

**MÁSTER UNIVERSITARIO EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE ESPECIALIDADES CLÍNICAS ODONTOLÓGICAS**



**UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID**

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

**Evaluación de la eficacia inhibitoria de la
piperacilina en periodontopatógenos relacionadas
con enfermedades peri-implantarias.**

Callow Pueyo, S.

Director: Prof. José María Martínez- González

Madrid, 2018

AGRADECIMIENTOS

A mi tutor y mentor, el Dr. José María Martínez González, por su infinita paciencia, por su valioso tiempo y por su fe inquebrantable en mí. Por enseñarme valores más allá de la odontología y a quien considero un referente tanto profesional como moral.

A Ana O'Connor, y extensivo a todo el personal de laboratorio, por su ayuda en el laboratorio, y por compartir conmigo su saber microbiológico y destreza.

A mi madre, Dña. María José Pueyo y Don Omar Tunjano, por animarme a ampliar mis horizontes y a superarme siempre, apoyándome incondicionalmente.

ÍNDICE.

I.	ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN	4
II.	HIPÓTESIS Y OBJETIVO	12
III.	MATERIAL Y MÉTODO	14
	III.1. Materiales	15
	III.2. Metodología	16
IV.	RESULTADOS	20
V.	DISCUSIÓN	29
VI.	CONCLUSIONES	33
VII.	BIBLIOGRAFÍA	35
VIII.	ANEXO I	42

I.ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

I. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

Cuando se produce la pérdida de un diente, existen varias alternativas de tratamiento, desde las más convencionales como prótesis removibles y prótesis convencional fija, hasta el tratamiento implantológico. Actualmente, la rehabilitación mediante implantes es uno de los tratamientos más demandados y más realizados. Con dicho aumento exponencial del número de implantes colocados, la incidencia de complicaciones de los mismos, lógicamente se ve aumentada. Una de las complicaciones clínicas más comunes es la periimplantitis, cuya prevalencia es causa de controversia en la literatura, ya que, aunque ha sido estudiada y descrita en multitud de estudios, los parámetros para definir la periimplantitis son normalmente, establecidos en el propio estudio (1). En los estudios consultados al respecto, la prevalencia varía desde un 20 a 40% (2, 3) por lo que la periimplantitis puede ser considerada un problema de salud público.

Las enfermedades periimplantarias, descritas según la clasificación de Enfermedades Periodontales y Periimplantarias del Workshop Mundial de Periodoncia de 2017, son: Mucositis, cuya principal característica clínica es el sangrado al sondaje leve, y en la cual pueden aparecer también eritema, inflamación y/o supuración, y cuya etiología está mayoritariamente relacionada con los niveles de placa, siendo una condición reversible, aunque el tabaco, la diabetes o la radioterapia pueden modificar la condición, y en segundo lugar, la Periimplantitis, que se caracteriza por signos clínicos de inflamación, sangrado al sondaje, supuración, sondaje aumentado y/o recesión del margen gingival, combinado con un pérdida ósea radiográfica respecto a controles anteriores. La mucositis puede preceder a la periimplantitis y ambas poseen una etiología infecciosa, siendo una higiene pobre, la falta de mantenimientos implantológicos y una historia previa de periodontitis severa los principales factores de riesgo de ésta última (4)

Entre dichos factores de riesgo también se incluyen: diabetes, tabaco, carga genética, consumo de alcohol, ausencia de encía queratinizada, tipo de superficie de los implantes e higiene oral pobre (5,6)

En la literatura se ha debatido extensamente si aquellos sujetos parcialmente edéntulos con historia previa de enfermedad periodontal y que han sido sometidos a terapia

periodontal se encuentran expuestos a un mayor riesgo a desarrollar periimplantitis, producida ésta por la colonización de la superficie del implante por las bacterias presentes en los dientes remanentes, considerando que la etiología infecciosa y la respuesta del huésped poseen el mismo papel en la predisposición a la enfermedad (7,8).

Algunos estudios aportan una mayor incidencia de enfermedad periimplantaria y pérdida del implante en este tipo de pacientes que en individuos periodontalmente sanos (9,10).

Schou y cols. (11) en 2006 concluyeron en su revisión que la supervivencia de supraestructuras e implantes no dependen del estado periodontal, aunque sí se muestra un incremento significativo de la incidencia de periimplantitis y pérdida ósea marginal alrededor del implante en sujetos con pérdida dentaria asociada a enfermedad periodontal. Por otro lado, Serino y cols. (12) mostraron que la periimplantitis fue un hallazgo común en pacientes con signos leves de pérdida ósea en la dentición natural remanente, pero sin signos de periodontitis (considerando la presencia de bolsa periodontal con una profundidad de sondaje mayor o igual a 6 mm,) debido a la correcta higiene que los pacientes podían alcanzar en la dentición natural y la dificultad de ella en los implantes.

En lo que respecta a la diabetes, su papel en la pérdida ósea periimplantaria ha sido ampliamente estudiado, y diversos estudios observaron que la presencia simultánea de periodontitis y diabetes parece estar significativamente asociada a un mayor riesgo de periimplantitis, revelando la existencia de una relación entre la diabetes con mal control metabólico y las lesiones periimplantarias (13).

El tabaco es otro factor muy para tener en cuenta en el riesgo de padecer periimplantitis: en su estudio de 2017, de Araújo y Maló, (14) concluyen, tras haber tratado a 22009 pacientes, que el tabaco está significativamente relacionado con el desarrollo de periodontitis y periimplantitis, y que ésta última se reduciría en un 37 % si el hábito cesara.

En la misma línea, Petkovic -Curcin y cols (14), encontraron una asociación significativa entre el tabaquismo y la periimplantitis, y como factores genéticos asociados,

observaron la relación entre el factor de necrosis tumoral α (TNF α), el polimorfismo genético CD14 y la interleukina 6 (IL-6) en el incremento del riesgo de desarrollo de periimplantitis, aunque, según ellos mismos refieren, estos resultados no son concluyentes, y se necesita ampliar el número de estudios al respecto.

En cuanto al consumo de alcohol, la literatura que podemos encontrar al respecto no es muy extensa. Tan solo un estudio prospectivo apunta al alcohol como indicador de riesgo de la periimplantitis, mostrando una pérdida de hueso marginal relacionada de manera significativa con un consumo diario de alcohol, siendo esta pérdida mayor que la inducida por el consumo de tabaco. No obstante, se necesitan más investigaciones al respecto para poder sostener estas afirmaciones (16)

La necesidad de una mínima cantidad de mucosa queratinizada alrededor de los implantes para un adecuado mantenimiento de los mismos es, en la actualidad, un área en la que no existe un consenso claro (17-19). Algunos estudios concluyen que la ausencia de mucosa queratinizada no influye en la supervivencia de los implantes y afirman no haber encontrado asociación directa entre la ausencia de mucosa queratinizada y niveles óseos periimplantarios (20, 21)

En un estudio clínico retrospectivo transversal se estudió por primera vez el impacto de la mucosa queratinizada alrededor de implantes con diferentes tipos de superficies. Después de un periodo de tres años de seguimiento, hallaron una relación entre la ausencia o mínima mucosa queratinizada y mayores niveles de placa bacteriana e inflamación. Sin embargo, no se encontró una asociación directa entre la ausencia de mucosa queratinizada y niveles óseos periimplantarios (18).

Respecto al tipo de superficie implantaría, según la literatura revisada, las superficies rugosas pueden acumular más placa supra y subgingival que las lisas debido a una retención más profunda de la placa en nichos superficiales irregulares donde las bacterias están protegidas del efecto de limpieza natural de saliva, mejillas y movimientos de la lengua y medidas de higiene oral, especialmente si esta higiene oral es deficiente, la cual es otro factor de riesgo del desarrollo de periimplantitis (6, 22).

La relación entre una mala higiene oral y las enfermedades periimplantarias está sobradamente demostrada en la literatura. En un estudio reciente, llevado a cabo por

Tecco y cols, en 2017 (23), se relacionaron consistentemente y significativamente tres marcadores de riesgo para el desarrollo de periimplantitis: el índice de placa, el sangrado al sondaje y la presencia de bolsas periodontales.

La microbiota asociada con la periimplantitis es en la mayoría de los casos dominada por diversas bacterias anaerobias Gram-negativas como *F. nucleatum*, *Staphylococcus sp.*, *A. actinomycetemcomitans*, *Helicobacter pylori* y *T. forsythia*. La Periimplantitis puede conducir al fracaso de los implantes y predominan especies del complejo rojo (por ejemplo, *Porphyromonas gingivalis* y *Forsythia tannerella*) y especies del complejo de color naranja (por ejemplo, *Prevotella intermedia*), así como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, similar a lo que ocurre en la periodontitis. Patógenos periodontales tales como *Porphyromonas gingivalis*, *Forsythia tannerella*, *Prevotella intermedia* y *Capnocytophaga ochracea*, pueden desempeñar un papel importante en la patogénesis de las enfermedades peri-implantarias. La infección bacteriana se considera como el factor más importante para el fracaso del implante. La microbiota asociada a la periimplantitis son *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Bacterioides forsythus*, *Treponema denticola*, *Prevotella nigrescens*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, etc. (24,25)

Sin embargo, la causalidad directa entre la presencia de estos patógenos y el desarrollo de la enfermedad periimplantaria es controvertida en la literatura; Según diversos estudios *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia* y *Treponema denticola* pueden estar presentes en tejidos periimplantarios sanos y enfermos y, por lo tanto, no están estrictamente relacionados con la enfermedad periimplantaria (26,27). Por el contrario, Al -Radha y cols (28) que los patógenos periodontales incluyendo *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia* y *Fusobacterium spp.* se encontraron en aproximadamente el 40% de los implantes infectados. En el estudio de Persson y Renvert (29), 69 lechos periimplantarios infectados albergaban cantidades de *T. forsythia*, *P. gingivalis*, *Tannerella socransky*, *S. aureus*, *Staphylococcus anaerobius*, *S. intermedius* y *Streptococcus mitis* aproximadamente cuatro veces más altas que las encontradas en lechos periimplantarios sanos.

