

Eficacia antimicrobiana del enjuague bucal de plata coloidal en microorganismos periodontopatógenos: un ensayo controlado aleatorizado

Autores

Jessica Navarro Rodriguez¹, Karen S. Nossa Granados², Julián A. Molano Perez³, Hernan A. Garzón Vergara⁴, Camilo A. Romo Perez⁵

1. Especialización en Periodoncia, Institución Universitaria Colegios de Colombia – UNICOC, Bogotá D.C., Colombia. jnavarror@unicoc.edu.co
2. Especialización en Periodoncia, Institución Universitaria Colegios de Colombia – UNICOC, Bogotá D.C., Colombia. knossa@unicoc.edu.co
3. Odontólogo - Pontificia Universidad Javeriana, Especialista en periodoncia - Institución Universitaria Colegios de Colombia – UNICOC, Bogotá D.C., Colombia. Correo electrónico: jamolano@unicoc.edu.co
4. Odontólogo, Especialista en periodoncia - Universidad Nacional De Colombia, Especialista en pedagogía - Universidad Pedagógica Nacional, Magíster en Bioingeniería - Pontificia Universidad Javeriana, PhD en Ingeniería – Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá D.C., Colombia. <https://orcid.org/0000-0001-9157-5093> Correo electrónico: hgarzonv@unicoc.edu.co
5. Maestría en Epidemiología, Director del Centro de Investigación del Colegio Odontológico - Institución Universitaria Colegios de Colombia – UNICOC, Bogotá D.C., Colombia. <https://orcid.org/0000-0001-9157-5093> Correo electrónico: direccioncicobog@unicoc.edu.co

RESUMEN

Introducción: La clorhexidina es el antiséptico oral de referencia en el manejo periodontal; sin embargo, sus efectos adversos han impulsado la búsqueda de alternativas como la plata coloidal, cuya evidencia clínica en periodontitis aún es limitada. **Objetivo:** Analizar la eficacia antimicrobiana del enjuague bucal de plata coloidal en microorganismos periodontopatógenos utilizando enjuagues de clorhexidina, plata coloidal y placebo, a los 15 días posteriores al tratamiento en pacientes con periodontitis estadio III y IV. **Métodos:** Ensayo clínico controlado, aleatorizado y doble ciego en 37 pacientes asignados a tres grupos de intervención. Los conteos de UFC se transformaron mediante $\log_{10}(\text{UFC}+1)$ y se analizaron con las pruebas de Kruskal-Wallis, Friedman, chi-cuadrado y Fisher exacta ($p<0,05$). **Resultados:** La plata coloidal y el placebo mostraron una leve disminución del recuento total de UFC, sin embargo, mientras en el grupo de plata coloidal se evidenció una reducción de *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium* spp., en el grupo con placebo se evidenció incremento de estos periodontopatógenos. Por otra parte, la clorhexidina mantuvo estable el recuento total de UFC y se evidenció incremento de *Fusobacterium* spp. En conjunto, ninguna intervención produjo una reducción uniforme de los microorganismos asociados a disbiosis periodontal. **Conclusiones:** las tres intervenciones generaron cambios microbiológicos en la biopelícula subgingival, sin alcanzar una reducción compatible con salud periodontal. La plata coloidal no demostró superioridad microbiológica frente a la clorhexidina, reflejando la resiliencia de la biopelícula subgingival madura. Se requieren estudios con mayor tamaño muestral y seguimiento longitudinal.

PALABRAS CLAVES

Periodontitis, plata coloidal, clorhexidina, microorganismos periodontopatógenos, biopelícula subgingival, terapia periodontal, carga microbiana, disbiosis, complejo rojo.

ABSTRACT

Introduction: Chlorhexidine is the standard oral antiseptic used in periodontal management; however, its adverse effects have prompted a search for alternatives such as colloidal silver, for which clinical evidence in periodontitis remains limited. **Objective:** To analyse the antimicrobial efficacy of colloidal silver mouthwash against periodontal pathogens using chlorhexidine, colloidal silver and placebo mouthwashes, 15 days after treatment in patients with stage III and IV periodontitis. **Methods:** A randomised, double-blind, controlled clinical trial involving 37 patients

assigned to three intervention groups. CFU counts were transformed using $\log_{10}(\text{CFU}+1)$ and analysed using the Kruskal-Wallis, Friedman, chi-square and Fisher's exact tests ($p < 0.05$). **Results:** Colloidal silver and the placebo showed a slight decrease in the total CFU count; however, whilst the colloidal silver group showed a reduction in *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium* spp., the placebo group showed an increase in these periodontal pathogens. Furthermore, chlorhexidine kept the total CFU count stable, and an increase in *Fusobacterium* spp. was observed. Overall, none of the interventions produced a uniform reduction in the microorganisms associated with periodontal dysbiosis. **Conclusions:** All three interventions generated microbiological changes in the subgingival biofilm, without achieving a reduction consistent with periodontal health. Colloidal silver did not demonstrate microbiological superiority over chlorhexidine, reflecting the resilience of mature subgingival biofilm. Studies with larger sample sizes and longitudinal follow-up are required.

KEYWORDS

Periodontitis, colloidal silver, chlorhexidine, periodontal pathogens, subgingival biofilm, periodontal therapy, microbial load, dysbiosis, red complex.

INTRODUCCIÓN

La periodontitis es una enfermedad inflamatoria crónica de origen multifactorial, relacionada a la disbiosis de la biopelícula subgingival. Afecta aproximadamente el 45-50% de la población adulta, y cerca del 11,2% en sus estados avanzados (estadios III y IV), convirtiéndose en un importante problema de salud pública (1). Estos estadios, se caracterizan por pérdida de inserción clínica, destrucción del hueso alveolar y compromiso funcional de la dentición, con un impacto considerable en la calidad de vida de los pacientes (2).

Su etiopatogenia se relaciona con una comunidad microbiana disbiótica en la que predominan especies periodontopatógenas como *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia* y *Fusobacterium nucleatum*, capaces de alterar la homeostasis del huésped y promover una respuesta inflamatoria destructiva mediante mecanismos de cooperación bacteriana y diversos factores de virulencia (3,4).

El tratamiento periodontal convencional se basa en la terapia mecánica subgingival, frecuentemente complementada con agentes antimicrobianos coadyuvantes destinados a disminuir la carga bacteriana y limitar la recolonización del biofilm (5). Entre ellos, la clorhexidina continúa siendo considerada el “gold standard” debido a su amplio espectro antimicrobiano y elevada sustantividad; sin embargo, su uso prolongado puede asociarse con efectos adversos como pigmentación dental, alteraciones del gusto e irritación mucosa (6,7).

En este contexto, la plata coloidal ha despertado ha emergido como posible alternativa antimicrobiana debido a sus propiedades bactericidas de amplio espectro. No obstante, la evidencia clínica sobre su eficacia en periodontitis avanzada continúa siendo limitada y controversial, especialmente en relación con su efecto sobre la microbiota subgingival. Además, gran parte de la evidencia disponible proviene de estudios in vitro, lo que limita su extrapolación a escenarios clínicos reales (8,9).

A pesar de los avances en el conocimiento de la microbiota subgingival y las estrategias terapéuticas disponibles, aún existe incertidumbre sobre la eficacia microbiológica y el impacto ecológico de diferentes agentes antimicrobianos en pacientes con periodontitis estadio III y IV, especialmente en biopelículas subgingivales maduras (10,11).

Por ello, el presente estudio tuvo como objetivo analizar la eficacia antimicrobiana del enjuague bucal de plata coloidal en microorganismos periodontopatógenos utilizando enjuagues de clorhexidina, plata coloidal y placebo, a los 15 días posteriores al tratamiento en pacientes con periodontitis estadio III y IV. Se planteó como hipótesis de no inferioridad que la plata coloidal no es menos eficiente que la clorhexidina.

MÉTODOS

Diseño de estudio y población

Ensayo clínico controlado y aleatorizado doble ciego (ECCA). La población del estudio estuvo conformada por pacientes diagnosticados con periodontitis en estadios III y IV, atendidos en la clínica de periodoncia de UNICOC en Bogotá. Los criterios de inclusión correspondieron a pacientes diagnosticados con periodontitis en estadios III y IV, hombres o mujeres voluntarios entre 18 y 75 años, que aceptaron participar en el estudio mediante la firma del consentimiento informado, que no hubieran recibido tratamiento periodontal activo (instrumentación supra y

subgingival) en los últimos 3 meses, sistémicamente sanos y con disponibilidad para asistir a los controles de seguimiento. Los criterios de exclusión fueron pacientes fumadores, en estado de embarazo o de lactancia, con uso reciente de antibióticos, con aparatología ortodóntica activa o con antecedentes de alergia a la plata.

