



**CESPU**  
INSTITUTO UNIVERSITÁRIO  
DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

**EFEITO DO TRATAMENTO COM CLOREXIDINA NA MICROBIOTA DE LESÕES PERI-  
IMPLANTARES**

**Félix Pose Otero**

**Dissertação conducente ao Grau de Mestre em**

**Medicina Dentária (Ciclo Integrado)**

**Gandra, 31 de maio de 2020**



**CESPU**  
INSTITUTO UNIVERSITÁRIO  
DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

**Félix Pose Otero**

**Dissertação conducente ao Grau de Mestre em**

**Medicina Dentária (Ciclo Integrado)**

**Efeito do tratamento com clorexidina na microbiota de lesões peri-implantares**

**Trabalho realizado sob a Orientação de "Cristina Maria Leal Moreira Coelho"**

## **Declaração de Integridade**

Eu, Félix Pose Otero, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste trabalho, confirmo que em todo o trabalho conducente à sua elaboração não recorri a qualquer forma de falsificação de resultados ou à prática de plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria do trabalho intelectual pertencente a outrem, na sua totalidade ou em partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores foram referenciadas ou redigidas com novas palavras, tendo neste caso colocado a citação da fonte bibliográfica.

## Declaração

Eu, “Cristina Maria Leal Moreira Coelho”, com a categoria profissional de Professor do Instituto Universitário de Ciências da Saúde, tendo assumido o papel de Orientador do Relatório Final de Estágio intitulado “Efeito do tratamento com clorexidina na microbiota de lesões peri-implantares”, do Aluno do Mestrado Integrado em Medicina Dentária, “Félix Pose Otero”, declaro que sou de parecer favorável para que o Relatório Final de Estágio possa ser presente ao Júri para Admissão a provas conducentes à obtenção do Grau de Mestre.

Gandra, 31 de maio de 2020

O Orientador

-----



**CESPU**  
INSTITUTO UNIVERSITÁRIO  
DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

## **Resumo**

A peri-implantite é um processo inflamatório que afeta os tecidos circundantes do implante, podendo impedir a sua osteointegração e conduzir mesmo à sua perda. O seu tratamento constitui atualmente um grande desafio, devendo ser realizado o mais precocemente possível, logo que é observada placa bacteriana e sangramento à sondagem. O tratamento não cirúrgico com um antisséptico à base de clorexidina para bochecho está geralmente na primeira linha de escolha, no entanto os seus efeitos benéficos na microbiota das lesões peri-implantares ainda não estão bem definidos na literatura atual. O objetivo deste estudo é comparar o efeito do bochecho com clorexidina de tratamento a 0,12 % e com clorexidina de manutenção a 0,05%, sobre a microbiota associada a lesões peri-implantares, utilizando a análise metagenómica de sequenciação massiva com tecnologia Illumina®. Participaram neste estudo 22 pacientes, nos quais foram colhidas amostras nas bolsas peri-implantares antes e após 15 dias de tratamento. Os resultados indicaram que não há diferenças significativas na variância da microbiota gerada pelos dois tipos de clorexidina testados e que esta depende mais do indivíduo. Este estudo sugere que a clorexidina no tratamento da peri-implantite deve ser utilizada com alguma moderação pelos médicos dentistas, tendo em conta os seus efeitos negativos após o tratamento, como sejam, a coloração dos dentes e um aumento da tensão arterial.

## **Palavras-chave:**

Peri-implantite, clorexidina, microbiota, biofilme, bactérias

## **ABSTRACT**

Peri-implantitis is an inflammatory process that affects the tissues surrounding the implant, which can prevent its osteointegration and even lead to its loss. Its treatment is currently a major challenge, and should be carried out as early as possible, as bacterial plaque and bleeding on probing are observed. Non-surgical treatment with a chlorhexidine-based mouthwash is generally in the first line of choice, however its beneficial effects on the microbiota of peri-implant injuries are not well defined in the current literature. The aim of this study is to compare the effect of mouthwash with 0.12% treatment chlorhexidine and 0.05% maintenance chlorhexidine on the microbiota associated with peri-implant injuries, using massive metagenomic analysis with technology Illumina®. Twenty-two patients participated in this study, in which samples were collected in the peri-implant pockets before and after 15 days of treatment. The results indicated that there are no significant differences in the variance of the microbiota generated by the two types of chlorhexidine tested and that it depends more on the individual. This study suggests that chlorhexidine in the treatment of peri-implantitis should be used sparingly by dentists, considering its negative effects after treatment, such as tooth colour and an increase in blood pressure.

### **Keywords:**

Peri-implantitis, chlorhexidine, microbiota, biofilm, bacteria

## Índice

### Resumo

- Introdução.....5
- Objetivo.....6
- Materiais e Métodos.....7
  - População de estudo.....7
  - Colheita das amostras.....7
  - Processamento das amostras .....8
  - Análise estatística .....8
- Resultados e Discussão.....9
- Conclusão.....27
- Agradecimentos.....28
- REFERÊNCIAS/BIBLIOGRAFIA.....28
- ANEXOS.....31
  - ANEXO 1. Aprovação da investigação pela Comissão de Bioética e consentimento informado do paciente.....31
  - ANEXO 2. Características clínicas dos pacientes selecionados para o estudo.....41





## Introdução

A microbiota oral constitui uma das mais diversas comunidades de microrganismos que residem no corpo humano. A maior parte das bactérias deste complexo ecossistema encontram-se aderidas aos tecidos e dentes formando biofilmes. Na cavidade oral existe uma grande variedade de bactérias distribuídas em nichos com características favoráveis à sua sobrevivência e onde vivem em contínua interação com o ambiente e o hospedeiro, estando em situação normal em simbiose (1). Uma perturbação desta interação pode gerar uma disbiose, conduzindo a patologias orais diferentes, como cáries, doenças periodontais ou doenças peri-implantares.

A peri-implantite constitui um problema crescente de saúde oral, sendo uma doença infecciosa caracterizada por afetar os tecidos circundantes do implante, com perda óssea, sangramento à sondagem, com ou sem supuração, podendo levar à sua perda (2). Porém, a saúde peri-implantar pode existir em torno de implantes com suporte ósseo reduzido (3). Anos atrás, a única opção na peri-implantite era remover o implante, mas atualmente existem várias alternativas terapêuticas. O principal objetivo é interferir na perda óssea que gera e estabilizar a infeção bacteriana. Na atualidade, o protocolo de primeira ação para combater a infeção bacteriana é a prescrição de colutórios de clorexidina a uma concentração de 0,12% (CHX de tratamento) ou 0,05% (CHX de manutenção), controlando a inflamação, a placa dentária e o sangramento, apesar da coloração que causa na dentição e das mudanças que produz no plasma, com concentrações mais baixas de nitrito e o aumento da pressão arterial sistólica em indivíduos sãos (4).

Este uso da clorexidina para o tratamento de lesões peri-implantares deve-se ao seu potencial para a redução da proliferação de bactérias associadas às doenças periodontais, como *Porphyromonas gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum*, podendo também envolver diferentes espécies de *Actinomyces*, *Streptococcus* e Enterobactérias (5). Também é eficaz no tratamento contra a halitose, relacionada com a colonização por bactérias (6). A CHX tem um largo espectro, tendo como alvo a membrana citoplasmática bacteriana, provocando uma redução na sua fluidez, osmorregulação e capacidade metabólica (7). Em concentrações mais



altas, a interação entre a clorexidina e a membrana celular faz com que a membrana da bactéria perca a sua integridade levando a uma rápida perda do conteúdo celular (8). Está amplamente disponível sem receita médica e usa-se também em pacientes sãos, mas desconhece-se se promove um microbioma oral associado com saúde ou se causa uma alteração para um microbioma associado com a doença (4).

Existem poucos trabalhos que analisem o efeito da CHX sobre a microbiota oral utilizando técnicas metagenômicas de sequenciação massiva. Bescos et al. 2020 colheram amostras de saliva após tratamento de 7 dias com bochecho de CHX a 0,2% e obtiveram um aumento de *Firmicutes* e *Proteobacteria* e uma redução do conteúdo de *Bacteroidetes*, *TM7*, *SR1* e *Fusobacteria*. Observaram também um aumento de lactato e glucose com uma resultante diminuição do pH salivar (4).

Chatziannidou et al. (8), utilizaram dois tipos de modelos de biofilme oral cultivados *in vitro*, um de 14 espécies e outro gerado com microbiota da língua, tendo observado uma inibição do crescimento bacteriano após o tratamento com CHX que foi rapidamente recuperada, bem como mudanças na composição bacteriana e na atividade metabólica dos biofilmes. Noutros casos produziu-se um efeito contrário, observando-se uma maior abundância de patobiontes e um incremento na produção de lactato.

Até ao momento não foram realizados estudos sobre o efeito dos colutórios de CHX sobre a microbiota das lesões peri-implantares, o que é fundamental para avaliar se este tratamento resulta ou não benéfico para o controlo das mesmas. Atendendo aos efeitos colaterais da CHX, é de grande interesse analisar se a utilização dos colutórios de CHX denominados de manutenção, com uma concentração mais baixa (0,05%) têm um efeito similar ao da concentração de 0,12% sobre a microbiota peri-implantar.

## **OBJETIVO**

Avaliar o efeito do tratamento com clorexidina 0, 12% na microbiota presente nas lesões peri-implantares e compará-la com o efeito da clorexidina de manutenção a 0,05%.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **População de estudo**

Este estudo foi realizado com o consentimento da Comissão de ética de Investigação da Galiza (Código 2020/007, Anexo I) e após a assinatura do consentimento informado pelos Pacientes. Participaram voluntariamente 22 Pacientes portadores de implantes dentários com diagnóstico clínico de peri-implantite, baseado nos critérios de sondagem e na deteção radiográfica de perda óssea em torno do implante. Trata-se de uma amostra de conveniência, cujos critérios de inclusão foram: a) ausência de tratamento com antibióticos nos 3 meses que precederam as colheitas e b) não utilização de elixir oral com clorexidina nos 15 dias prévios à primeira colheita. Os Pacientes após terem efetuado uma destartarização, foram distribuídos em dois grupos de estudo constituídos cada um por 11 pacientes. No grupo 1, efetuaram bochecho com elixir de Clorexidina 0,12% (PerioAid® Dentaïd - Spain), enquanto no grupo 2, efetuaram bochecho com elixir de Clorexidina de manutenção 0,05% (PerioAid® Dentaïd - Spain). Todos os Pacientes foram instruídos a fazer a higiene oral 3 vezes ao dia após cada refeição, durante 15 dias, tendo sido fornecidas escovas e pastas dentífricas iguais para ambos os grupos de estudo. As características clínicas dos pacientes resumem-se no Anexo II.

