

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

BOGOTÁ, JUNIO DE 2026

PÁGINA DE ACEPTACIÓN

El Trabajo de grado “**EFICACIA ANTIMICROBIANA DEL ENJUAGUE BUCAL DE PLATA COLOIDAL EN MICROORGANISMOS PERIODONTOPATÓGENOS**”. Fue elaborado por Karen Stefany Nobsa Granados, Jessica Navarro Rodríguez, como requisito para optar por el título de especialista en **Periodoncia**.

La sustentación se llevó a cabo 18 de junio 2026

Dr. Julián Alberto Molano Pérez
Asesor Científico

Dr. Santiago Garzón
Asesor Metodológico

Dr. Camilo Andrés Romo Pérez
Director Centro de Investigación
Colegio Odontológico – CICO (Bogotá)

Dra. Sandra Elizabeth Aguilera Rojas
Directora de Investigación y Gestión del Conocimiento
Institución Universitaria Colegios de Colombia – UNICOC

DEDICATORIA

Dedicamos este trabajo a nuestras familias, por enseñarnos que la perseverancia y el esfuerzo constituyen el cimiento de cualquier logro. Se les agradece también por su apoyo, paciencia y comprensión durante los días más exigentes de este proceso. Y, finalmente, a aquellos que confiaron en nosotros cuando las incertidumbres parecían superar las certezas: esta meta es tan nuestra como suya.

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro más sincero agradecimiento a nuestros profesores pacientes que nos colaboraron en nuestra investigación y compañeros que pudimos conocer durante el programa de posgrado. También, a nuestros asesores Dr. Julián Alberto Molano Pérez, Dr. Santiago Garzón y Dr. Camilo Andrés Romo Pérez por su apoyo.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	7
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
JUSTIFICACIÓN	12
MARCO TEÓRICO	14
OBJETIVOS	26
ASPECTOS METODOLÓGICOS	27
DISEÑO DE LAS VARIABLES	29
PROCEDIMIENTO	30
INSTRUMENTO	31
PLANTILLA DE RECOLECCIÓN DE DATOS	32
RESULTADOS	33
DISCUSIÓN	34
CONCLUSIONES	35
RECOMENDACIONES	36
BIBLIOGRAFÍA	37

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 patología que afecta a una parte significativa de la población mundial, comprometiendo aproximadamente al 45%-50% de los adultos en sus formas más leves y aumentando a más del 60% en personas mayores de 65 años. La periodontitis estadio III y IV es la sexta enfermedad más común en los seres humanos y se estima que afecta al 11.2% de la población adulta mundial (1). Entre 1990 y 2010, sorprendentemente, la carga global de las enfermedades periodontales aumentó en un 57.3% durante este

período de 20 años (2), clasificando la periodontitis como una de las condiciones más prevalentes en la humanidad (3), y una actualización reciente hasta 2019 confirmó que esta prevalencia sigue siendo significativa y preocupante (4). Entre 2011 y 2020, se estimó que la periodontitis en adultos con dentición afectaba aproximadamente al 62% y la periodontitis estadio III y IV al 23.6%, cifras que muestran una prevalencia inusualmente alta en comparación con las estimaciones previas de 1990 a 2010. Este incremento se explica, en parte, por el crecimiento poblacional, el envejecimiento y una mayor retención dental, lo que ha incrementado la carga de la enfermedad y afectado negativamente la calidad de vida relacionada con la salud oral (5). Los signos y síntomas característicos, como inflamación gingival, sangrado, movilidad dentaria y pérdida de dientes repercuten no solo en la función masticatoria, el dolor físico y la estética, sino también en el bienestar psicológico y social del paciente. En este contexto, la periodontitis se consolida como un problema de salud pública cuya alta prevalencia contribuye de forma significativa a la carga global de enfermedades crónicas no transmisibles, reconocidas como un importante desafío sanitario a nivel mundial (6).

La periodontitis se clasifica en estadios, que van desde estadios tempranos (I y II) hasta los avanzados (III y IV), y grados según criterios de la EFP y la AAP, evaluando gravedad, extensión, complejidad y riesgo de progresión (7). El estadio III presenta pérdida de inserción interdental ≥ 5 mm, pérdida ósea radiográfica con extensión a tercio medio o apical, pérdida dentaria ≤ 4 por causa periodontal, sondaje ≥ 6 mm, pérdida ósea horizontal y/o vertical ≥ 3 mm y afectación de la furca grado II o III. El estadio IV comparte estas características, pero con secuelas más severas de pérdida avanzada del soporte del tejido periodontal, que incluyen: disfunción masticatoria, movilidad dentaria ≥ 2 , defectos de la cresta alveolar graves, colapso de mordida debido a la pérdida de diente, lo que resulta en < 20 dientes remanentes (10 parejas con contactos oclusales) y migraciones dentarias. Estas últimas características requieren tratamiento de alta complejidad, enfoque interdisciplinario y un estricto programa de mantenimiento periodontal (8).

La etiología de la periodontitis actualmente se explica mejor a través el modelo de sinergia polimicrobiana y disbiosis (PSD), el cual propone que la enfermedad no es causada por un único microorganismo patógeno, sino por una comunidad microbiana compleja que actúa de manera cooperativa y funcional (9). Las interacciones cooperativas y sus productos metabólicos cambian el ecosistema subgingival hacia la disbiosis alterando la homeostasis entre el huésped y el microbiota (10). Como consecuencia, se genera una respuesta

inflamatoria crónica y desregulada que promueve la destrucción progresiva de los tejidos periodontales de soporte, incluyendo la pérdida de inserción clínica, la reabsorción alveolar y en estadios avanzados, la pérdida dentaria (11). En este contexto, la periodontitis estadio III y IV según el consenso de 2017 se caracteriza por un alto grado de destrucción periodontal y complejidad clínica, esto asociado a biopelícula subgingival madura dominadas por microorganismos anaerobios proteolíticos, así como una respuesta inmunoinflamatoria exacerbada, mediada por citocinas proinflamatorias como IL-1 β , TNF- α , IL-17, las cuales contribuyen a la destrucción tisular y ósea característica de la enfermedad (12,13).

Dentro de la comunidad subgingival disbiótica, diversos taxones clave han sido consistentemente implicados en la progresión de la enfermedad en sus estadios avanzados. El “complejo rojo”, constituido por *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* y *Treponema denticola*, se asocian fuertemente con parámetros clínicos de severidad como la profundidad al sondaje, el sangrado gingival y la pérdida de inserción clínica, causando un microambiente subgingival altamente proteolítico, anaerobio y enriquecido en hemo, característico de sitios periodontales activos (14,15). En este contexto, *Porphyromonas gingivalis* ampliamente conocido como un patógeno clave (“keystone pathogen”), capaz de modular de forma desproporcionada la respuesta inmune del huésped y reorganizar la estructura ecológica del biofilm gracias a su amplio repertorio de factores de virulencia, que incluyen gingipainas, cápsula polisacárida y la manipulación de vías de señalización del sistema inmune innato, como los receptores tipo Toll y el sistema de complemento, lo que favorece la transición hacia un estado de disbiosis e inflamación crónica (15, 16, 17). *Treponema denticola* contribuye en la patogénesis periodontal mediante su motilidad helicoidal dada por sus endoflagelos, que le permite desplazarse a través de la biopelícula subgingival y los tejidos periodontales favoreciendo la invasión tisular y la persistencia de nichos en las bolsas profundas, además gracias a la expresión de proteasas como la dentilisina, la hemólisis entre otras, degradan los tejidos del hospedero y le permiten obtener nutrientes del entorno amplificando así el daño periodontal. También interactúa de manera sinérgica con *P. gingivalis*, actuando como un puente estructural dentro del biofilm llevando a *P. gingivalis*, permitiendo que esta colonice zonas que de otra forma no alcanzaría y así favorecen la expansión de la biopelícula (18). Por último, *Tannerella forsythia*, la cual es una bacteria tardía, una vez establecida en la biopelícula expresa factores de virulencia para sobrevivir y evadir el sistema inmune como

proteasas que degradan tejidos periodontales como el colágeno. Además, gracias a su superficie recubierta por una capa proteica glicosilada y la proteína BspA, le permite retrasar la respuesta inmune y estimular simultáneamente la producción de citocinas proinflamatorias vía TLR2, contribuyendo a la destrucción ósea alveolar. Además, sus lipopolisacáridos actúan sinérgicamente con los de *P. gingivalis* y *T. denticola*, amplificando la respuesta inflamatoria destructiva característica de los sitios periodontales activos (19).

La comunidad subgingival disbiótica incluye, además del complejo rojo, otras especies que aumentan de manera conjunta el daño periodontal. *Fusobacterium nucleatum*, al funcionar como una bacteria "puente" entre los colonizadores tempranos y tardíos, tiene un rol arquitectónico en el biofilm. Esta bacteria promueve que varios taxones se co-agreguen y fomenta la invasión epitelial a través de adhesinas como FadA, cuya actividad favorece la internalización bacteriana y la activación de cascadas proinflamatorias (20,21). Junto a este, *Prevotella intermedia*, *Parvimonas micra* y *Campylobacter rectus* conforman un grupo de especies consistentemente asociadas a la progresión de la enfermedad, cuya sobreexpresión de factores de virulencia en sitios con periodontitis activa amplifica el daño tisular e inmunológico generado por los patógenos del complejo rojo. Por otra parte, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* representa un patógeno de especial relevancia clínica en formas agresivas de periodontitis, particularmente en individuos jóvenes, donde su leucotoxina LtxA induce la lisis de leucocitos polimorfonucleares y macrófagos, comprometiendo la respuesta inmune local y favoreciendo una destrucción tisular rápida y extensa (22,23).

Bajo estas circunstancias, se evidencia que la periodontitis estadio III y IV es de naturaleza polimicrobiana liderada por patógenos del complejo rojo y potenciada por especies coadyuvantes, causando un microambiente subgingival disbiótico y una respuesta inflamatoria desregulada del huésped, lo cual deteriora de forma gradual e irreversible los tejidos de soporte periodontal. En este contexto, surge la necesidad de estrategias terapéuticas que no solo se ocupen del control mecánico de la biopelícula, sino que también actúen de manera efectiva sobre los patógenos periodontales fundamentales, combatiendo sus factores virulentos y disminuyendo la carga microbiana en las bolsas periodontales. Por lo tanto, es importante que se evalúen y desarrollen agentes antimicrobianos para pacientes con periodontitis avanzada.