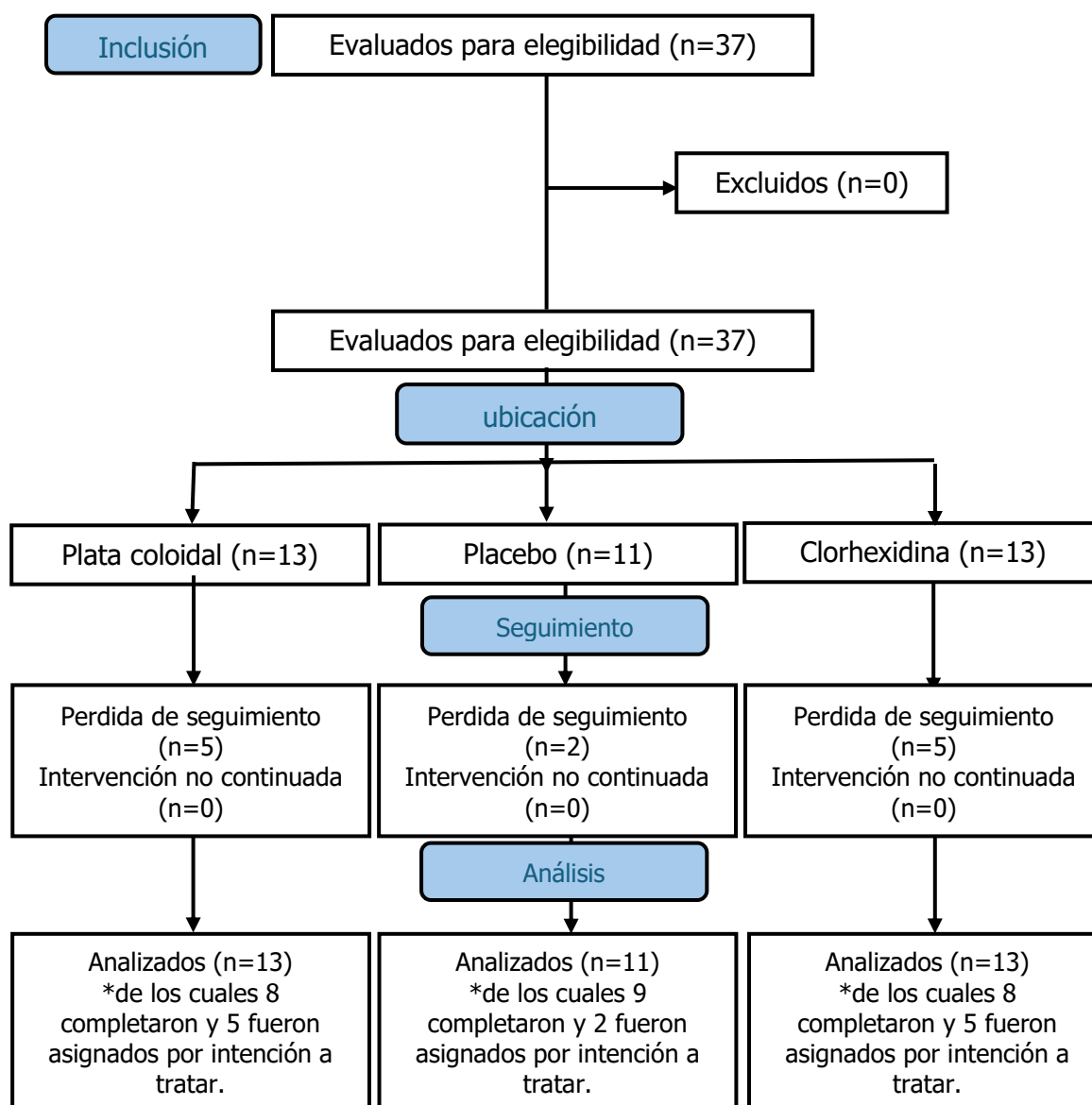


Diagrama de flujo CONSORT del estudio.

A partir de esta población se seleccionó una muestra de 37 pacientes que cumplieron dichos criterios, quienes fueron asignados de manera aleatoria a tres grupos, las intervenciones quedaron de la siguiente manera: plata coloidal (n = 13), placebo (n = 11) y clorhexidina (n = 13). El primer grupo recibió enjuague de plata coloidal, el segundo, clorhexidina, y el tercero, un placebo, lo que permitió comparar

objetivamente el efecto de cada intervención sobre la carga microbiológica subgingival.

Aspectos éticos

El presente estudio fue revisado y aprobado por el Comité de Ética en Investigación (CEI) de la Institución Universitaria Colegios de Colombia – UNICOC, en sesión ordinaria celebrada el 25 de febrero de 2025, según el acta CE25022025-01. La investigación se desarrolló conforme a los principios éticos establecidos para estudios en seres humanos y a la Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia. Según el artículo 11, el estudio fue clasificado como una investigación con riesgo mayor que el mínimo, debido a la asignación de una intervención farmacológica de prueba a los participantes. Todos los participantes fueron informados sobre los objetivos del estudio, la confidencialidad de la información recopilada, los posibles beneficios y los riesgos asociados a la investigación, y otorgaron su consentimiento para participar. Asimismo, los datos obtenidos permanecieron bajo custodia de dos de los investigadores, garantizando en todo momento la confidencialidad y la protección de la información.

Medición

Se realizó un examen clínico periodontal completo, que incluyó el registro de profundidad al sondaje, nivel de inserción clínica, sangrado al sondaje, presencia de placa bacteriana, compromiso de furca, movilidad dentaria y evaluación radiográfica del nivel óseo alveolar en radiografías periapicales. La definición de caso y la clasificación de la enfermedad periodontal se establecieron de acuerdo con el sistema de clasificación de enfermedades y condiciones periodontales y periimplantarias 2018 (2).

El diagnóstico de periodontitis estadio III se estableció en presencia de pérdida de inserción interdental ≥ 5 mm, pérdida ósea radiográfica con extensión al tercio medio o apical de la raíz, pérdida dentaria ≤ 4 dientes por causa periodontal, profundidades al sondaje ≥ 6 mm, defectos óseos verticales ≥ 3 mm y compromiso de furca grado II o III. Por su parte, el estadio IV compartió estas características, pero asociado a secuelas avanzadas de destrucción periodontal, incluyendo disfunción masticatoria, movilidad dentaria $\geq$ grado 2, defectos severos de la cresta alveolar, colapso de mordida secundario a pérdida dentaria, presencia de menos de 20 dientes remanentes (10 pares oclusales) y migración dentaria, condiciones que requieren tratamiento periodontal complejo e interdisciplinario, además de un estricto programa de mantenimiento periodontal.

Las condiciones sistémicas y la información sociodemográfica de los participantes, incluyendo sexo, edad, nivel educativo y estrato socioeconómico, fueron obtenidas a partir de registros secundarios consignados en la historia clínica odontológica institucional.

Recolección de muestra

La toma de muestras microbiológicas como se evidencia en la figura 1 se realizó en los sitios subgingivales con mayor profundidad de sondaje de cada paciente, previamente seleccionados durante el examen clínico periodontal. Para garantizar la integridad de las muestras, se realizó un adecuado aislamiento del área mediante rollos de algodón para evitar la contaminación salival. Posteriormente, se introdujo un cono de papel estéril (NewStetic calibre 40, Medellín Colombia) en el surco gingival o bolsa periodontal durante aproximadamente 30 segundos, permitiendo la absorción del fluido crevicular gingival y de la microbiota subgingival presente. Una vez retirado, el cono fue transferido a un tubo que contenía 2 ml de medio de transporte VMGA III, un sistema reconocido por su capacidad para preservar la viabilidad microbiana sin favorecer su proliferación.

Figura 1. a. Toma de muestra microbiológica subgingival mediante cono de papel estéril del surco gingival b. introducción de las puntas de papel en el vial con medio de transporte microbiológico VMGA III.



Tras la obtención de la muestra basal (tiempo 0), a todos los pacientes se les realizó terapia periodontal no quirúrgica con Scaler ultrasónico (WOODPECKER Ue Led, GUILIN WOODPECKER MEDICAL INSTRUMENT CO., LTD) y curetas de Gracey n°3/4, 11/12, 13/14 Hu-Friedy.

Posteriormente, se procedió a la asignación aleatoria del enjuague bucal mediante un sistema de codificación por colores, el cual garantizó el enmascaramiento doble ciego del estudio, de modo que ni los pacientes ni el operador quien tomaría las mediciones iniciales y de reevaluación tuvieran conocimiento del tipo de enjuague asignado (plata coloidal, clorhexidina o placebo). Como se presenta en la figura 3 estos enjuagues fueron dispensados en recipientes de vidrio opacos que impedían la identificación visual del producto, distribuidos en volúmenes equivalentes de 250 ml y diferenciados exclusivamente por el color de la tapa (azul, verde y blanco).

Figura 2. a. Enjuagues bucales utilizados en el estudio correspondientes a plata coloidal, clorhexidina y placebo.



Todos los participantes recibieron instrucciones claras sobre el uso de los enjuagues, incluyendo la cantidad, frecuencia y duración del tratamiento, así como recomendaciones complementarias de higiene oral. Se indicó realizar el cepillado dental tres veces al día con un cepillo de cerdas suaves y complementar la higiene con seda dental. No se estandarizaron las marcas comerciales de los productos ni de los aditamentos de higiene oral utilizados por los participantes. Adicionalmente, se implementó un sistema de recordatorio por WhatsApp, mediante el cual se reforzó la adherencia al protocolo y se solicitó el reporte oportuno de cualquier efecto adverso.

En cuanto a los protocolos de administración, el grupo experimental (plata coloidal 20 ppm), el grupo control (clorhexidina al 0,12%) y el grupo placebo recibieron, cada uno, un envase de 250 ml con la indicación de realizar enjuagues de 10 ml durante 1 minuto y escupir, dos veces al día durante 15 días consecutivos.

Finalmente, a los 15 días posteriores a la intervención, se realizó una segunda toma de muestra siguiendo el mismo procedimiento que para la muestra basal. Además, se les volvió a preguntar a los pacientes si habían presentado algún efecto adverso para su registro.