En consecuencia, el tratamiento de la periimplantitis es diverso y multidisciplinar, para el cual, se han sugerido diversas intervenciones (a menudo combinadas) que incluyen terapias no quirúrgicas: (a) desbridamiento mecánico; (b) terapia farmacéutica (irrigación con clorhexidina subgingival, antibióticos locales o sistémicos); y procedimientos quirúrgicos que incluyen: la realización de un colgajo para 1) eliminar bacterias (también utilizando láseres como el Er -Yag), 2) alisar la superficie del implante (para disminuir la rugosidad de la superficie) y eliminar las roscas del implante expuestas que protegen la placa bacteriana 3) 'descontaminación' o 'desintoxicación' de la superficie del implante utilizando diversos agentes químicos o rayos láser (30).

Una vez alcanzado el objetivo principal de la intervención quirúrgica (es decir, la superficie del implante libre de bacterias), puede ser necesario corregir las condiciones anatómicas para mejorar el control de la placa y eliminar el entorno favorable para bacterias anaerobias (eliminación de bolsas periimplantarias patológicas). Esto puede lograrse con procedimientos de resección o alternativamente con procedimientos de regeneración ósea, incluida la regeneración de hueso guiada, injertos de hueso autógeno o alogénico (5,30)

Como ya se ha mencionado, el tratamiento de la periimplantitis suele ser mixto, comenzándose en primer lugar por las terapias no quirúrgicas, entre las que se pueden encontrar una combinación de terapias mecánicas, mediante el raspado y alisado de la superficie de los implantes a través de curetas, o puntas ultrasónicas revestidas de plástico o teflón, incluso terapia fotodinámica, con la administración local de antibióticos (31).

Esta combinación se considera de utilidad ya que la periimplantitis es como una infección polimicrobiana y su acción podría complementar la terapia mecánica no quirúrgica. A lo largo de los años se han utilizado varios antimicrobianos locales diferentes, como fibras que contienen tetraciclina, un gel que contiene doxiciclina de liberación lenta o microsferas de minociclina. El uso coadyuvante de una preparación que contiene doxiciclina de liberación lenta se evaluó en un estudio controlado en el que se eliminó la supraestructura antes de la terapia no quirúrgica, se realizó una limpieza mecánica y se irrigó con clorhexidina al 0,2%. Se concluyó que la aplicación local de este antimicrobiano mejoró significativamente los resultados. Además, en una serie

de estudios aleatorizados controlados, se observó una mejoría clínica tras el uso coadyuvante de microesferas de minociclina. En general, y aunque las lesiones no se resolvieron en todos los casos, las mejoras en el sangrado al sondaje y en las profundidades de sondaje fueron hallazgos comunes en la combinación de terapias (32-6)

En lo que respecta a las terapias quirúrgicas, el principal objetivo de éstas es proporcionar acceso para la eliminación de la biofilm y los depósitos calcificados de la superficie del implante a fin de permitir la cicatrización y reducir el riesgo de una mayor progresión de la enfermedad. La decisión de utilizar una técnica quirúrgica resectiva o regenerativa depende de la situación clínica. Después de retirar el tejido infectado alrededor del implante, se debe realizar la descontaminación mecánica para eliminar la placa y depósitos mineralizados de la superficie del implante y, para ello se recomiendan instrumentos de titanio puro.

En general, la descontaminación mecánica debe ser seguida por la aplicación de agentes químicos en la superficie expuesta de los implantes afectados. A este respecto, las sustancias que se han recomendado son el peróxido de hidrógeno, el ácido cítrico, el cloruro de sodio, el hidrocloreto de tetraciclina y el gluconato de clorhexidina. Según la evidencia disponible, no se ha demostrado que ningún método sea superior. Independientemente del agente utilizado, el implante y el área de la herida periimplantaria deben irrigarse rigurosamente con una solución estéril o antibiótica después de la descontaminación (5,37)

En relación con la administración tópica de antibióticos tras la descontaminación mecánica de los implantes afectados, los más utilizados son la tetraciclina y la doxiciclina, aunque se están desarrollando estudios en los que se combina la terapia quirúrgica resectiva con la regenerativa, a base de materiales alogénicos impregnados en vancomicina y tobramicina, obteniéndose buenos resultados, a pesar del poco tiempo de progresión (38).

Otros antibióticos van apareciendo como alternativas en el tratamiento de la periimplantitis, teniendo en cuenta el gran desarrollo de resistencias bacterianas debido a la prescripción indiscriminada de antibióticos, en muchos de los casos por parte de

odontólogos. Uno de ellos es la piperacilina, un antibiótico betalactámico, asociado al tazobactam, inhibidor de la betalactamasa, cuyo amplio espectro abarca patógenos Gram positivos y negativos y organismos aerobios y anaerobios. En un estudio realizado sobre la resistencia de la especie *Prevotella*, una de las principales bacterias causantes de la periimplantitis, se observó que el segundo agente más eficaz, con sólo un 11% de desarrollo de resistencia, tras la amoxicilina-clavulánico, fue la piperacilina-tazobactam (39)

Actualmente la evidencia científica disponible respecto al uso de la piperacilina es limitada, y sólo se refiere al tratamiento periodontal, y su uso en terapia anti periimplantaria todavía requiere la implementación de estudios que corroboren su eficacia en el tratamiento de la periimplantitis.

II. HIPÓTESIS Y OBJETIVO

III.HIPÓTESIS Y OBJETIVO

Se considera como hipótesis de trabajo que la eficacia inhibitoria de piperacilina no es inferior a la de la amoxicilina-clavulánico ni minociclina en bacterias causantes de periimplantitis como son las especies de *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Debido a todo lo anteriormente mencionado, el objetivo de este estudio es observar la eficacia inhibitoria de la piperacilina en bacterias relacionadas con la periimplantitis, respecto a otros antibióticos de amplio espectro.

III.MATERIAL Y MÉTODOS

III.MATERIAL Y MÉTODOS

III.1. Materiales

Para la realización del presente trabajo de investigación se dispuso del siguiente material:

III.1.1.- Placas de cultivo: Se prepararon placas de cultivo con un medio Agar (Oxoid Limited, CM00067, ThermoFischer Scientific, UK) al cual se añadió un 5% de sangre desfibrinada de caballo (Oxoid, SR0050, ThermoFischer Scientific, UK), y un 5% de una solución de Hemina-Menadiona (12,2 ml por litro, respectivamente) (Merck España)

III.1.2.-Cepas de estudio: Obtenidas de la American Type Culture Collection (ATCC) de los microorganismos *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277), *Prevotella intermedia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (DSMZ 8324), y cultivadas en un medio BHI ((Brain Heart Infusion) (Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, U.S.A))

III.1.3.-Antibióticos: Se utilizaron 3 tipos de antibióticos: Amoxicilina-clavulánico, de la familia de las penicilinas, unida al ácido clavulánico como inhibidor de las betalactamasas, Minociclina, de la familia de las tetraciclinas, y Piperacilina-Tazobactam, asimismo de la familia de las penicilinas, con el tazobactam como inhibidor betalactámico. Estos tres antibióticos fueron adquiridos en formato de tiras de gradiente, marcadas con los valores de CMI, desde 256 hasta 0.016 µg/ ml. (Etest®, de la casa BioMérieux)

III.1.4- Aplicadores: Se utilizó para la aplicación de las tiras Etest® a las placas de cultivo, un aplicador con succión, Mini Grip-It® (Casa BioMérieux, ref. 411200), e hisopos estériles de algodón (Deltalab, España, ref. 300200) para eliminar burbujas de aire y optimizar el contacto tira-medio.

III.1.5.- Microscopio: Para el análisis de los resultados de la inhibición antibiótica bacteriana, se procedió a la visualización de las placas de cultivo mediante una lupa estereoscópica (Kyowa modelo SD-2PL; Twin HWF10x) del halo creado por las tiras Etest®

III.1.6.- Espectrofotómetro. Se llevaron a cabo distintas medidas espectrofotométricas previas al cultivo bacteriano en los medios, asegurando un número de UFC (Unidades Formadoras de Colonias) adecuado (espectrofotómetro Shimadzu UV-1800))

III.2. Metodología

Desde un punto de vista metodológico se procedió a realizar las distintas fases del proceso:

III.2.1.- Obtención de las cepas bacterianas *Porphyromonas gingivalis* (PG), *Prevotella intermedia* (PI), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (AA), mediante criobolas, aplicando éstas a un medio de cultivo y extendiéndolas por el mismo, para obtener el crecimiento de la bacteria, incubando la placa en condiciones anaeróbicas, a 37C °, durante 3 días. Tras el crecimiento de estas, las bacterias se incluyeron en soluciones BHIA, para su posterior cultivo en placas de Agar-Sangre.