1. ASPECTOS TEÓRICO CIENTÍFICOS

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

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 (24). 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 (25).

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 (26, 27).

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 (28,29).

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 (30,31).

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 (32,33).

Por ello, el presente estudio tuvo como objetivo analizar las diferencias en la presencia de microorganismos periodontopatógenos en los surcos periodontales antes y a los 15 días posteriores al uso de enjuagues de clorhexidina, plata coloidal y placebo en pacientes con periodontitis en estadios III y IV. Se planteó como hipótesis de no inferioridad que la plata coloidal no es menos eficiente que la clorhexidina.

1.2 JUSTIFICACIÓN

La periodontitis estadio III y IV representa una condición de alta complejidad clínica que afecta a millones de personas en el mundo. Si bien, la instrumentación subgingival constituye el pilar fundamental del tratamiento, su eficacia en estadios avanzados es limitada en sitios con bolsas profundas y biopelícula madura dominada por patógenos que actúan sinérgicamente desencadenando una respuesta inflamatoria desregulada que conduce a la destrucción progresiva e irreversible de los tejidos de soporte periodontal del huésped. Lo que justifica la búsqueda de estrategias coadyuvantes que optimicen los resultados clínicos y microbiológicos.

Aunque la clorhexidina es el antimicrobiano “Gold standard”, su uso prolongado se asocia a efectos adversos, lo que limita su aplicación continua. En este sentido, la plata coloidal ha emergido como un potencial agente antimicrobiano, cuyo mecanismo de acción incluye la inhibición de la síntesis de proteínas, la disrupción de la membrana celular y la interrupción de las vías metabólicas de los microorganismos. Donde estudios in vitro y modelos en animales han demostrado su eficacia contra una amplia gama de bacterias periodontopatógenas. No obstante, la evidencia clínica disponible sobre su eficacia como coadyuvante en el tratamiento periodontal activo sigue siendo limitada.

Por lo tanto, esta tesis propone un estudio experimental en el que se evalúe comparativamente la eficacia del enjuague de plata coloidal frente a la clorhexidina y un

placebo en la reducción de la carga microbiana subgingival en pacientes con periodontitis estadio III y IV, a los 15 días posteriores al tratamiento.

1.3 PROPOSITO

Esta tesis busca llevar un paso más allá al evaluar experimentalmente la plata coloidal en un escenario clínico. Se espera que los resultados generados contribuyan significativamente a la ciencia, proporcionando evidencia sólida sobre la viabilidad de su uso en el manejo clínico de la periodontitis estadio III Y IV.

Adicionalmente, este estudio se enfoca en:

- Optimizar protocolos clínicos: Esta investigación busca determinar si la implementación del enjuague de plata coloidal como adyuvante de la instrumentación subgingival mejora los resultados clínicos en pacientes con periodontitis estadio III y IV.
- Comparar la eficacia del enjuague de plata coloidal con la clorhexidina: Se busca identificar si la plata coloidal es una alternativa eficaz o superior a la clorhexidina, otro agente antimicrobiano comúnmente utilizado en la periodontitis.
- Conocer el impacto del tiempo en la eficacia de los enjuagues: Se evaluará la carga microbiana a los 15 días después del tratamiento, proporcionando información sobre la duración del efecto antimicrobiano de cada enjuague.

Esta tesis tiene el potencial de proporcionar información valiosa sobre nuevas estrategias terapéuticas para la periodontitis estadio III y IV, contribuyendo a mejorar la salud bucal de pacientes y al avance del conocimiento científico en el campo de la salud periodontal.

1.4 ANTECEDENTES

Se ha investigado mucho el empleo de agentes antimicrobianos como coadyuvantes de la terapia mecánica periodontal para lograr una disminución más efectiva de la carga

microbiana subgingival y mejorar los resultados clínicos en personas con periodontitis. Históricamente, la clorhexidina en una concentración del 0,12% ha sido el antiséptico bucal que cuenta con más respaldo científico. Su aplicación como enjuague bucal usado dos veces al día durante dos semanas por 30 segundos, ha mostrado efectos positivos en la disminución de la inflamación gingival y el control de biopelícula bacteriana subgingival (34). La revisión sistemática de James et al. (2017) y el metaanálisis de Passos da Costa et al. (2017) respaldan su eficacia como coadyuvante al tratamiento mecánico en periodontitis crónica; sin embargo, ambos estudios advierten sobre efectos adversos asociados a su uso prolongado, entre los que se destacan la pigmentación dental, la disgeusia y el aumento en la formación de cálculos. Asimismo, se han documentado efectos menos comunes, pero clínicamente significativos, como la parotiditis bilateral, las reacciones de hipersensibilidad que pueden ser anafilácticas y las erosiones de la mucosa bucal (35, 36, 37).

Frente a estos efectos, la plata coloidal se ha presentado como una opción antimicrobiana de amplio espectro que despierta cada vez más interés en el campo periodontal. Su mecanismo de acción se basa en tres mecanismos fundamentales: la interacción con el ADN bacteriano, la disrupción de la membrana celular y el bloqueo de enzimas esenciales para el metabolismo microbiano, lo que le confiere una potente actividad bactericida (38). Estudios in vitro han demostrado actividad frente a un amplio espectro de periodontopatógenos, incluyendo *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Campylobacter gracilis*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, con eficacia tanto frente a bacterias grampositivas como gramnegativas (39, 40). Estas características indican que la plata coloidal tiene el potencial de desestabilizar biopelículas microbianas subgingivales maduras, lo cual es particularmente importante en el manejo de enfermedades crónicas, como la periodontitis avanzada.

En cuanto a la evidencia clínica disponible, Ramírez et al. (2023) evaluaron la eficacia de un gel de plata coloidal para inhibir la formación de biopelículas bacterianas en pacientes sometidos a exodoncia de terceros molares, encontrando una inhibición estadísticamente significativa del crecimiento bacteriano sobre la sutura en comparación con clorhexidina ($p = 0,038$), con una reducción notable en la carga de *Fusobacterium nucleatum* (411.285 UFC con plata coloidal frente a 1.620.714 UFC con clorhexidina) **(41)**. Por otra parte, un estudio comparativo en pacientes con gingivitis asociada a biopelícula evidenció una mayor reducción del sangrado al sondaje con clorhexidina (83,8%) en comparación con la solución

de iones de plata coloidal (75%); sin embargo, ambos enjuagues mostraron reducciones favorables del índice gingival a los 30 días de seguimiento, con un perfil de efectos adversos similar entre grupos, incluyendo ardor, hipogeusia y sensibilidad (42).

En conjunto, la evidencia disponible sugiere que la plata coloidal posee un potencial antimicrobiano comparable al de la clorhexidina, con la ventaja adicional de un perfil de efectos adversos potencialmente más favorable. No obstante, la evidencia clínica en el contexto específico de la periodontitis estadio III y IV sigue siendo escasa y metodológicamente heterogénea, lo que justifica la realización de ensayos clínicos controlados para evaluar con mayor precisión su efectividad microbiológica en biopelículas subgingivales maduras.

1.5 MARCO TEÓRICO

Definición de la periodontitis y su etiología

La periodontitis es una enfermedad multifactorial inflamatoria crónica caracterizada por la destrucción progresiva del aparato de soporte dentario (periodonto), siendo las características principales la pérdida de inserción clínica (CAL), la pérdida ósea alveolar evaluada radiográficamente, la presencia de bolsas periodontales y el sangrado (2).

Desde el punto de vista etiológico, la enfermedad se origina por la colonización del surco gingival por comunidades polimicrobianas organizadas en biopelícula, integradas predominantemente por bacterias anaerobias gramnegativas y espiroquetas. Sin embargo, la evidencia actual indica que la sola presencia de estos microorganismos no determina por sí misma la patogenicidad periodontal; es más bien la ruptura del equilibrio ecológico del biofilm subgingival y su interacción con la respuesta del huésped lo que conduce a un estado de disbiosis, en el cual especies habitualmente comensales adquieren un comportamiento patobionte y contribuyen a la inflamación destructiva (12, 13).

A lo largo de la historia, la comprensión de la etiología de la periodontitis ha cambiado significativamente. Aproximadamente en la década de 1900 se sugirió la teoría inespecífica de la placa donde se creía que la cantidad total de placa bacteriana era la principal responsable de la enfermedad periodontal, independientemente de las especies presentes,

posteriormente, en la década de 1976 se habló de la teoría específica de la placa donde se propuso que ciertas bacterias eran responsables de las formas más agresivas de periodontitis. Investigaciones de Socransky y colaboradores identificaron el “complejo rojo” (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* y *Treponema denticola*) como altamente asociado a lesiones periodontales profundas (4). En 1994 se propuso la hipótesis ecológica de la placa la cual planteó que la enfermedad periodontal resulta de un desequilibrio microbiano inducido por el estrés ecológico del surco gingival, es decir, los cambios ambientales en el surco gingival (p. ej., inflamación, aumento de nutrientes derivados del huésped) que selecciona y favorece la proliferación de especies patógenas (30). Posteriormente en 2012, la hipótesis del patógeno clave (*keystone pathogen*) propuso que determinados microorganismos, aun en baja abundancia relativa como *P. gingivalis*, ejercen una influencia desproporcionada sobre la comunidad microbiana y sobre la respuesta inmune del huésped, favoreciendo la disbiosis y la destrucción tisular (19,20). Actualmente, se la enfermedad periodontal se rige por el modelo de sinergia polimicrobiana y disbiosis (*polymicrobial synergy and dysbiosis*, PSD) constituye el marco conceptual predominante: según este modelo, la periodontitis no es consecuencia de una especie aislada, sino de una comunidad funcional que, mediante interacciones cooperativas y señalización metabólica, desplaza el ecosistema subgingival hacia un estado disbiótico (12,13). Este cambio ecológico altera la comunicación huésped-microbio, inflamación destructiva y desencadenando la destrucción de tejidos de soporte, pérdida ósea y, finalmente, pérdida dentaria.