Procesamiento microbiológico

Las muestras recolectadas fueron transferidas en un medio de transporte VMGA III (Viability Medium Göteborg Anaerobically prepared and sterilized) que mantiene la viabilidad de los microorganismos sin permitir su multiplicación, este medio se mantiene en un frasco hermético que tiene un indicador de azul de metileno que en ausencia de oxígeno es incoloro, por lo que permite verificar la ausencia de oxígeno durante el transporte de la muestra. El medio se transportó a temperatura ambiente, no se recomienda transporte en frío ya que favorece la generación de oxigenación. En un tiempo no mayor a 24 horas posterior a su obtención al laboratorio de Microbiología Oral del Instituto UIBO (Unidad de Investigación Básica Oral) de la Universidad El Bosque, con el propósito de preservar la viabilidad de los microorganismos anaerobios estrictos y facultativos.

Una vez en el laboratorio, se realizó el procesamiento microbiológico mediante la preparación de cinco diluciones seriadas en base 10 a partir del medio de transporte VMGA III. De estas diluciones, se sembraron 100 μ L de las diluciones 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} en agar Brucella con sangre enriquecido con hemina y menadiona (BBL Microbiology Systems, Cockeysville, MD), un medio selectivo que favorece el crecimiento de microorganismos anaerobios. Fueron incubadas a 36 °C en atmósfera de anaerobiosis (Anaerogen, Oxoid, Hampshire, England) durante siete días. Adicionalmente, para el aislamiento de bacterias entéricas, se sembró la muestra sin diluir en agar MacConkey, que se incubó en condiciones aerobias a 37 °C durante 24 a 48 horas. Posterior al periodo de incubación, se procedió al recuento de las unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml), permitiendo la cuantificación de los siguientes microorganismos: *Fusobacterium spp*, *Streptococcus* del grupo viridans, *Streptococcus* betahemolítico del grupo no A, *Staphylococcus spp*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, bacilos entéricos Gram negativos, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella intermedia/Prevotella nigrescens*, *Prevotella spp*, *Capnocytophaga spp*, *Actinomyces spp* y *Parvimonas micra*. Estos resultados permitieron evaluar la carga microbiológica subgingival y establecer comparaciones entre los diferentes grupos de estudio y momentos de análisis.

Análisis de desenlace

El análisis de desenlace se realizó bajo el principio de intención a tratar incluyendo a todos los participantes en el grupo al que fueron asignados inicialmente, independientemente del cumplimiento de la intervención o de la finalización del seguimiento clínico. Para los participantes que se perdieron durante el seguimiento del estudio, se utilizó el valor obtenido al inicio del estudio para completar los valores faltantes correspondientes al segundo momento de evaluación. La aplicación de este principio permitió conservar la distribución inicial de los grupos, reducir el riesgo de sesgo derivado de la exclusión de participantes posterior a la asignación y mantener la validez interna del análisis principal. Asimismo, este principio permite obtener una evaluación más prudente de los resultados de las intervenciones sobre los desenlaces microbiológicos.

Plan de análisis estadístico

Los resultados microbiológicos consistieron en el recuento de unidades formadoras de colonia (UFC) de aproximadamente 20 especies microbianas. Debido a la amplia dispersión de los datos, con valores entre 0 y 760.000 UFC, se aplicó una transformación logarítmica en base diez mediante la fórmula $\log_{10}(UFC+1)$, con el propósito de estabilizar la varianza, reducir la influencia de valores extremos y permitir la inclusión de muestras sin crecimiento bacteriano (UFC=0).

Posteriormente, se realizó un análisis de abundancia bacteriana calculando las medias de los valores transformados para cada intervención. La normalidad de los datos se evaluó mediante la prueba de Shapiro-Wilk y la homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene. Dado el incumplimiento de los supuestos paramétricos, las diferencias en la distribución de $\log_{10}(UFC)$ entre los tres grupos de intervención se analizaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis, mientras que las comparaciones intragrupo entre el tiempo basal y el seguimiento a 15 días se realizaron con la prueba de Friedman para datos repetidos.

Adicionalmente, se efectuó un análisis de frecuencia de detección microbiológica. Para ello, cada especie fue dicotomizada según presencia (UFC $\geq$ 1) o ausencia (UFC=0), construyéndose tablas de contingencia especie $\times$ intervención, que fueron sometidas a pruebas de independencia. Se utilizó la prueba de chi-cuadrado para evaluar diferencias en las proporciones de detección entre grupos; en aquellos escenarios con frecuencias esperadas menores a cinco, se aplicó el test exacto de Fisher para garantizar la validez de los resultados.

Finalmente, se diseñó una estrategia de representación gráfica que permitiera comunicar los hallazgos de manera clara y comparativa. Para explorar patrones de

colonización bacteriana antes y después de las intervenciones, se representaron mediante treemaps (mapa de árbol), utilizando el tamaño de cada bloque como indicador de abundancia relativa expresada en $\log_{10}(\text{UFC})$, lo que permitió visualizar comparativamente las especies predominantes y las diferencias en su comportamiento frente a cada enjuague.

RESULTADOS

En la población evaluada, participaron 16 mujeres y 21 hombres, con una edad promedio de $52,4 \pm 11,2$ años. La mayoría de los pacientes presentó periodontitis estadio III ($n = 28$; 75,7%), mientras que en estadio IV fueron ($n = 9$; 24,3%). Las características de los participantes, estratificadas por grupo de intervención, se muestran en la Tabla 1 y sugieren comparabilidad.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en cuanto al sexo ($p = 0,41$). En relación con las características sociodemográficas, el nivel educativo más frecuente fue profesional ($n = 20$), seguido de bachillerato ($n = 8$) y técnico ($n = 7$). El estrato socioeconómico más frecuente fue el 3 ($n = 26$), seguido del estrato 2 ($n = 7$); ninguna de estas variables presentó diferencias significativas entre los grupos ($p = 0,554$ y $p = 0,12$, respectivamente).

En relación con el inicio del uso del enjuague posterior a la terapia periodontal, la mayoría de los pacientes iniciaron el tratamiento de manera inmediata ($n = 33$), con poca representación en las demás categorías. Esta variable tampoco mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p = 0,457$).

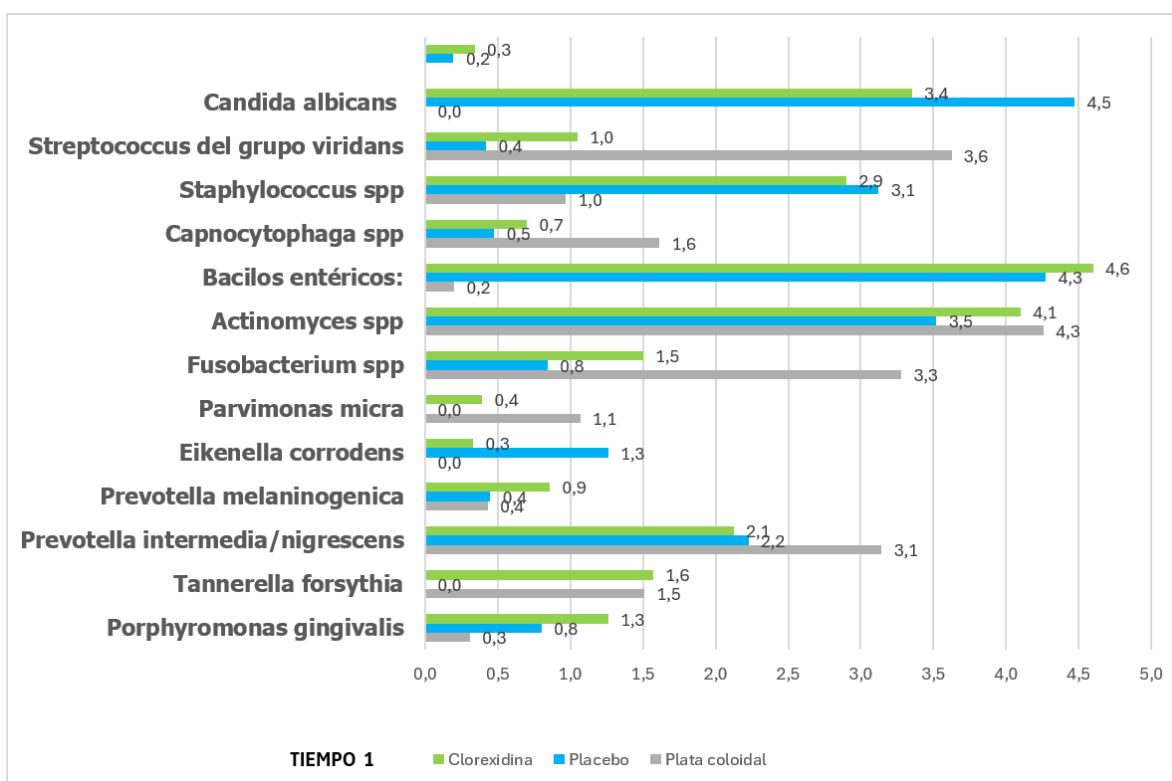
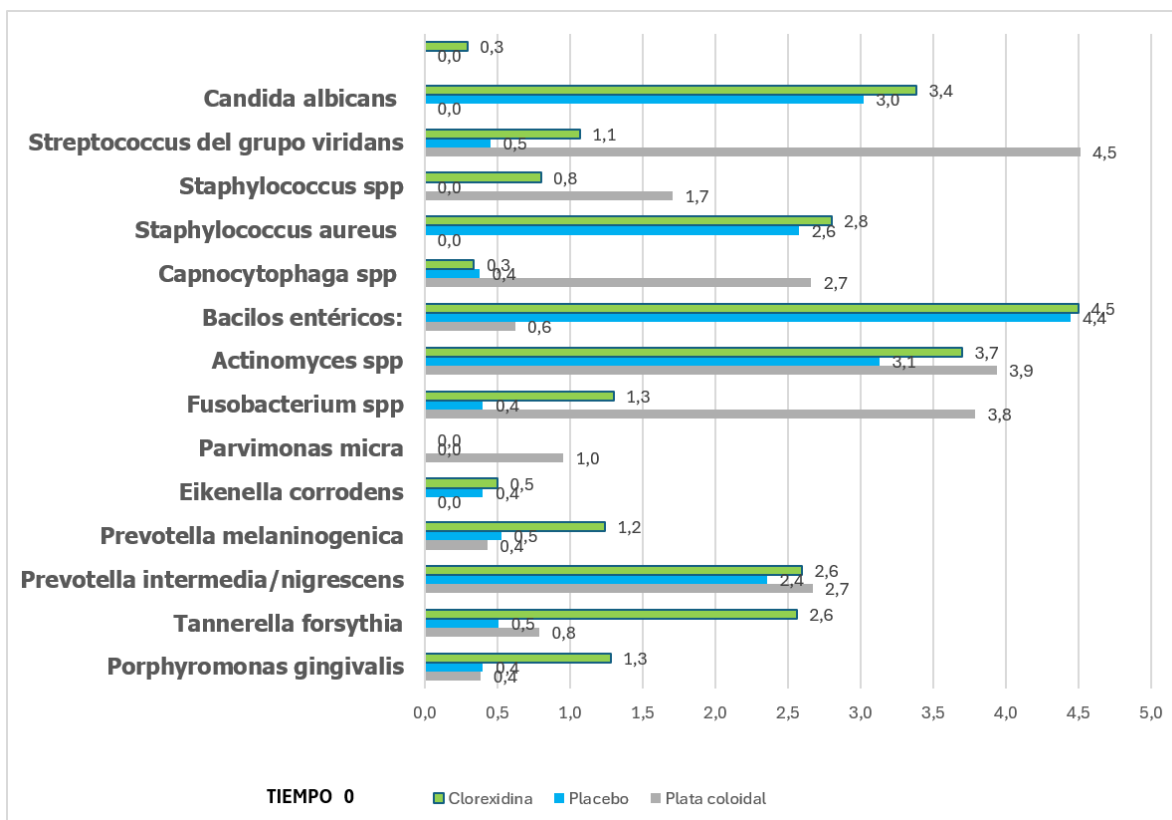
Tabla 1. Características sociodemográficas de los participantes. Valor p estadísticamente significativo $< 0,05$.

