes. Previo a la realización de la prueba, los pacientes deben entender y comprender en qué consiste la investigación y posteriormente darnos la autorización firmando el consentimiento informado; podrán realizar todas las preguntas necesarias para tener total conocimiento del estudio.

La información recogida en este proyecto de investigación se mantendrá confidencial (ley de habeas data de 2012). La información recogida durante la investigación, solo los investigadores tendrán acceso a verla, solo los investigadores sabrán cuál es su número de participante y se mantendrá la información bajo estricta confidencialidad.

La sustancia de irrigación que se utilizará es el ácido hipocloroso a 500 ppm, la CHX al 0.2% y el agua, la cual ya ha sido probada en diferentes estudios odontológicos y no representa ningún riesgo para la salud en las condiciones adecuadas.

9. Resultados

Se evaluaron 11 pacientes las cuales fueron intervenidos con placebo, CHX y HOCL. Se realiza la comparación con las variables sociodemográficas de la cual no se observa ninguna diferencia entre grupos según cada variable, ya que los grupos fueron similares cuando se analizó las variables (Tabla 3).

El sexo de los participantes fueron 5 mujeres y 6 hombres con edad media de 41.6 ± 7.7 , el número de dientes presentaron una media de 23.7 ± 4.7 ; los pacientes que no presentaban hábitos de fumar fueron el 8 %, el exfumador ≥ 1 año fue de 2 %, el exfumador ≤ 1 año fue el 1 %; el estadio de la Enfermedad Periodontal en los participantes fue el 6 % III y IV el 5%, grado B el 10% (Tabla 3).

En el análisis de los índices clínicos tampoco se observó diferencias. Aunque las variables continuas siguieron la distribución normal, el índice fue expresado en mediana y rango intercuartil (Tabla 3).

Los análisis de índice clínico mostraron un porcentaje de placa y hemorragia de 100%. Las bolsas profundas tuvieron una mediana 3.6 mm con un rango intercuartil (3.5 - 4.0) y nivel de inserción una mediana de 3.7 mm con un rango intercuartil (3.3 -4.2) sin observarse diferencias significativas entre los grupos. (Tabla 3)

Tabla 3. Características sociodemográficas y clínicas de los pacientes de estudio. Análisis realizado por Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil, datos obtenidos por la unidad de investigación UIBO, Cantero, et al ;2022.

Variable	Medida Resumen
Edad	41.6 ± 7.7
Media ±DS	
N° de Dientes	23.7 ± 4.7
Media ±DS	
Sexo F %	5 (45.4)
Femenino	
Masculino	6 (54.55)
Hábito de fumar F %	
Nunca	8 (72.7)
Exfumador ≥ 1 año	2 (18.1)
Exfumador ≤ 1 año	1 (9.09)
Estadio F %	
III	6 (54.55)
IV	5 (45.45)
Grado B F %	10 (100)
Placa (porcentaje)	
Mediana RIQ	100 (100-100)
Hemorragia (porcentaje)	
Mediana RIQ	100 (100-100)
Profundidad bolsa (mm)	3.6 (3.5 – 4.0)
Mediana RIQ	
Nivel de inserción (mm)	3.7 (3.3 – 4.2)
Mediana RIQ	

Luego se procedió a realizar una comparación entre paciente y los sitios evaluados la cual no se observa ninguna diferencia significativa; lo que nos llevó a evaluar el tipo de distribución de los datos.

Para la tabla 4, se observó la prueba de Shapiro Wilks profundidad de la bolsa y el nivel de inserción donde se evidencia en ambas variables no presenta una distribución normal viendo la profundidad de la bolsa presentó ($p 0.00005$) y el nivel de inserción de ($p 0.00030$). (Tabla 4)

Tabla 4. Profundidad de bolsa y nivel de inserción. Análisis realizado por Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil, datos obtenidos por la unidad de investigación UIBO, Cantero, et al;2022.

Variable		P
Bolsa	0.89627 (6.088 -3.915)	0.00005 *
Nivel inserción	0.91706 (4.868 – 3.430)	0.00030 *

Respecto a la profundidad de bolsa se realiza un análisis adicional Kruskal-Wallis, donde indica un valor p de 0.0163* donde demuestra que hay diferencia en profundidad de bolsa entre pacientes y con complementando el análisis con (Post Hoc) se observan la diferencia entre el paciente 3 y el paciente 4 (0.042); así mismo el paciente 4 con el paciente 5 -6-7(Tabla 5). Sin embargo, al comparar por sitios entre tratamientos la profundidad de la bolsa no mostró diferencias significativas ($p>0.05$).

Tabla 5. Análisis de profundidad de bolsa. Análisis realizado por Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil, datos obtenidos por la unidad de investigación UIBO, Cantero, et al;2022.

Paciente	Obs	Rank sum	P
1	6	168.50	
2	6	179.00	
3	6	168.50	
4	6	342.00	
5	6	168.50	
6	6	138.00	0.0163 *
7	6	168.50	
8	6	199.00	
9	6	209.50	
10	6	260.00	
11	6	209.50	

Se realizó el análisis del nivel de inserción con Kruskal-Wallis, el cual, indico un valor p de 0.0155* donde se observó que hubo una diferencia en el nivel de inserción entre pacientes, de igual forma se completó el análisis con (Post Hoc) y demostró diferencia en el paciente 6 entre el paciente 9 (0.042) y el 11 (0.028) (Tabla 6). Sin embargo, estas diferencias no se observaron entre sitios ($p>0.05$).

Tabla 6. Análisis nivel de inserción. Análisis realizado por Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil, datos obtenidos por la unidad de investigación UIBO, Cantero, et al;2022.

Paciente	Obs	Rank sum	P
1	6	182.00	
2	6	98.00	
3	6	241.00	
4	6	218.50	
5	6	186.00	
6	6	70.00	0.0155 *
7	6	210.50	
8	6	210.50	
9	6	288.00	
10	6	212.50	
11	6	294.00	

Posteriormente se realiza una comparación de las bacterias antes y después para cada grupo.