III.2.2.- Análisis espectrofotométrico (estándares de McFarland) de las suspensiones BHIA, para cuantificar las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de dichas cepas por mililitro, estableciéndose los límites entre 0 y 1 como aceptables.

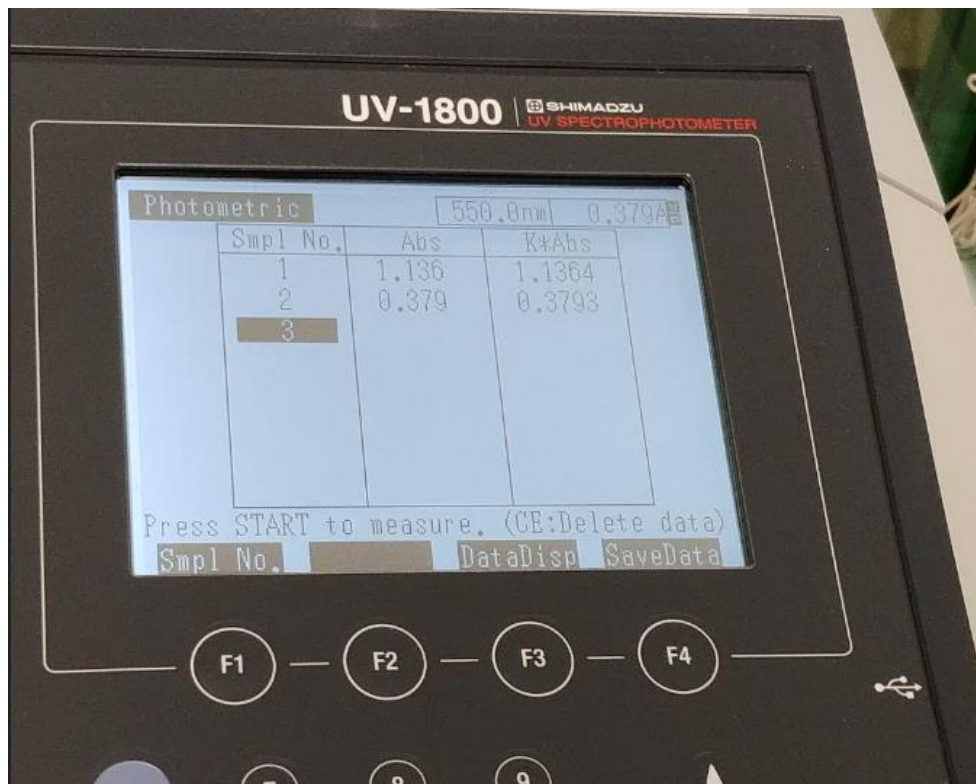
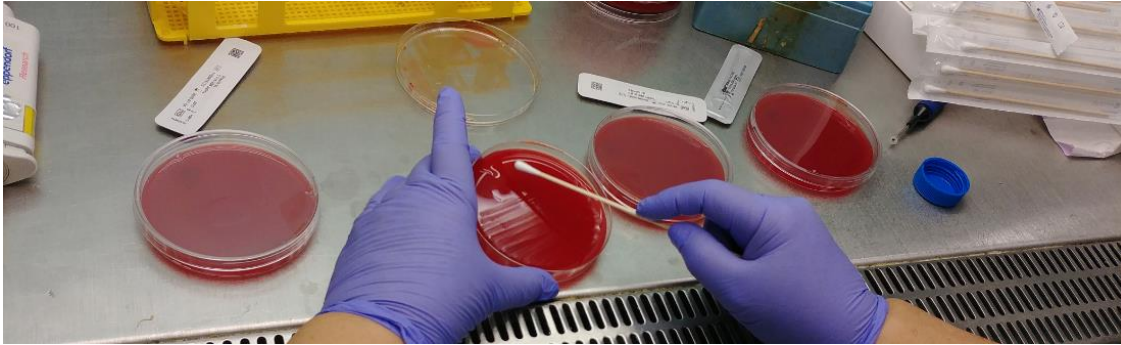


Imagen 1: Análisis espectrofotométrico previo al cultivo de microorganismos.

III.2.3.- Cultivo de las cepas bacterianas en las placas de Agar Sangre y aplicación de las tiras Etest®: Se realizó, tras la obtención de un análisis espectrofotométrico adecuado, el cultivo de cada bacteria (AA, PG y PI) en las placas (n=90), aplicando 100 µl de la solución de BHIA cultivada en cada placa, asegurando la extensión de la solución por toda el área de la misma, mediante hisopos estériles.



Imágenes 2 y 3: Cultivo de los microorganismos en el medio de cultivo Blood-Agar

Una vez comprobada la extensión completa de la suspensión bacteriana se esperó 10 ± 2 minutos a la fijación de la suspensión en la placa y se procedió a la colocación de las tiras Etest®, en condiciones asépticas, mediante un aplicador Mini Grip-It, en cada una de las placas, 10 tiras de Amoxicilina-clavulánico (AMX), 10 tiras de Minociclina (MC) y 10 tiras de Piperacilina- Tazobactam (PTZ) por microorganismo evaluado.

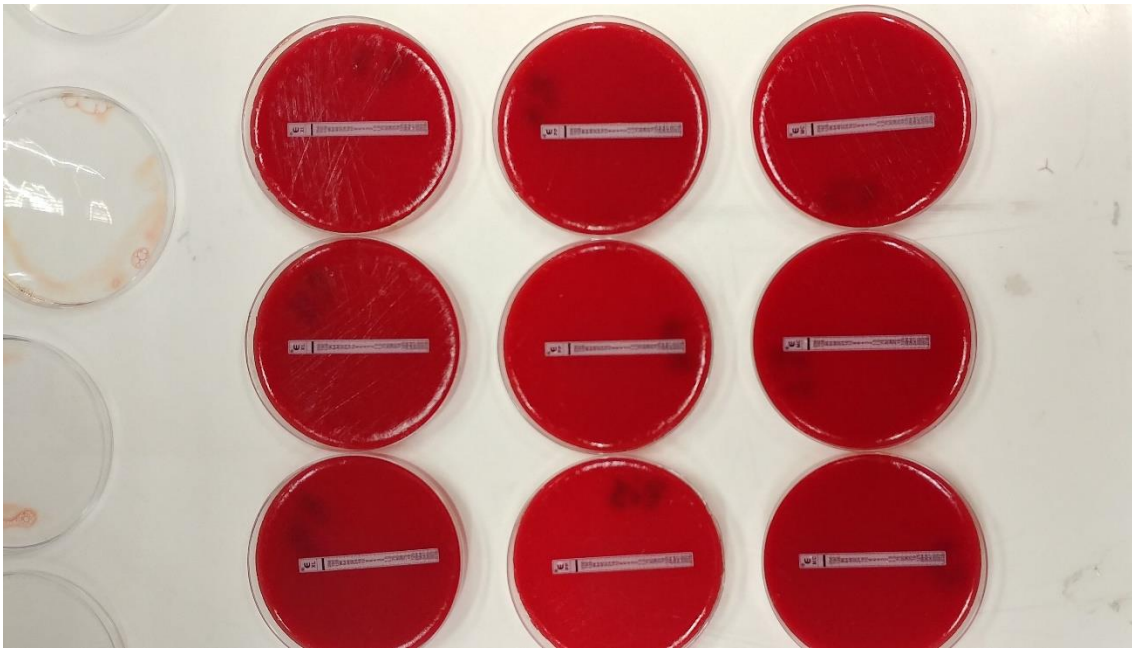


Imagen 4: Placas antibióticas colocadas en los medios cultivados con los distintos microorganismos

Se esperó de 3-5 días, según las características del microorganismo para proceder a la evaluación del crecimiento e inhibición bacteriana en las placas. Las condiciones de cultivo fueron en condiciones de anaerobiosis, a 37 C°.



Imagen 5: Colocación de las placas en condiciones anaeróbicas para su crecimiento.

III.2.4- Evaluación microscópica de la Concentración Mínima Inhibitoria de los antibióticos. Se procedió, para una mejor observación de los rangos inhibitorios, a examinar las placas bajo microscopio, cuantificando y anotando el halo inhibitorio de

cada tira en cada placa, estableciendo el límite como la zona próxima a la tira en la que no haya ningún indicio de crecimiento bacteriano, en los casos en los que no era claro se escogió el valor de inhibición por encima de dicha zona (valor menor), según las especificaciones del fabricante.