### **Colheita das amostras**

Após procedermos ao isolamento relativo da zona de colheita com rolos de algodão, obtivemos amostras da microbiota peri-implantar, inserindo suavemente 4 cones de papel estéreis durante 30 segundos nas bolsas peri-implantares, de acordo com o protocolo previamente estabelecido por Muras et al. (9). As pontas de papel foram introduzidas num tubo Eppendorf com 350 ml de solução tampão MBL do kit de extração de DNA (Kit DNeasy PowerBiofilm, Qiagen®).

As pontas de papel para a recolha das amostras foram preferidas às curetas, uma vez que permitiram obter o maior número de unidades taxonómicas em lesões peri-implantares (9). Além disso, as pontas de papel, para além de serem mais fáceis de utilizar e provavelmente mais reprodutíveis, proporcionam uma boa representação da camada externa do biofilme das bactérias planctónicas presentes nas bolsas peri-implantares (10).

As amostras foram obtidas, antes e após o período de realização de bochechos com os colutórios de clorexidina e foram congeladas até ao momento da extração do DNA.

### **Processamento das amostras**

A preparação das amostras foi realizada no Laboratório de Microbiologia da Universidade de Santiago de Compostela. Para a análise da microbiota peri-implantar, o DNA das amostras foi extraído com o “Kit DNeasy PowerBiofilm” (Qiagen®) seguindo as instruções do fabricante. A concentração do DNA das amostras foi medida com o espectrofotómetro NanoDrop (ThermoScientific). As amostras foram sequenciadas pela técnica de pirosequenciação utilizando o equipamento Illumina® MiSeq, no laboratório FISABIO (Valencia, <http://fisabio.san.gva.es/>). O DNA genómico microbiano foi sequenciado (5ng/μL em Tris 10 mM pH 8,5) para amplificar regiões do gene 16sRNA V3 e V4, conforme descrito por Muras et al (9). Depois da verificação do tamanho, foi sequenciado usando o extremo emparelhado de 2x300 pb (kit de reagente MiSeq V3 (MS-102-3001)).

### **Análise estatística**

Para a afiliação taxonómica das sequências obtidas na pirosequenciação, foi gerada uma tabela aleatória de 11.000 OTUs (Operational Taxonomic Unit; species) por amostra, usando os pacotes *R Microbiome v1.4.0*, *phyloseq v1.26.0* e *Vegan v2.5-3*. A tabela de OTUs foi transformada usando o  $\log_2$  para classificar os dados em duas dimensões para análise dos componentes principais (9) utilizando o programa *prinseq-lite* (Schimieder e Edward, 2011) e *Tubería DADA2* (11). A análise permitiu identificar fontes de variedade entre grupos de dados complexos. Para a comparação dos índices para a diversidade dos tratamentos utilizou-se um teste t de Student com um nível de significância  $P < 0,01$ . Previamente analisou-se a homogeneidade das

variâncias das amostras segundo a metataxonomia e as afiliações taxonómicas com *qiime2* e a base de dados *SILVA\_release\_132*. Em ambos os casos, a análise realizou-se com a utilização do programa *Excel*.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Em primeiro lugar realizamos uma análise estatística para comprovar se a diversidade do microbioma tanto a nível de géneros bacterianos como de OTUs era igual nas amostras iniciais de pacientes que realizaram CHX de tratamento ou CHX de manutenção e desta forma confirmar que os grupos selecionados não apresentavam diferenças significativas no seu microbioma antes de receber o tratamento. Os testes estatísticos mostraram que para a diversidade medida pelo índice geral de Shannon (Figura 1) não houve diferenças significativas (teste t de Student,  $p=0,73$ ) entre as amostras iniciais de CHX de manutenção e de tratamento. No entanto, ao nível de OTUs, verificaram-se diferenças significativas para o índice de Shannon entre ambos os grupos, quando se aplicou o nível de significância mais restritivo (teste t-Student,  $p=0,037$ ).

Ao analisar estas mesmas diferenças entre os dois grupos iniciais relativamente ao número de géneros e OTUs (Figura 2), não se observaram diferenças significativas nem a nível de número de géneros ( $p=0,95$ ) nem a nível de número de OTUs ( $p=0,90$ ). No entanto, importa salientar que a variância não resultou homogénea para o número de géneros (Prova F  $p=0,019$ ).

Dado que a análise estatística mostrou que o índice de Shannon é mais sensível para a deteção de diferenças que o número total de OTUs ou de géneros, analisamos com mais detalhe os gráficos das Figuras 1 A e 1.B, que representam este índice.

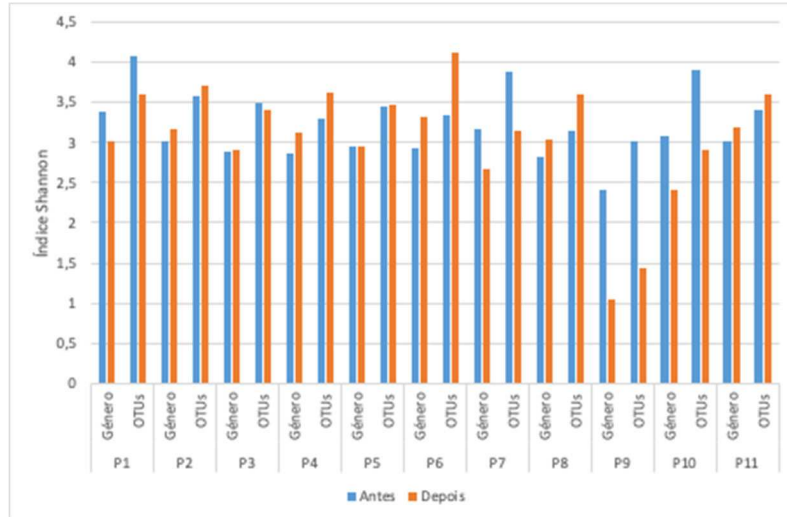


Figura 1.A Comparação da alteração na diversidade de géneros bacterianos medida com o índice de Shannon produzida pela clorexidina de manutenção em amostras orais de peri-implantite obtidas antes e após o tratamento com clorexidina.

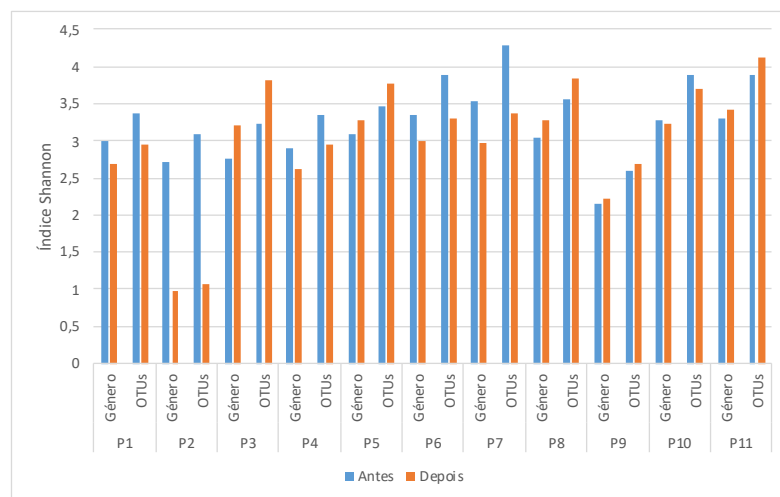


Figura 1.B Comparação da alteração na diversidade de géneros bacterianos medida com o índice de Shannon produzida pela clorexidina de tratamento em amostras orais de peri-implantite obtidas antes e após o tratamento com clorexidina.

Para comprovar se o tratamento com CHX 0,12% tem um maior efeito que a CHX 0,05%, o que constitui o principal objetivo do presente trabalho, realizou-se em primeiro lugar uma análise estatística utilizando o teste t de Student para comparar as alterações produzidas no índice de Shannon em ambos os grupos antes e depois do tratamento. Observando o efeito dos dois tipos de tratamento com o índice de Shannon, não se detetaram diferenças significativas nem a nível de géneros ( $p=0.99$ ) nem a nível de OTUs ( $p=0.096$ ). Apesar disso, foi possível observar diferenças

importantes na resposta aos diferentes tratamentos em diferentes pacientes. Assim, verificamos que há dois pacientes nos quais se vê uma maior alteração na diversidade bacteriana entre o antes e o depois do tratamento, sendo esta uma diferença no índice de Shannon de mais de 50%. Estes são, o paciente 9 para CHX de manutenção (Figura 1. A) e o paciente 2 CHX tratamento (Figura 1. B). Como estes dois pacientes têm uma resposta claramente diferenciada relativamente aos resultados obtidos nos restantes pacientes, tivemos de observar o seu historial clínico para ver se tinham alguma característica clínica que pudesse distingui-los. A amostra foi colhida na bolsa do implante 4.4 em ambos os casos, mas este dado não tem nenhuma relevância, já que houve mais pacientes nos quais a amostra foi colhida em bolsas peri-implantes de pré-molares e os seus resultados não saíram da normalidade. Não encontramos nenhuma similaridade entre os dois pacientes, de maneira que não pudemos metê-los num mesmo grupo. No entanto, há um antecedente médico com grande relevância, já que o paciente 9 de manutenção tem antecedentes de epilepsia e estava em tratamento com Fenitoína. Está descrito que pessoas com epilepsia mostram uma alta prevalência de má higiene oral, doença periodontal e isto pode influenciar no desenvolvimento da peri-implantite. Um estudo revelou que os pacientes com epilepsia têm pior saúde oral em comparação com os pacientes que estão mais controlados. A higiene oral foi pior entre os pacientes com esta doença (84,4%) e houve uma quantidade significativamente maior de placa dentária presente em comparação com o grupo de controlo ( $p < 0,001$ ). Além do mais, observou-se mais gengivite nestes pacientes (56,9%) em comparação com 25% no grupo de controlo ( $p < 0,001$ ) e periodontite (47,7% e 19%,) respetivamente nos pacientes e nos controlos (12).