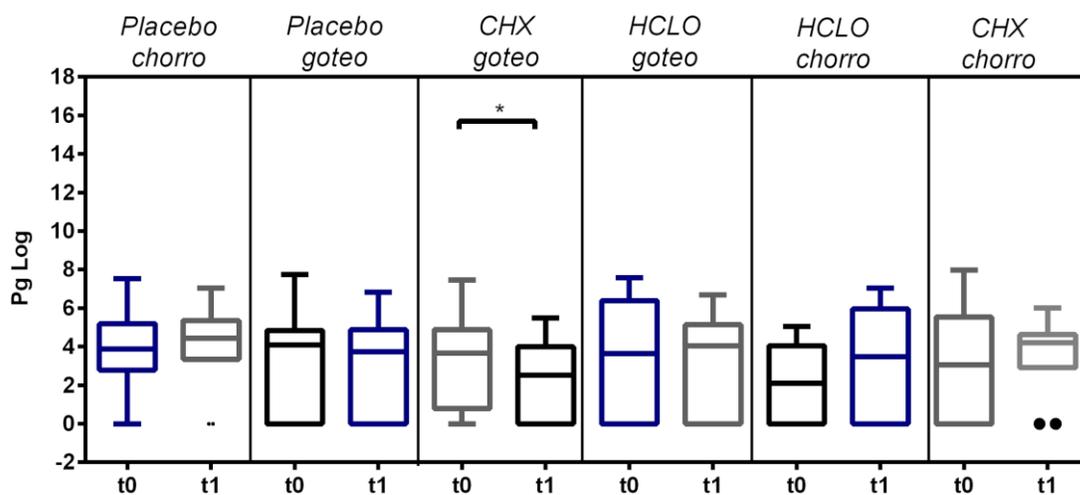


Figura 3. Comparación de sustancias en T0 y T1 frente a P.g. Análisis realizado por Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil y Dr. David Diaz-Baez, datos obtenidos por la unidad de investigación UIBO, Cantero, et al;2022

En la figura 3 se analizó que al usar el placebo mediante el método de chorro la P.g. disminuyó; y con el método de goteo aumento el nivel de concentración lo quiere decir que hay mayor efecto con el placebo a chorro; respecto a las sustancias CHX y HClO en método de goteo las dos presenta una disminución en los niveles de P.g. pero la CHX en goteo demostrando una diferencia significativa y con las sustancias de CHX y HClO en el método

de chorro disminuyó la concentración de *P.g.* pero más con la sustancia CHX con método a chorro con una diferencia significativa a un $p < 0.10$.

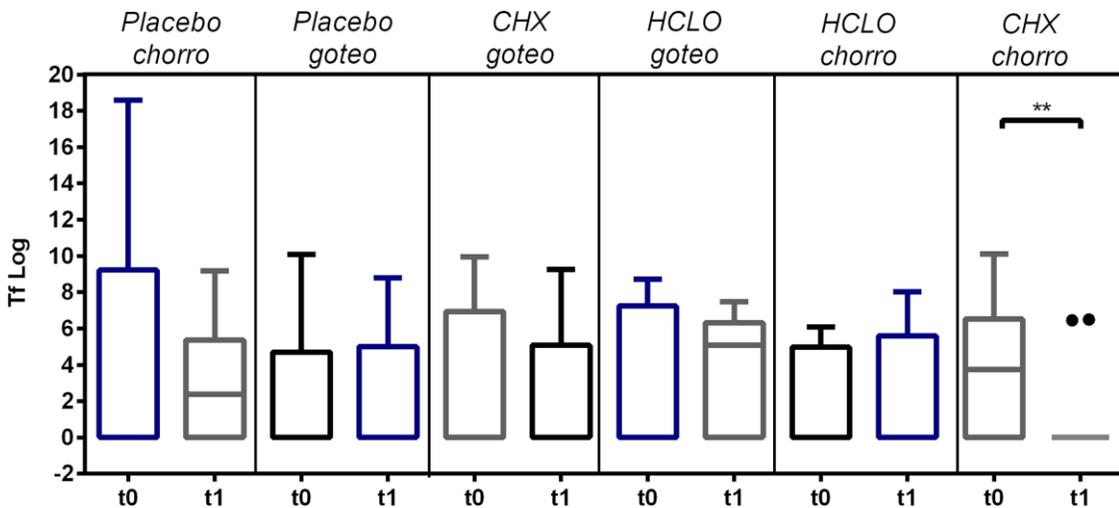


Figura 4.
 Comparación de sustancias en T0 y T1 frente a T.f.
 Análisis realizado por Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil y Dr. David Diaz-Baez, datos obtenidos por la unidad de investigación UIBO, Cantero, et al;2022.

En la figura 4 al usar placebo a chorro se observó un aumento en la concentración en presencia de *T.f.* más no hubo una diferencia estadísticamente significativa con placebo a goteo. Respecto al uso de irrigación con CHX en goteo *T.f.* presentó la misma concentración en T1 con respecto a T0, sin embargo, con HCLO a goteo se presenta una menor concentración de *T.f.*, con el uso de CHX a chorro se observó una disminución significativa a un $p < 0.10$. HCLO a chorro no mostró diferencias importantes.