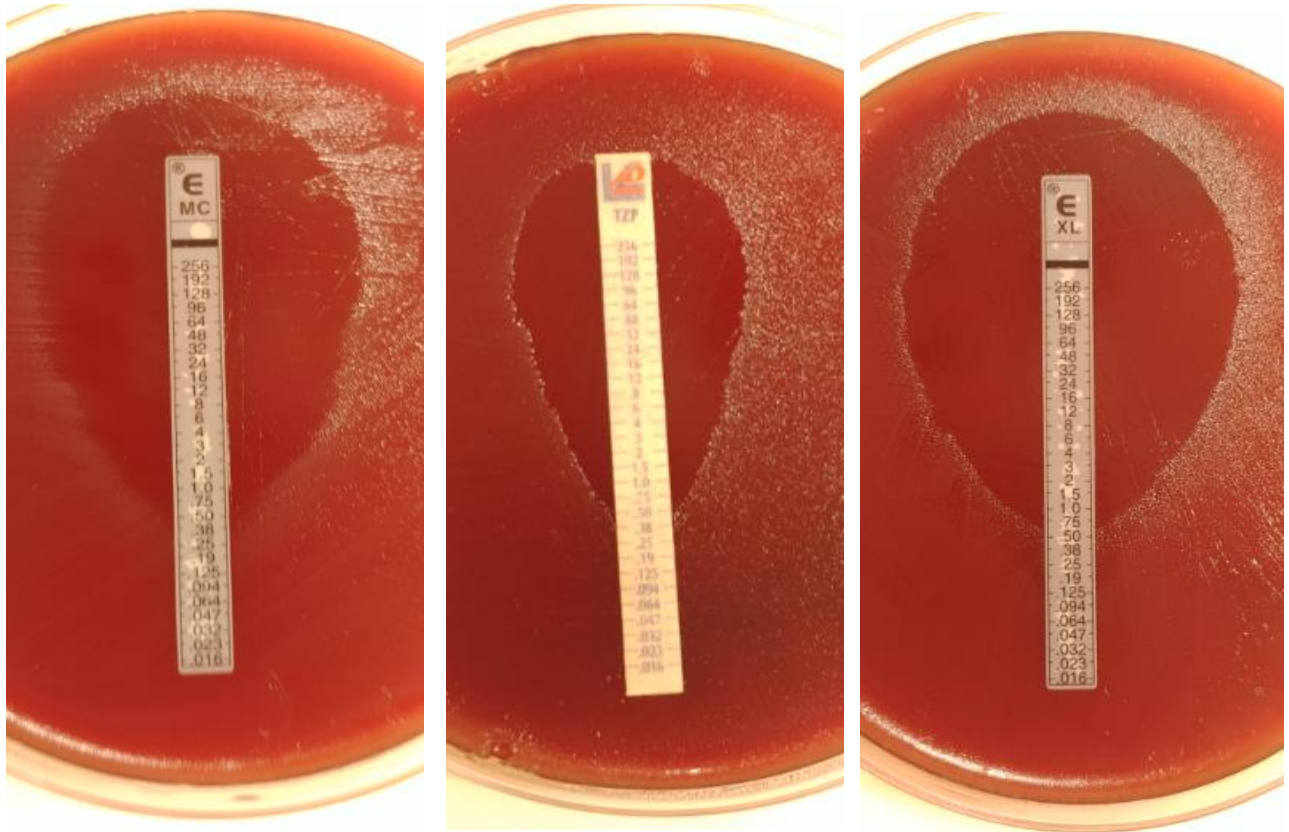


Imagen 6: Ejemplo de los halos inhibitorios de los distintos antibióticos sobre *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*

IV. RESULTADOS

IV. RESULTADOS

Tal y como se ha mencionado, todos los datos observados en las placas fueron recogidos en una hoja de datos de Excel (Tabla 1), realizándose una estadística descriptiva e inferencial de los mismos, la cual se refleja más detalladamente en el Anexo I.

<i>n.</i> <i>placa</i>	A.A			P.G			P.I		
	AMX	MC	PTZ	AMX	MC	PTZ	AMX	MC	PTZ
1	0.75	0.75	0.50	0.016	0.023	0.023	0.94	2	0.38
2	1	0.75	0.50	0.016	0.032	0.023	0.125	3	0.38
3	1	1.5	0.38	0.016	0.023	0.023	0.125	3	0.38
4	1	1	1	0.016	0.016	0.023	0.94	3	0.38
5	0.75	0.75	0.75	0.016	0.023	0.016	0.94	2	0.38
6	1	1	0.75	0.016	0.016	0.032	0.94	3	0.25
7	1	0.75	0.75	0.016	0.032	0.023	0.94	2	0.25
8	0.75	0.75	0.75	0.016	0.047	0.023	0.94	2	0.25
9	1	0.75	0.75	0.016	0.016	0.023	0.64	2	0.19
10	0.50	0.50	1	0.016	0.023	0.032	0.94	3	0.25

Tabla 1: Datos obtenidos sobre las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de los distintos antibióticos sobre los tres microorganismos. A.A *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*, P.G: *Porphyromonas Gingivalis*, P.I: *Prevotella Intermedia*. AMX: Amoxicilina-clavulánico, MC: Minociclina, PTZ: Piperacilina-Tazobactam

Se llevó a cabo un análisis de comparación de medias con un modelo bifactorial con interacción. Siendo los dos factores que intervienen en el modelo, el antibiótico utilizado y la bacteria a la cual se aplica, y la interacción de estos dos factores entre sí.

Para saber si las medias son distintas significativamente a nivel estadístico, y por tanto los antibióticos afectan de manera distinta y las bacterias de ven afectadas por estos antibióticos, se utilizó la descomposición de la varianza ANOVA y prueba de Levene, para la igualdad de varianzas, y la comparación por parejas, de los distintos niveles de los dos factores. Se estableció el nivel de significación en $p < 0.05$ y el nivel de confianza en 95%.

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: V_Respuesta

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Parámetro sin centralidad	Potencia observada ^b
Modelo corregido	48,221 ^a	8	6,028	99,544	,000	796,355	1,000
Intersección	40,793	1	40,793	673,684	,000	673,684	1,000
Bacteria	21,184	2	10,592	174,924	,000	349,849	1,000
Antibiótico	9,769	2	4,885	80,666	,000	161,331	1,000
Bacteria * Antibiótico	17,268	4	4,317	71,294	,000	285,175	1,000
Error	4,905	81	,061				
Total	93,919	90					
Total, corregido	53,126	89					

Tabla 2: a. R al cuadrado = ,908 (R al cuadrado ajustada = ,899)

b. Se ha calculado utilizando alpha = ,05

Tal y como se puede observar, con una confianza del 95% de confianza se podría rechazar la hipótesis nula de igualdad de medias en los distintos niveles de los dos factores y la interacción.

Es decir, hay al menos dos niveles de la variable bacteria que son distintos entre sí (sin tener en cuenta el antibiótico aplicado)

Hay al menos dos niveles de la variable antibiótico que son distintos entre sí (sin tener en cuenta la bacteria a la que se aplica)

Hay al menos dos combinaciones de un nivel de antibiótico con un nivel de bacteria que son distintas entre sí, por lo que se procedió al análisis por parejas, ajustándolo mediante el Test de Bonferroni de comparaciones múltiples.

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: V_Respuesta

(I) Bacteria	(J) Bacteria	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig. ^b	95% de intervalo de confianza para diferencia ^b	
					Límite inferior	Límite superior
Aggregatibacter Actinomycetemcomitans	Porphyromonas	,791*	,064	,000	,636	,946
	Gingivalis					
	Prevotella Intermedia	-,373*	,064	,000	-,528	-,217
Porphyromonas Gingivalis	Aggregatibacter	-,791*	,064	,000	-,946	-,636
	Actinomycetemcomitans					
	Prevotella Intermedia	-1,164*	,064	,000	-1,319	-1,008
Prevotella Intermedia	Aggregatibacter	,373*	,064	,000	,217	,528
	Actinomycetemcomitans					
	Porphyromonas Gingivalis	1,164*	,064	,000	1,008	1,319

Tabla 3: Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

b. Ajuste para varias comparaciones: Bonferroni.

Comparando los niveles de la variable bacteria dos a dos, los tres niveles son significativamente distintos entre sí con un 95% de confianza.

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: V_Respuesta

(I) Antibiótico	(J) Antibiótico	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig. ^b	95% de intervalo de confianza para diferencia ^b	
					Límite inferior	Límite superior
Amoxicilina- clavulánico	Minociclina	-,579*	,064	,000	-,734	-,424
	Piperacilina Tazobactam	,197*	,064	,008	,042	,353
Minociclina	Amoxicilina- clavulánico	,579*	,064	,000	,424	,734
	Piperacilina Tazobactam	,776*	,064	,000	,621	,932
Piperacilina Tazobactam	Amoxicilina- clavulánico	-,197*	,064	,008	-,353	-,042
	Minociclina	-,776*	,064	,000	-,932	-,621

Tabla 4: basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

b. Ajuste para varias comparaciones: Bonferroni.

Comparando los niveles de la variable bacteria dos a dos, los tres niveles son significativamente distintos entre sí con un 95% de confianza

3. Bacteria * Antibiótico

Variable dependiente: V_Respuesta

Bacteria	Antibiótico	Media	Desv. Error	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
Aggregatibacter Actinomycetemcomitans	Amoxicilina-clavulánico	,875	,078	,720	1,030
	Minociclina	,850	,078	,695	1,005
	Piperacilina Tazobactam	,713	,078	,558	,868
Porphyromonas Gingivalis	Amoxicilina-clavulánico	,016	,078	-,139	,171
	Minociclina	,025	,078	-,130	,180
	Piperacilina Tazobactam	,024	,078	-,131	,179
Prevotella Intermedia	Amoxicilina-clavulánico	,747	,078	,592	,902
	Minociclina	2,500	,078	2,345	2,655
	Piperacilina Tazobactam	,309	,078	,154	,464

Tabla 6.