Basados en lo anterior podemos afirmar que hoy se reconoce que la periodontitis es esencialmente una enfermedad disbiótica y en los estadios avanzados (III y IV), la biopelícula subgingival predomina anaerobios proteolíticos, con sobreexpresión de rutas de degradación de péptidos, adquisición de hierro/hemo para su crecimiento y virulencia y mecanismos de evasión inmunológica. Esta comunidad microbiana incluye especies clave como *Porphyromonas gingivalis* (18,23), *Tannerella forsythia* (21,22), *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum* (25,26), *Prevotella intermedia* y *Parvimonas micra* (27) cuya organización estructural y funcional dentro de la biopelícula madura ha sido ampliamente caracterizado (28,29).

Dentro de esta comunidad también se aísla *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* que desempeña un papel importante por su capacidad de producir leucotoxina (LtxA), siendo un factor clave en la progresión de la periodontitis, ya que LtxA evade la respuesta inmune

al destruir y activar selectivamente los glóbulos blancos (leucocitos) a través de su unión a receptores como el LFA-1, provocando la liberación de enzimas y daño tisular, lo que contribuye a la destrucción periodontal (48). Autores como Shahoumi LA, Saleh MHA, Meghil MM refieren que la periodontitis está asociada con 3 (tres) principales bacterias, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Tannerella forsythia*, microorganismos periodontopatógenos, los cuales son capaces de evadir la respuesta inmune del hospedador y provocar una destrucción progresiva del tejido periodontal, debido a la producción de factores de virulencia, como proteasas, endotoxinas y factores de adhesión (45).

Frente a estos microorganismos, el huésped responde con una activación exacerbada de citocinas proinflamatorias principalmente IL-1 β , TNF- α e IL-17, que en conjunto con un reclutamiento neutrofílico disfuncional inducen la activación osteoclástica y perpetúan la pérdida ósea alveolar (46). A esto se suman factores de riesgo como el tabaquismo y la diabetes mellitus, que agravan la disbiosis, al modificar la inmunidad innata, aumentar la inflamación y alterar la capacidad de reparación tisular (47).

Este cambio de paradigma nos permite abrir las puertas a estrategias terapéuticas que más allá del control mecánico de la biopelícula, busquen restaurar la simbiosis microbiana e inmunológica del huésped.

1.5.2 Gluconato de clorhexidina

La clorhexidina (CHX) pertenece al grupo de las bisbiguanidas, fue sintetizada en el Reino Unido en la década de 1940 por Imperial Chemical Industries Ltd., en un inicio con fines médicos por su amplio espectro antimicrobiano frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas, hongos y algunas envolturas víricas (48). Posteriormente, en 1970, estudios pioneros de Løe y Schiött demostraron su eficacia en el control de la biopelícula dental y la prevención de gingivitis, marcando un hito en la odontología preventiva (49). Hacia 1976, tras estudios de uso continuado de dos años, la CHX se consolidó clínicamente en formulaciones de enjuague al 0,12% y 0,2%, reforzando su papel como coadyuvante terapéutico periodontal (50).

Químicamente, la clorhexidina es una bisbiguanida catiónica, de naturaleza dicatiónica. Su estructura está conformada por dos grupos biguanida unidos por una cadena hexametileno y terminados en cuatro anillos aromáticos con sustituyentes de cloro, lo que le confiere una alta afinidad por las superficies cargadas negativamente, como la membrana bacteriana y

la matriz de la biopelícula (38). Esta configuración molecular también es responsable de su elevada sustantividad —la capacidad de adsorberse a la hidroxiapatita dental y liberarse progresivamente durante 8 a 12 horas—, propiedad ampliamente documentada mediante estudios de recuperación salival y microbiológica tras el enjuague (14,43,44).

En el contexto periodontal, la CHX se ha utilizado como adyuvante a la terapia mecánica convencional raspado y alisado radicular mostrando reducción de la carga bacteriana, control de la inflamación gingival y disminución del sangrado al sondaje. Su aplicación clínica puede darse en forma de colutorios al 0,12-0,2%, geles, barnices o chips biodegradables insertados en bolsas periodontales profundas, con efectos positivos sobre la recolonización microbiana y la cicatrización tisular (39,41,42).

La CHX es considerada el “gold standard” en el control químico de la biopelícula oral debido a su amplio espectro antimicrobiano, elevada sustantividad, seguridad clínica y eficacia comprobada en el tratamiento de la gingivitis (44). Estudios controlados aleatorizados y revisiones sistemáticas han demostrado efectivamente que la CHX supera en eficacia a otros agentes antimicrobianos de uso odontológico, como aceites esenciales o CPC (cloruro de cetilpiridinio), especialmente cuando se emplea en periodoncia como coadyuvante a la terapia no quirúrgica (51).

La instrumentación no quirúrgica periodontal (raspado y alisado radicular) constituye la terapia de primera línea en periodoncia; sin embargo, no siempre logra eliminar completamente la biopelícula subgingival debido a la complejidad anatómica de las bolsas periodontales, defectos infraóseos y furcas. Por eso, guías clínicas recomiendan el enjuague con gluconato de clorhexidina se recomienda como coadyuvante para mejorar los resultados clínicos, especialmente en pacientes con higiene deficiente, alta susceptibilidad o comorbilidades sistémicas (7). También es utilizado tras cirugía periodontal para favorecer una cicatrización libre de colonización bacteriana excesiva.

Su posología es, gluconato de clorhexidina al 0,12%, en enjuagues de 15 ml dos veces al día durante 30 segundos, generalmente por la mañana y en la noche, 30 minutos después de la ingesta de alimentos o del cepillado dental, con el fin de evitar interacciones con agentes aniónicos presentes en dentífricos, por 2 a 4 semanas, dependiendo de la severidad de la enfermedad y los objetivos terapéuticos, ya que su uso prolongado se ha asociado a efectos adversos como pigmentaciones extrínsecas, alteraciones del gusto (disgeusia), aumento de cálculo supragingival, desequilibrio microbiano oral y en menor

medida, descamación mucosa, por lo que la European Federation of Periodontology (EFP) y la American Academy of Periodontology (AAP) recomiendan su uso sólo como coadyuvante a corto plazo (2 a 4 semanas) en el tratamiento activo periodontal, y no como un enjuague de uso diario prolongado (7).

Su posología habitual corresponde a gluconato de clorhexidina al 0,12%, en enjuagues de 15 ml dos veces al día durante 30 segundos, generalmente por la mañana y por la noche, idealmente 30 minutos después de la ingesta de alimentos o del cepillado dental —para evitar la inactivación por interacción con agentes aniónicos presentes en los dentífricos—, durante un período de 2 a 4 semanas según la severidad de la enfermedad y los objetivos terapéuticos. Su uso prolongado se ha asociado a efectos adversos como pigmentación extrínseca, alteración del gusto (disgeusia), incremento del cálculo supragingival, desequilibrio de la microbiota oral y, en menor medida, descamación de la mucosa; por esta razón, tanto la European Federation of Periodontology (EFP) como la American Academy of Periodontology (AAP) recomiendan su uso exclusivamente como coadyuvante de corto plazo (2 a 4 semanas) durante el tratamiento periodontal activo, y no como enjuague de uso diario prolongado (7,38).

1.5.2.1 Mecanismos de acción

Se debe a la unión de la molécula catiónica con las paredes microbianas cargadas negativamente, lo que provoca la alteración del equilibrio osmótico celular. Actúa como bacteriostático cuando se administra a bajas concentraciones, al favorecer la liberación de sustancias de bajo peso molecular como el fósforo y el potasio. A concentraciones más elevadas actúa como bactericida, ya que provoca la precipitación o coagulación del contenido citoplasmático, causando la muerte celular. Su espectro antibacteriano engloba bacterias Gram positivas y Gram negativas, éstas últimas en menor medida, hongos y levaduras (52)

La eficacia del enjuague de clorhexidina no se limita únicamente a su efecto bactericida, bacteriostático, sino también a una propiedad denominada sustantividad. La sustantividad, habilidad de un agente de prolongar su presencia en un entorno dado, es debida a su capacidad de unirse a la mucosa oral en los grupos carboxilo de la mucina que la recubre, siendo posteriormente liberada en forma activa y sostenida de estos lugares al ser desplazada por los iones de calcio segregados por las glándulas salivares (53). Esta

propiedad tiene un lapso de 5 a 12 horas, haciendo posible alcanzar la mínima dosis efectiva necesaria para inhibir la formación de biopelícula (54, 43, 14).

1.5.2.2 Efectos colaterales

Los efectos adversos del uso prolongado de gluconato de clorhexidina más frecuentes son:

La pigmentación dental: siendo el efecto adverso más frecuente tras el uso prolongado de clorhexidina (>4 semanas), (22) presentándose como manchas café en dientes, restauraciones y mucosa, las cuales aparecen por la interacción de la CHX con los cromógenos de la alimentación (café, te, vino, tabaco), los cuales se acumulan en la superficie dental favorecidos por la clorhexidina que se adhiere a la biopelícula que recubre los dientes, esta pigmentación no compromete la estructura dental pero compromete la estética, esta pigmentación es reversible realizando una profilaxis. (38,55).

Alteración del gusto (disgeusia): alteración de los sabores, se puede presentar como disminución, distorsión o pérdida parcial del gusto, esto ocurre por que la CHX interfiere con los receptores gustativos de la lengua y modifica la permeabilidad de las papilas, este efecto normalmente es reversible al suspender el uso de la CHX (38).

Aumento en la formación de cálculos: la CHX puede incrementar la mineralización de la biopelícula, aumentando la formación del cálculo, esto ocurre porque la clorhexidina genera cambios en la composición de la biopelícula y modifica la interacción de las glicoproteínas presentes en la saliva, favoreciendo que las sales de calcio presentes en la saliva se depositen con mayor facilidad (38).

Irritación de la mucosa oral: algunos pacientes refieren sensación de ardor o quemazón o sensación de sequedad (xerostomía), este efecto es atribuido por la citotoxicidad de la CHX sobre las células del epitelio debido al uso de concentraciones elevadas o por el uso prolongado, en estos pacientes que son sensibles se recomienda bajar la concentración o limitar el tiempo de uso. (38).

Otros efectos colaterales reportado con menor frecuencia se han reportado erosiones de la mucosa oral, parotiditis bilateral y reacciones de hipersensibilidad de variable gravedad, desde formas leves de hipersensibilidad retardada (tipo IV, como dermatitis de contacto) hasta reacciones de hipersensibilidad inmediata mediadas por IgE (tipo I) que pueden progresar a anafilaxia grave y potencialmente mortal, particularmente tras la exposición repetida de la CHX sobre mucosas —incluyendo la mucosa oral y la bolsa periodontal (56).