Por outro lado, no caso do paciente 2 da CHX de tratamento, que também apresenta uma resposta muito marcada ao tratamento com CHX (Figura 1B), a única particularidade médica que apresenta é hipertensão e hipercolesterolemia. Temos outros pacientes que apresentam estas patologias no grupo de manutenção, como o paciente 4. Então, não identificamos nenhuma causa clínica que justificasse de forma clara esta diferente resposta que apresentou o paciente 2 relativamente aos



outros. Para uma melhor interpretação deste resultado, seria necessário a análise de um maior número de pacientes, para observar a frequência deste tipo de respostas e identificar um possível agente causal no seu historial clínico.

Se não tivermos em conta estes dois pacientes e apesar das alterações geradas por ambos os tratamentos não serem significativamente diferentes, podemos observar leves diferenças entre ambos os tipos de tratamento. Assim, o número de pacientes nos quais se produz uma alteração no índice de Shannon superior a 10% antes e depois do tratamento com CHX de manutenção (Figura 1. A) foram 6, nomeadamente, P1, P2, P3, P5, P7 e P10. Esta variação foi inferior a 10% em 4 pacientes, designadamente, P4, P6, P8 e P11. Os Pacientes nos quais a variação antes e depois do tratamento com clorexidina de tratamento (Figura 1.B) foi superior a 10% foram 5 (P6, P7, P8, P10 e P11) e menor que 10% foram também 5 (P1, P3, P4, P5 e P9). Portanto, não existem diferenças importantes quanto ao efeito de ambos os tipos de tratamento sobre a diversidade do microbioma associado à lesão peri-implantar, sendo que a resposta depende principalmente do paciente.

O índice de Shannon é uma análise estatística da diversidade bacteriana que estuda a abundância das diferentes espécies que encontramos no biofilme oral. Vários estudos revelaram uma redução na diversidade microbiana depois do uso da CHX após uma semana (13) (4). No entanto nós só tivemos uma alteração superior a 10% em 6 pacientes para a CHX de manutenção e em 5 Pacientes para a CHX de tratamento, pelo que não consideramos uma redução significativa na diversidade bacteriana, o que se contradiz com estudos anteriores. Na clorexidina de manutenção houve uma redução em 9 pacientes e na de tratamento, houve uma redução em 10 pacientes.

Quanto ao efeito dos tratamentos sobre o número de OTUs e de géneros (Figuras 2.A e 2.B), coincidindo com o que diz a estatística, a variabilidade entre os pacientes é muito maior que as alterações geradas pelos tratamentos e não se observam tendências claras.

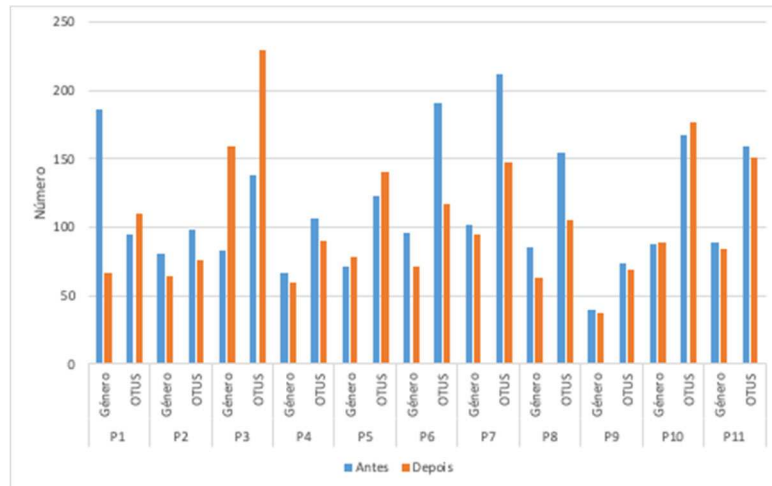


Figura 2.A Comparação da diversidade bacteriana expressa no número de géneros bacterianos e OTUs com a clorexidina de manutenção obtida em amostras orais de peri-implantite antes e após o bochecho com clorexidina

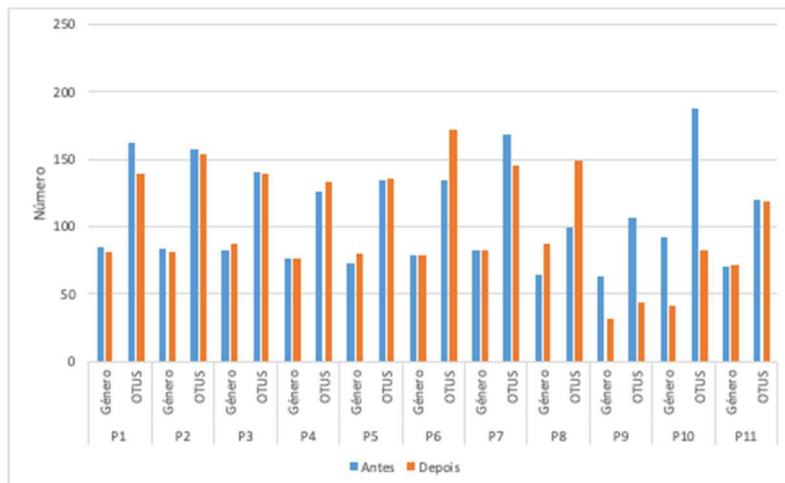


Figura 2.B Comparação da diversidade bacteriana expressa no número de géneros bacterianos e OTUs com a clorexidina de tratamento obtida em amostras orais de peri-implantite antes e após o bochecho com clorexidina

Para avaliar se poderíamos observar efeitos claros destes dois tratamentos sobre a população bacteriana nas bolsas peri-implantares, realizou-se uma análise de PCA (Análise de Componentes Principais) com todas as amostras que podemos ver na Figura 3A para CHX de manutenção e na Figura 3 B para CHX de tratamento. Nestas duas figuras podemos ver que o paciente 9 da figura 3 A e o paciente 2 da figura 3 B, se comportam de forma anormal quanto ao índice de Shannon, deslocando completamente a nuvem de pontos do resto dos pacientes. Ainda assim, nestes gráficos não é possível observar agrupamentos dos pacientes nem do tratamento.

Para refinar mais esta análise eliminamos estes dois pacientes que caem claramente fora da população geral e como podemos observar nos painéis C e D, continuamos sem observar um claro agrupamento dos resultados, não podendo distinguir visivelmente um efeito do tratamento em nenhum dos dois casos. Isto, juntamente com os outros dados estatísticos anteriores indicam-nos que a variabilidade entre indivíduos é maior que a variabilidade de géneros bacterianos gerada pelos tratamentos que não apresentam diferenças no seu efeito.

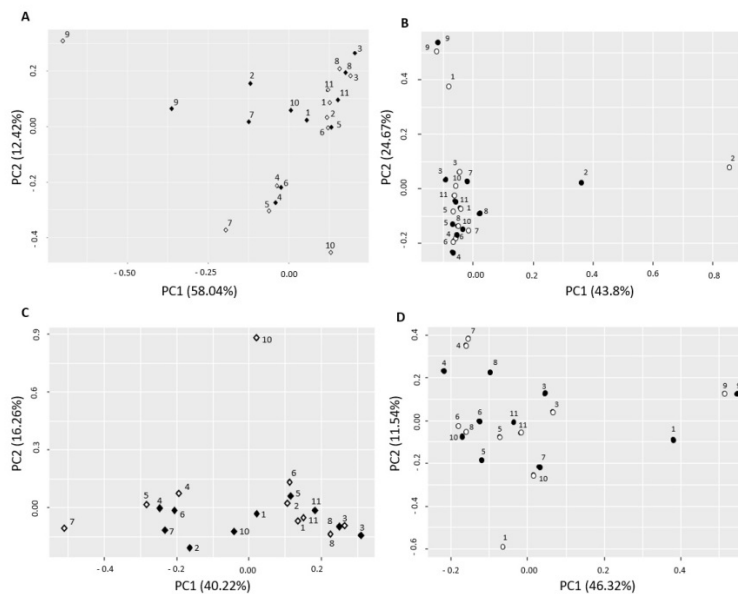


Figura 3. Análise de Componentes Principais das diferentes microbiotas obtidas das amostras de bolsas peri-implantares colhidas antes e depois do tratamento com clorexidina. (A) para clorexidina de manutenção. (B) para clorexidina de tratamento. (C) é para clorexidina de manutenção eliminando o Paciente 9 e (D) é para clorexidina de tratamento eliminando o Paciente 2

Visto não termos observado diferenças nos dois tratamentos a nível da população total de estudo utilizando o índice de Shanon ou outros parâmetros para medir a diversidade da amostra, como o número de géneros ou OTUs, passamos a analisar de forma individual a abundância dos patogénicos mais importantes que têm sido associados com a doença periodontal e com a peri-implantite (*Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Treponema*, *Tannerella* e *Aggregatibacter*). É importante salientar que o método de pirosequenciação massiva utilizando a tecnologia *Illumina Miseq*® produz sequências demasiado curtas para permitir a afiliação fiável das OTUs

a uma espécie. Por isso, nos dados metagenómicos obtidos por esta metodologia de sequenciação, trabalha-se a nível de género, sem poder distinguir entre espécies. Nas Figuras 4.A e 4.B representamos as alterações na abundância destes patogénicos que são mais relevantes para estas doenças por um lado e por outro, aqueles patogénicos que encontramos em maior abundância nas bolsas peri-implantares dos pacientes de estudo e comparamos estes dados tanto para a clorexidina de manutenção como para a de tratamento. Pode-se ver claramente como os pacientes 9 para CHX de tratamento e 2 para CHX de manutenção têm uma resposta anómala ao tratamento, com uma forte redução na diversidade da microbiota, apresentando uma composição inicial claramente diferenciada do resto das amostras, sem se detetarem a presença de importantes patogénicos como *Porphyromonas* spp. Além do mais, nestes dois pacientes, não se observaram em geral diferenças relevantes na presença destes patogénicos como podem ser observadas em todos os pacientes tratados depois do tratamento com qualquer um dos colutórios.