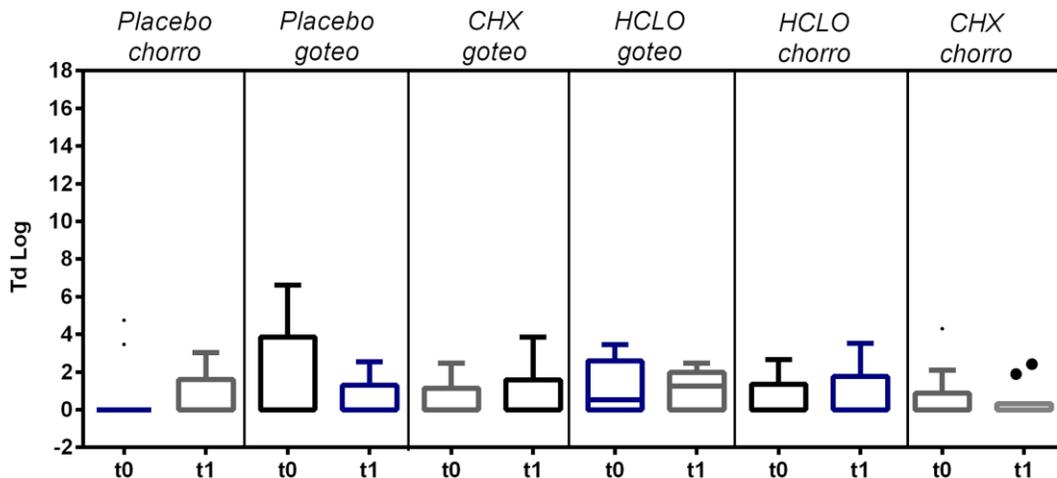


Figura 5. Comparación de sustancias en T0 y T1 frente a T.d. Análisis realizado por Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil y Dr. David Diaz-Baez, datos obtenidos por la unidad de investigación UIBO, Cantero, et al;2022.

Posteriormente en la figura 5 reveló que no existió una variación para la concentración T.d. respecto a la sustancia de placebo con los métodos de chorro y goteo; con las sustancias de CHX y HClO con método goteo mostró que tubo disminución en la concentración de T.d. con HClO a goteo y finalmente con las sustancias CHX y HClO a chorro no se obtuvo variación en la concentración de T.d.

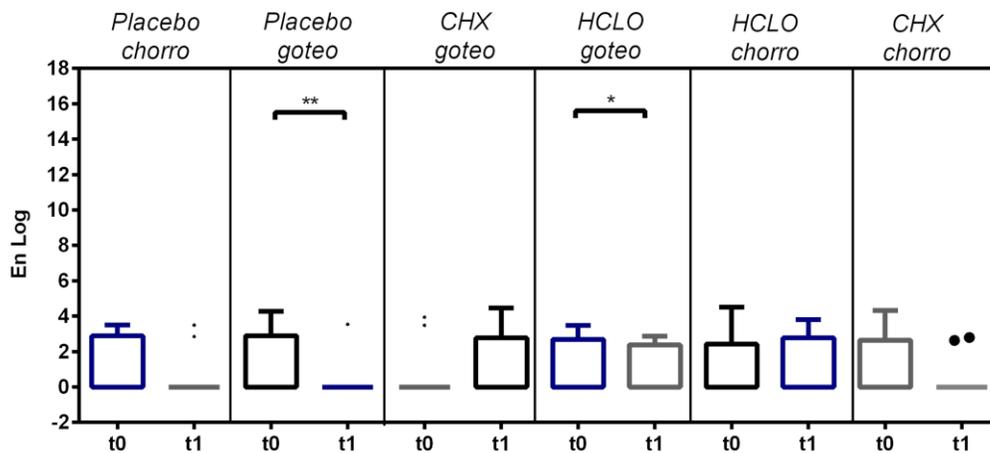


Figura 6. Comparación de sustancias en T0 y T1 frente a E.n. Análisis realizado por Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil y Dr. David Diaz-Baez, datos obtenidos por la unidad de investigación UIBO, Cantero, et al;2022.

En la figura 6 demostró que no existió una variación para la concentración E.n respecto a la sustancia de placebo en método de chorro; pero en el método de goteo si presentó una diferencia significativa a un $p < 0.10$; respecto a las sustancias de CHX en método de goteo y chorro tampoco presentó diferencias y la sustancia con HClO en método goteo mostró diferencia significativa de un $p < 0.10$. HCl a chorro no mostró diferencias importantes.

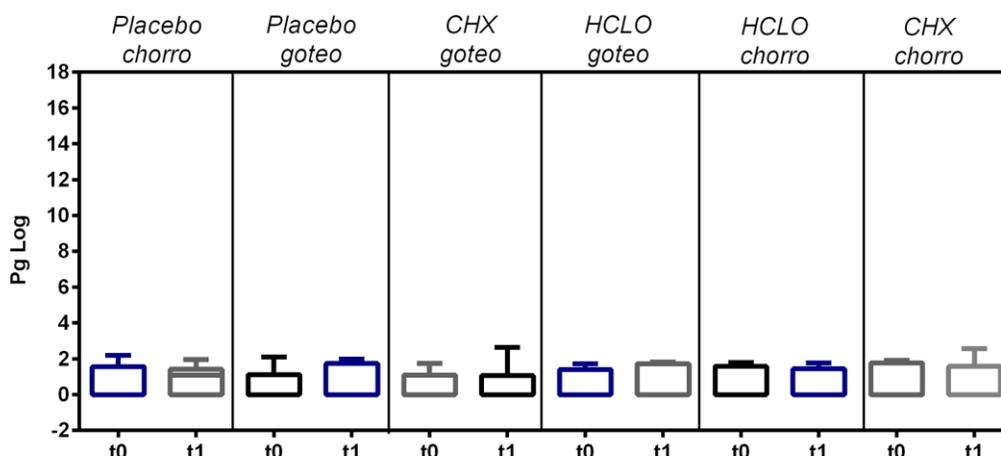


Figura 7. Comparación de sustancias en T0 y T1 frente a A.a. Análisis realizado por Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil y Dr. David Diaz-Baez, datos obtenidos por la unidad de investigación UIBO, Cantero, et al;2022.

Finalmente, respecto a las concentraciones de A.a. no se observa disminución con las sustancias de placebo a chorro ni de goteo, así mismo con las sustancias de CHX Y HCLO con el método de goteo y chorro (Figura 7).