1.5.3 Plata Coloidal

Es un desinfectante potente y no tóxico, constituido por partículas metálicas de plata en suspensión, capaz de reducir de forma significativa la carga bacteriana. Su actividad antibacteriana de amplio espectro frente a microorganismos grampositivos y gramnegativos y debido a su naturaleza no tóxica para el cuerpo humano, la ha convertido en un agente de creciente interés como alternativa antimicrobiana en el ámbito odontológico (25, 36).

No existen guías clínicas periodontales que recomienden de rutina enjuagues de plata coloidal en humanos. Los ensayos disponibles, principalmente pequeños y de corto seguimiento, emplean bajas concentraciones en el rango de partes por millón (ppm). Un ensayo clínico reciente en adultos, realizado por Thao HG., comparó un enjuague con nanopartículas de plata a 7 ppm frente a clorhexidina al 0,12–0,2 % para el tratamiento de la gingivitis, mostrando una reducción de la placa y de los recuentos microbianos, aunque generalmente menor que la clorhexidina (40, 41). Otros estudios, como el de Yahia A. Maher y el de Pradeep Raghav, también reportan un efecto antiplaca y antimicrobiano, con un desempeño inferior o comparable a la clorhexidina según el desenlace evaluado (41, 42).

En modelos animales se han probado formulaciones experimentales con concentraciones muy superiores (por ejemplo, 9,8 % p/p en conejos), las cuales no son extrapolables al uso humano. Una dosis que parece “segura” en un conejo puede resultar tóxica o incluso letal en humanos debido a la acumulación sistémica de plata, lo que puede desencadenar argiria, disfunción renal o alteración neurológica. Además, en la cavidad oral humana, la concentración aceptada de plata coloidal en enjuagues se ha probado en rangos muy bajos, generalmente entre 10 y 80 ppm (es decir, 0,001–0,008 %), ya que a mayor concentración aumenta el riesgo de precipitación del compuesto, irritación de la mucosa y absorción sistémica (40,42).

1.5.3.1 Mecanismos de Acción

- Liberación de iones de plata (Ag^+): Las AgNPs actúan como reservorios cinéticos que liberan de manera sostenida iones de plata en el microambiente subgingival. Estos cationes interactúan electrostáticamente con las membranas y paredes celulares microbianas cargadas negativamente, alterando su integridad

estructural, desestabilizando el potencial osmótico y modificando drásticamente la permeabilidad celular (31, 38).

- Inducción de estrés oxidativo intracelular: Una vez en contacto o en el interior celular, las AgNPs inducen la formación y acumulación exacerbada de especies reactivas de oxígeno (ROS). Este incremento crítico en el estrés oxidativo desencadena la peroxidación lipídica de las membranas, la desnaturalización de proteínas funcionales y daños estructurales irreversibles en el ADN bacteriano, precipitando la muerte celular (39).
- Interferencia con enzimas y ácidos nucleicos: Los iones de plata poseen una elevada afinidad química por los grupos sulfhidrilo (-SH) presentes en las proteínas esenciales y enzimas de la cadena respiratoria bacteriana, provocando su inactivación inmediata. Asimismo, al unirse con las bases nitrogenadas del ADN, los iones impiden los procesos de replicación celular, transcripción y traducción genética, neutralizando la capacidad adaptativa bacteriana (25, 40).

1.5.3.2 Uso clínico de la plata coloidal

La plata coloidal se ha explorado para diversas aplicaciones clínicas, principalmente debido a sus propiedades antimicrobianas. Se ha utilizado en el tratamiento de infecciones, particularmente aquellas que involucran bacterias resistentes a los antibióticos. La acción antimicrobiana de la plata coloidal se atribuye a su capacidad para alterar las membranas celulares microbianas e inducir estrés oxidativo, lo que conduce a la muerte celular. (40)

Antes de su traslación a modelos biológicos complejos, la eficacia de este agente ha sido evaluada de manera preliminar a través de diversos modelos experimentales laborales. Estos estudios *in vitro* han sentado las bases operativas de la terapéutica al demostrar la susceptibilidad de cepas planctónicas puras y consorcios microbianos artificiales frente a la plata, logrando establecer las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) y las concentraciones bactericidas mínimas (CBM) requeridas para neutralizar patógenos periodontales clave. Si bien estos ensayos en condiciones controladas de laboratorio evidenciaron una reducción drástica en la viabilidad celular de los microorganismos expuestos, la literatura científica subraya la necesidad de validar estos hallazgos directamente en el ecosistema del hospedero, dado que los modelos estáticos de laboratorio no logran replicar con exactitud el comportamiento dinámico del fluido crevicular

gingival ni la compleja matriz extracelular que protege a los biofilms subgingivales reales (41, 42, 43).

Por consiguiente, ensayos microbiológicos y clínicos recientes han comenzado a validar la efectividad de la plata coloidal *in vivo*. Se ha documentado que formulaciones tópicas basadas en plata coloidal inducen una inhibición estadísticamente significativa del crecimiento microbiano, demostrando en algunos escenarios posquirúrgicos una reducción notable en la carga de patógenos específicos como *Fusobacterium nucleatum* al ser comparada directamente con la clorhexidina. En pacientes con inflamación gingival activa, los colutorios de plata coloidal han arrojado reducciones favorables del índice gingival y del sangrado al sondaje en seguimientos a mediano plazo, exhibiendo perfiles terapéuticos comparables a la clorhexidina pero con la ventaja potencial de mitigar la intensidad de los efectos colaterales clásicos de esta última (41, 42).

1.5.3.3 Perspectivas Futuras y Relevancia Clínica de las Nanopartículas de Plata en el Tratamiento Periodontal

La inclusión de nanopartículas de plata en la práctica periodontal podría revolucionar el tratamiento adyuvante de la periodontitis al ofrecer una alternativa eficaz y potencialmente menos tóxica para reducir la carga microbiana en el biofilm subgingival. Sin embargo, aunque los resultados de estudios preliminares son prometedores, es necesario profundizar en investigaciones clínicas de largo plazo para evaluar la seguridad, la eficacia y el impacto de las AgNPs en la microbiota oral en su conjunto (31, 40). También es crucial explorar formulaciones y métodos de administración que maximicen la eficacia de las AgNPs mientras minimizan los posibles efectos adversos (41, 42).

1.5.4 Comparación de agentes antimicrobianos: clorhexidina vs plata coloidal

En el escenario de la terapéutica periodontal contemporánea, el gluconato de clorhexidina (CHX) se mantiene consolidado como el antiséptico de elección y el “*gold standard*” para el control químico de la biopelícula oral, sustentado en su amplio espectro de acción bactericida y bacteriostática sobre patógenos Gram-positivos y Gram-negativos. No obstante, su implementación clínica longitudinal enfrenta limitaciones biológicas y operativas severas (28,29,35,36). Estudios de biocompatibilidad celular demuestran que la CHX ejerce una marcada citotoxicidad dependiente de la dosis y el tiempo sobre fibroblastos gingivales y células del ligamento periodontal, afectando negativamente los

procesos de migración y proliferación celular indispensables para la curación de los tejidos blandos. Aunado a este componente citotóxico, su uso prolongado acarrea efectos colaterales clínicamente indeseables que merman de manera drástica la aceptación, el apego y el cumplimiento terapéutico por parte del paciente; entre estos destacan las pigmentaciones extrínsecas melánicas sobre superficies dentales y materiales restauradores, la inducción de descamación mucosa y la alteración marcada en la percepción gustativa o disgeusia (29,34,35,37).

Como respuesta a estos efectos colaterales, las nanopartículas de plata (AgNPs) han emergido como una alternativa más prometedora (30,31,39,40). A diferencia de la CHX, cuya dinámica es de objetivo único (basada en la disrupción de la permeabilidad de la membrana), las AgNPs despliegan una potente actividad antimicrobiana polifacética y multiobjetivo que exhibe una eficacia equivalente tanto en bacterias Gram-positivas como Gram-negativas, reduciendo críticamente el riesgo de inducción de resistencia bacteriana (31,39,40). A nivel ultraestructural y molecular, las AgNPs operan mediante una cascada de mecanismos sinérgicos: se ligan con alta afinidad a los grupos sulfhidrilo (-SH) presentes en las proteínas transmembranales alterando los gradientes de transporte intracelular, catalizan la producción endógena de estrés oxidativo bacteriano mediante la liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS), inhiben rutas metabólicas vitales y bloquean la replicación genómica al interactuar directamente con el ADN, forzando un arresto definitivo en el ciclo celular bacteriano (31,40).

La ventaja competitiva traslacional más relevante de las AgNPs frente a la clorhexidina radica en su perfil de seguridad biológica selectiva. Diversos modelos experimentales *in vitro* y ensayos clínicos preliminares han evidenciado que, al ser formuladas en concentraciones terapéuticas mínimas optimizadas, las nanopartículas de plata manifiestan índices de citotoxicidad significativamente menores sobre las células del hospedero en comparación con las dosis efectivas de CHX. Esta superioridad en el perfil de tolerancia tisular local, sumada a la ausencia de tinciones cromáticas indeseables o alteraciones neurosensoriales del gusto, posiciona a las AgNPs como un enfoque coadyuvante viable, predecible y altamente prometedor en los protocolos de desorganización del biofilm subgingival y en el manejo de patógenos orales virulentos dentro de la terapia periodontal no quirúrgica y quirúrgica (30,31,38,39,40).

1.6 OBJETIVOS

1.6.1 Objetivo general

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.

1.6.2 Objetivos específicos

- Describir los microorganismos presentes al momento 0 vs al momento 15 del uso de clorhexidina, plata coloidal y placebo.
- Comparar la cantidad de microorganismos presentes al momento 0 vs al momento 15 del uso de clorhexidina, plata coloidal y placebo.

2. ASPECTOS METODOLÓGICOS

2.1 Tipo de estudio

Ensayo clínico controlado y aleatorizado doble ciego (E.C.C.A)

2.2 Hipótesis operativas

2.2.1 Hipótesis nula: la cantidad de microorganismos no tiene cambios significativos con el uso de enjuague de plata coloidal o clorhexidina.