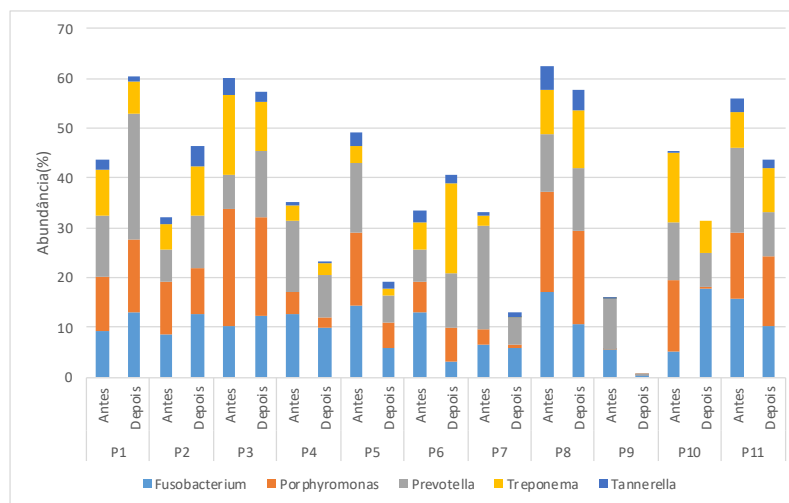


Figura 4.A Abundância dos patogénicos orais *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Treponema* e *Tannerella* nas amostras de bolsas peri-implantares antes e depois do tratamento com clorexidina de manutenção

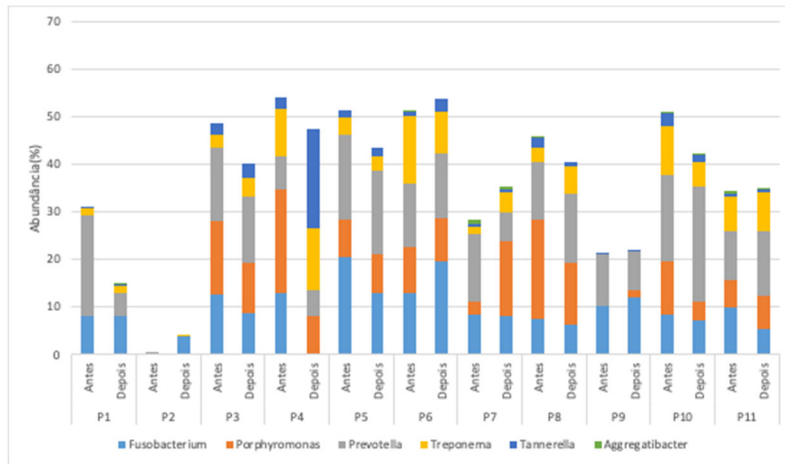


Figura 4.B Abundância dos patogénicos orais *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Treponema* e *Tannerella* nas amostras de bolsas peri-implantares antes e depois do tratamento com clorexidina de tratamento

Para poder observar as alterações na abundância destes patogénicos com maior exatidão, dividimos individualmente cada um formando gráficos separados.

Relativamente à abundância de *Fusobacterium* no grupo de Pacientes com CHX de manutenção (Figura 5 A.), pudemos verificar que o tratamento produziu uma redução do patogénico em 6 pacientes (P4, P5, P6, P8, P9 y P11) sendo maior que 50% em 3 casos (P5, P6 e P9). Em 4 pacientes produziu-se um incremento deste patogénico (P1, P2, P3 e P10) depois do tratamento, sendo este incremento de mais de 50% apenas num deles (P10). Num dos pacientes o tratamento não gerou alterações significativas (P7). No grupo de CHX de tratamento (Figura 5 B), só 2 pacientes (P2 e P4) tiveram uma alteração superior a 50%. Com uma alteração superior a 10% após o tratamento com clorexidina de manutenção, tivemos 6 pacientes (P1, P2, P4, P8, P9 e P11), enquanto os pacientes P3 e P7 apresentaram uma abundância inferior a 10%. No grupo com clorexidina de tratamento (Figura 5 B), 5 pacientes (P3, P5, P6, P9 e P11) mostraram uma alteração da abundância de *Fusobacterium* superior a 10% após o tratamento, enquanto que os pacientes (P1, P7, P8 e P10) tiveram uma redução inferior a 10%.

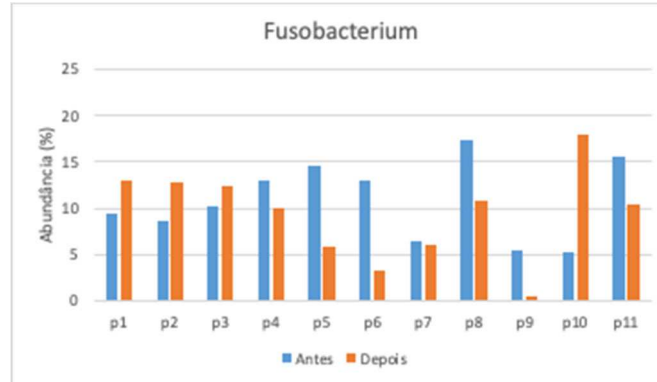


Figura 5.A Abundância do patogénico *Fusobacterium* nas amostras orais peri-implantares antes e depois do tratamento com clorexidina de manutenção

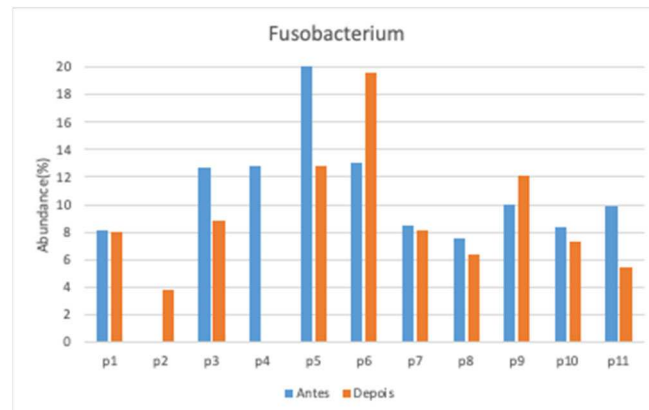


Figura 5.B Abundância do patogénico *Fusobacterium* nas amostras orais peri-implantares antes e depois do tratamento com clorexidina. de tratamento

Quanto à abundância de *Porphyromonas* no grupo com CHX de manutenção (Figura 6 A.) observamos uma redução em 7 pacientes (P2, P3, P4, P5, P7, P8 e P10), nos quais há 2 pacientes que tiveram uma alteração significativa, de mais de 50% (P5 e P10). Frente à CHX de tratamento (Figura 6 B) verificou-se uma redução em 4 pacientes (P3, P4, P8 e P10) dos quais 3 (P4, P7 e P10) tiveram uma alteração superior a 50%. Ainda no grupo de CHX de manutenção (Figura 6 A), houve 2 pacientes que tiveram uma alteração da abundância de *Porphyromonas* superior a 10% após o tratamento (P1 e P3), enquanto que em 7 pacientes (P2, P4, P6, P7, P8, P9 e P11), foi inferior a 10%. A alteração da abundância de *Porphyromonas* na clorexidina de

tratamento (Figura 6 B) em 2 pacientes foi superior a 10% após o tratamento nos Pacientes (P3 e P8), enquanto em 4 deles (P5, P6, P9 e P11) foi inferior a 10% e os Pacientes P1 e P2 apresentaram valores irrelevantes para este patógeno.

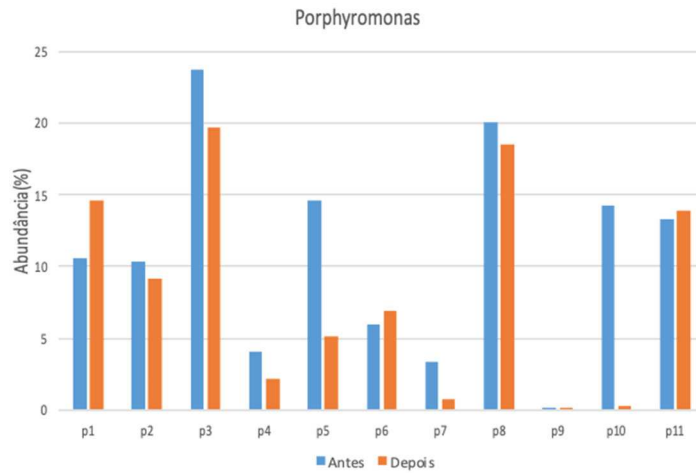


Figura 6.A Abundância do patógeno *Porphyromonas* nas amostras de bolsas peri-implantares antes e depois do tratamento com clorexidina de manutenção

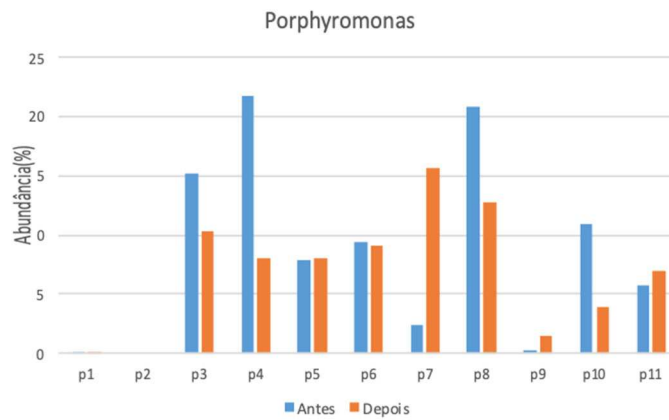


Figura 6.B Abundância do patógeno *Porphyromonas* nas amostras de bolsas peri-implantares antes e depois do tratamento com clorexidina de tratamento

No grupo da CHX de manutenção (Figura 7. A) houve 6 pacientes (P4, P5, P7, P9, P10 e P11) que apresentaram uma redução após o tratamento e 6 pacientes (P1, P3, P4,

P5, P7 e P10) que tiveram uma alteração significativa de *Prevotella* em mais de 50%. Relativamente à clorexidina de tratamento (Figura 7 B), 6 pacientes (P1, P2, P3, P4, P7 e P9) apresentaram uma redução após o tratamento e 2 pacientes (P1 e P7) tiveram uma alteração superior a 50%. A abundância de *Prevotella* na clorexidina de manutenção (Figura 7 A), foi superior a 10% após o tratamento no paciente P2, enquanto nos pacientes P6, P8, P9 e P11 foi inferior a 10%. No grupo de CHX de tratamento (Figura 7 B), houve 2 pacientes (P10 e P11) que tiveram uma alteração na abundância de *Prevotella* superior a 10% após o tratamento, enquanto que nos pacientes P2, P3, P4, P5, P6, P8 e P9 foi inferior a 10%.