Variable	Enjuague									
	Plata coloidal		Placebo		Clorhexidina		Total		Estadístico	Valor p
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE		
Edad	52,7	11,9	56,4	10,6	49,0	10,7	52,4	11,2	1,318a	0,281
Sexo	n	%	n	%	n	%	n	%	1,783b	0,41
Femenino	7	53,8	3	27,3	6	46,2	16	43,2		
Masculino	6	46,2	8	72,7	7	53,8	21	56,8		
Nivel educativo	n	%	n	%	n	%	n	%	6.842	0,554
Primaria	1	7,7	0	0	0	0	1	2,7		
Bachiller	4	30,8	2	18,2	2	15,4	8	21,6		
Técnico	1	7,7	2	18,2	4	30,8	7	18,9		
Profesional	7	53,8	6	54,5	7	53,8	20	54,1		
Especialista	0	0,0	1	9,1	0	0,0	1	2,7		
Estrato	n	%	n	%	n	%	n	%	10.116	0,12

1	0	0,0	0	0,0	2	15,4	2	5,4		
2	5	38,5	2	18,2	0	0,0	7	18,9		
3	8	61,5	8	72,7	10	76,9	26	70,3		
4	0	0,0	1	9,1	1	7,7	2	5,4		
Periodontitis	n	%	n	%	n	%	n	%	2.809	0,245
Estadio III	10	77	10	90,9	8	61,5	28	75,7		
Estadio IV	3	23,1	1	9,1	5	38,5	9	24,3		
Días/Terapia Enjuague	n	%	n	%	n	%	n	%	7.762	0,457
14 días	1	7,7	0	0,0	0	0,0	1	2,7		
4 meses 5 días	0	0,0	0	0,0	1	7,7	1	2,7		
5 días	0	0,0	0	0,0	1	7,7	1	2,7		
Inmediato	12	92,3	11	100	10	76,9	33	89,2		
No se realizó	0	0,0	0	0,0	1	7,7	1	2,7		
a: ANOVA; b: χ^2										

Para el análisis microbiológico, el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) de aproximadamente 20 especies fueron transformados a escala logarítmica mediante $\log_{10}(\text{UFC}+1)$. Los valores presentados en la gráfica 1 corresponden a medias de los datos transformados tanto antes como después de las intervenciones asignadas.

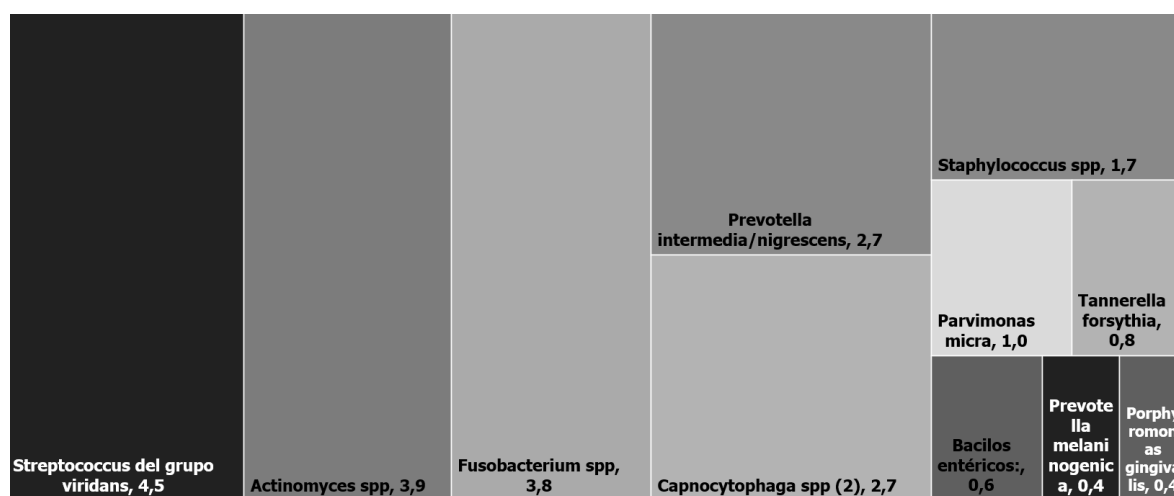
Figura 3. Especies periodontales ($\log_{10}$ UFC) en los diferentes grupos de tratamiento (plata coloidal, placebo y clorhexidina) en el tiempo 0 y en el tiempo 1.



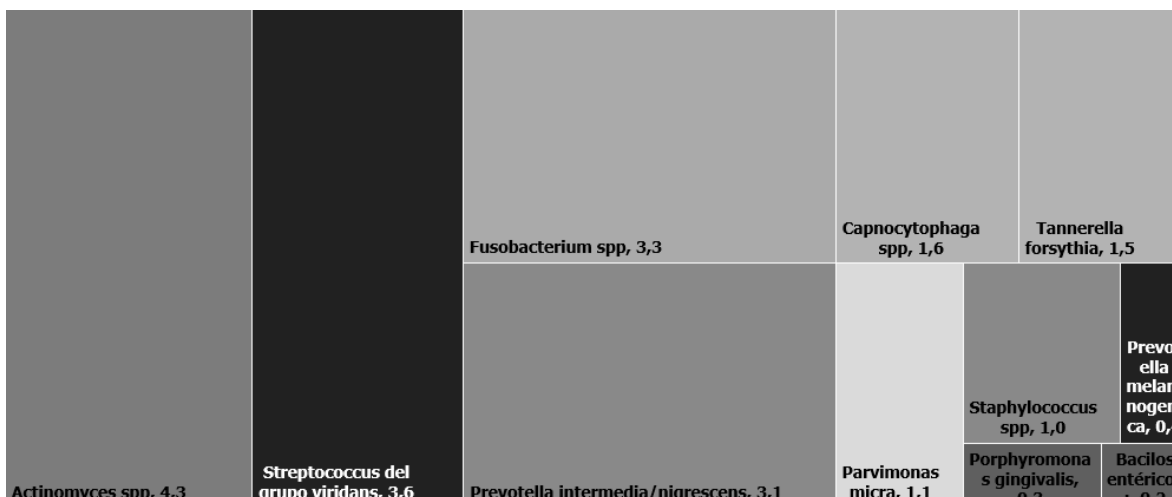
En la figura 4, el grupo tratado con plata coloidal se observó una leve disminución del recuento total de UFC (5,3 a 4,9 log10). Sin embargo, la respuesta bacteriana fue heterogénea. *Tannerella forsythia* aumentó, mientras que *Porphyromonas gingivalis* disminuyó ligeramente. *Prevotella intermedia/nigrescens* mostró tendencia al aumento y *Prevotella melaninogenica* permaneció estable. Por otra parte, *Fusobacterium* spp. disminuyó (3,8 a 3,3), mientras que *Parvimonas micra* presentó un leve incremento (1,0 a 1,1). Asimismo, *Actinomyces* spp. aumentó (3,9 a 4,3) y *Capnocytophaga* spp. se mantuvo estable, sugiriendo cambios parciales en la organización del biofilm. Un hallazgo relevante fue la disminución de *Streptococcus* del grupo *viridans* (4,5 a 3,6).

Figura 4. Representación gráfica de la abundancia microbiana en el grupo tratado con plata coloidal antes y después de la intervención.