En el caso de las comparaciones de los niveles en la interacción hay una diferencia significativa entre las medias de todos los antibióticos en *Prevotella Intermedia* (afectando de forma distinta cada antibiótico al microorganismo) sin embargo, no se obtiene evidencia estadística para hacer esta afirmación en ninguno de los antibióticos en *Porphyromonas Gingivalis*. En el caso de *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* vemos que hay una diferencia significativa entre la actuación de la amoxicilina-clavulánico y la piperacilina, pero ninguna es distinta de la minociclina.

Para ilustrar todo lo anteriormente comentado, se pueden observar las distintas concentraciones mínimas inhibitorias por microorganismo (Figs. 1-3), y por antibiótico (Figs. 4-6). En la última figura (Fig. 7) se puede observar la interacción entre bacterias y antibióticos, en la que se visualizan valores inhibitorios similares para los tres antibióticos para el *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*, ligeramente más bajos para la Piperacilina, prácticamente iguales para la *Porphyromonas Gingivalis*, y similares en *Prevotella Intermedia*, salvo para la Minociclina, cuyos valores son más altos.

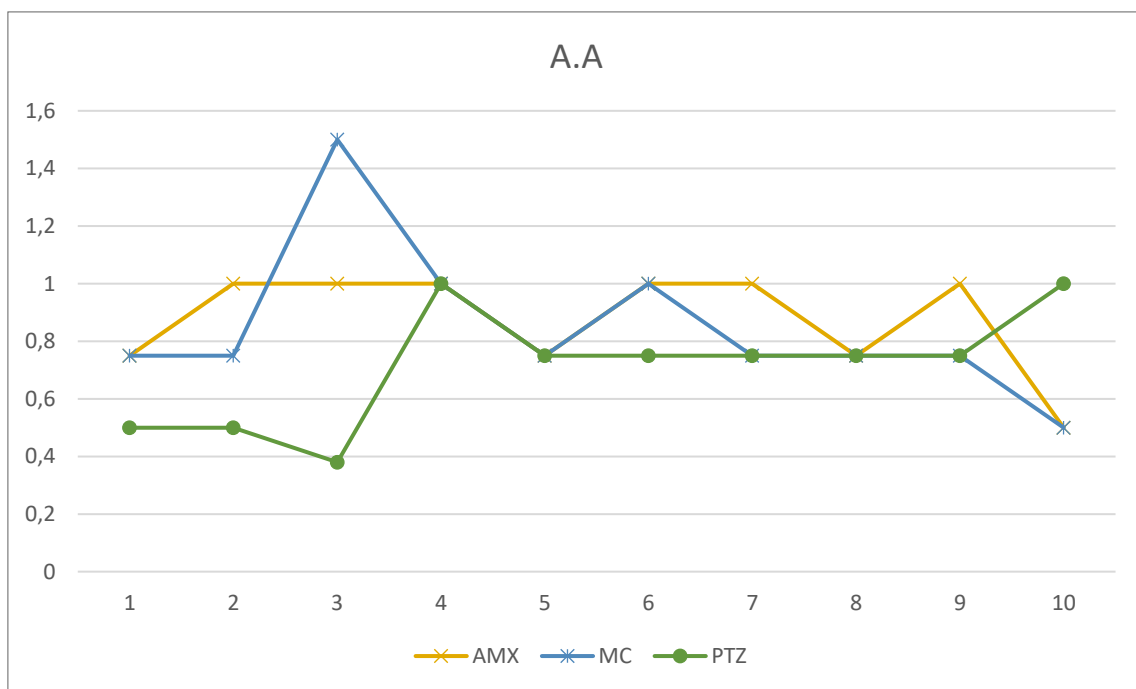


Fig. 1: Concentraciones Mínimas Inhibitorias de los distintos antibióticos en la A.A.

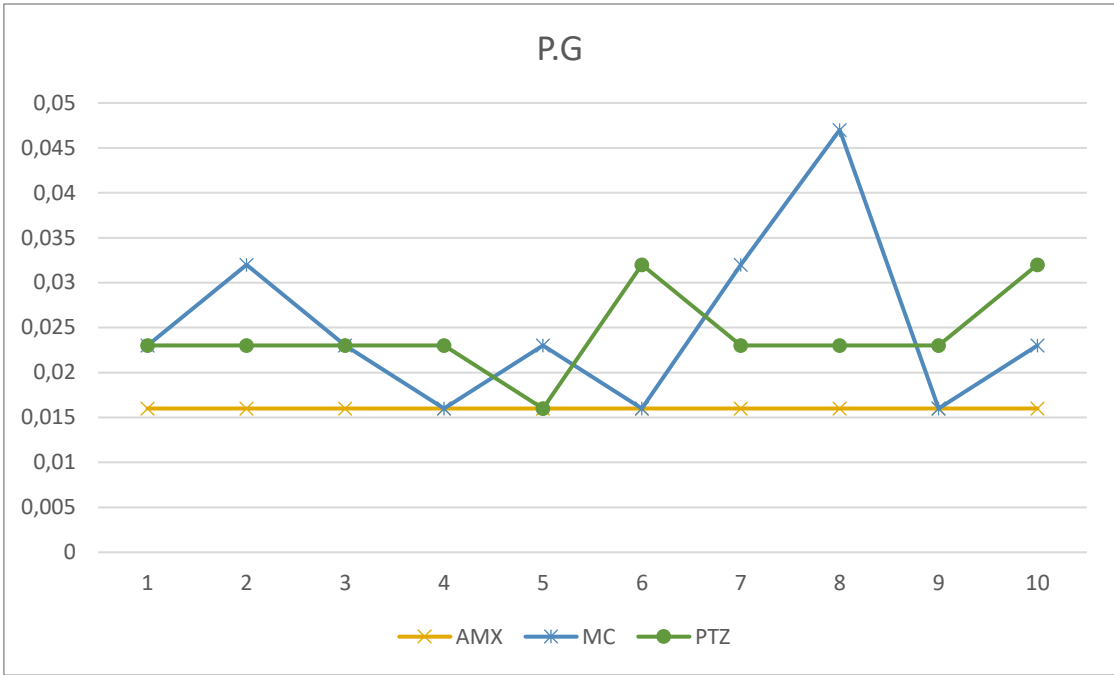


Fig. 1:Concentraciones Mínimas Inhibitorias de los distintos antibióticos en la P.G

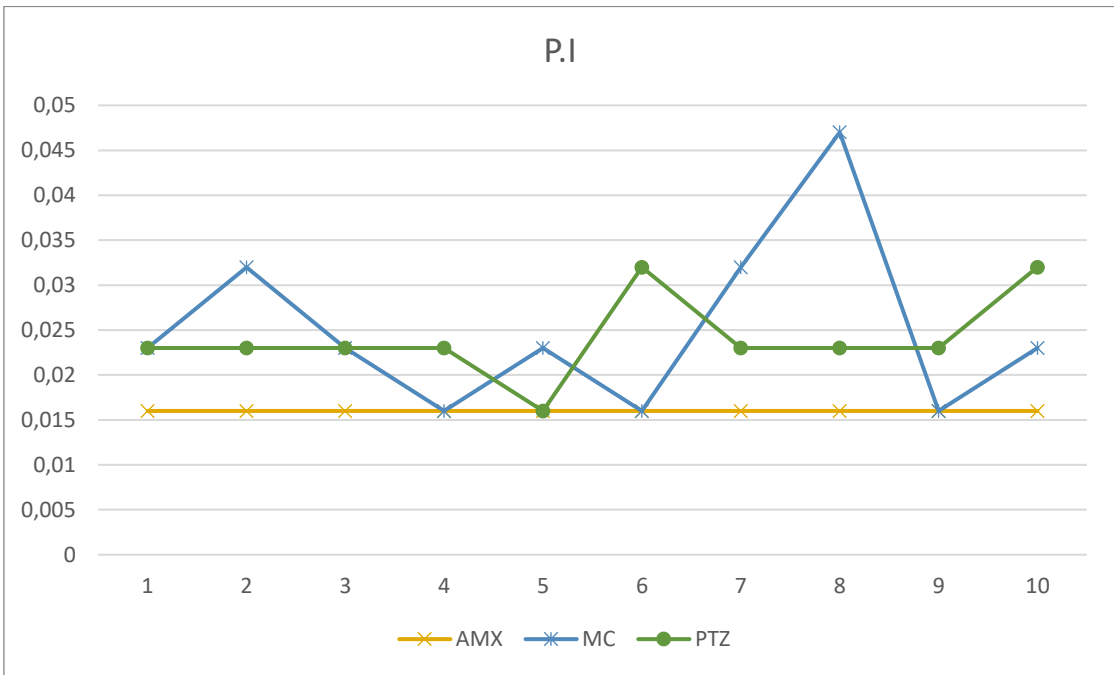


Fig. 2:Concentraciones Mínimas Inhibitorias de los distintos antibióticos en la P.I