2.2.2 Hipótesis alterna: La cantidad de microorganismos tiene cambios significativos con el uso de enjuague de plata coloidal vs clorhexidina.

2.2.3 hipótesis de no inferioridad: la plata coloidal no es menos eficiente que la clorhexidina.

2.3 Objeto de estudio

Unidades formadoras de colonias en cultivos microbiológicos.

2.4 Material objeto de estudio

- Enjuague bucal de clorhexidina.
- Enjuague bucal de plata coloidal.
- Placebo: agua con sabor a menta.

2.5 Unidad de observación

- **Universo:** pacientes con periodontitis estadio III y IV
- **Población:** Pacientes diagnosticados con periodontitis estadio III y IV que asisten a la clínica de periodoncia de UNICOC de la ciudad de Bogotá.

3. CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA

3.1 Muestra y muestreo

	Control	Experimental CHO
Media	2.5	2.74
SD	0.2	0.2
n	68	15

Muestra sugerida

Estudio de Referencia: No reporta

Muestra sugerida: 12 casos cada uno

Diferencia de la media esperada: 0.5

Alfa: 0.05

Poder: 0.8

Two-sample t test power calculation

```
n = 11.94226
d = 1.2
sig.level = 0.05
power = 0.8
alternative = two.sided
```

NOTE: n is number in *each* group

	Control	Experimental PC
Media	2.5	2.77
SD	0.2	0.2
n	68	14

Muestra sugerida

Estudio de Referencia: No reporta

Muestra sugerida: 8 casos cada uno

Diferencia de la media esperada: 0.6

Alfa: 0.05

Poder: 0.8

Two-sample t test power calculation

```
n = 9.674702
d = 1.35
sig.level = 0.05
power = 0.8
alternative = two.sided
```

NOTE: n is number in *each* group

El tamaño de la muestra es de 37 participantes que se seleccionaron de manera aleatorizada y se distribuyeron en 3 grupos, los cuales fueron evaluados a los 15 días.

A: 18 a 75 años de edad (n=13) enjuague de plata coloidal (20ppm).

B: 18 a 75 años de edad (n=13) enjuague de clorhexidina (0,12%).

C: 18 a 75 años de edad (n=11) enjuague placebo.

3.2 Criterios de selección

3.2.1 Criterios de inclusión.

- Pacientes diagnosticados con periodontitis estadio III y IV según la clasificación de la AAP (Asociación Americana de Periodoncia, 2017).
- Hombres o mujer voluntarios entre 18 y 75 años de edad.
- Que aceptaron participar en el estudio previa firma del consentimiento informado.
- Pacientes que no recibieron tratamiento periodontal activo (raspaje y alisado radicular) en los últimos 3 meses.
- Pacientes sistémicamente sanos.
- Disponibilidad para asistir a controles de seguimiento establecidos.

3.2.2 Criterios de exclusión.

- Pacientes fumadores.
- Pacientes alérgicos a la plata.
- Paciente que habían consumido antibióticos en los últimos 3 meses previos al inicio del estudio.
- Pacientes embarazadas o en período de lactancia.
- Pacientes que se encontraban en tratamiento de ortodoncia activo.

3.3 Procedimiento

- a. Se seleccionaron los pacientes que llegaron a la clínica de periodoncia de UNICOC de la ciudad de Bogotá que fueron diagnosticados clínicamente con periodontitis estadio III y IV previo al diligenciamiento de la historia clínica completa y del examen clínico periodontal.
- b. Se redactó un consentimiento informado por el grupo de investigación el cual fue aprobado por el comité de investigación de UNICOC. Este consentimiento se le entregó a los pacientes que se seleccionaron explicándoles procedimiento a seguir los cuales voluntariamente dieron su autorización mediante su firma y huella.
- c. Se identificaron aquellos sitios subgingivales con mayor profundidad de sondaje 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 (Viability Medium Göteborg Anaerobically prepared and sterilized).

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



- d. 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.

Figura 2. a. Instrumento ultrasónico b. Curetas de Grey Hu-Friedy. Dispositivos utilizados para la terapia mecánica periodontal supragingival y subgingival.



- e. 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. Previamente 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).
- f. Posteriormente, se les dieron instrucciones claras a los participantes sobre el uso de los enjuagues (realizar enjuagues de 10 ml durante 1 minuto y escupir, dos veces al día durante 15 días consecutivos), 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.

Figura 3. a. Enjuagues bucales utilizados en el estudio correspondientes a plata coloidal, clorhexidina y placebo.



- g. Procesamiento microbiológico: Las muestras recolectadas en el medio de transporte VMGA III (Viability Medium Göteborg Anaerobically prepared and sterilized) fueron transportadas a temperatura ambiente 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.
- h. 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 disoluciones 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.
- i. 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.

3.4 Operacionalización de las variables

Variable	Definición	Naturaleza	Tipo de variable	Operacionalización	Escala de medición	Instrumento de recolección
Carga bacteriana periodontopatogénica	Identificación de la presencia de bacterias productoras de enfermedades en cavidad oral por técnicas de microbiología tradicional y molecular.	Cuantitativa	Dependiente	Conteo de UFC/ml (Unidades formadoras de colonias por mililitro)	Razón	Cultivo microbiológico
Pacientes con periodontitis III	Es aquel que presenta una enfermedad periodontal avanzada con pérdida de inserción clínica ≥ 5 mm profundidad de sondaje ≥ 6 mm, posible afectación de furca (clase II o III) y pérdida de hasta 4 dientes debido a la periodontitis.	Cuantitativa	Dependiente	Conteo de UFC/ml (Unidades formadoras de colonias por mililitro)	Razón	Cultivo microbiológico
Pacientes con periodontitis IV	Es aquel que presenta una enfermedad periodontal severa con pérdida de inserción clínica ≥ 5 mm, pérdida ósea radiográfica que alcanza el tercio medio de la raíz o más allá, y la pérdida de 5 o más dientes debido a la periodontitis, colapso de mordida, disfunción masticatoria	Cuantitativa	Dependiente	Conteo de UFC/ml (Unidades formadoras de colonias por mililitro)	Razón	Cultivo microbiológico
Enjuague de plata coloidal	El enjuague es un colutorio ecológico ideal como complemento al cepillado. Combate la placa, alivia la inflamación, limpia la cavidad bucal.	Cualitativa	Independiente	Uso del enjuague: SI / NO	Nominal	Plantilla de base de datos en Excel
Enjuague de clorhexidina	El enjuague con gluconato de clorhexidina es un enjuague antimicrobiano que se usa para tratar las etapas tempranas de la gingivitis o enfermedades de las encías	Cualitativa	Independiente	Uso del enjuague: SI / NO	Nominal	Plantilla de base de datos en Excel

Higiene Oral	Es el conjunto de prácticas y cuidados que se realizan para mantener la cavidad oral limpia y saludable. Esto incluye los dientes, las encías, la lengua y todas las estructuras que la componen	Cualitativa	Cualitativa	Buena Regular Deficiente	Ordinal	Plantilla de base de datos en Excel
Edad	Es un concepto fundamental que se refiere al tiempo transcurrido desde el nacimiento de un ser vivo hasta el momento actual.	Cuantitativa	Confusión	18 a 75 años	Razón	Plantilla de base de datos en Excel
Sexo	Determinado por la naturaleza, una persona nace con sexo masculino y femenino.	Cualitativa	Confusión	Masculino Femenino	Nominal	Plantilla de base de datos en Excel

3.5 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.

- **Conflictos éticos:**

No se declaran conflictos de interés entre las autoras, investigadores y evaluadores.

- **Confidencialidad:**

La investigación puede implicar la recopilación de datos relativos a personas y

grupos, y esos datos, si se revelan a terceros, pueden causar perjuicio o aflicción. Por consiguiente, los investigadores deben adoptar medidas para proteger la confidencialidad de dichos datos, por ejemplo, omitiendo información que pudiese traducirse en la identificación de personas determinadas, o limitando el acceso a los datos, o por otros medios. La identidad de los participantes de este estudio estuvo bajo estricta confidencialidad.

- **Autonomía:**

En el presente estudio se reconoció y respetó plenamente el derecho de cada paciente a tomar decisiones libres e informadas sobre su participación. Ningún participante fue sometido a presión o coacción alguna, y se garantizó en todo momento su derecho a rechazar el tratamiento propuesto o a retirarse del estudio en cualquier momento sin que esto implicara consecuencia alguna sobre su atención clínica.

- **Beneficencia:**

Todas las intervenciones que se llevaron a cabo durante esta investigación tenían como objetivo fomentar el bienestar de los participantes, intentando que los procedimientos implementados constituyeran una posible ventaja para su salud periodontal, reduciendo al mínimo cualquier riesgo innecesario.

- **Causar daño o algo impropio:**

Los investigadores que planifican estudios deben reconocer el riesgo a generar un evento adverso no evitable, en el sentido de dar origen a una situación indeseada, y el riesgo de hacer el mal. Se tuvo en cuenta la posibilidad de que se presentaran eventos adversos no evitables durante el desarrollo del estudio. Por ello, se tomaron todas las precauciones necesarias para reducir al mínimo cualquier riesgo, daño o situación indeseada derivada de los procedimientos realizados.

- **Consentimiento/disentimiento informado:**

Una vez los participantes se seleccionaron para el estudio, se les entregó un consentimiento informado donde se les explicó de manera clara y comprensible el propósito, la naturaleza, los objetivos, los procedimientos, los riesgos y los

beneficios de la investigación. La autorización para el acceso a la historia clínica y la toma de muestras fue obtenida de manera explícita en este documento mediante firma y huella de los participantes.

4. 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).