TIEMPO 0



TIEMPO 1



En la figura 5, el grupo tratado con el placebo se evidenció cambios en la composición microbiana tras la intervención, sin observarse una reducción uniforme de los periodontopatógenos evaluados. En términos generales, se observó una leve disminución del recuento total de UFC (5,6 a 4,9 log10).

En cuanto a los patógenos del complejo rojo, *Porphyromonas gingivalis* aumentó (0,4 a 0,8), mientras que *Tannerella forsythia* no fue detectada después de la intervención.

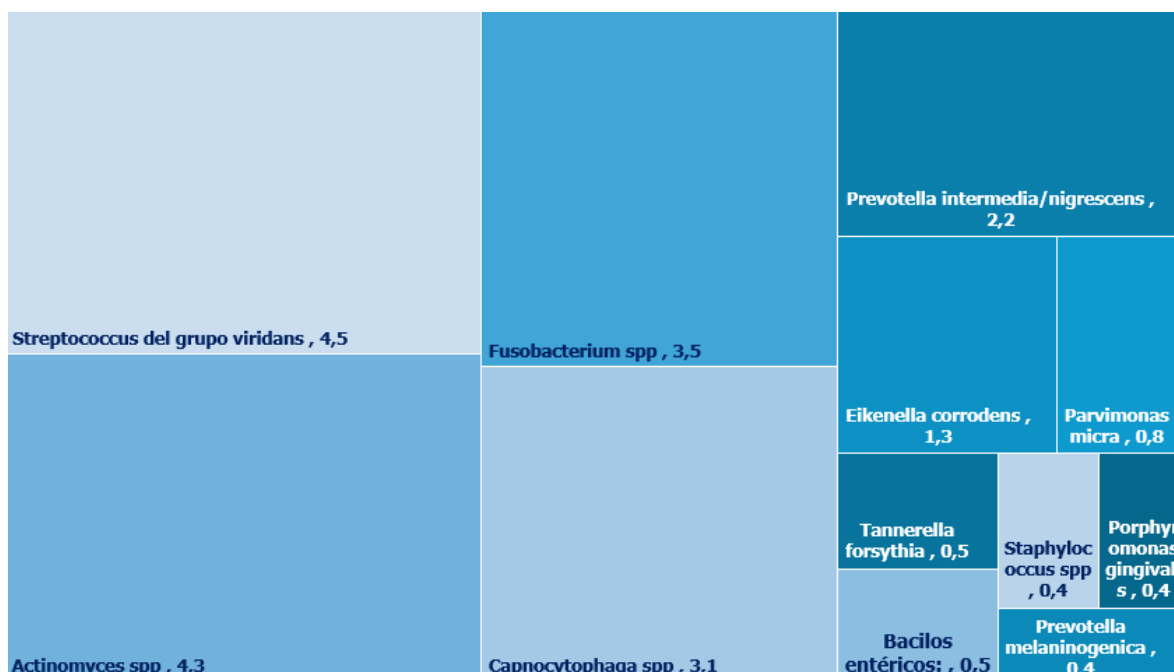
Entre los patógenos del complejo naranja, *Prevotella intermedia/nigrescens* mostró una ligera disminución (2,4 a 2,2), mientras que *Parvimonas micra* aumentó (0,4 a 0,8) y *Prevotella melaninogenica* disminuyó levemente (0,5 a 0,4).

En relación con otras bacterias relevantes, se observaron incrementos en *Eikenella corrodens* (0,4 a 1,3), *Fusobacterium spp.* (3,1 a 3,5) y *Capnocytophaga spp.* (2,6 a 3,1), mientras que *Actinomyces spp.*, mostró una leve disminución (4,4 a 4,3). En cuanto a la presencia de bacilos entéricos presentaron un incremento leve (0,4 a 0,5). También se observó que la especie *Staphylococcus spp.*, tuvo una leve disminución (0,5 a 0,4).

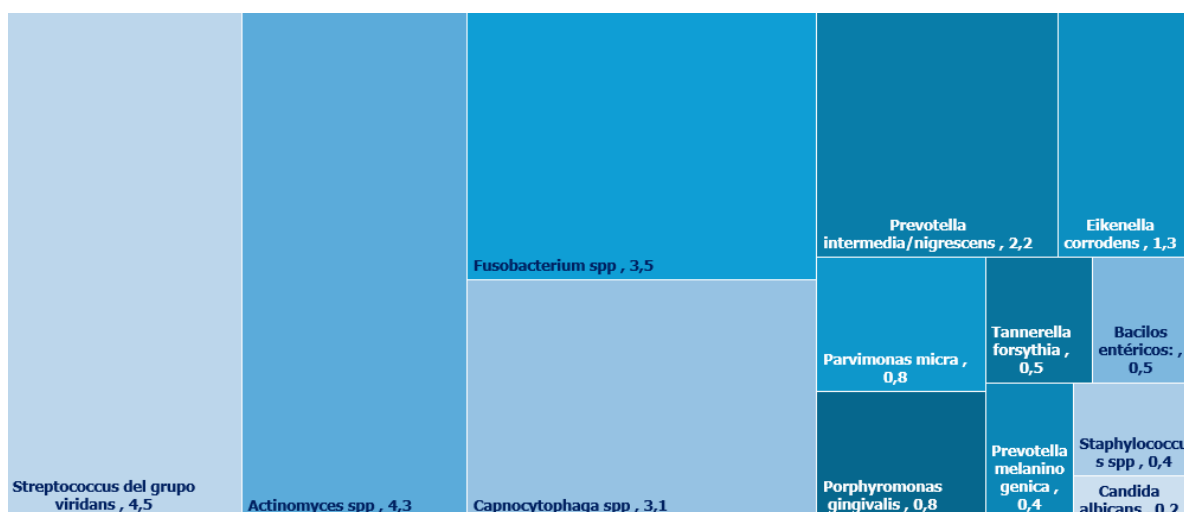
De particular interés, *Streptococcus del grupo viridans* se evidenció un incremento notable (3,0 a 4,5) y adicionalmente, se observó la aparición de *Candida albicans* (0,2) tras la intervención.

Figura 5. Representación gráfica de la abundancia microbiana en el grupo tratado con placebo antes y después de la intervención.

TIEMPO 0



TIEMPO 1



En la figura 6, el grupo tratado con el enjuague de clorhexidina, el recuento total de UFC se mantuvo estable tras la intervención (5,2 a 5,3). A nivel de especies, no se observó una reducción consistente de los periodontopatógenos.

En relación con el complejo rojo, *Porphyromonas gingivalis* permaneció sin cambios (1,3), mientras que *Tannerella forsythia* aumentó (1,6 a 2,6).

Respecto al complejo naranja, *Prevotella intermedia/nigrescens* disminuyó (2,6 a 2,1), en tanto que *Parvimonas micra* aumentó (1,3 a 1,5), evidenciando un

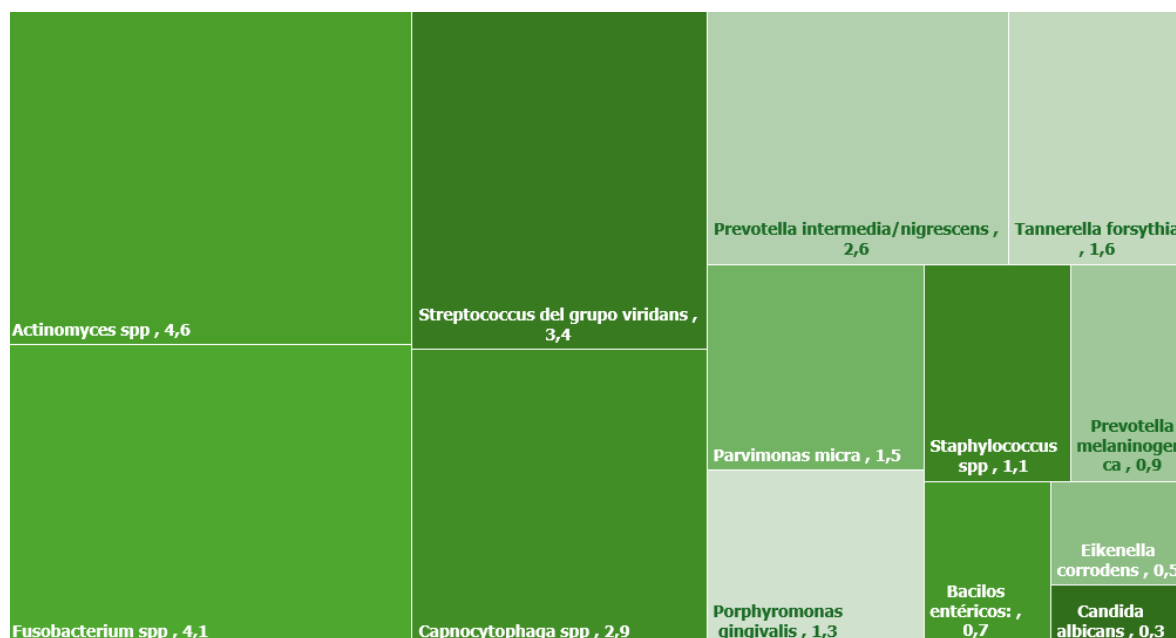
comportamiento variado. Asimismo, *Fusobacterium spp.*, mostró un incremento (3,7 a 4,1). *Prevotella melaninogenica*, también asociada al complejo naranja, presentó un aumento después de la intervención (0,9 a 1,2).

En cuanto a otros microorganismos, *Eikenella corrodens* (complejo verde) disminuyó (0,5 a 0,3), mientras que *Capnocytophaga spp.* (complejo verde) mostró variabilidad sin un patrón definido. *Actinomyces spp.* (complejo azul) presentó un aumento leve.