Tabla 7. Concentración de microorganismos a través del tiempo en los grupos evaluados. Análisis realizado por Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil, datos obtenidos por la unidad de investigación UIBO, Cantero, et al;2022.

GRUPOS		1 - Placebo chorro	2 - Placebo goteo	3 - CHX goteo	4 - HCLO goteo	5 - HCLO chorro	6 - CHX chorro
PG	T0 Mediana (RIQ)	3.88 (2.78 - 5.2)	4.09 (0 -4.85)	2.84 (0-4.09)	3.64 (0-6.39)	2.09 (0-4.05)	3.05 (0-5.53)
	T1 Mediana (RIQ)	4.43 (3.34 - 5.36)	3.74 (0-4.88)	4.07 (0-4.93) *	4.05 (0 - 5.14)	4.05 (0 - 5.14)	4.2 (2.91- 4.62)
TF	T0 Mediana (RIQ)	0 (0 - 9.22)	0 (0 - 4.7)	0 (0 - 7.34)	0 (0 - 7.24)	0 (0 - 4.98)	3.75 (0 - 6.52)
	T1 Mediana (RIQ)	2.38 (0 - 5.38)	0 (0 - 5.01)	0 (0 - 6.78)	5.08 (0 - 6.33)	0 (0 - 5.6)	0 (0 - 0)

TD	T0 Mediana (RIQ)	0 (0 - 0)	0 (0 - 3.86)	0 (0 - 1.53)	0.54 (0 - 2.59)	0 (0 - 1.35)	0 (0 - 0.88)
	T1 Mediana (RIQ)	0 (0 - 1.6)	0 (0 - 1.3)	0 (0 - 1.71)	1.26 (0 - 1.98)	0 (0 - 1.77)	0 (0 - 0.32)
EN	T0 Mediana (RIQ)	0 (0 - 2.89)	0 (0 - 2.9)	0 (0 - 0)	0 (0 - 2.69)	0 (0 - 2.42)	0 (0 - 2.64)
	T1 Mediana (RIQ)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0) **	0 (0 - 2.77)	0 (0 - 2.38) *	0 (0 - 2.77)	0 (0 - 0)
AA	T0 Mediana (RIQ)	0 (0 - 1.57)	0 (0 - 1.12)	0 (0 - 1.47)	0 (0 - 1.4)	0 (0 - 1.58)	0 (0 - 1.78)
	T1 Mediana (RIQ)	1.08 (0 - 1.41)	0 (0 - 1.74)	0 (0 - 1.42)	0 (0 - 1.73)	0 (0 - 1.44)	0 (0 - 1.58)

* p valor < 0.05 comparando T0 vs T1

** p valor < 0.10 comparando T0 vs T1

Respecto a la comparación del tratamiento se observó una diferencia significativa con el microorganismo *P. gingivalis* donde se visualizó que con el tratamiento de CHX método goteo, demostró una diferencia significativa entre el T0 y T1 de ($p < 0.0444$), seguidamente la *E.nodatum* arrojó una diferencia significativa con el tratamiento de placebo en goteo ($p < 0.0843$) y HClO en goteo ($p < 0.0272$) (Tabla 7).

10. Discusión

El presente estudio tuvo como finalidad evaluar la efectividad clínica de la irrigación subgingival con placebo, HClO y CHX con método de goteo y chorro, como terapia adjunta a los procedimientos de raspaje y alisado radicular.

La periodontitis es una enfermedad inflamatoria y multifactorial que se caracteriza principalmente por la pérdida de los tejidos duros y blandos que rodean el diente. En este orden de ideas, esta es una de las principales causas de pérdida dental, en este mismo sentido, la gingivitis, es ocasionada por el biofilm que se acumula en la superficie dentaria adyacente al tejido gingival causando un rompimiento de la simbiosis presente en los microorganismos de la salud periodontal. Así mismo, seguidamente aparece la disbiosis como resultado a la inflamación por la infección por periodontopatógenos diversos, como los son *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *E nodatum* entre otros; desencadenando la destrucción del tejido conectivo y del soporte óseo para dar lugar a la pérdida dental (Galván *et al.*, 2014).

Las formas para combatirla incluyen el tratamiento periodontal, dentro de los que se ubica los cambios en los hábitos de higiene bucal por parte del paciente, así como también acciones mecánicas como el raspaje y alisado radicular (SRP). En vista del desarrollo de las técnicas científicas han generado, acciones como la mejora de la eficacia de las acciones mecánicas, haciendo uso de agentes antimicrobianos locales con irrigaciones subgingivales durante la SRP. Dentro de este conjunto de agentes se ubica la clorhexidina, la cual es un antiséptico catiónico con interesantes propiedades de sustantividad, sin embargo, múltiples estudios demuestran que esta no ha obtenido los efectos posibles ni los resultados esperados, del mismo modo, otras sustancias antimicrobianas como el ácido hipocloroso han sido estudiadas por su gran acción sobre microorganismos periodontopatógenos, sin embargo, los resultados han sido no concluyente (Galván *et al.*, 2014).

De acuerdo con la evidencia científica, los agentes antimicrobianos locales por medio de la irrigación gingival adjunto a la SRP, han demostrado tener la capacidad de penetración hasta

el fondo de las bolsas periodontales, lo cual permite un efecto sinérgico con el tratamiento mecánico periodontal logrando un mayor éxito de niveles de inserción y mantenimiento de la salud periodontal mejorando así los resultados del tratamiento (Van Dijk *et al.*, 2018; Southard *et al.*, 1989).

De acuerdo con lo anterior, el presente estudio demostró que se obtienen resultados beneficiosos al incluir la irrigación subgingival dentro de la terapéutica periodontal, sin embargo, este tratamiento requiere un entendimiento apropiado del manejo y aplicación clínica de los irrigantes subgingivales basada en la evidencia (Shiloah & Hovious, 1993).