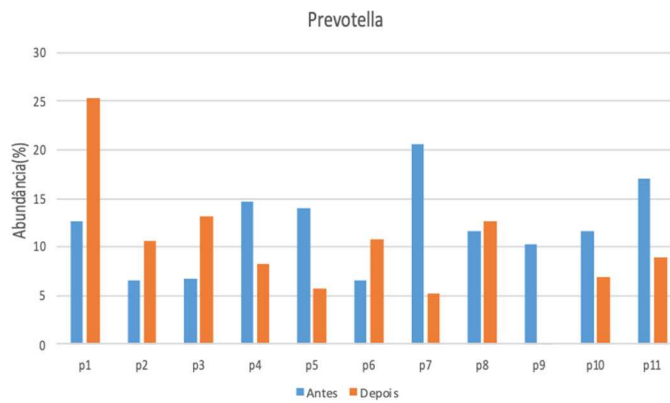


Figura 7.A Abundância do patógeno *Prevotella* nas amostras de bolsas peri-implantares antes e depois do tratamento com clorexidina de manutenção

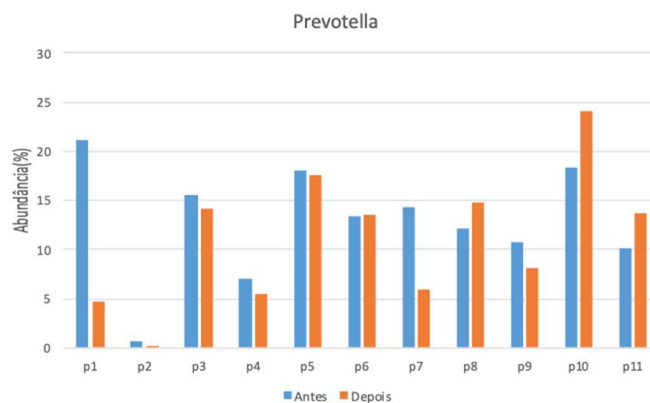




Figura 7.B Abundância do patogénico *Prevotella* nas amostras de bolsas peri-implantares antes e depois do tratamento com clorexidina de tratamento

No que respeita à abundância de *Treponema* para a clorexidina de manutenção (Figura 8 A.) observamos uma redução após o tratamento em 6 pacientes (P1, P3, P4, P5, P7 e P10), enquanto que frente à clorexidina de tratamento (Figura 8 B.) houve uma redução apenas em 3 pacientes (P5, P6 e P10).

Relativamente à abundância de *Treponema* para a clorexidina de manutenção (Figura 8.A) 4 dos pacientes (P5, P6, P7 e P10) tiveram uma alteração significativa, de mais de 50%. Frente à CHX de tratamento (Figura 8 B) 2 pacientes (P10 e P7) também tiveram uma alteração superior a 50%.

A alteração na abundância de *Treponema* na clorexidina de manutenção (Figura 8. A), foi superior a 10% após o tratamento em 4 pacientes (P1, P2, P3 e P8), enquanto que 2 deles (P4 e P11) apresentaram uma alteração inferior a 10%. O Paciente 9 apresentou valores irrelevantes para este patogénico.

Quanto ao grupo da CHX de tratamento (Figura 8 B), houve 4 pacientes (P3, P4, P6 e P8) que apresentaram uma alteração na abundância de *Treponema* superior a 10% após o tratamento. Por outro lado, houve 3 (P1, P5 e P11), nos quais foi inferior a 10%, enquanto que os pacientes P2 e P9 apresentaram valores irrelevantes para este patogénico.

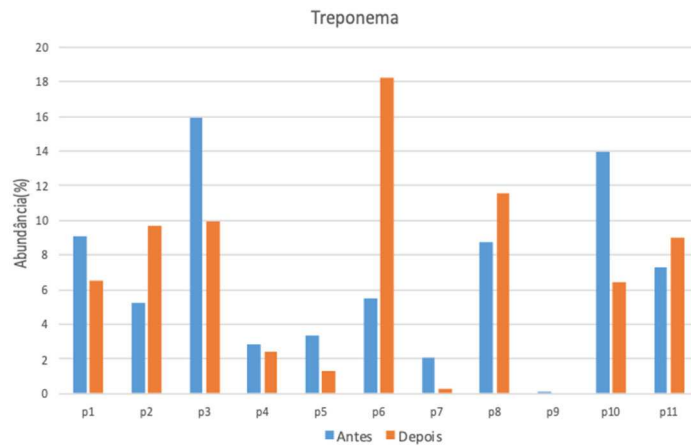


Figura 8.A Abundância do patógeno *Treponema* nas amostras de bolsas peri-implantares antes e depois do tratamento com clorexidina de manutenção

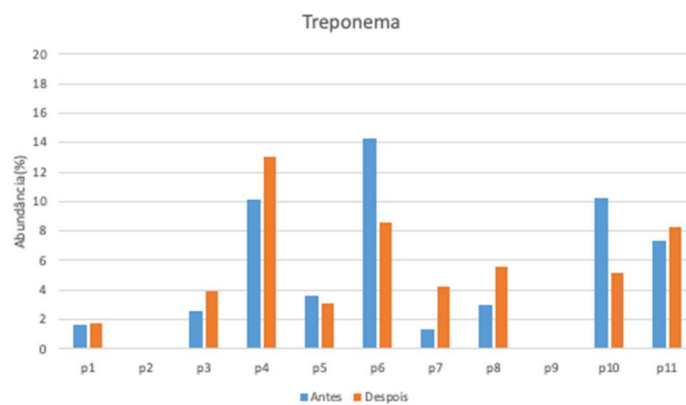


Figura 8.B Abundância do patógeno *Treponema* nas amostras de bolsas peri-implantares antes e depois do tratamento com clorexidina de tratamento

A abundância de *Tannerella* no grupo de Pacientes com CHX de manutenção (Figura 9 A) apresentou uma redução após o tratamento em 9 pacientes ( P1, P3, P4, P5, P6, P8, P9, P10 e P11) e uma alteração significativa de mais de 50% em 6 pacientes (P1, P2, P4, P5, P9 e P10), uma alteração superior a 10% nos pacientes P3, P6, P8 e P11 e inferior a 10% no paciente P7.

Frente à clorexidina de tratamento (Figura 9 B) houve uma redução após o tratamento em 3 pacientes (P8, P10 e P11) e apenas 1 paciente (P4) apresentou uma

alteração na abundância de *Tannerella* superior a 50%. Nenhum dos pacientes teve uma alteração superior a 10% após o tratamento, no entanto houve 8 nos quais foi menor que 10% (P1, P3, P5, P6, P7, P8, P10 e P11). Para os Pacientes P2 e P9 este patogénico apresentou valores irrelevantes.

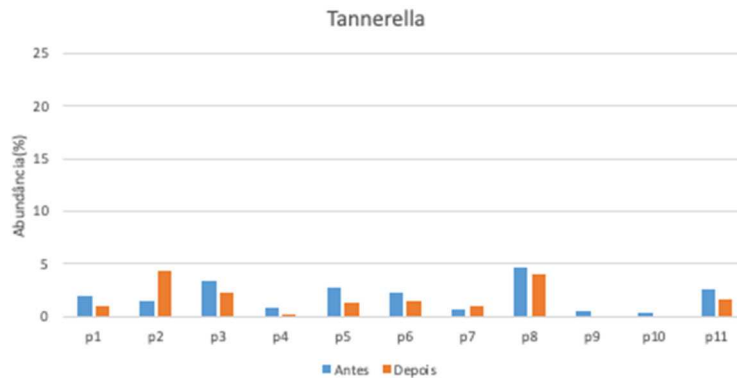


Figura 9.A Abundância do patogénico *Tannerella* nas amostras de bolsas peri-implantares antes e depois do tratamento com clorexidina de manutenção

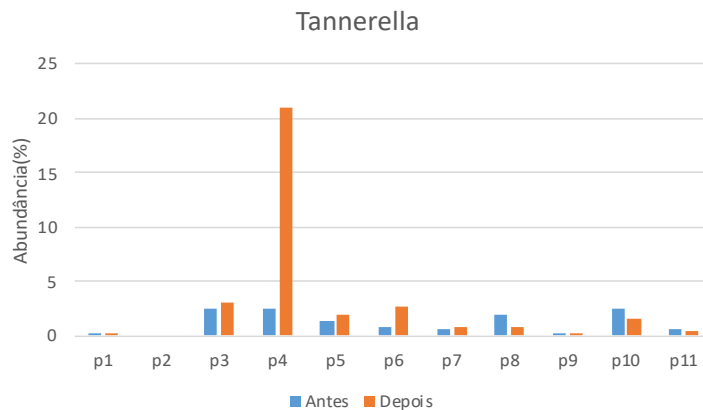


Figura 9.B Abundância do patogénico *Tannerella* nas amostras de bolsas peri-implantares antes e depois do tratamento com clorexidina de tratamento

Relativamente à abundância de *Aggregatibacter* na CHX de manutenção (Figura 10 A.) observou-se uma redução após o tratamento em 5 pacientes (P1, P2, P7, P8 e P9), esta bactéria só foi detetada com uma abundância relativa maior do que 1% em 1

paciente (P4), produzindo-se um aumento significativo do patogénico de mais de 50% depois do tratamento (Figura 10A). Os restantes pacientes do grupo, tiveram uma abundância muito baixa deste patogénico (menor que 0,1%) e o tratamento produziu alterações significativas, sendo que em todos os casos, a variação foi menor que 10% depois do tratamento.

No grupo de clorexidina de tratamento (Figura 10 B) tivemos uma redução após o tratamento só em 4 pacientes (P6, P7, P8 e P11), dos quais dois tiveram uma abundância maior do que 0,4% para este patogénico. Em ambos os casos o tratamento produziu uma redução da abundância. Por outro lado, houve 4 pacientes (P1, P6, P8 e P10), nos quais a alteração foi inferior a 10%. Para os pacientes P2, P3, P4, P5, e P9 este patogénico apresentou uma abundância irrelevante.