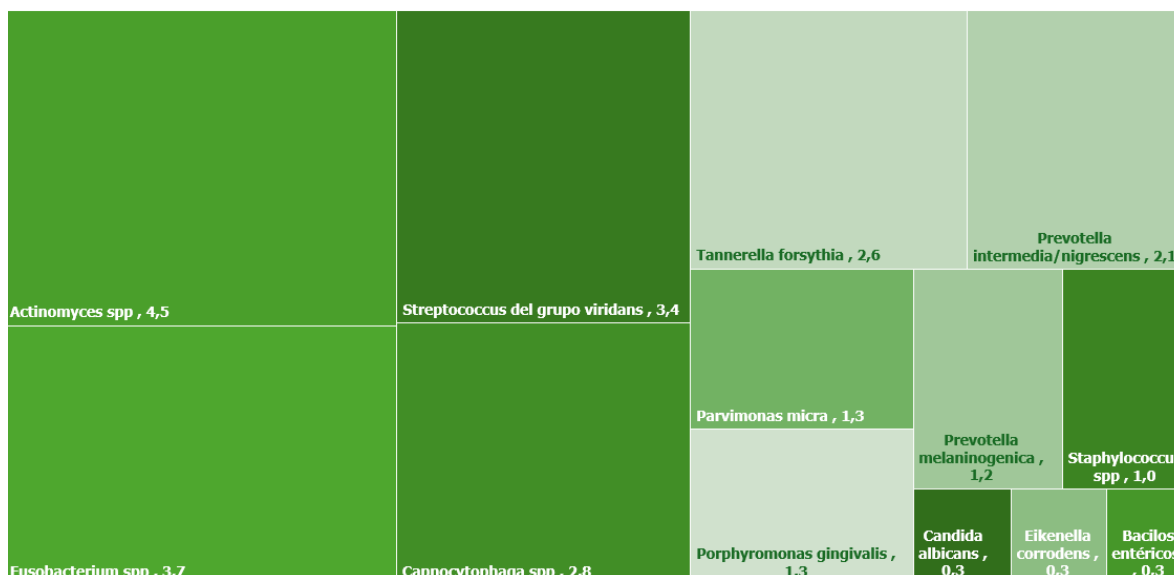
Los bacilos entéricos aumentaron, *Staphylococcus spp.* Se mantuvo estable, y *Staphylococcus aureus* no fue detectado después de la intervención.

Figura 6. Representación gráfica de la abundancia microbiana en el grupo tratado con clorhexidina antes y después de la intervención.

TIEMPO 0



TIEMPO 1



En el análisis global de frecuencia de detección microbiológica realizado mediante tablas cruzadas presentada en la tabla 2, se evidencio que previo a la intervención, los microorganismos detectados con mayor frecuencia fueron *Streptococcus* del grupo viridans (90,3%), *Actinomyces spp.* (83,8%) y *Fusobacterium spp.* (78,4%), seguidos de *Prevotella intermedia/nigrescens* y *Capnocytophaga spp.* (56,8%).

Posterior a las intervenciones, *Actinomyces spp.* (83,8% a 89,2%) y *Fusobacterium spp.* (78,4% a 81,1%) continuaron predominando. También aumentaron *Prevotella intermedia/nigrescens* y *Capnocytophaga spp.* (56,8% a 59,5%), así como *Porphyromonas gingivalis* (13,5% a 16,2%), *Parvimonas micra* (21,6% a 24,3%) y *Candida albicans* (8,8% a 13,5%).

Al analizar los resultados según el tipo de intervención se evidenció que en el grupo tratado con plata coloidal la misma frecuencia de bacterias global, sin embargo posterior a la intervención *Prevotella intermedia/nigrescens* aumento, *Fusobacterium spp* al igual que *Streptococcus del grupo viridans*, mientras que *Actinomyces spp* se mantuvo estable.

En el grupo de placebo predominaron las mismas bacterias que en el análisis global, excepto *Prevotella intermedia/nigrescens*. Posterior a la intervención se evidencio aumento de *Prevotella intermedia/nigrescens*, *Fusobacterium spp*, *Actinomyces spp*, *Capnocytophaga spp* y *Streptococcus del grupo viridans*.

En el grupo tratado con clorhexidina se evidencio frecuencia de las mismas bacterias que en el análisis global, con inclusión de *Prevotella melaninogenica*. Posterior a la intervención se evidencio que *Prevotella intermedia/nigrescens* se

mantuvo estable, *Prevotella melaninogenica* y *Streptococcus* del grupo *viridans* disminuyó en frecuencia, *Fusobacterium spp*, *Actinomyces spp*, *Capnocytophaga spp* aumentaron.

Tabla 2. Frecuencia microbiana de especies periodontales en los diferentes grupos de tratamiento (plata coloidal) en el tiempo 0 y en el tiempo 15.

	Plata Coloidal		Placebo		Clorhexidina		Total	Total
Especie	n	%	n	%	n	%		
D1Porphyromonas gingivalis	1	7,7%	1	9,1%	3	23,1%	5	13,51%
D1Tannerella forsythia	2	15,4%	1	9,1%	7	53,8%	10	27,0%
D1Prevotella intermedia/nigrescens	8	61,5%	5	45,5%	8	61,5%	21	56,8%
D1Prevotella melaninogenica	1	7,7%	1	9,1%	3	23,1%	5	13,5%
D1Eikenella corrodens	0	0,0%	1	9,1%	2	15,4%	3	8,1%
D1Capnocytophaga spp	1	7,7%	0	0,0%	1	7,7%	2	5,4%
D1Parvimonas micra	3	23,1%	1	9,1%	4	30,8%	8	21,6%
D1Fusobacterium spp	11	84,6%	7	63,6%	11	84,6%	29	78,4%
D1Actinomyces spp	11	84,6%	9	81,8%	11	84,6%	31	83,8%
D1Bacilos entéricos	3	23,1%	2	22,2%	2	15,4%	7	20,0%
D1Capnocytophaga spp	8	61,5%	6	54,5%	7	53,8%	21	56,8%
D1Staphylococcus aureus	0	0,0%	0	0,0%	3	23,1%	3	8,1%
D1Staphylococcus spp	6	46,2%	1	9,1%	3	25,0%	10	27,8%
D1Streptococcus del grupo viridans	13	100,0%	6	85,7%	9	81,8%	28	90,3%
D1Candida albicans	0	0,0%	0	0,0%	3	25,0%	3	8,8%
D1Candida spp	0	0,0%	0	0,0%	1	7,7%	1	2,8%

	Plata Coloidal		Placebo		Clorhexidina		Total	Total
Especie	n	%	n	%	n	%		
D2Porphyromonas gingivalis	1	7,7%	2	18,2%	3	23,1%	6	16,20%
D2Tannerella forsythia	4	30,8%	0	0,0%	4	30,8%	8	21,6%
D2Prevotella intermedia/nigrescens	9	69,2%	6	54,5%	7	53,8%	22	59,5%
D2Prevotella melaninogenica	1	7,7%	1	9,1%	2	15,4%	4	10,8%
D2Eikenella corrodens	0	0,0%	3	27,3%	0	0,0%	3	8,1%
D2Capnocytophaga spp	1	7,7%	0	0,0%	1	7,7%	2	5,4%
D2Parvimonas micra	3	23,1%	2	18,2%	4	30,8%	9	24,3%
D2Fusobacterium spp	9	69,2%	9	81,8%	12	92,3%	30	81,1%
D2Actinomyces spp	11	84,6%	10	90,9%	12	92,3%	33	89,2%
D2Bacilos entéricos	2	15,4%	3	27,3%	4	30,8%	9	9,5%
D2Capnocytophaga spp	5	38,5%	8	72,7%	9	69,2%	22	59,5%
D2Staphylococcus aureus	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
D2Staphylococcus spp	4	30,8%	1	9,1%	4	30,8%	9	24,3%
D2Streptococcus del grupo viridans	9	69,2%	10	90,9%	8	61,5%	27	28,4%
D2Candida albicans	0	0,0%	1	9,1%	4	30,8%	5	13,5%
D2Candida spp	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%

DISCUSIÓN

La periodontitis es una enfermedad asociada a una disbiosis compleja de la biopelícula subgingival, en la cual comunidades bacterianas organizadas de manera sinérgica favorecen una respuesta inflamatoria desregulada del huésped y la destrucción progresiva de los tejidos periodontales (2). En este sentido, la patogenicidad periodontal surge de comunidades microbianas funcionalmente integradas y no de patógenos individuales (13). Los hallazgos del presente estudio evidenciaron que ninguna de las intervenciones evaluadas produjo una reducción uniforme de los periodontopatógenos, con respuestas microbiológicas heterogéneas incluso entre especies pertenecientes a un mismo complejo microbiano de Socransky. Este patrón fue consistente en los tres grupos y confirma la elevada complejidad ecológica y la notable capacidad adaptativa de la biopelícula periodontal madura en pacientes con periodontitis estadio III y IV (14).