Pese a que la aplicación de tratamientos periodontales no quirúrgicos ha mostrado evidencia sustantiva en lo que refiere a una eficacia de la mejora en los parámetros clínicos y microbiológicos del tejido gingival, sus efectos pierden efectividad en el tiempo. Por lo anterior, con nuevas acciones, se tiende a hacer más eficaces los procedimientos, mediante la extensión de los efectos haciendo uso de agentes antimicrobianos de aplicación local, lo que ofrece un acceso sitio-específico a la terapia periodontal consiguiendo altas concentraciones del producto en las zonas infectadas y evitando las reacciones adversas inherentes al uso de medicación sistémica (Van Dijk *et al.*, 2018).

Para que un agente antimicrobiano que es utilizado en irrigación periodontal sea efectivo debe acceder a la totalidad de la bolsa periodontal (Watts & Newman, 1986). Así mismo, esto es bastante improbable, debido a la anatomía de la bolsa y al difícil acceso, aunque se apliquen técnicas comunes como donde la punta del irrigador se localiza 3 mm subgingival, el irritante puede alcanzar una extensión apical aproximada del 70 o 90% (Renvert *et al.*, 1997). Sin embargo, no es del todo ineficaz la aplicación de agente antimicrobianos, por tanto, el presente estudio, se planteó como objetivo determinar si existen diferencias estadísticamente significativas en la irrigación subgingival antes y después con ácido hipocloroso versus clorhexidina al 0,2% versus AD en la disminución de microorganismos subgingivales en pacientes con enfermedad periodontal, estadio III y IV – grado B. Para su consecución, se evaluaron los efectos clínicos de la irrigación subgingival del ácido

hipocloroso vs CHX con método de goteo y chorro, como terapia adjunta a los procedimientos de raspaje y alisado radicular, así como también los efectos microbiológicos.

Se plantearon dos hipótesis, la primera hipótesis nula, consistió en que no existen diferencias estadísticamente significativas en la irrigación subgingival antes y después con ácido hipocloroso versus CHX al 0,2% versus AD en la disminución de microorganismos subgingivales en pacientes con enfermedad periodontal. Y la Hipótesis alterna: Si existen diferencias estadísticamente significativas en la irrigación subgingival antes y después con ácido hipocloroso versus CHX al 0,2% versus AD en la disminución de microorganismos subgingivales en pacientes con enfermedad periodontal.

El presente estudio, realizó un análisis para determinar cómo incidía el agente antimicrobiano en la disminución de los microorganismos, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Eubacterium nodatum*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Para lo cual se obtuvo que la sustancia placebo mediante el método de chorro la *P.g.* tuvo una aumento en su concentración, y al usar placebo a goteo el nivel de concentración de *P.g.* disminuyó, respecto a *T.f.* en placebo a chorro aumenta, con *E.n* se observó una diferencia significativa en placebo goteo y en placebo chorro no presento efecto significativo al igual que en placebo chorro y goteo para *T.d* y *A.a.*

En este mismo orden de ideas, los resultados arrojaron que la aplicación de CHX y HClO mediante el método de goteo generaron mayor presencia de *P.g.* en T1, al usar CHX con goteo, menor presencia de *T.f.* y al usar HClO con goteo mayor presencia en T1 y respecto a HClO chorro aumenta, CHX en goteo de *T.d* o hay cambios, respecto al aplicar HClO con goteo aumenta su presencia ; por último, los resultados aplicación de CHX y HClO mediante el método de chorro plantearon que la concentración de *P.g.* aumento, respecto *T.f.* presenta menor concentración con el uso de CHX a chorro, no hay variación de *T.d* , *E.n.* y *A.a.* De acuerdo con este análisis, el goteo a fondo de bolsa demostró resultados superiores debido a que este permitía una mayor concentración del antimicrobiano en el fondo de la bolsa a diferencia del método a chorro.

Respecto la comparación del antes y después del recuento bacteriano en cada procedimiento se observó que el T0 mostró una mediana menor que al tomar la muestra en T1 ya que la aguja del prototipo del irrigador permitió un mayor acceso a la profundidad de la bolsa periodontal logrando una mayor disgregación de las bacterias periodontopatógenas como se visualizó en los resultados con los microorganismos *P. gingivalis*, seguido de *T forsythia*, *T denticola* y *E nodatum*. *A. actynomicetemcomitans*. Confirmando los hallazgos reportados en los estudios de Krück, *et al.*, [2012].

En conclusión, el presente artículo demuestra que RSP+CHX a goteo disminuye las concentraciones de la bacteria periopatógena *P.g.* y RSP+ Placebo goteo, RSP+ HClO goteo disminuye las concentraciones de la bacteria *E.n.* en las bolsas periodontales evaluadas de 6 a 8 mm, esto podría representar un efecto positivo en la presencia de las bacterias en dichas bolsas evaluadas como coadyuvante después del raspaje y alisado radicular.

Igualmente, se necesitan estudios que evalúen microorganismos patógenos asociados durante periodos de tiempo más largos y una muestra más grande con el propósito de determinar si estas terapias combinadas desarrollen cambios en la microbiota subgingival de cada individuo con el fin de ayudar a la comunidad.

11. Conclusiones

1. Existen diferencias significativas en el tratamiento RSP+CHX a goteo con la bacteria *P.g.* y con RSP+ Placebo goteo, RSP+ HClO goteo con la bacteria *E.n.*
2. No existen diferencias estadísticamente significativas en la irrigación subgingival antes y después con el tratamiento RSP + placebo chorro, RSP+CHX chorro y HClO chorro con los microorganismos subgingivales *T.f.*, *T.d* y *A.a* en pacientes con enfermedad periodontal estadio III-IV grado B.