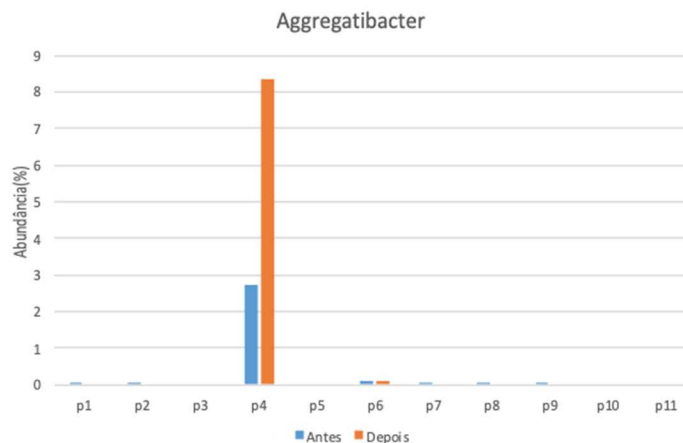


Figura 10.A Abundância do patogénico *Aggregatibacter* nas amostras de bolsas peri-implantares antes e depois do tratamento com clorexidina de manutenção

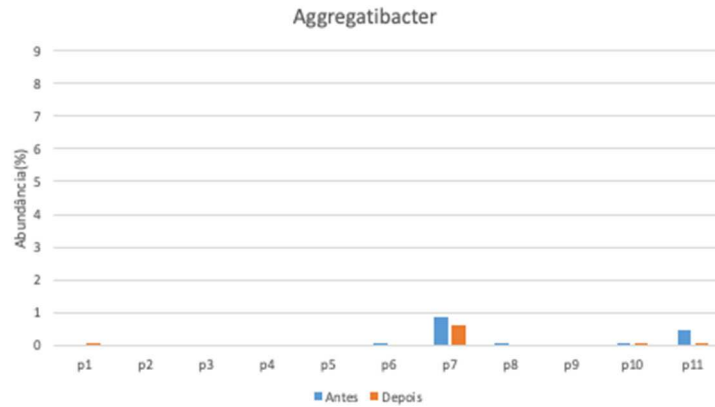


Figura 10.A Abundância do patogénico *Aggregatibacter* nas amostras de bolsas peri-implantares antes e depois do tratamento com clorexidina de tratamento

## CONCLUSÃO

No presente estudo não se observou um efeito claro de redução da abundância de nenhum dos patogénicos avaliados depois do tratamento de CHX, independentemente da concentração utilizada. Assim, podemos dizer que o efeito depende mais do próprio paciente do que do tipo de clorexidina utilizada para o tratamento, já que não houve uma resposta com diferenças significativas na variância gerada pelos dois tipos de tratamento.

Esta falta de evidência de um efeito marcado claramente benéfico do tratamento com clorexidina, sugere que esta não deveria ser utilizada pelos médicos dentistas de maneira tão rotineira e por um tempo tão prolongado como se faz habitualmente na prática clínica. Considerando os seus efeitos colaterais seria recomendável a sua prescrição apenas quando estritamente necessário, já que esta pode ocasionar coloração dos dentes e um aumento da pressão arterial, o que sugere que o microbioma oral pode regular a saúde cardiovascular em pacientes hipertensos (14), o qual poderia ser muito perigoso para pacientes com esta patologia.

Este estudo incidiu na avaliação do efeito de duas concentrações de clorexidina na redução de bactérias patogénicas do biofilme oral formado em implantes dentários, no entanto seria muito interessante analisar também o efeito destes tratamentos sobre as leveduras que se encontram na cavidade oral e que poderiam ter um papel no desenvolvimento da doença peri-implantar. Também seria interessante avaliar o efeito da CHX em tratamentos mais



**CESPU**

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO  
DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

prolongados como por vezes ocorre na prática clínica e com um espectro mais alargado de pacientes e seria preciso analisar os perfis do microbioma de forma mais detalhada, para encontrar um efeito consistente dos tratamentos sobre outras bactérias que até agora não foram associadas com o desenvolvimento da doença peri-implantar.

## **AGRADECIMENTOS**

À Doutora Andrea Muras pela realização da análise estatística e supervisão da análise em laboratório.

À Professora Doutora Ana Otero da Universidade de Santiago de Compostela por permitir-me participar neste estudo e pelas sugestões na apresentação e discussão dos resultados.

À orientadora Professora Doutora Cristina Coelho do Instituto Universitário de Ciências da Saúde - CESPU pela orientação e tutoria.

## **REFERÊNCIAS/BIBLIOGRAFIA**

- 1) Hezel, M. P. & Weitzberg, E. The oral microbiome and nitric oxide homeostasis. *Oral Dis.* 2015. 21(1):7-16. doi: 10.1111/odi.12157.
- 2) Lang N.P., Berglundh T., Work Group 4 of Seventh European Workshop on Periodontology. Peri-implant diseases: where are we now? – Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. *Journal of Clinical Periodontology.* 2011. 38 Suppl 11:178-81. doi: 10.1111/j.1600-051X.2010.01674.x.
- 3) Berglundh T, Armitage G., Araujo M.G., Avila-Ortiz G., Blanco J., Camargo P.M., Chen S., Cochran D., Derks J., Figuero E., Hämmerle C.H.F., Heitz-Mayfield L.J.A., Huynh-Ba G., Iacono V., Koo K.T., Lambert F., Quirynen M., Renvert S., Salvi G.E., Schwarz F., Tarnow D., Tomasi C., Wang HL., Zitzmann N. Peri-implant diseases and conditions: Consensus report of workgroup 4 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of clinical Periodontology.* 2018. 45 (S20): 286-291. doi.org/10.1111/jcpe.12957

- 4) Bescós R., Belfield L., Brookes Z.L.S. Rodiles A. Effects of Chlorhexidine mouthwash on the oral microbiome. *Scientific Reports*. 2020. 10:5254.
- 5) James, P. et al. Chlorhexidine mouthrinse as an adjunctive treatment for gingival health. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017. Art. No.: CD008676.
- 6) Fedorowicz, Z., Aljufairi, H., Nasser, M., Outhouse, T. L. & Pedrazzi, V. Mouthrinses for the treatment of halitosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008. Art. No.: CD006701.
- 7) Mcbain, A. J., Bartolo R. G., Catrenich C.E., Charbonneau D., Ledder R.G., Gilbetrt P. Effects of a chlorhexidine gluconate-containing mouthwash on the vitality and antimicrobial susceptibility of in vitro oral bacterial ecosystems. *Appl. Environ. Microbiol*. 2003. 69(8):4770-6. doi: 10.1128/aem.69.8.4770-4776
- 8) Chatzigiannidou I., Teughels W., Wiele T.V. and Boon N. Oral biofilms exposure to chlorhexidine results in altered microbial composition and metabolic profile. *Biofilms and microbiomes*. 2020. 6:13.
- 9) Muras A., Otero-Casal P., Pose-Rodriguez J.M., Ortega-Quintana M., Otero A. Do concurrent peri-implantitis and periodontitis share their microbiomes? *Archives Oral Biology*. Submitted. 2020.
- 10) Loomer, P.M. Microbiological diagnostic testing in the treatment of periodontal diseases. *Periodontology* 2000. 2004. 34:49-56. doi: 10.1046/j.0906-6713.2002.003424.x.
- 11) Callahan B. J., McMurdie P.J., Rosen M.J. , Han A.W. , Johnson A.J.A ,Holmes S.P. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods* .2016. 13(7):581–583
- 12) Costa A.L.F., Yasuda C.L. , Shibasaki W., Freitas C. F., Carvalho P.E.G., Cendes F. The association between periodontal disease and seizure severity in refractory epilepsy patients. *Seizure*. 2014. 23(3):227-30.
- 13) Tribble, G. D. et al. Frequency of Tongue Cleaning Impacts the Human Tongue Microbiome Composition and Enterosalivary Circulation of Nitrate. *Front Cell Infect Microbiol*. 2019. 9: 39. doi: 10.3389/fcimb.2019.00039



- 14) Bondonno, C.P., Liu A.H., Croft K.D., Considine M. J., Puddey I.B., Woodman R.J., Hodgson J.M. Antibacterial Mouth wash Blunts Oral Nitrate Reduction and Increases Blood Pressure in Treated Hypertensive Men and Women. *Am J Hypert.* 2015. 28(5):572-5.
- 15) Gazaniga, L., Ribeiro, M., Hashizume, L. N. & Maltz, M. The effect of different formulations of chlorhexidine in reducing levels of mutans streptococci in the oral cavity: a systematic review of the literature. *J. Dent.* 2007. 35(5):359-70. doi: 10.1016/j.jdent.2007.01.007.
- 16) Robitaille, N., Reed, D.D., Walters, S.D., Kumar, P.S. Periodontal and peri-implant diseases: identical or fraternal infections? *Molecular Oral Microbiology.* 2016. 31(4):285-301
- 17) Cune M.S. , Strooker H., Reijden W.A.V., Putter C., Laine M. L., Verhoeven J.W. Dental Implants in Persons with Severe Epilepsy and Multiple Disabilities: A Long-Term Retrospective Study. *The international Journal of Oral and Maxillofacial Implants .* 2009. 24(3):534-40.
- 18) Zhuang L.F., Watt R.M., Matheos N., Si M.S., Lai H.C. and Lang N.P. Periodontal and periimplant microbiota in patients with healthy and inflamed periodontal and peri- implant tissues. *Clinical Oral Implants Research.* 2016. 27(1):13-21. doi: 10.1111/clr.12508.
- 19) Wade W.G. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacological Research.* 2013. 69(1):137-43. doi: 10.1016/j.phrs.2012.11.006.