Un hallazgo particularmente significativo fue que las bacterias más abundantes y con mayor frecuencia de detección antes de las intervenciones *Streptococcus del grupo viridans* (90,3%), *Actinomyces spp.* (83,8%) y *Fusobacterium spp.* (78,4%) se mantuvieron como las especies dominantes en todos los grupos tras el tratamiento, con incrementos globales en sus frecuencias de detección. Esta estabilidad de la biopelícula madura, independientemente del agente utilizado, refleja la alta resiliencia estructural de su organización tridimensional y la capacidad de las especies dominantes para mantener su posición ecológica gracias a mecanismos de coagregación bacteriana, cooperación metabólica y organización tridimensional (13, 26). En particular, *Fusobacterium spp.*, reconocido microorganismo "puente" que facilita la integración entre colonizadores tempranos y anaerobios tardíos del complejo rojo (26), aumentó su frecuencia global (78,4% a 81,1%) e incrementó sus recuentos en los grupos de placebo y clorhexidina, lo que sugiere que las intervenciones no lograron desestabilizar los andamiajes estructurales del biofilm. Solo el grupo de plata coloidal mostró una leve disminución de *Fusobacterium spp.*, aunque sin que esto se tradujera en una reconfiguración del ecosistema subgingival hacia condiciones de salud periodontal.

Respecto a los patógenos del complejo rojo de Socransky, se observaron comportamientos variables de *Porphyromonas gingivalis* y *Tannerella forsythia*. *P. gingivalis*, que se considera "patógeno clave" por su capacidad de inducir disbiosis periodontal incluso en concentraciones bajas al modificar la respuesta inmunitaria del hospedador (19, 20), experimentó una ligera reducción en el grupo con plata coloidal, permaneció constante en el de clorhexidina y aumentó en el placebo. Por otro lado, *T. forsythia* no se encontró después de la intervención en el grupo placebo; sin embargo, aumentó en los grupos tratados con plata coloidal y clorhexidina. Estas respuestas diferenciadas corroboran que, en biopelículas maduras de pacientes con periodontitis avanzada, los mecanismos de evasión inmunológica y las interacciones ecológicas de estas especies sobrepasan el potencial de acción de los enjuagues antimicrobianos analizados (21, 22, 23, 24). De manera parecida, los patógenos del complejo naranja (*Prevotella melaninogenica*, *Prevotella intermedia/nigrescens* y *Parvimonas micra*) exhibieron

conductas diversas en función de la intervención, con un aumento general de *Parvimonas micra* en los tres grupos (21,6 % a 24,3 %). Este aumento es significativo debido a su potencial para interactuar sinérgicamente con *Fusobacterium spp.* y *P. gingivalis* y a su aporte a la estabilidad de comunidades disbióticas (27, 28).

El comportamiento de *Streptococcus del grupo viridans* demostró de manera ejemplar el efecto ecológico diferenciado que tiene cada intervención en los microorganismos comensales. Se notó que, en el grupo de plata coloidal, los recuentos bajaron (de 4,5 a 3,6 log₁₀ UFC), lo cual indica que la actividad antimicrobiana no fue selectiva y tuvo un impacto al mismo tiempo en las bacterias que son beneficiosas para la homeostasis bucal. Por otro lado, el grupo placebo evidenció un aumento significativo de esta especie (de 3.0 a 4.5 log₁₀ UFC), que puede ser entendido como una recolonización fisiológica positiva después de la desorganización mecánica del biofilm; no obstante, este incremento se produjo al mismo tiempo que los periodontopatógenos como *Fusobacterium spp.*, *Parvimonas micra* y *P. gingivalis* aumentaron, lo que demuestra que la recolonización no fue orientada únicamente hacia un perfil de salud (32, 33). El grupo de clorhexidina mostró una reducción en la frecuencia de detección de *Streptococcus viridans* (81,8% a 61,5%), consistente con su efecto antimicrobiano de amplio espectro, pero que al mismo tiempo puede traducirse en una alteración del equilibrio ecológico oral a expensas de microorganismos comensales protectores (40, 41).

Otro hallazgo importante fue la presencia de microorganismos oportunistas tras las intervenciones. *Candida albicans*, ausente basalmente en todos los grupos, apareció tras el tratamiento en el grupo de clorhexidina (30,8%) y placebo (9,1%), incrementando su frecuencia global de 8,8% a 13,5%. Este fenómeno podría explicarse por alteraciones ecológicas del microbioma que generaron nichos disponibles para colonización fúngica oportunista, dado que *C. albicans* posee amplios factores de virulencia e interactúa sinérgicamente con periodontopatógenos como *P. gingivalis* y *Fusobacterium spp.*, pudiendo contribuir a la progresión de la disbiosis periodontal (34, 35, 36, 37). Asimismo, el leve incremento de bacilos entéricos Gram negativos en los tres grupos es consistente con la descripción de colonizaciones oportunistas en ambientes periodontales inflamatorios y disbióticos (38). Ambos hallazgos refuerzan la idea de que las intervenciones evaluadas no condujeron a una resolución de la disbiosis, sino a una reorganización ecológica mixta de la biopelícula subgingival.

Los tres grupos exhibieron más similitudes que diferencias en su comportamiento microbiológico general, desde un punto de vista comparativo. El número total de UFC bajó ligeramente en los grupos de placebo (de 5,6 a 4,9 log₁₀) y plata coloidal (de 5,3 a 4,9 log₁₀), pero se mantuvo constante en el grupo de clorhexidina (de 5,2 a 5,3 log₁₀). Sin embargo, estas diferencias cuantitativas no se acompañaron de cambios cualitativos consistentes hacia un perfil compatible con salud periodontal en ningún grupo. Este comportamiento es consistente con la evidencia existente que indica que los enjuagues antimicrobianos, entre ellos la clorhexidina, tienen una eficacia mucho más alta sobre las biopelículas supragingivales y la gingivitis que

sobre comunidades complejas subgingivales relacionadas con periodontitis avanzada, en las cuales la estructura tridimensional de la biopelícula y los microambientes anaerobios protegidos restringen su penetración y efecto (41, 42, 43). En este contexto, La plata coloidal no mostró ser más efectiva que la clorhexidina o el placebo para modular la biopelícula subgingival madura en pacientes con periodontitis estadio III y IV Aunque su mecanismo de acción ha mostrado resultados prometedores in vitro frente a periodontopatógenos (15, 16, 17, 18), los presentes hallazgos evidencian que dichos efectos no se reproducen de manera uniforme en el entorno clínico, donde la complejidad ecológica de la biopelícula constituye una barrera funcional robusta. En términos generales, los hallazgos de esta investigación son coherentes con el modelo de sinergia polimicrobiana y disbiosis propuesto por Hajishengallis y Lamont (13) reforzando la necesidad de desarrollar estrategias que, más allá de reducir la carga bacteriana, busquen modular ecológicamente la disbiosis subgingival característica de la periodontitis estadio III y IV.

Conclusiones:

La presente investigación evidenció que las intervenciones evaluadas produjeron cambios microbiológicos en la biopelícula subgingival en pacientes con periodontitis estadio III y IV, sin embargo, esos cambios no son heterogéneos y no se observó una reducción uniforme de los periodontopatógenos evaluados. Tanto la plata coloidal como el placebo mostraron una leve disminución del recuento total de UFC, mientras que el enjuague de clorhexidina mantuvo valores similares entre el inicio y el seguimiento.

Los hallazgos refuerzan la alta complejidad ecológica y resiliencia de las comunidades microbianas de la biopelícula subgingival madura, donde los fenómenos de coagregación bacteriana, cooperación metabólica y organización estructural limitan la acción de los agentes antimicrobianos. Aunque la plata coloidal mostró cierta actividad antimicrobiana, no evidenció una modulación hacia un perfil compatible con salud periodontal ni una superioridad microbiológica frente a la clorhexidina.

De igual manera, los cambios observados en el grupo placebo sugieren que la instrumentación supragingival y subgingival y las intervenciones de higiene oral por parte del paciente influyen en la modificación inicial de la microbiota subgingival, aunque resultan insuficientes para generar una transición microbiológica estable hacia condiciones compatibles con salud periodontal en pacientes con periodontitis avanzada. En conjunto los resultados refuerzan la necesidad de desarrollar estudios clínicos in vivo y ensayos clínicos controlados con mayor tamaño de muestra y seguimiento longitudinal, que permita generar evidencia clínica sólida y reproducible al manejo periodontal de pacientes con periodontitis en los diferentes estadios.

Recomendaciones: priorizar el desarrollo de ensayos clínicos in vivo, que permita generar evidencia clínica sólida y reproducible al manejo periodontal de pacientes con periodontitis en los diferentes estadios.

Referencias bibliográficas:

1. Genco RJ, Sanz M. Clinical and public health implications of periodontal and systemic diseases: An overview. *Periodontol* 2000. 2020;83:7–13. <https://doi.org/10.1111/prd.12344>
2. Papapanou PN, Sanz M, et al. Periodontitis: Consensus report of Workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Clin Periodontol*. 2018;45(Suppl 20):S162–S170. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12946>
3. Herrera, D., Sanz, M., Kebschull, M., Jepsen, S., Sculean, A., Berglundh, T., Papapanou, P. N., Chapple, I., Tonetti, M. S., & EFP Workshop Participants and Methodological Consultant (2022). Treatment of stage IV periodontitis: The EFP S3 level clinical practice guideline. *Journal of Clinical Periodontology*, 49(Suppl. 24), 4–71. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13639>
4. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. 1998;25(2):134-44. doi:10.1111/j.1600-051X.1998.tb02419.x
5. Sanz M, Herrera D, Kebschull M, et al; On behalf of the EFP Workshop Participants and Methodological Consultants. Treatment of stage I–III periodontitis—The EFP S3 level clinical practice guideline. *J Clin Periodontol*. 2020;47:4–60. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13290>
6. Jones, C.G. (1997), Chlorhexidine: is it still the gold standard?. *Periodontology* 2000, 15: 55-62. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.1997.tb00105.x>
7. Van Strydonck DAC, Slot DE, Van der Velden U, Van der Weijden F. Effect of a chlorhexidine mouthrinse on plaque, gingival inflammation and staining in gingivitis patients: a systematic review. *J Clin Periodontol*. 2012;39(11):1042-1055. doi:10.1111/j.1600-051X.2012.01883.x.
8. Kadam P, Mahale S, Sonar P, Chaudhari D, Shimpi S, Kathurwar A. Efficacy of silver nanoparticles in chronic periodontitis patients: a clinico-microbiological study. *Iberoam J Med*. 2020;2(3):142-147. doi:10.5281/zenodo.3749621.
9. Vila Domínguez A, Ayerbe Algaba R, Miró Canturri A, Rodríguez Villodres Á, Smani Y. Antibacterial Activity of Colloidal Silver against Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. *Antibiotics* [Internet]. 2020 Jan 1;9(1):36. Available from: <https://www.mdpi.com/2079-6382/9/1/36/htm>
10. Matesanz-Pérez P, García-Gargallo M, Figuero E, Bascones-Martínez A, Sanz M, Herrera D. A systematic review on the effects of local antimicrobials