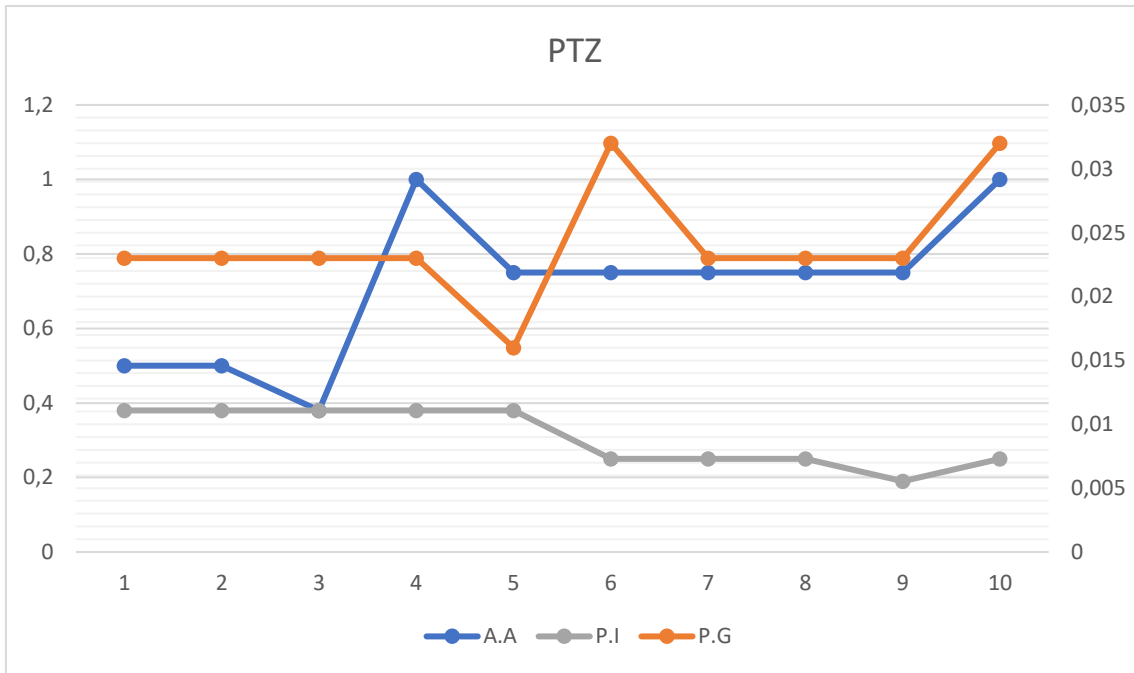


Fig. 3: Valores de la piperacilina- tazobactam e los distintos microorganismos. Los valores inhibitorios de la piperacilina sobre la P.G: Porphyromonas Gingivalis se encuentran reflejados en el eje secundario derecho

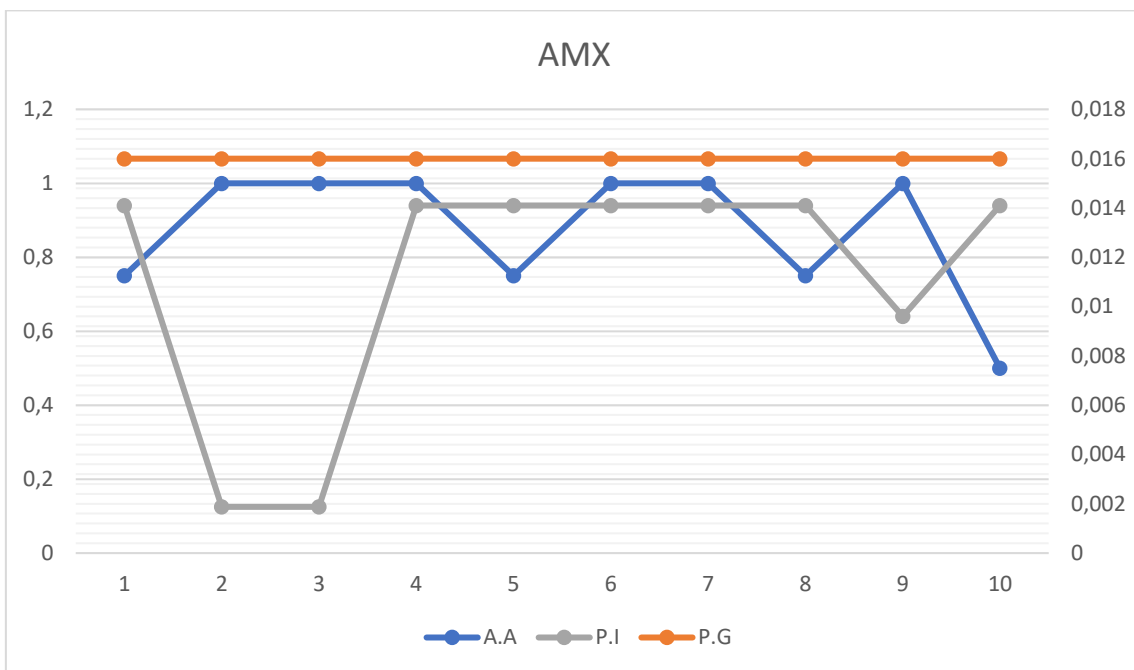


Fig. 4:Valores de la amoxicilina-clavulánico en los distintos microorganismos. Los valores inhibitorios de la amoxicilina-clavulánico sobre la P.G: Porphyromonas Gingivalis se encuentran reflejados en el eje secundario derecho

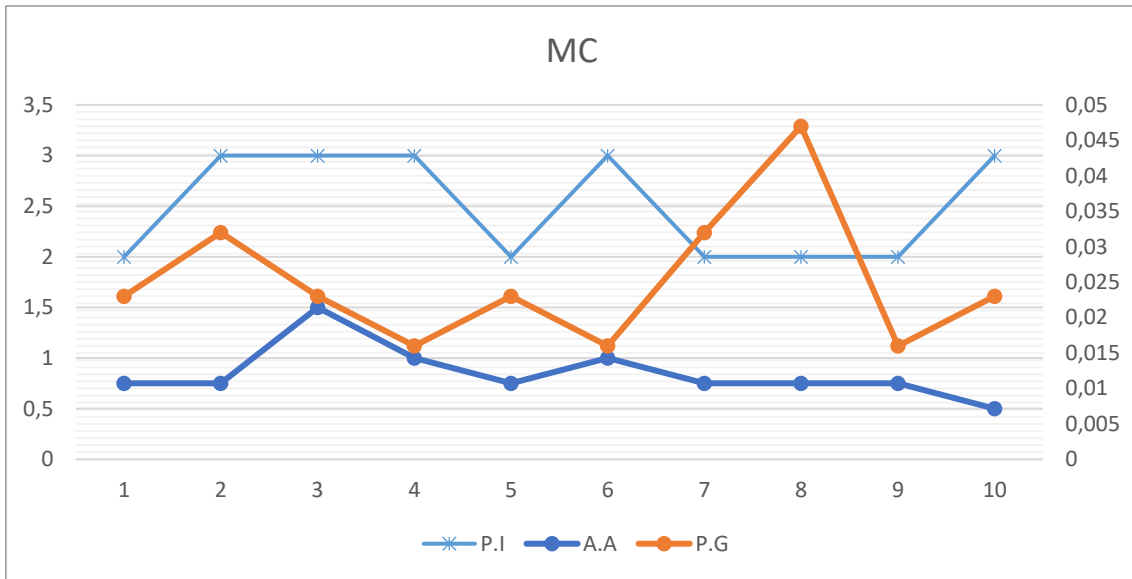


Fig. 6: Valores inhibitorios de la Minociclina sobre los distintos microorganismos. Los valores inhibitorios de la minociclina sobre la P.G: Porphyromonas Gingivalis se encuentran reflejados en el eje secundario derecho