12. Referencias Bibliográficas

1. Addy, M. Local delivery of antimicrobial agents to the oral cavity. *Advanced drug delivery reviews*, 1994; 13(1-2), 123-134.
2. Apatzidou DA, Kinane DF. Nonsurgical Mechanical Treatment Strategies for Periodontal Disease. *Dent Clin North Am*. 2010;54(1):1-12.
3. Blanc V, Isabal S, Sánchez MC, Llama-Palacios A, Herrera D, Sanz M, et al. Characterization and application of a flow system for in vitro multispecies oral biofilm formation. *J Periodontal Res* [Internet]. 2014;49(3):323-32.
4. Boutaga K, van Winkelhoff AJ, Vandenbroucke-Grauls CMJE, Savelkoul PHM. Periodontal pathogens: a quantitative comparison of anaerobic culture and real-time PCR. *FEMS Immunol Med Microbiol* [Internet]. 2005;45(2):191-9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.femsim.2005.03.011>.
5. Boutaga K, van Winkelhoff AJ, Vandenbroucke-Grauls CM SP. Comparison of real-time PCR and culture for detection of *Porphyromonas gingivalis* in subgingival plaque samples. *J Clin Microbiol*. 2003;41:4950-4.
6. Christersson LA, Rosling BG, Dunford RG, Wikesjö UM, Zambon JJ, Genco RJ. Monitoring of subgingival *Bacteroides gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in the management of advanced periodontitis. *Adv Dent Res*. 1988;2(2):382-8.
7. Costa MR, Silva VC, Miqui MN, Sakima T, Spolidorio DMP, Cirelli JA. Efficacy of ultrasonic, electric and manual toothbrushes in patients with fixed orthodontic appliances. *Angle Orthod*. 2007;77(2):361-6.
8. Cosyn J, Wyn I, De Rouck T, Moradi Sabzevar M. Clinical Benefits of Subgingival Chlorhexidine Varnish Application as an Adjunct to Same-Day Full-Mouth Root Planing: A Pilot Study. *J Periodontol*. 2006;77(6):1074-9.
9. de Freitas CVS, Galdez LPV, Dias HLM, Cirelli JA, Souza EM, da Silva VCS. Effect of Subgingival Irrigation with Different Substances in the Treatment of Periodontal Disease. A Histometric Study in Rats. *J Int Acad Periodontol*. 2016;18(1):2-6.
10. Gualtero Escobar DF, Buitrago Ramírez DM, Trujillo Pérez DA, Calderón Robles J, Lafaurie Villamil GI. Efecto de enjuagues de ácido hipocloroso sobre el pH de la saliva:

- estudio in vitro / Effect of Hypochlorous Acid as a Mouthwash on Salivary pH: in vitro Study. *Univ Odontol.* 2015;34(72):83.
11. Feng HS, Bernardo CC, Sonoda LL, Hayashi F, Romito GA, De Lima LAPA, et al. Subgingival ultrasonic instrumentation of residual pockets irrigated with essential oils: A randomized controlled trial. *J Clin Periodontol.* 2011;38(7):637–43.
 12. Galván M, Gonzalez S, Cohen CL, Alonaizan FA, Chen CTL, Rich SK, et al. Periodontal effects of 0.25% sodium hypochlorite twice-weekly oral rinse. A pilot study. *J Periodontal Res.* 2014;49(6):696–702.
 13. Haffajee AD, Arguello EI, Ximenez-Fyvie LA, Socransky SS. Controlling the plaque biofilm. *Int Dent J.* 2003;53 Suppl 3:191–9.
 14. Hallmon WW, Rees TD. Local anti-infective therapy: mechanical and physical approaches. A systematic review. *Ann Periodontol.* 2003;8(1):99–114.
 15. Haskel E, Esquenasi J, Yussim L. Effects of subgingival chlorhexidine irrigation in chronic moderate periodontitis. *J Periodontol* [Internet]. 1986;57(5):305–10. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1902/jop.1986.57.5.305>
 16. Heitz-Mayfield LJA, Trombelli L, Heitz F, Needleman I, Moles D. A systematic review of the effect of surgical debridement vs. non-surgical debridement for the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2002;29(SUPPL. 3):92–102.
 17. Jolkovsky DL, Waki MY, Newman MG, Otomo-Corgel J, Madison M, Flemmig TF, et al. Clinical and Microbiological Effects of Subgingival and Gingival Marginal Irrigation With Chlorhexidine Gluconate. *J Periodontol.* 1990;61(11):663–9.
 18. Karadas M, Cantekin K, Celikoglu M. Effects of orthodontic treatment with a fixed appliance on the caries experience of patients with high and low risk of caries. *J Dent Sci* [Internet]. 2011;6(4):195–9.
 19. Krishna MK, Ravindran SK, Vivekanandan G, Navasivayam A, Thiagarajan R, Mohan R. Effects of a single episode of subgingival irrigation with tetracycline HCl or chlorhexidine: A clinical and microbiological study. *J Indian Soc Periodontol* [Internet]. 2011;15(3):245–9.
 20. Krück C, Eick S, Knöfler GU, Purschwitz RE, Jentsch HFR. Clinical and Microbiologic Results 12 Months After Scaling and Root Planing With Different Irrigation Solutions in Patients With Moderate Chronic Periodontitis: A Pilot Randomized Trial. *J*