- as adjuncts to subgingival debridement, compared with subgingival debridement alone, in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2012; 00:000–000. doi: 10.1111/jcpe.12026. Marsh PD. Contemporary perspective on plaque control. *British Dental Journal*. 2012 Jun;212(12):601–6.
11. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. 1998;25(2):134-44. doi:10.1111/j.1600-051X.1998.tb02419.x
 12. Hajishengallis G, Lamont RJ. Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. *Mol Oral Microbiol*. 2012;27(6):409-419. doi:10.1111/j.2041-1014.2012.00663.x.
 13. Shaikh HFM, Patil SH, Pangam TS, Rathod KV. Polymicrobial synergy and dysbiosis: an overview. *J Indian Soc Periodontol*. 2018;22(2):101-106. doi:10.4103/jisp.jisp_385_17.
 14. Tomás I, Cousido MC, García-Caballero L, Rubido S, Limeres J, Diz P. Substantivity of a single chlorhexidine mouthwash on salivary flora: influence of intrinsic and extrinsic factors. *J Dent*. 2010;38(7):541-546. doi:10.1016/j.jdent.2010.03.012.
 15. Navabi N, Afshari Z, Kamyabi H, Mohammadi M. Side effects and short effects of using three common mouthwashes on oral health and quality of life: a quasi-experimental study. *Int J Dent Hyg*. 2024;22:681-688. doi:10.1111/idh.12761.
 16. Tran PL, Luth K, Wang J, Ray C, de Souza A, Mehta D, et al. Efficacy of a silver colloidal gel against selected oral bacteria in vitro. *F1000Res*. 2019;8:267. doi:10.12688/f1000research.18112.1.
 17. Lu Z, Rong K, Li J, Yang H, Chen R. Size-dependent antibacterial activities of silver nanoparticles against oral anaerobic pathogenic bacteria. *J Mater Sci Mater Med*. 2013;24(6):1465-1471. doi:10.1007/s10856-013-4894-5.
 18. How KY, Song KP, Chan KG. *Porphyromonas gingivalis*: an overview of periodontopathogenic pathogen below the gum line. *Front Microbiol*. 2016;7:53. doi:10.3389/fmicb.2016.00053.
 19. Hajishengallis G, Darveau RP, Curtis MA. The keystone-pathogen hypothesis. *Nat Rev Microbiol*. 2012;10(10):717-725. doi:10.1038/nrmicro2873.
 20. Hajishengallis G. Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. *Trends Immunol*. 2014;35(1):3-11. doi:10.1016/j.it.2013.09.001.
 21. Sharma A. Virulence mechanisms of *Tannerella forsythia*. *Periodontol* 2000. 2010;54(1):106-116. doi:10.1111/j.1600-0757.2009.00332.x.
 22. Posch G, Sekot G, Friedrich V, Megson ZA, Koerdt A, Messner P, et al. Glycobiology aspects of the periodontal pathogen *Tannerella forsythia*. *Biomolecules*. 2012;2(4):467-482. doi:10.3390/biom2040467.

23. How KY, Song KP, Chan KG. *Porphyromonas gingivalis*: an overview of periodontopathic pathogen below the gum line. *Front Microbiol.* 2016;7:53. doi:10.3389/fmicb.2016.00053.
24. Kolenbrander PE, Andersen RN, Blehert DS, Eglund PG, Foster JS, Palmer RJ Jr. Communication among oral bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2002;66(3):486-505. doi:10.1128/MMBR.66.3.486-505.2002.
25. Chen Y, Shi T, Li Y, Huang L, Yin D. *Fusobacterium nucleatum*: the opportunistic pathogen of periodontal and peri-implant diseases. *Front Microbiol.* 2022;13:860149. doi:10.3389/fmicb.2022.860149.
26. Groeger S, Zhou Y, Ruf S, Meyle J. Pathogenic mechanisms of *Fusobacterium nucleatum* on oral epithelial cells. *Front Oral Health.* 2022;3:856095. doi:10.3389/froh.2022.856095.
27. Neilands J, Davies JR, Bikker FJ, Svensäter G. *Parvimonas micra* stimulates expression of gingipains from *Porphyromonas gingivalis* in multi-species communities. *Anaerobe.* 2019;55:54-60. doi:10.1016/j.anaerobe.2018.11.005.
28. Kolenbrander PE, Palmer RJ Jr, Rickard AH, Jakubovics NS, Chalmers NI, Diaz PI. Bacterial interactions and successions during plaque development. *Periodontol 2000.* 2006;42(1):47-79. doi:10.1111/j.1600-0757.2006.00187.x.
29. Zijlge V, van Leeuwen MBM, Degener JE, Abbas F, Thurnheer T, Gmür R, et al. Oral biofilm architecture on natural teeth. *PLoS One.* 2010;5(2):e9321. doi:10.1371/journal.pone.0009321.
30. Marsh PD. Dental plaque as a biofilm and a microbial community: implications for health and disease. *BMC Oral Health.* 2006;6(Suppl 1):S14. doi:10.1186/1472-6831-6-S1-S14.
31. Yoshida Y, Palmer RJ, Yang J, Kolenbrander PE, Cisar JO. Streptococcal receptor polysaccharides: recognition molecules for oral biofilm formation. *BMC Oral Health.* 2006;6(Suppl 1):S12. doi:10.1186/1472-6831-6-S1-S12.
32. Benítez-Páez A, Belda-Ferre P, Simón-Soro A, Mira A. Microbiota diversity and gene expression dynamics in human oral biofilms. *BMC Genomics.* 2014;15:311. doi:10.1186/1471-2164-15-311.
33. Satala D, Gonzalez-Gonzalez M, Smolarz M, Surowiec M, Kulig K, Wronowska E, et al. The role of *Candida albicans* virulence factors in the formation of multispecies biofilms with bacterial periodontal pathogens. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;11:765942. doi:10.3389/fcimb.2021.765942.
34. Mayer FL, Wilson D, Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence.* 2013;4(2):119-128. doi:10.4161/viru.22913.
35. Montelongo-Jauregui D, Lopez-Ribot JL. *Candida* interactions with the oral bacterial microbiota. *J Fungi (Basel).* 2018;4(4):122. doi:10.3390/jof4040122.
36. van Winkelhoff AJ, Rurenga P, Wekema-Mulder GJ, Singadji ZM, Rams TE. Non-oral gram-negative facultative rods in chronic periodontitis microbiota. *Microb Pathog.* 2016;94:117-122. doi:10.1016/j.micpath.2016.03.007.

37. Jones CG. Chlorhexidine: is it still the gold standard? *Periodontol* 2000. 1997;15(1):55-62. doi:10.1111/j.1600-0757.1997.tb00105.x.
38. Poppolo Deus F, Ouanounou A. Chlorhexidine in dentistry: pharmacology, uses, and adverse effects. *Int Dent J*. 2022;72(3):269-277. doi:10.1016/j.identj.2022.01.005.
39. James P, Worthington HV, Parnell C, Harding M, Lamont T, Cheung A, et al. Chlorhexidine mouthrinse as an adjunctive treatment for gingival health. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;3(3):CD008676. doi:10.1002/14651858.CD008676.pub2.
40. Van Strydonck DAC, Slot DE, Van der Velden U, Van der Weijden F. Effect of a chlorhexidine mouthrinse on plaque, gingival inflammation and staining in gingivitis patients: a systematic review. *J Clin Periodontol*. 2012;39(11):1042-1055. doi:10.1111/j.1600-051X.2012.01883.x.
41. da Costa LFNP, Amaral C da SF, Barbirato D da S, Leão ATT, Fogacci MF. Chlorhexidine mouthwash as an adjunct to mechanical therapy in chronic periodontitis: a meta-analysis. *J Am Dent Assoc*. 2017;148(5):308-318. doi:10.1016/j.adaj.2017.01.021.
42. Greenstein G, Berman C, Jaffin R. Chlorhexidine: an adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol*. 1986;57(6):370-377. doi:10.1902/jop.1986.57.6.370.
43. Cousido MC, Tomás Carmona I, García-Caballero L, Limeres J, Alvarez M, Diz P. In vivo substantivity of 0.12% and 0.2% chlorhexidine mouthrinses on salivary bacteria. *Clin Oral Investig*. 2010;14(4):397-402. doi:10.1007/s00784-009-0320-2.
44. Tomás I, Cousido MC, García-Caballero L, Rubido S, Limeres J, Diz P. Substantivity of a single chlorhexidine mouthwash on salivary flora: influence of intrinsic and extrinsic factors. *J Dent*. 2010;38(7):541-546. doi:10.1016/j.jdent.2010.03.012.