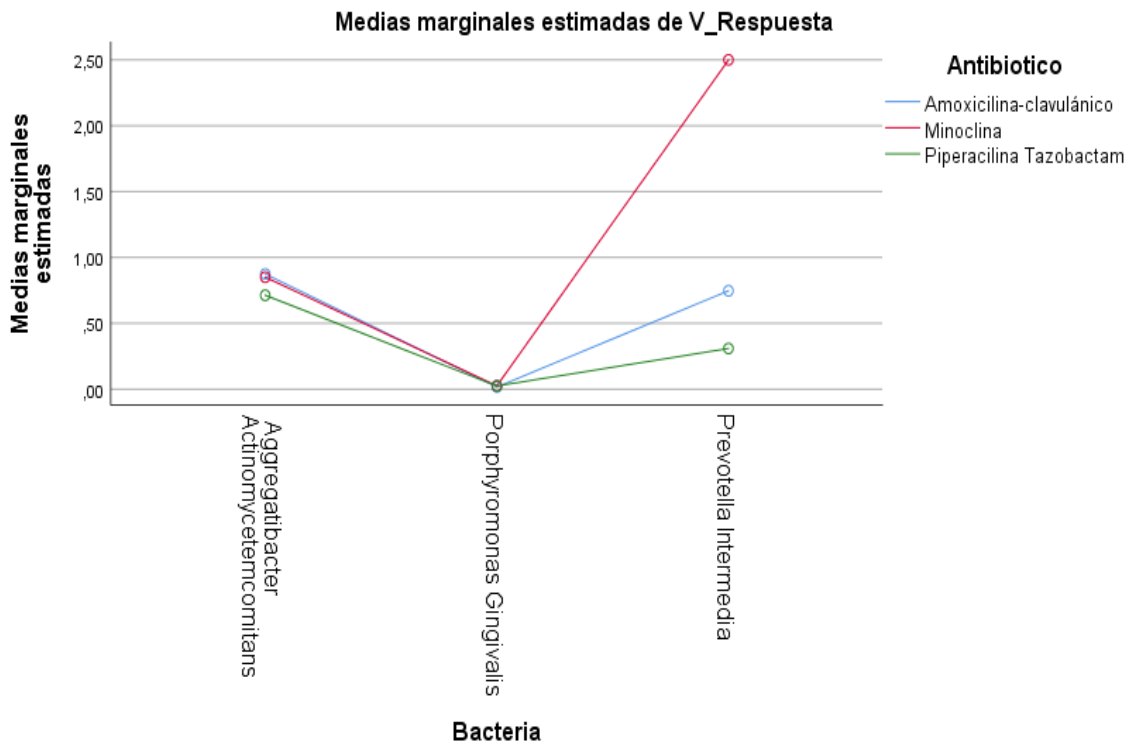


Fig. 7: Intersección entre los microorganismos y los antibióticos

V.DISCUSIÓN

V. DISCUSIÓN

Los implantes dentales son una alternativa funcional segura y exitosa a largo plazo, por lo que su uso se ha ido extendiendo en la rehabilitación de pacientes parcialmente y completamente edéntulos. Sin embargo, el número de implantes colocados es proporcional a la prevalencia de complicaciones inflamatorias periimplantarias (3)

La literatura sugiere que la etiología microbiológica de la periimplantitis es muy similar a aquella de la periodontitis severa (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia* y *Treponema denticola*) y que la composición química y la superficie del implante tienen un impacto significativo en la placa formada.

Esta placa formada es la principal responsable del desarrollo de periimplantitis, por lo tanto, uno de los objetivos de la terapia periimplantaria es la eliminación, tanto quirúrgica como no quirúrgica de dicha placa. El estudio de las terapias antibióticas cobra entonces una especial importancia, combinado con desbridamiento mecánico (40).

En la actualidad, hay multitud de enfoques terapéuticos para abordar la periimplantitis, tantos como estudios hay, lo que se traduce en una incertidumbre a la hora de obtener resultados contrastados y fiables y el establecimiento de protocolos de actuación. En general, los tratamientos podrían dividirse, muy genéricamente, en terapias quirúrgicas, y no quirúrgicas, siendo éstas, y más concretamente aquellas terapias coadyuvantes basadas en la administración antibiótica, el objeto de esta discusión.

Hasta la fecha, no se ha encontrado evidencia en la literatura sobre la comparación clínica de la eficacia de distintos antibióticos en el tratamiento de la periimplantitis. Sí se encuentran, por el contrario, estudios que evalúan la eficacia de antibióticos como la doxiciclina en comparación únicamente con desbridamiento mecánico (41). Otros estudios, como el que realizaron Renvert et al (34), comparan la eficacia de la colocación subgingival de esferas de minociclina (1 mg y 3 mg) con un gel antiséptico de Clorhexidina al 1%, ambas combinadas con desbridamiento mecánico, obteniéndose mejores resultados en el grupo antibiótico, reduciéndose la profundidad de sondaje y el sangrado de forma significativa. Y más recientemente, Mensi et al. (42) desarrollaron un protocolo mínimamente invasivo combinando el desbridamiento mecánico, la

administración tópica de doxiciclina y el pulido por aire (MAINST), en una serie de 15 casos, el que se obtienen reducciones clínicas estadísticamente significativas en el sangrado al sondaje y en la profundidad de sondaje.

Otro antibiótico similar a la doxiciclina, la minociclina, fue estudiada por Schär et al (42), quienes llevaron a cabo un estudio sobre 40 implantes comparando la terapia fotodinámica con la administración tópica de minociclina, obteniendo resultados similares entre ambos grupos, y más concretamente, una reducción significativa a los 3 meses de la profundidad de sondaje y recesión gingival, aunque estos valores permanecieron estables a lo largo de los 6 y 12 meses siguientes, y la inflamación mucosa se resolvió permanentemente en el 15% de los casos, siendo la minociclina un agente a usar en la terapia coadyuvante de la periimplantitis, combinada con el desbridamiento mecánico.

Según los resultados de este estudio, la piperacilina ofrece concentraciones mínimas inhibitorias similares a aquellas de la minociclina, en el caso de *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* y *Porphyromonas Gingivalis*, aunque las diferencias son estadísticamente significativas en el caso de la *Prevotella Intermedia*.

Otros antibióticos estudiados en el tratamiento de la periimplantitis han sido la vancomicina y tobramicina en combinación con materiales alogénicos de regeneración ósea, refiriéndose, por lo tanto, a terapias quirúrgicas, y la tetraciclina, amoxicilina y metronidazol (38). En lo que respecta a la tetraciclina, Mombelli et al (43) realizaron un estudio sobre 30 implantes con grados variables de pérdida ósea y presencia de perimplantitis, en el que fibras poliméricas de tetraciclina-clorhídrico fueron insertadas subgingivalmente en los defectos periimplantarios con instrumentos romos y retiradas 10 días más tarde. En dicho estudio se observó una mejora clínica del sangrado a sondaje y reducción de la bolsa, sin embargo, aunque inicialmente observaron una reducción significativa del número de microorganismos, en particular de *Prevotella Intermedia*, al finalizar el estudio, los recuentos de *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* y *Porphyromona Gingivalis* no sufrieron variaciones significativas. Resultados que están en contraposición con los valores obtenidos en este estudio en el que se aprecia una eficacia inhibitoria menor de la minociclina para la *Prevotella Intermedia*, y valores similares para *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* y *Porphyromona Gingivalis*, lo

cual podría deberse a la acción mantenida en el tiempo (10 días) en el caso del estudio de Mombelli, y al medio oral propio de cada individuo.

El estudio de antibióticos de amplio espectro, como la amoxicilina, para el tratamiento de periimplantitis, se lleva a cabo generalmente con una administración del antibiótica sistémica complementaria al desbridamiento mecánico y acceso quirúrgico, como en el estudio llevado a cabo por Heitz-Mayfield et al. (45), pero existe poca evidencia científica respecto a la administración tópica coadyuvante de amoxicilina o amoxicilina-clavulánico, y dado su carácter de amplio espectro, podría ofrecer resultados no inferiores a los ya utilizados como las tetraciclinas, minociclina y doxiciclina. Asimismo la piperacilina, tal y como se ha podido observar, y a al ser un antibiótico betalactámico, de la misma familia que la amoxicilina, y combinarse con un inhibidor de la betalactamasa, el tazobactam, ofrece resultados muy similares a ésta, tal y como se observa en los resultados obtenidos en este estudio, en línea con los obtenidos por Cipriani et al (38), en los que se obtiene una eficacia inhibitoria muy similar entre amoxicilina- clavulánico y piperacilina- tazobactam para las especies de *Prevotella*. en un estudio in-vitro.

Debido a la diversidad de resultados obtenidos mediante la aplicación de distintos protocolos, y de los diferentes antibióticos, el desarrollo de protocolos eficaces para el tratamiento de la periimplantitis es cuanto menos, complejo, surgiendo nuevas opciones cada día, nuevos agentes y nuevas administraciones. En vista de los resultados obtenidos, la piperacilina- tazobactam debería ser considerada una opción válida como terapia tópica coadyuvante al desbridamiento mecánico periimplantario, dando lugar a posibles protocolos o terapias para la periimplantitis, por lo que se debería establecer la línea de investigación correspondiente en aras de obtener resultados clínicos para establecer su significancia y contrastarlos científicamente, estableciéndola como una de las alternativas terapéuticas.

VI.CONCLUSIONES

VI.CONCLUSIONES

1. Según los resultados obtenidos de este estudio in-vitro, los valores inhibitorios de la piperacilina no son inferiores a aquellos antibióticos de amplio espectro como la minociclina o la amoxicilina-clavulánico.
2. La piperacilina puede ofrecer una alternativa nueva y eficaz en el tratamiento de la periimplantitis, siendo un antibiótico de amplio espectro, combinándose con tazobactam.
3. Tras una revisión extensa de la literatura, los estudios llevados a cabo sobre la piperacilina-tazobactam se encuentran en un estadio temprano, por lo que son necesarios estudios clínicos para la obtención de datos que ofrezcan una imagen más precisa de la actuación de este antibiótico en el medio oral y contra la periimplantitis.