ANEXO 1. Aprobación da investigación pela Comissão de Bioética e consentimento informado do paciente



Xerencia do Servizo  
Galego de Saúde



**DICTAMEN DEL Comité de ética de la investigación con medicamentos de Galicia (CEIm-G)**

Paula M. López Vázquez, Secretaria del Comité de ética de la investigación con medicamentos de Galicia (CEIm-G)

**CERTIFICA:**

Que este Comité evaluó en su reunión del día 31/03/20:

**Título: Efecto del tratamiento con colutorios de clorhexidina sobre la microbiota asociada a lesiones peri-implantares (BACTOIMPLANT-CLORHEXIDINA)**

**Promotor: USC**

**Versión: Protocolo V2, 21/02/2020 y documentos de consentimiento Versión: 2, data: 20/03/2020**

**Código del Promotor:**

**Código de Registro: 2020/007**

Y, tomando en consideración las siguientes cuestiones:

- La pertinencia del estudio, teniendo en cuenta el conocimiento disponible, así como los requisitos legales aplicables.
- La idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio, justificación de los riesgos y molestias previsibles para el sujeto, así como los beneficios esperados.
- Los principios éticos de la Declaración de Helsinki vigente.
- Los Procedimientos Normalizados de Trabajo del CEIm-G de Galicia

Emite un **INFORME FAVORABLE** para la realización del estudio por el/la investigador/a del centro:

Centros	Investigadores Principales
USC, Facultade de Bioloxía	Ana María Otero Casal

Documento asinado dixitalmente por:  
Paula López Vázquez (05/04/2020 17:58)  
<https://sede.xunta.gal/cei?idve=SAOC-P4C4-BOAH-OF4O-TR86-C1E8-6102-3220-89>



**Y HACE CONSTAR QUE:**

1. El comité cumple los requisitos legales vigentes aplicables a los Comités de ética de investigación.
2. El comité tanto en su composición como en sus PNTs cumple las Normas de Buena Práctica Clínica (CPMP/ICH/135/95).
3. La composición actual del comité es:

Susana María Romero Yuste (Presidenta). Médico Especialista en Reumatología.  
Irene Zarra Ferro. (Vicepresidenta). Farmacéutica de Atención Especializada.  
Paula Mª López Vázquez, (Secretaria). Médico Especialista en Farmacología Clínica.  
Belen Pérez Marcos (Vicesecretaria). Farmacéutica de Atención Especializada  
Rosendo Bugarín González. Médico Especialista en Medicina Familiar y Comunitaria.  
Juan Casariego Rosón. Médico Especialista en Cardiología.  
Nuria Carballeda Feijóo. Miembro lego. Representante de los intereses de los pacientes.  
Juana Mª Cruz del Río. Trabajadora Social.  
Rafael Álvaro Millán Calenti. Licenciado en Derecho. Asesor jurídico.  
Juan Fernando Cueva Bañuelos. Médico Especialista en Oncología Médica.  
José Álvaro Fernández Rial. Médico Especialista en Medicina Interna.  
José Luis Fernández Trisac. Médico Especialista en Pediatría.  
Mª José Ferreira Díaz. Diplomada Universitaria de Enfermería.  
Agustín Pía Morandeira. Farmacéutico de Atención Primaria  
Jorge Prado Casal. Licenciado en CC. Físicas. Experto en Protección de Datos.  
Carmen Rodríguez-Tenreiro Sánchez. Licenciada en Farmacia.  
Diego Santos García. Médico Especialista en Neurología.  
Juan Vázquez Lago. Médico Especialista en Medicina Preventiva y Salud Pública.  
Mª Asunción Verdejo González. Médico Especialista en Farmacología Clínica..

En Santiago de Compostela,



## FOLLA DE INFORMACIÓN AO PARTICIPANTE

Proxecto de Investigación

**BACTOIMPLANT-Clorhexidina**

**Estudo do efecto do tratamento con clorhexidina na microbiota asociada  
a enfermidade peri-implantar**

Investigadores

**Profa. Ana María Otero Casal (Facultade de Bioloxía, USC)**

**Prof. José M. Pose Rodríguez (Facultade de Medicina e Odontoloxía,  
USC)**

**Dra. M<sup>a</sup> de la Paz Otero Casal (Facultade de Medicina e Odontoloxía,  
USC)**

**Centro:**

**Facultade de Medicina e Odontoloxía, USC**

Este documento ten por obxecto ofrecerlle información sobre un **estudo de investigación** de tipo observacional no que se lle invita a participar. Este estudo se está a realizar na Universidade de Santiago de Compostela e foi aprobado polo Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia.

Se decide participar no mesmo, debe recibir información personalizada do investigador, **ler antes este documento** e facer todas as preguntas que precise para comprender os detalles sobre o mesmo. Se así o desexa, pode levar o documento, consultalo con outras persoas, e tomar o tempo necesario para decidir se participar ou non.

A participación neste estudo é completamente **voluntaria**. Vd. pode decidir non participar ou, se acepta facelo, cambiar de parecer retirando o consentimento en calquera momento sen obriga de dar explicacións. Asegurámoslle que esta decisión non afectará á relación co seu médico nin á asistencia sanitaria á que Vd. ten dereito.

### **Cal é o propósito do estudo?**

O proxecto pretende estudar o efecto dos tratamentos con colutorio de clorhexidina sobre a microbiota asociada a enfermidade peri-implantar. A enfermidade peri-implantar deriva dunha alteración das bacterias presentes na zona do implante dental, que xenera alteracións nos tecidos circundantes. Como vostede xa sabe, o seu odontólogo indícalle periódicamente que debe realizar enxaugues diarios con colutorio de clorhexidina, xa que este é o tratamento de elección para a peri-implantite. Debido as contraindicacións da utilización continuada de colutorios de clorhexidina de alta concentración (0,12%), á frecuente que o seu odontólogo lle indique a utilización de colutorio de clorhexidina de baixa concentración (0,05%). O presente estudo ten como obxectivo estudar o grao de efectividade da utilización da clorhexidina de baixa concentración para o tratamento das lesións peri-implantares

### **Por que me ofrecen participar a min?**

Vostede é convidado a participar porque presenta enfermidade peri-implantar.

### **En que consiste a miña participación?**

Para o estudo das bacterias asociadas á enfermidade peri-implantar é necesario recoller unha pequena cantidade de mostra das bacterias que se atopan adheridas á sección subxinxival do seu implante. Para isto se inserirán unhas puntas de papel na lesión peri-implantar durante uns segundos. Trátase dun procedemento totalmente indoloro. Esta toma de mostras será realizada polo odontólogo unha vez obtido o seu consentimento. Se acepta participar neste estudo se lle tomarán dúas mostras: unha antes de comezar



o tratamento e outra logo de 15 días con tratamento, cando volva á consulta do odontólogo para revisión.

### **En que consiste o tratamento e cales son as miñas obrigas?**

O tratamento e exactamente igual ao tratamento que o seu odontólogo lle recomendou en visitas anteriores. Deberá facer tres enxaugues diarios co colutorio de clorhexidina que lle facilitará o odontólogo responsable, logo de cepillar os dentes. Non terá que alterar ningún outro hábito de hixiene bucodental nin alimentario. Asignarásese o tratamento con clorhexidina de alta ou baixa concentración ao azar. O odontólogo lle facilitará o colutorio e dentífrico que utilizará durante os 15 días de tratamento. Logo de 15 días de tratamento deberá pasar pola consulta do odontólogo para revisión e tomaráselle outra mostra da lesión peri-implantar.

### **Que riscos ou inconvenientes ten?**

A participación no estudo non ten ningún risco. Trátase dun tratamento igual aos que o seu odontólogo lle recomendou en visitas anteriores. A obtención da mostra de placa dental non afectará as súas enxivas nin os seus dentes, xa que soamente se inserirá na lesión unha punta de papel. Trátase dun proceso rápido que só en algúns casos causa unhas molestias similares as que na práctica clínica produce unha limpeza dental.

### **Obterei algún beneficio por participar?**

Non se espera que Vd. obteña beneficio directo por participar no estudo. A investigación pretende descubrir aspectos descoñecidos ou pouco claros sobre o tratamento máis axeitado da enfermidade peri-implantar. Esta información poderá ser de utilidade nun futuro para outras persoas.

### **Recibirei a información que se obteña do estudo?**

Se Vd. o desexa, facilitaráselle un resumo dos resultados do estudo. Estes resultados poden non ter aplicación clínica nin unha interpretación clara, polo que, se quere dispor deles, deberían ser comentados cos odontólogos do equipo de investigación. Non se lle poderán dar os resultados das súas



mostras de xeito específico, xa que as mostras serán codificadas e analizadas de xeito anónimo e non poderá identificarse ao donante.

### **Publicaranse os resultados deste estudo?**

Os resultados deste estudo serán remitidos a publicacións científicas para a súa difusión, pero non se transmitirá ningún dato que poida levar á identificación dos participantes.

### **Información referente aos seus datos/mostras:**

A obtención, tratamento, conservación, comunicación e cesión dos seus datos/mostras farase conforme ao disposto Regulamento Xeral de Protección de Datos (Reglamento UE 2016-679 del Parlamento europeo y del Consejo, de 27 de abril de 2016), a normativa española sobre protección de datos de carácter persoal vixente (Lei Orgánica 3/2018 del 5 de Decembro de Protección de Datos Personais e Garantía de Dereitos Dixitais) e a Lei 14/2007 de investigación biomédica e o RD 1716/2011.

A Universidade de Santiago de Compostela, na que se desenvolve esta investigación, é a responsable do tratamento dos seus datos, podendo contactar co Delegado/a de Protección de datos, Prof. José Julio Fernández Rodríguez, Profesor del Departamento de Dereito Público e Teoría do Estado, a través dos seguintes medios: enderezo electrónico: josejul.fernandez@usc.es; Teléfono: 881814723.