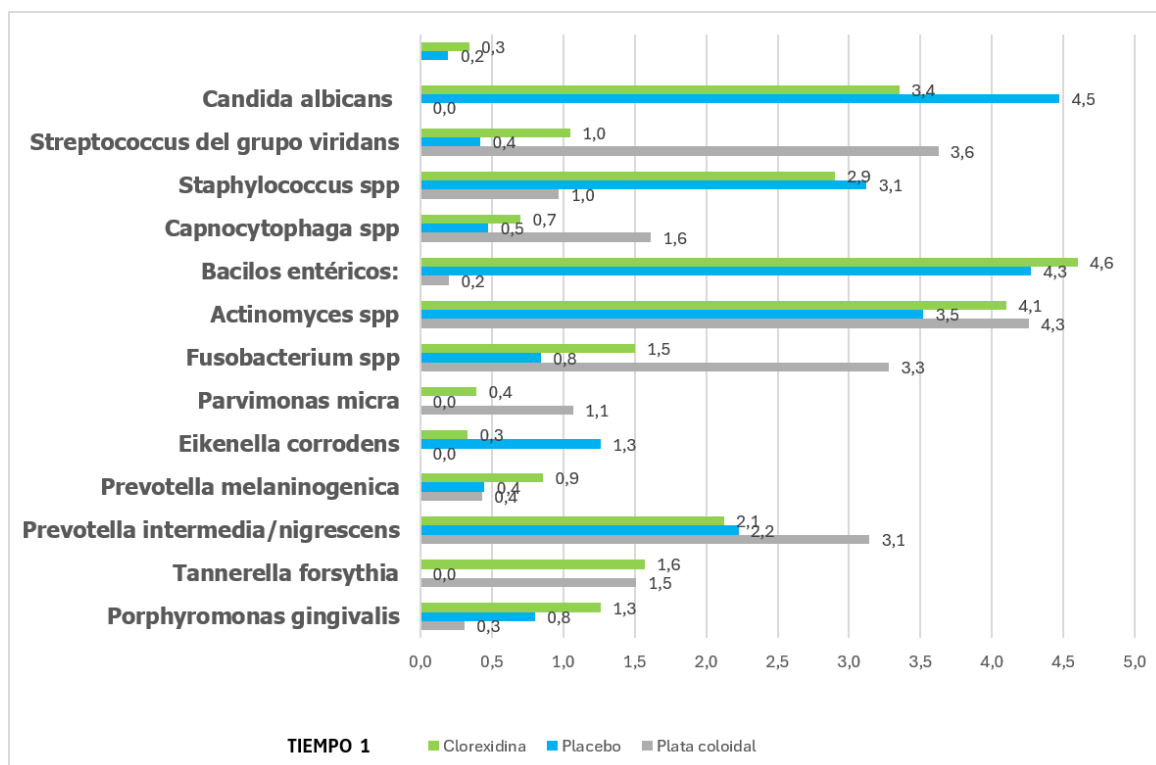
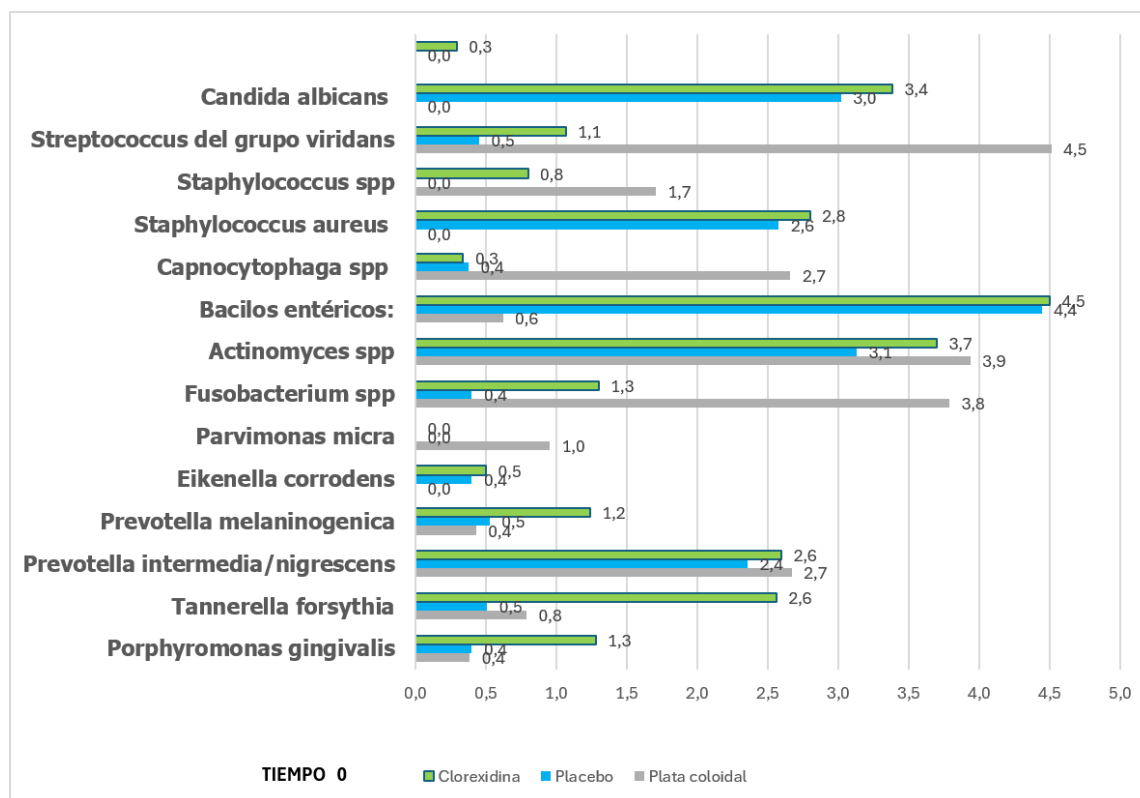
En relación con el inicio del uso del enjuague posterior a la terapia periodontal, la mayoría de los pacientes iniciaron el tratamiento de manera inmediata ($n = 33$), con poca representación en las demás categorías. Esta variable tampoco mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos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

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.

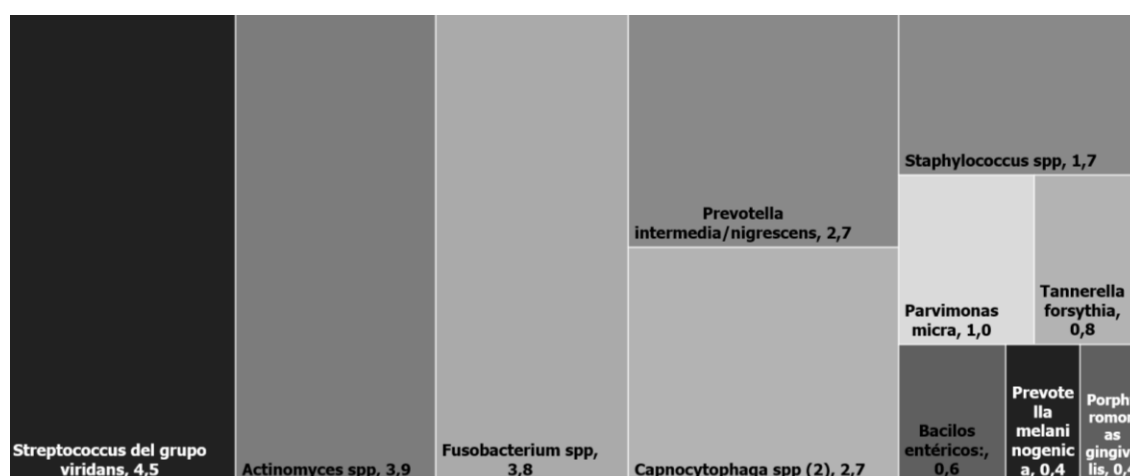
Figura 3. Especies periodontales (log10 UFC) en los diferentes grupos de tratamiento (plata coloidal, placebo y clorhexidina) en el tiempo 0 y en el tiempo 1.



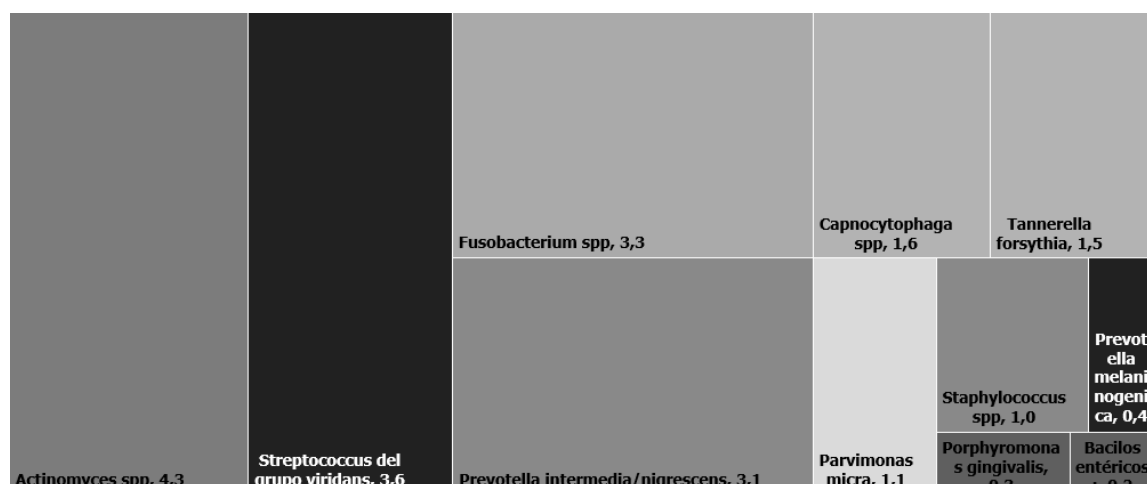
En la figura 4, el grupo tratado con plata coloidal se observó una leve disminución del recuento total de UFC (5,3 a 4,9 log10). Sin embargo, la respuesta bacteriana fue heterogénea. *Tannerella forsythia* aumentó, mientras que *Porphyromonas gingivalis* disminuyó ligeramente. *Prevotella intermedia/nigrescens* 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