- Periodontol. 2012;83(3):312–20.
21. Kuyyakanond T, Quesnel LB. The mechanism of action of chlorhexidine. *FEMS Microbiol Lett.* 1992;100(1–3):211–5.
 22. Lafaurie GI, Calderón JL, Zaror C, Millán LV, Castillo DM. Ácido Hipocloroso: una Nueva Alternativa como Agente Antimicrobiano y para la Proliferación Celular para Uso en Odontología. *Int J Odontostomatol.* 2015;9(3):475–81.
 23. Listgarten MA, Grossberg D, Schwimer C, Vito A, Gaffar A. Effect of Subgingival Irrigation with Tetrapotassium Peroxydiphosphate on Scaled and Untreated Periodontal Pockets. *J Periodontol.* 1989;60(1):4–11.
 24. Mejías L, Iriarte D, Sánchez R, Neira I, Bravo J. Comparison of Total Anaerobic Microbiota in Periodontitis Before and After the Subgingival Irrigation with Chlorhexidine at 0.12 %. *Int J Odontostomatol.* 2019;13(4):442–5.
 25. Ministerio de Salud y Protección Social. IV Estudio Nacional de Salud Bucal: Metodología y Determinación Social de la Salud Bucal. 2012;180. Available from: <http://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/ENSAB-IV-Metodologia.pdf>
 26. Morillo JM, Lau L, Sanz M, Herrera D, Martín C SA. Quantitative real-time polymerase chain reaction based on single copy gene sequence for detection of periodontal pathogens. *J Clin Periodontol.* 2004;31:1054–60
 27. Morrow D, Wood DP, Speechley M. Clinical effect of subgingival chlorhexidine irrigation on gingivitis in adolescent orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 1992;101(5):408–13.
 28. Nagarakanti S, Gunupati S, Chava VK, Ramesh Reddy BV. Effectiveness of subgingival irrigation as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis: A systematic review. *J Clin Diagnostic Res.* 2015;9(7):ZE06–9.
 29. Nylund K, Egelberg J. Antimicrobial irrigation of periodontal furcation lesions to supplement oral hygiene instruction and root debridement. Vol. 17, *Journal of Clinical Periodontology.* 1990. p. 90–5.
 30. Olsson M, Lindhe J. Periodontal characteristics in individuals with varying form of the upper central incisors. *J Clin Periodontol [Internet].* 1991;18(1):78–82.
 31. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet.*

- 2005;366(9499):1809–20.
32. Pistorius A, Willershausen B, Steinmeier E-M, Kreisler M. Efficacy of Subgingival Irrigation Using Herbal Extracts on Gingival Inflammation. *J Periodontol.* 2003;74(5):616–22.
 33. Pithon MM, Dos Santos MJ, Andrade CSS, Leão Filho JCB, Braz AKS, De Araujo RE, et al. Effectiveness of varnish with CPP-ACP in prevention of caries lesions around orthodontic brackets: An OCT evaluation. *Eur J Orthod.* 2014;37(2):177–82.
 34. Rahn R, Schneider S, Diehl O, Schäfer V, Shah PM. Preventing post-treatment bacteremia: comparing topical povidone-iodine and chlorhexidine. *J Am Dent Assoc.* 1995;126(8):1145–8.
 35. Ravishankar PL, Venugopal K, Nadkerny P. Effect of Tetracycline Hydrochloride and Spiramycin Sub Gingival Irrigation with Pulsated Jet Irrigator in Chronic Periodontitis Patients: A Clinical Study. *J Int oral Heal JIOH.* 2015;7(7):102–7.
 36. Renvert S, Dahlén G, Snyder B. Clinical and Microbiological Effects of Subgingival Antimicrobial Irrigation With Citric Acid as Evaluated by an Enzyme Immunoassay and Culture Analysis. *J Periodontol.* 1997;68(4):346–52.
 37. Reynolds MA, Lavigne CK, Minah GE, Suzuki JB. Clinical effects of simultaneous ultrasonic scaling and subgingival irrigation with chlorhexidine: Mediating influence of periodontal probing depth. *J Clin Periodontol.* 1992;19(8):595–600.
 38. Ryan ME. Nonsurgical approaches for the treatment of periodontal diseases. *Dent Clin North Am.* 2005;49(3 SPEC. ISS.):611–36.
 39. Sağlam M, Arslan U, Buket Bozkurt Ş, Hakki SS. Boric Acid Irrigation as an Adjunct to Mechanical Periodontal Therapy in Patients With Chronic Periodontitis: A Randomized Clinical Trial. *J Periodontol.* 2013;84(9):1297–308.
 40. Sahrman P, Manz A, Attin T, Zbinden R, Schmidlin PR. Effect of application of a PVP-iodine solution before and during subgingival ultrasonic instrumentation on post-treatment bacteraemia: A randomized single-centre placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2015;42(7):632–9.
 41. Schmid E, Kornman KS, Tinanoff N. Changes of Subgingival Total Colony Forming Units and Black Pigmented Bacteroides after a Single Irrigation of Periodontal Pockets with 1.64% SnF₂. *J Periodontol.* 1985;56(6):330–3.

42. Shiloah J, Hovious LA. The Role of Subgingival Irrigations in the Treatment of Periodontitis. *J Periodontol.* 1993;64(9):835-43.
43. Soh LL, Newman HN, Strahan JD. Effects of subgingival chlorhexidine irrigation on periodontal inflammation. *J Clin Periodontol.* 1982;9(1):66-74.
44. Southard SR, Drisko CL, Killoy WJ, Cobb CM, Tira DE. The Effect of 2% Chlorhexidine Digluconate Irrigation on Clinical Parameters and the Level of *Bacteroides gingivalis* in Periodontal Pockets. *J Periodontol.* 1989;60(6):302-9.
45. Stabholz A, Nicholas AA, Zimmerman GJ, Wikesjö UME. Clinical and antimicrobial effects of a single episode of subgingival irrigation with tetracycline HCl or chlorhexidine in deep periodontal pockets. *J Clin Periodontol.* 1998;25(10):794.
46. Van Dijk LJ, Lie MA, Van den Heuvel ER, Van der Weijden GA. Adult periodontitis treated with a new device for subgingival lavage—a randomized controlled clinical trial using a split-mouth design. *Int J Dent Hyg.* 2018;16(4):559-68.
47. Vignarajah S, Newman HN, Bulman J. Pulsated jet subgingival irrigation with 0.1% chlorhexidine, simplified oral hygiene and chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* [Internet]. 1989;16(6):365-70.
48. Wan Yusof WZA, Newman HN, Strahan JD, Coventry JF. Subgingival metronidazole in dialysis tubing and subgingival chlorhexidine irrigation in the control of chronic inflammatory periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1984;11(3):166-75.
49. Watts EA, Newman HN. Clinical effects on chronic periodontitis of a simplified system of oral hygiene including subgingival pulsated jet irrigation with chlorhexidine. *J Clin Periodontol.* 1986;13(7):666-70.
50. Wennstrom JL, Heijl L, Dahten G GK. Periodic subgingival antimicrobial irrigation of periodontal pockets. *J Med Microbiol.* 2001;50(1):42-8.
51. Westling M, Tynelius-Bratthall G. Microbiological and clinical short-term effects of repeated intracrevicular chlorhexidine rinsings. *J Periodontal Res.* 1984;19(2):202-9.
52. Wieder SG, Newman HN, Strahan JD. Stannous fluoride and subgingival chlorhexidine irrigation in the control of plaque and chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1983;10(2):172-81.