VII.BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Lin G-H, Kapila Y, Wang H-L. Parameters to Define Peri-Implantitis: A Review and a Proposed Multi-Domain Scale. *J Oral Implantol.* 2017 Dec;43(6):491–6.
2. Rakic M, Galindo-Moreno P, Monje A et al. *Clin Oral Invest* 2018 22 (4): 1805-16
3. Matarazzo F, Sabóia-Gomes R, Alves BES, de Oliveira RP, Araújo MG. Prevalence, extent and severity of peri-implant diseases. A cross-sectional study based on a university setting in Brazil. *J Periodont Res.* 2018;00:1–6
4. Berglundh T, Armitage G, et al. 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. *J Clin Periodontol.* 2018;45(Suppl 20):S286–S291.
5. Solano Mendoza P., Ortiz-Vigón A., Bascones Martínez A.. Concepto actual de la patogénesis de la periimplantitis y el papel que ocupan las bacterias. *Avances en Periodoncia* 2017 Abr; 29(1): 31-42.
6. Esposito M, Grusovin MG, Worthington HV. Interventions for replacing missing teeth: treatment of peri-implantitis. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2012, Issue 1. Art. No.: CD004970.
7. Pokrowiecki R, Mielczarek A, Zaręba T, Tyski S. Oral microbiome and peri-implant diseases: where are we now? *Therapeutics and Clinical Risk Management.* 2017;13:1529-1542.
8. Quirynen M, De Soete M, Van Steenberghe D. Infectious risks for oral implants: a review of the literature. *Clinical Oral Implants Research.* 2002;13:1-19.
9. Karoussis IK, Kotsovilis S, Fourmoussis, I. A comprehensive and critical review of dental implant prognosis in periodontally compromised partially edentulous patients. *Clinical Oral Implants Research.* 2007;18:669-79.
10. Roos-Jansåker A-M, Renvert H, Lindahl Ch, Renvert S. Nine- to fourteen-year followup of implant treatment. Part III: factors associated with peri-implant lesions. *J Clin Periodontol.* 2006;33:296-301.
11. Schou S, Holmstrup P, Worthington HV, Esposito M. Outcome of implant therapy in patients with previous tooth loss due to periodontitis. *Clin Oral Implants Res.* 2006 Oct;17 Suppl 2:104-23.
12. Serino G, Ström C. Peri-implantitis in partially edentulous patients: association with inadequate plaque control. *Clin Oral Impl Res.* 2009;20:169-74.
13. Ferreira S, Silva G, Cortelli J, Costa J, Costa F. Prevalence and risk variables for peri-implant disease in Brazilian subjects. *Journal of Clinical Periodontology.* 2006;33: 929-35.

14. de Araújo Nobre M, Maló P. Prevalence of periodontitis, dental caries, and peri-implant pathology and their relation with systemic status and smoking habits: Results of an open-cohort study with 22009 patients in a private rehabilitation center. *J Dent.* 2017 Dec;67:36-42.
15. Petkovic-Curcin A, Zeljic K, Cikota-Aleksic B, Dakovic D, Tatic Z, Magic Z. Association of Cytokine Gene Polymorphism with Peri-implantitis Risk. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2017 Sep/Oct;32(5):e241-e248.
16. Galindo-Moreno P, Fauri M, Ávila-Ortiz G. Impact of smoking on marginal bone loss: A prospective study. *Clin Oral Implants Res.* 2005;16:579-86.
17. Marquez, IC The role of keratinized tissue and attached gingiva in maintaining peri-odontal/peri-implant health. *General Dentistry* 52, 74–78; quiz 79 (2004).
18. Watzak G, Zechner W, Tangl S, Vasak Ch, Donath K, Watzek G. Soft tissue around three different implant types after 1.5 years of functional loading without oral hygiene. A preliminary study in baboons. *Clin. Oral Impl. Res.* 17; 229–236 (2006).
19. Gobbato, L, Avila-Ortiz, G, Sohrabi, K, Wang, CW & Karimbux, N. The effect of keratinized mucosa width on periimplant health: a systematic review. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 28: 1536–1545 (2013).
20. Chung, DM, Oh, TJ, Shotwell, JL, Misch, CE & Wang, HL. Significance of keratinized mucosa in maintenance of dental implants with different surfaces. *Journal of Periodontology* 77: 1410–1420 (2006).
21. Rocuzzo M, Grasso G, Dalmaso P. Keratinized mucosa around implants in partially edentulous posterior mandible: 10-year results of a prospective comparative study. *Clin. Oral Impl. Res.* 27, 2016, 491– 496.
22. Renvert S, Polyzois I, Claffey N. How do implant surface characteristics influence periimplant disease? *J Clin Periodontol* 2011; 38 (Suppl. 11): 214–222
23. Tecco S, Grusovin MG, Sciara S, Bova F, Pantaleo G, Capparé P. The association between three attitude-related indexes of oral hygiene and secondary implant failures: A retrospective longitudinal study. *Int J Dent Hygiene.* 2017;00:1–8
24. Zheng H, et al. Subgingival microbiome in patients with healthy and ailing dental implants. *Sci Rep.* 2015; 16;5:10948.
25. Ata J, Candel ME, Flichy AJ, Penarrocha D, Balaguer JF, Penarrocha DM. Periimplantitis: associated microbiota and treatment. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2011;16(7):e937–e943
26. Tallarico M, Canullo L, Caneva M, Özcan M. Microbial colonization at the implant-abutment interface and its possible influence on periimplantitis: A systematic review and meta-analysis. *J Prosthodont Res.* 2017 Jul;61(3):233-241.

27. Renvert S, Roos-Jansåker AM, Lindahl C, Renvert H, Rutger Persson G. Infection at titanium implants with or without a clinical diagnosis of inflammation. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18(4):509–516. [PubMed]
28. Al-Radha ASD, Pal A, Pettemerides AP, Jenkinson HF. Molecular analysis of microbiota associated with peri-implant diseases. *J Dent.* 2012;40(11):989–998.
29. Persson GR, Renvert S. Cluster of bacteria associated with peri-implantitis. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2014;16(6):783–793.
30. Meyle J. Mechanical, chemical and laser treatments of the implant surface in the presence of marginal bone loss around implants. *Eur J Oral Implantol.* 2012;5 Suppl:S 71-81.
31. Renvert S, Polyzois I. Treatment of pathologic peri-implant pockets. *Periodontol 2000.* 2018 Feb;76(1):180-190.
32. Porras R, Anderson GB, Caffesse R, Narendran S, Trejo PM. Clinical response to 2 different therapeutic regimens to treat peri-implant mucositis. *J Periodontol* 2002; 73: 1118– 1125.
33. Renvert S, Lessem J, Lindahl C, Svenson M. Treatment of incipient peri-implant infections using topical minocycline microspheres versus topical chlorhexidine gel as an adjunct to mechanical debridement. *J Int Acad Periodontol* 2004; 6: 154–159.
34. Renvert S, Lessem J, Dahlen G, Lindahl C, Svenson M. Topical minocycline microspheres versus topical chlorhexidine gel as an adjunct to mechanical debridement of incipient peri-implant infections: a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol* 2006; 33: 362–369.
35. Renvert S, Roos-Jansaker A-M, Claffey N. Non-surgical treatment of peri-implant mucositis and peri-implantitis: a literature review. *J Clin Periodontol* 2008; 35 (Suppl. 8): 305– 315.
36. Renvert S, Lessem J, Dahlen G, Lindahl C, Svenson M. Mechanical and repeated antimicrobial therapy using a local drug delivery system in the treatment of peri-implantitis. A randomized clinical trial. *J Periodontol* 2008; 79: 836
37. Heitz-Mayfield LJ, Mombelli A. The therapy of peri-implantitis: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2014;29 Suppl:325-45.
38. Nart J, de Tapia B, Pujol À, Pascual A, Valles C. Vancomycin and tobramycin impregnated mineralized allograft for the surgical regenerative treatment of peri-implantitis: a 1-year follow-up case series. *Clin Oral Investig.* 2017 Dec 24.
39. Ciprian BF, Caraiane A, Nuca C, Grigorian M, Bordeianu I. Study Regarding Antibiotic Resistance Of *Prevotella* Species In Peri-Implantitis In 2nd International Multidisciplinary Scientific Conference on Social Sciences and Arts SGEM2015, Book 1, Vol. 1, No. SGEM2015 Conference Proceedings

40. de Almeida JM, Matheus HR, Rodrigues Gusman DJ, Faleiros PL, Januário de Araújo N, Noronha Novaes VC. Effectiveness of Mechanical Debridement Combined With Adjunctive Therapies for Nonsurgical Treatment of Periimplantitis: A Systematic Review. *Implant Dent.* 2017 Feb;26(1):137-144.
41. Büchter A, Meyer U, Kruse-Lösler B, et al. Sustained release of doxycycline for the treatment of peri-implantitis: Randomized controlled trial. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2004;42:439–444.
42. Mensi M, Scotti E, Calza S, Pilloni A, Grusovin MG, Mongardini C. A new multiple anti-infective non-surgical therapy in the treatment of peri-implantitis: a case series. *Minerva Stomatol.* 2017 Dec;66(6):255-266
43. Schär D, Ramseier CA, Eick S, Arweiler NB, Sculean A, Salvi GE. Anti-infective therapy of peri-implantitis with adjunctive local drug delivery or photodynamic therapy: six-month outcomes of a prospective randomized clinical trial. *Clin Oral Implants Res.* 2013 Jan;24(1):104-10.
44. Mombelli A, Feloutzis A, Brägger U, Lang NP. Treatment of peri-implantitis by local delivery of tetracycline. Clinical, microbiological and radiological results. *Clin Oral Implants Res.* 2001 Aug;12(4):287-94.
45. Heitz-Mayfield LJA, Salvi GE, Mombelli A, Faddy M, Lang NP. Anti-infective surgical therapy of peri-implantitis. A 12-month prospective clinical study. *Clin Oral Implants Res.* 2012 Feb;23(2):205-210.

VIII.ANEXO I