Os datos/mostras necesarios para levar a cabo este estudo serán recollidos e conservados pseudo-anonimizados ata que finalice o período de toma de mostras. Isto quere dicir que o odontólogo encargado da toma de mostras accederá á súa historia clínica no momento da toma da primeira mostra para encher unha ficha cos seus datos clínicos (idade, sexo, patoloxía dental e outras patoloxías, tratamentos que estea a recibir). A esta ficha e a súa mostra asignaráselle un código que será vinculado temporalmente, ata a toma da segunda mostra, a nun listado separado no que figurará seu nome codificado en iniciais e o seu número de teléfono para poder recordarlle a



data da cita de revisión. Logo de 15 días, cando o seu odontólogo lle tome a segunda mostra, os seus datos serán eliminados inmediatamente deslistado, rompendose todo vínculo que permita recuperar a trazabilidade da mostra, e dicir, as mostras non poderán ser correlacionadas con vostede de ningún xeito e vostede non poderá ser identificado nin sequera polo equipo investigador. A primeira mostra será gardada conxelada polo seu odontólogo, marcadas cun código anónimo asociado a ficha cos seus datos, ata obter a segunda mostra. Polo tanto, unha vez obtidas as dúas mostras os datos clínicos e as mostras serán procesados anonimizados, e dicir, sen información adicional que permita relacionalos con vostede. Estes datos servirán para poder analizar con posterioridade posibles correlacións entre a súa enfermidade peri-implantar e outras patoloxías ou tratamentos. En ningún momento a mostra poderá ser asociada con ningún dato que permita a súa identificación. Unha vez recollida a mostra, esta será enviada aos laboratorios do Departamento de Microbioloxía da Universidade de Santiago de Compostela para a súa utilización neste estudio e sempre que sexa posible serán procesadas inmediatamente logo da súa chegada ao laboratorio e non serán almacenadas. As mostras serán procesadas para extraer o ADN das bacterias presentes polo equipo da Universidade de Santiago de Compostela e enviadas a analizar á Fundación FISABIO (Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Comunitat Valenciana). Tal e como se explica máis arriba, os resultados deses análises non poderán ser correlacionados con vostede, nin polo equipo investigador de USC, nin polo laboratorio que levará a cabo as análises. Os residuos resultantes do procesado das mostras serán destruídos inmediatamente nas instalacións da Universidade de Santiago de Compostela.

So o equipo investigador e as autoridades sanitarias, que teñen deber de gardar a confidencialidade, terán acceso a todos os datos recollidos no estudo. Poderase transmitir a terceiros información que non poida ser identificada. No caso de que algunha información sexa transmitida a outros países, realizarase cun nivel de protección dos datos equivalente, como mínimo, ao esixido pola normativa española e europea.



Ao rematar o estudo, e conforme á normativa, os seus datos serán destruídos

**Existen intereses económicos neste estudo?**

Esta investigación é promovida pola Universidade de Santiago de Compostela con fondos aportados pola Xunta de Galicia (Consolidación e estruturación de unidades de investigación competitivas). O investigador non recibirá retribución específica pola dedicación ao estudo. Vd. non será retribuído por participar.

**Como contactar có equipo investigador deste estudo?**

Vd. pode contactar cos Prof. José M. Pose Rodríguez, no teléfono 607 54 85 97, (e-mail: josemanuel.pose@usc.es), Dra. Paz Otero Casal, no teléfono 637809210. (E-mail: Paz.Otero.Casal@sergas.es) e con a responsable da investigación, Profa. Ana María Otero Casal, no teléfono 615 321 459 (e-mail: anamaria.otero@usc.es ) para máis información.

**Moitas grazas pola súa colaboración**

## DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO PARA A PARTICIPACIÓN EN UN ESTUDO DE INVESTIGACIÓN

**TÍTULO:** Estudo do efecto do tratamento con clorhexidina na microbiota asociada a enfermidade peri-implantar

Eu, \_\_\_\_\_

- Lin a folla de información ao participante do estudo arriba mencionado que se me entregou, puiden conversar con \_\_\_\_\_ e facer todas as preguntas sobre o estudo necesarias.
- Comprendo que a miña participación é voluntaria, e que podó retirarme do estudo cando queira, sen ter que dar explicacións e sen que isto repercuta nos meus coidados médicos.
- Accedo a que se utilicen os meus datos e mostras nas condicións detalladas na folla de información ao participante.
- Presto libremente a miña conformidade para participar neste estudo.

Ao rematar o estudo, acepto que as mostras sexan eliminados.

Asinado.: O/a participante,

Asinado.: O/a investigador/a que solicita o consentimento

Nome e apelidos: \_\_\_\_\_  
apelidos: \_\_\_\_\_

Data:

Nome e

Data:

**DOCUMENTO DE CONSENTIMENTO ANTE TESTEMUÑAS PARA A PARTICIPACIÓN  
NUN ESTUDO DE INVESTIGACIÓN (para os casos no que o participante non  
pode lee/escribir)**

A testemuña imparcial terá que identificarse e ser una persoa allea ao equipo investigador

**TÍTULO Estudo do efecto do tratamento con clorhexidina na microbiota asociada a enfermidade peri-implantar**

Eu \_\_\_\_\_, como testemuña imparcial, afirmo que na miña presenza:

- Se lle leu a \_\_\_\_\_ a folla de información ao participante do estudo arriba mencionado que se lle entregou, e puido facer todas as preguntas sobre o estudo.
- Compredeu que a súa participación é voluntaria, e que pode retirarse do estudo cando queira, sen ter que dar explicacións e sen que isto repercuta nos seus coidados médicos.
- Accede a que se utilicen os seus datos e mostras nas condicións detalladas na folla de información ao participante.
- Presta libremente a súa conformidade para participar neste estudo.

Ao rematar o estudo, acepta que as mostras sexan eliminadas.

**Asinado.:** O/a testemuña

**Asinado.:**O/a investigador/a que solicita o consentimento

**Nome e apelidos:** \_\_\_\_\_  
**apelidos:** \_\_\_\_\_

**Nome e**

**Data:**

**Data:**

ANEXO 2. Características clínicas dos pacientes seleccionados para o estudo

Nome	Edad	Sexo	Tabaco	Antecedentes Médicos	Tratamientos Médicos	Último tratamiento antibiotico	Último tratamiento clorhexidina	Uso Irrigador	Implante pieza número	Tipo de conexión	Tipo de prótesis	Marca do implante	Unitario	Fecha colocação implante	Comenzo síntomas peri-implantitis	Sanerado al sondaie	Profundidad sondaje
P1. CHAM	5	M	N	Aerna	Symbicort 16 mg	05/2018	11/11/19	Si	2 4	Bihorizons- hexagonal interno	Directa a implante cerámica fija 1,2 piezas	bihorizons	N	14/06/14	28/03/16	S	V.346 L.346
P2. CHAM	5	M	N	No	No	27/11/14	23/03/17	No	4 5	Bihorizons- hexagonal interna	Fija unitaria atomillada	Bihorizons	S	---	---	S	V.424 L.342
P3. CHCM	5	H	N	No	No	18/02/19	04/03/19	No	1 3	Bihorizons- hexagonal interno	Directa a implante- cerámica fija	Bihorizons	N	13/04/12	21/12/15	S	V.834 L.432
P4. CHAM	6	H	N	Coolesterol	Basilina, clostam	12/09/16	12/06/17	No	1 4	Hexagonal interna	Fija unitaria atomillada	Bihorizons	S	06/02/14	14/03/16	S	V.334 L.525
P5. CHAM	6	M	N	---	---	20/11/17	22/07/19	No	2 4	Bihorizons- Hexagonal interno	Directa a implante- Cerámica fija	Bihorizons	N	19/03/14	20/11/17	S	V.323 L.332
P6. CHAM	7	M	N	Depression, tension, estomago	Alprazolam, Fentanilo matrix, Valsatan, Omeprazol	---	Un mes antes	Si	4 5	Hexagonal interna	Fija unitaria atomillada	Bihorizons	S	14/11/16	---	N	V.415 L.345
P7. CHAM	8	H	N	---	---	03/10/19	03/10/19	No	1 5	---	---	Strumann	N	12/05/09	20/04/15	N	V.536 L.833
P8. CHAM	6	M	S	---	---	23/02/15	14/12/18	Si	4 4	Hexagonal interna	Fija unitaria atomillada	Bihorizons	S	16/12/10	12/03/15	N	V.314 L.374
P9. CHAM	6	H	N	Epilepsia	Fentanilo	Mas 6 meses cefalospori na	Mas mes y medio	No	4 4	atomillada	Interna	Bihorizons	N	---	---	N	V.113 L.111
P10. CHAM	8	H	N	---	---	23/04/2018	---	No	3 3	Hexagonal interna	atomillada	Bihorizons	N	27/05/2013	25/04/2016	N	V.233 L.213
P11. CHAM	7	M	N	---	---	23/04/18	23/12/2019	No	4 6	Hexagonal interna	Atomillada	Bihorizons	N	21/10/2015	10/10/16	N	V.766 L.648
P1. CHAT	6	M	N	---	---	08/09/16	10/10/19	No	3 3	interna	Sobreceldadura	Bihorizons	S	09/06/16	23/03/18	-	V.322 L.453
P2. CHAT	7	M	N	---	Tension, coolesterol	2 meses	1 año	No	4 4	interna	sobreceldadura	straumann	N	05/03/2009	11/11/19	N	V.412 L.422
P3. CHAT	7	H	N	---	---	05/11/18	04/07/19	No	1 3	Hexagonal interna	Atomillada ge- medical	Ge- medical	N	09/11/18	04/07/19	S	V.666 L.666
P4. CHAT	8	H	N	---	Simron, prosata	08/02/16	---	No	4 4	interna	sobreceldadura	bihorizons	N	---	---	N	V.645 L.776
P5. CHAT	7	H	N	---	---	2 meses	---	No	2 4	interna	Fija unitaria	bihorizons	N	---	---	N	V.445 L.071
P6. CHAT	5	M	N	---	---	02/11/17	---	Si	2 6	Hexagonal interno	atomillada	bihorizons	N	16/07/14	25/02/16	-	V.224 L.226
P7. CHAT	5	M	N	---	---	25/02/17	15/03/18	No	4 6	Interna hexagonal	Fija atomillada	Bihorizons	S	20/02/17	05/11/18	N	V.523 L.522
P8. CHAT	5	H	N	---	---	Mas de un año	Mas de un año	Si	1 7	Octógono interno	atomillado	Strumann	N	08/03/13	---	N	V.633 L.633
P9. CHAT	7	H	N	HTA, coolesterol	HTA coolesterol, dilat, nifedipil	Mas de un año	---	Si	1 3	Octógono interno	sobreceldadura	Ge medical	N	03/08/2011	---	-	V.643 L.556
P10. CHAT	5	M	N	---	---	Mas seis meses	1 mes	Si	1 6	Hexagonal interno	cermetada	Bihorizons	N	02/03/2011	08/03/2016	S	V.468 L.336
P11. CHAT	4	M	S	---	Amidreprovo, entrox	Mas 6 meses	Mas 6 meses	No	3 3	interna	atomillada	Biorizons	N	08/10/2014	---	N	V.666 L.336