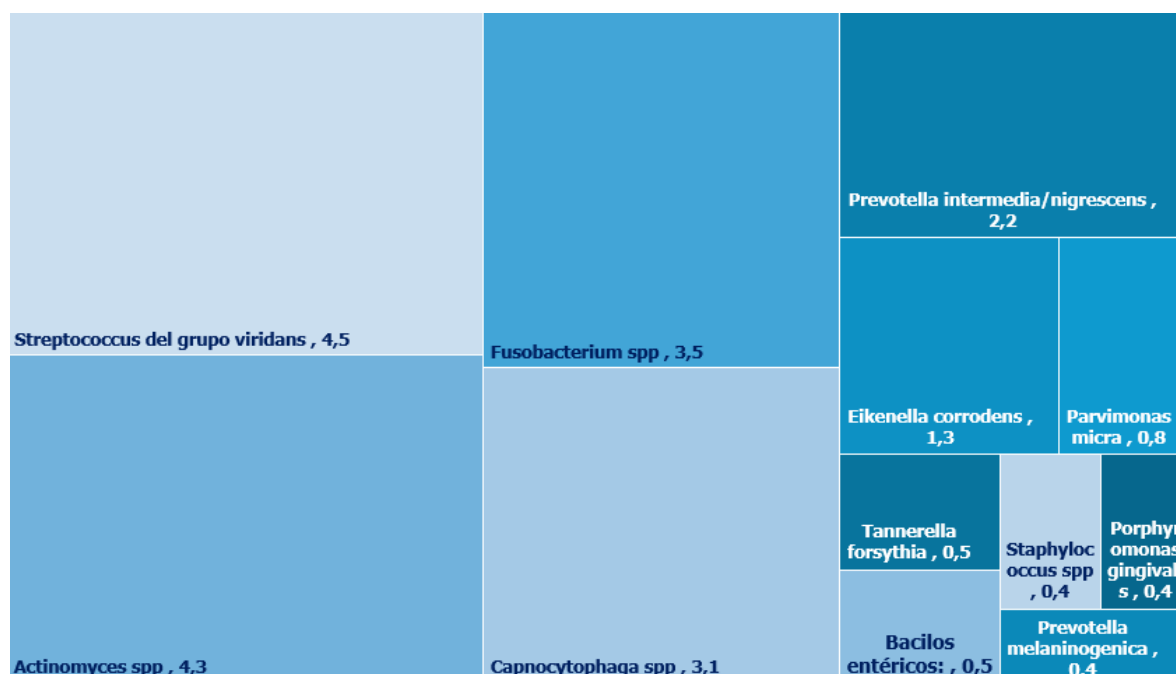
En la figura 5, el grupo tratado con el placebo se evidenció cambios en la composición microbiana tras la intervención, sin observarse una reducción uniforme de los periodontopatógenos evaluados. En términos generales, se observó una leve disminución del recuento total de UFC (5,6 a 4,9 log10).

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.

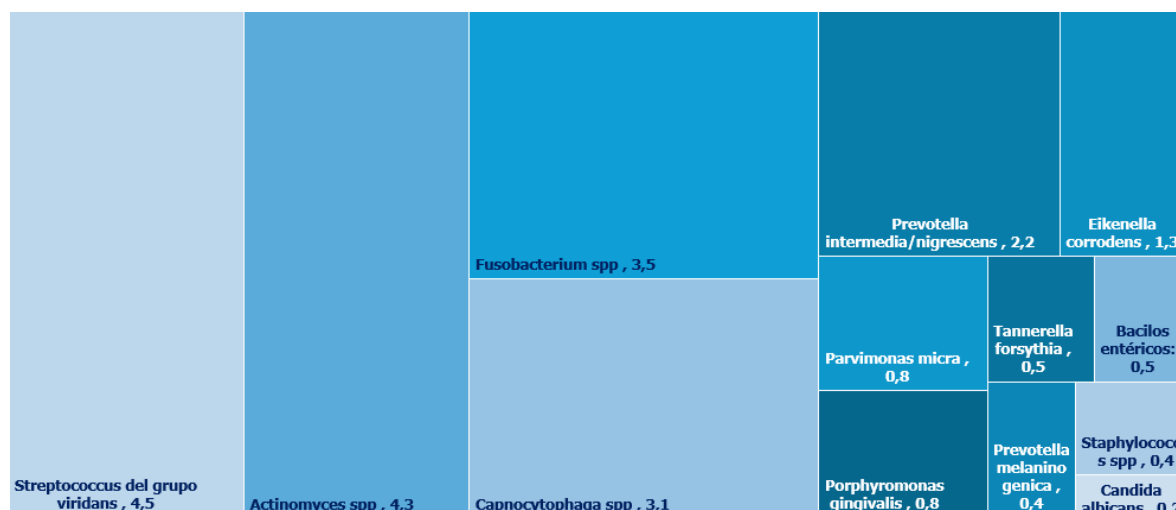
Entre los patógenos del complejo naranja, *Prevotella intermedia/nigrescens* mostró una ligera disminución (2,4 a 2,2), mientras que *Parvimonas micra* aumentó (0,4 a 0,8) y *Prevotella melaninogenica* disminuyó levemente (0,5 a 0,4). En relación con otras bacterias relevantes, se observaron incrementos 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).

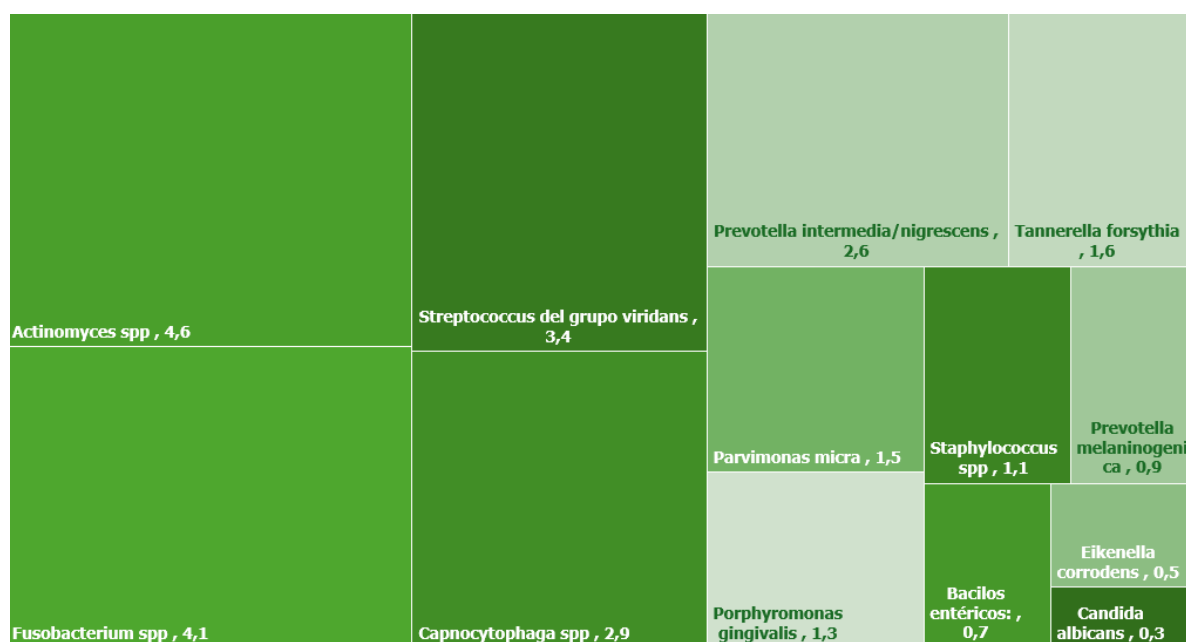
Respecto al complejo naranja, *Prevotella intermedia/nigrescens* disminuyó (2,6 a 2,1), en tanto que *Parvimonas micra* aumentó (1,3 a 1,5), evidenciando un comportamiento variado. Asimismo, *Fusobacterium spp.*, mostró un incremento (3,7 a 4,1). *Prevotella melaninogenica*, también asociada al complejo 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) se mantuvo estable.

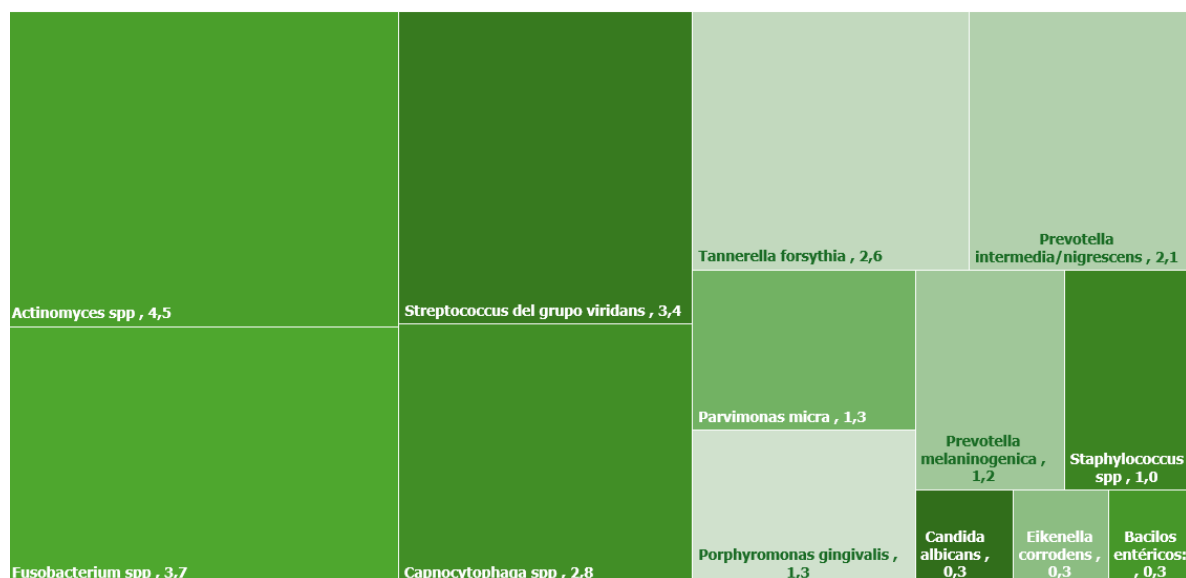
Los bacilos entéricos aumentaron, *Staphylococcus spp.* Se mantuvo estable, y *Staphylococcus aureus* no fue detectado después de la intervención.

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 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%

<i>D1Capnocytophaga spp</i>	1	7,7%	0	0,0%	1	7,7%	2	5,4%
<i>D1Parvimonas micra</i>	3	23,1%	1	9,1%	4	30,8%	8	21,6%
<i>D1Fusobacterium spp</i>	11	84,6%	7	63,6%	11	84,6%	29	78,4%
<i>D1Actinomyces spp</i>	11	84,6%	9	81,8%	11	84,6%	31	83,8%
<i>D1Bacilos entéricos</i>	3	23,1%	2	22,2%	2	15,4%	7	20,0%
<i>D1Capnocytophaga spp</i>	8	61,5%	6	54,5%	7	53,8%	21	56,8%
<i>D1Staphylococcus aureus</i>	0	0,0%	0	0,0%	3	23,1%	3	8,1%
<i>D1Staphylococcus spp</i>	6	46,2%	1	9,1%	3	25,0%	10	27,8%
<i>D1Streptococcus del grupo viridans</i>	13	100,0%	6	85,7%	9	81,8%	28	90,3%
<i>D1Candida albicans</i>	0	0,0%	0	0,0%	3	25,0%	3	8,8%
<i>D1Candida spp</i>	0	0,0%	0	0,0%	1	7,7%	1	2,8%

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

5. 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.