53. Wikesjö UME, Reynolds HS, Christersson LA, Zambon JJ, Genco RJ. Effects of subgingival irrigation on *A. actinomycetemcomitans*. *J Clin Periodontol*. 1989;16(2):116-9.
54. Yoshida A, Nagashima S, Ansai T, Tachibana M, Kato H, Watari H, et al. Loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of the periodontopathic bacteria *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, and *Treponema denticola*. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2005;43(5):2418-24.
55. Yilmaz HG, Bayindir H. Clinical evaluation of chlorhexidine and essential oils for adjunctive effects in ultrasonic instrumentation of furcation involvements: A randomized controlled clinical trial. *Int J Dent Hyg*. 2012;10(2):113-7.

13. ANEXOS

Anexo. Protocolo de atención.

1. Comunicación telefónica con el paciente donde se identifica la necesidad y se aplica cuestionario:
 - ¿Tiene fiebre o la ha tenido en los últimos 14 días? (temperatura mayor o igual a 38°C
 - ¿Ha tenido tos?
 - Ha viajado a países de riesgo en los últimos 14 días
 - Ha estado en contacto con alguna persona sospechosa o confirmada de COVID-19
 - Ha estado en contacto estrecho con personas que presentaban cuadro respiratorio agudo en los últimos 14 días?
 - ¿Ha experimentado escalofríos?
 - ¿Ha tenido en los últimos 14 días diarrea u otras molestias digestivas?
 - ¿Ha presentado dolor de garganta?
 - Tiene o ha tenido sensación de cansancio o malestar en los últimos 14 días
 - Ha experimentado dolor muscular o corporal
 - ¿Ha tenido dolor de cabeza?
 - Le han diagnosticado alguna patología como; Hipertensión, Diabetes, EPOC, Cardiovascular, y en general enfermedades que generan inmunosupresión.
 - Ha notado pérdida del sentido del gusto o del olfato en los últimos 14 días
2. Informar al paciente sobre el diligenciamiento de datos requeridos al ingreso de la universidad y las clínicas odontológicas.
3. Preparación del cubículo por parte del estudiante
4. Recepción del paciente para ubicarlo en la silla e indicar cómo realizar la limpieza de los zapatos (tapete con solución desinfectante)
5. Acompañar al lavado de manos supervisado según protocolo.
6. Dirigir al paciente a la unidad odontológica
7. Diligenciamiento del Formato de consentimiento informado.

8. Solicitar el retiro del tapabocas para ser guardado en bolsa (que debe llevar el paciente).
9. Uso de enjuagues con controladores químicos de placa bacteriana como la CHX o con Yoduro de Povidona (al 0,2%) o peróxido de hidrógeno (al 1,5%), por uno a dos minutos.
10. Realizar examen periodontal y diligenciamiento de historia clínica; de ser un paciente candidato para el estudio proceder a la terapia periodontal o tratamiento indicado
11. Realizar irrigación subgingival dependiendo el grupo al que fue asignado aleatoriamente (CHX activo, CHX pasivo, HOCl activo, HOCl pasivo, Placebo)
12. Toma de muestra:
 - a. Identificación de la muestra
 - Nombre
 - Edad
 - Fecha de la toma
 - Número de diente
 - Sitio seleccionado para la toma de muestra
 - b. Examen clínico odontológico y sondaje periodontal de boca completa
 - c. Selección de las seis bolsas más profundas presentes < 6 mm, para la toma de la muestra subgingival.
 - d. Aislar la zona con algodón y remover la placa supragingival con cureta
 - e. Insertar el cono de papel estéril en cada bolsa periodontal durante 60 segundos
 - f. Las muestras se depositan en 2 mL de medio de transporte (Viability Medium Göteborg Anaerobically III: VMGA III)
 - g. La muestra se lleva al laboratorio de Microbiología Oral del Instituto UIBO (Unidad de Investigación Básica Oral) en un tiempo no mayor a 24 horas para impedir la multiplicación y prevenir la pérdida de microorganismos anaerobios y facultativos.

- 13.** Indicar al paciente que antes de levantarse de la unidad debe usar nuevamente su tapabocas previamente guardado en la bolsa.
- 14.** Retirar el babero, o campo quirúrgico o bata y las gafas
- 15.** Hacer las recomendaciones al paciente (Evite tocarse la cara, ojos, boca, no permanecer en la clínica cuando termine su consulta, al regresar a casa, debe quitarse la ropa que utilizó para ir a la consulta, bañarse completamente, vestirse con ropa limpia).
- 16.** Indicarle que retire el gorro y lo deseche.
- 17.** Dirigir al paciente para que realice lavado de manos en el lugar más cercano
- 18.** Recordarle que, en caso de desarrollar algún signo respiratorio, malestar, fiebre u otro de los indicados anteriormente, o si durante este tiempo entra en contacto con una persona confirmada con Covid, debe avisarnos inmediatamente a las líneas telefónicas de la clínica 6489028 o 6489025 o por correo electrónico a garcianatalia@unbosque.edu.co, para posponer la próxima cita.