6. 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.

7. 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.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Genco RJ, Sanz M. Clinical and public health implications of periodontal and systemic diseases: An overview. *Periodontol 2000*. 2020;83(1):7-13.
2. Marcenes W, Kassebaum NJ, Bernabé E, Flaxman A, Naghavi M, Lopez A, et al. Global burden of oral conditions in 1990-2010: a systematic analysis. *J Dent Res*. 2013;92(7):592-597. doi:10.1177/0022034513490168.
3. Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJL, Marcenes W. Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression. *J Dent Res*. 2014;93(11):1045-1053. doi:10.1177/0022034514552491.
4. Wu L, Zhang SQ, Zhao L, Ren ZH, Hu CY. Global, regional, and national burden of

- periodontitis from 1990 to 2019: results from the Global Burden of Disease study 2019. *J Periodontol*. 2022;93(10):1445-1454. doi:10.1002/JPER.21-0469.
5. Fischer RG, Lira-Junior R, Retamal-Valdes B, Figueiredo LC de, Malheiros Z, Stewart B, et al. Periodontal disease and its impact on general health in Latin America. Section V: treatment of periodontitis. *Braz Oral Res*. 2020;34(Suppl 1):e026. doi:10.1590/1807-3107bor-2020.vol34.0026.
 6. Maurizio S. Tonetti, Jepsen S, Jin L, Otomo-Corgel J. Impact of the global burden of periodontal diseases on health, nutrition and wellbeing of mankind: a call for global action. *Journal of Clinical Periodontology*. 2017;44(5):456–462. doi:10.1111/jcpe.12732.
 7. Sanz M, Herrera D, Kebschull M, Chapple I, Jepsen S, Berglundh T, et al. Treatment of stage I-III periodontitis—The EFP S3 level clinical practice guideline. *J Clin Periodontol*. 2020;47(Suppl 22):4-60. doi:10.1111/jcpe.13290.
 8. Herrera D, Sanz M, Kebschull M, Jepsen S, Sculean A, Berglundh T, et al. Treatment of stage IV periodontitis: the EFP S3 level clinical practice guideline. *J Clin Periodontol*. 2022;49(Suppl 24):4-71. doi:10.1111/jcpe.13639.
 9. Lamont RJ, Koo H, Hajishengallis G. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nat Rev Microbiol*. 2018;16(12):745-759. doi:10.1038/s41579-018-0089-x.
 10. Hajishengallis G, Chavakis T, Lambris JD. Current understanding of periodontal disease pathogenesis and targets for host-modulation therapy. *Periodontol* 2000. 2020;84(1):14-34. doi:10.1111/prd.12331.
 11. Bartold PM, Van Dyke TE. An appraisal of the role of specific bacteria in the initial pathogenesis of periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2019;46(1):6-11. doi:10.1111/jcpe.13046.
 12. Shahoumi LA, Saleh MHA, Meghil MM. Virulence factors of the periodontal pathogens: tools to evade the host immune response and promote carcinogenesis. *Microorganisms*. 2023;11(1):115. doi:10.3390/microorganisms11010115.
 13. Baima G, Arce M, Romandini M, Van Dyke TE. Inflammatory and immunological basis of periodontal diseases. *J Periodontal Res*. 2025:1-34. doi:10.1111/jre.70040.
 14. 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

15. 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.
16. Hajishengallis G, Darveau RP, Curtis MA. The keystone-pathogen hypothesis. *Nat Rev Microbiol.* 2012;10(10):717-725. doi:10.1038/nrmicro2873.
17. 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.
18. Ng HM, Slakeski N, Butler CA, Veith PD, Chen YY, Liu SW, et al. The role of *Treponema denticola* motility in synergistic biofilm formation with *Porphyromonas gingivalis*. *Front Cell Infect Microbiol.* 2019;9:432. doi:10.3389/fcimb.2019.00432.
19. Schäffer C, Andrukhov O. The intriguing strategies of *Tannerella forsythia*'s host interaction. *Front Oral Health.* 2024;5:1434217. doi:10.3389/froh.2024.1434217.
20. 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.
21. 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.
22. Talapko J, Juzbašić M, Meštrović T, Matijević T, Mesarić D, Katalinić D, et al. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: from the oral cavity to the heart valves. *Microorganisms.* 2024;12(7):1451. doi:10.3390/microorganisms12071451.
23. Hbib A, Bouziane A, Lyoussi B, Zouhdi M, Benazza D. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: from basic to advanced research. In: Santi-Rocca J, editor. *Periodontitis. Adv Exp Med Biol.* Cham: Springer; 2022. Vol. 1373. p. 39-62. doi:10.1007/978-3-030-96881-6_3.
24. 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>
25. 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>
26. 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
 27. 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>
 28. 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>
 29. 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.
 30. 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.
 31. 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>
 32. 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.
 33. 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
 34. Löe H, Rindom Schiött C, Glavind L, Karring T. Two years oral use of chlorhexidine in man. *J Periodontal Res*. 1976;11(3):135-144. doi:10.1111/j.1600-0765.1976.tb00061.x.

35. 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:CD008676. doi:10.1002/14651858.CD008676.pub2.
36. da Costa LFNP, Amaral CDSF, Barbirato DDS, 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
37. Bhandari S, Shrestha S, Adhikari K, Acharya P, Thapa V. Hypersensitivity due to chlorhexidine digluconate mouthwash: a report of an uncommon case. *J Nepal Soc Periodontol Oral Implantol.* 2023;7(1):34-37. doi:10.3126/jnspoi.v7i1.60891.
38. Kovacevic V, Dakovic D, Bokonjic D. Adjunctive effect of the colloidal silver ions solution in the treatment of chronic periodontal disease: a preliminary clinical study. *Vojnosanit Pregl.* 2018;75(12):1216-1221. doi:10.2298/VSP170220081K.
39. Spacciapoli P, Buxton D, Rothstein D, Friden P. Antimicrobial activity of silver nitrate against periodontal pathogens. *J Periodontal Res.* 2001;36(2):108-113. doi:10.1034/j.1600-0765.2001.360207.x.
40. 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 (Basel).* 2020;9(1):36. doi:10.3390/antibiotics9010036.
41. Ramírez Carreño LA, Toro Obando VC. Efectividad antimicrobiana de la plata coloidal en enjuague para el control de la adherencia y crecimiento bacteriano sobre suturas multifilamento no reabsorbibles [trabajo de grado de especialización]. Bogotá: Institución Universitaria Colegios de Colombia, UNICOC; 2023.
42. Tocarruncho OI, Gualtero DA, Torres Herrera E, Calvache OI. Efectividad clínica del enjuague de plata coloidal en pacientes con gingivitis asociada a biopelícula, de la Clínica de Periodoncia de Posgrado UNICOC [trabajo de grado de especialización]. Bogotá: Institución Universitaria Colegios de Colombia, UNICOC; 2024.
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

45. Shahoumi LA, Saleh MHA, Meghil MM. Virulence Factors of the Periodontal Pathogens: Tools to Evade the Host Immune Response and Promote Carcinogenesis. *Microorganisms*. 2023;11(1):115. doi:10.3390/microorganisms11010115
46. Neurath N, Kesting M. Cytokines in gingivitis and periodontitis: from pathogenesis to therapeutic targets. *Front Immunol*. 2024;15:1435054. doi:10.3389/fimmu.2024.1435054
47. Abdulkareem AA, Al-Taweel FB, Al-Sharqi AJB, Gul SS, Sha A, Chapple ILC. Current concepts in the pathogenesis of periodontitis: from symbiosis to dysbiosis. *J Oral Microbiol*. 2023;15(1):2197779. doi:10.1080/20002297.2023.2197779
48. Davies GE, Francis J, Martin AR, Rose FL, Swain G. 1:6-Di-4'-chlorophenyldiguanidohexane ("Hibitane"). Laboratory investigation of a new antibacterial agent of high potency. *Br J Pharmacol Chemother*. 1954;9(2):192-196. doi:10.1111/j.1476-5381.1954.tb00840.x
49. Loe H, Schiött CR. The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. *J Periodontal Res*. 1970;5(2):79-83. doi:10.1111/j.1600-0765.1970.tb00696.x
50. Loe H, Schiött CR, Karring G, Karring T. Two years oral use of chlorhexidine in man. I. General design and clinical effects. *J Periodontal Res*. 1976;11(3):135-144. doi:10.1111/j.1600-0765.1976.tb00061.x
51. Windhorst A, et al. The Effect of Cetylpyridinium Chloride Compared to Chlorhexidine Mouthwash on Scores of Plaque and Gingivitis: A Systematic Review and Meta-Analyses. *Int J Dent Hyg*. 2025. doi:10.1111/idh.12916
52. Karpinski TM, Szkaradkiewicz AK. Chlorhexidine – pharmaco-biological activity and application. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2015;19(7):1321-1326.
53. Rølla G, Loe H, Schiött CR. The affinity of chlorhexidine for hydroxyapatite and salivary mucins. *J Periodontal Res*. 1970;5(2):90-95. doi:10.1111/j.1600-0765.1970.tb00698.x
54. Bonesvoll P, Lökken P, Rølla G, Paus PN. Retention of chlorhexidine in the human oral cavity after mouth rinses. *Arch Oral Biol*. 1974;19(3):209-212. doi:10.1016/0003-9969(74)90140-X

55. Watts A, Addy M. Tooth discolouration and staining: a review of the literature. *Br Dent J*. 2001;190(6):309-316. doi:10.1038/sj.bdj.4800959
56. Chiewchalernsri C, Sompornrattanaphan M, Wongsas C, Thongngarm T. Chlorhexidine Allergy: Current Challenges and Future Prospects. *J Asthma Allergy*. 2020;13:127-133. doi:10.2147/JAA.S207980