

“Evaluación clínica de un dentífrico que contiene Cloruro de Cetilpiridinio y Cimenol: seguridad, eficacia clínica, impacto microbiológico y percepción del paciente”



Trabajo de Fin de Máster
Máster en Ciencias Odontológicas
Facultad de Odontología
Universidad Complutense de Madrid

Alumno: Álvaro Babiano Nodal

Tutora: Dra. Paula Matesanz Pérez



UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID

ANEXO I: DECLARACIÓN DE NO PLAGIO

D./Dña. Álvaro Babiano Nodal

con NIF _____, estudiante de Máster en la Facultad de
Odontología _____ de la Universidad Complutense de Madrid en el

curso 20 ____ -20 ____, como autor/a del trabajo de fin de máster titulado

Evaluación clínica de un dentífrico que contiene Cloruro de Cetilpiridinio y Cimenol:
seguridad, eficacia clínica, impacto microbiológico y percepción del paciente y

presentado para la obtención del título correspondiente, cuyo/s tutor/ es/son:

Paula Matesanz Pérez

DECLARO QUE:

El trabajo de fin de máster que presento está elaborado por mí y es original. No copio, ni utilizo ideas, formulaciones, citas integrales e ilustraciones de cualquier obra, artículo, memoria, o documento (en versión impresa o electrónica), sin mencionar de forma clara y estricta su origen, tanto en el cuerpo del texto como en la bibliografía. Así mismo declaro que los datos son veraces y que no he hecho uso de información no autorizada de cualquier fuente escrita de otra persona o de cualquier otra fuente.

De igual manera, soy plenamente consciente de que el hecho de no respetar estos extremos es objeto de sanciones universitarias y/o de otro orden.

En Madrid, a 3 de Septiembre de 2022



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. Facultad de Odontología

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER
VISTO BUENO DEL TUTOR
MASTER OFICIAL EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

El profesor/a tutor

Nombre y apellidos:	Paula Matesanz Pérez
---------------------	----------------------

DA EL VISTO BUENO

para que el Trabajo de Fin de Máster titulado

“Evaluación clínica de un dentífrico que contiene Cloruro de Cetilpiridinio y Cimenol: seguridad,eficacia clínica,impacto microbiológico y percepción del paciente”

sea admitido para su defensa ante Tribunal.

En Madrid, a 3 de Septiembre de 2022

Fdo: el profesor/a

El presente Visto Bueno se debe acompañar del Trabajo de Investigación en formato electrónico y tres copias en papel

ÍNDICE

<i>Introducción</i>	9
<i>Justificación</i>	14
<i>Hipótesis</i>	14
<i>Objetivos</i>	14
<i>Material y métodos</i>	16
<i>Resultados</i>	30
<i>Discusión</i>	33
<i>Conclusión</i>	36
<i>Bibliografía</i>	37
<i>Tablas</i>	45
<i>Figuras</i>	52
<i>Anexos</i>	54

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente y según la nueva clasificación, la gingivitis puede estar no asociada o asociada a *biofilm* dental. La gingivitis no asociada a biofilm incluye una variedad de condiciones las cuales tienen diversas causas y no se resuelven por lo general tras la eliminación del *biofilm*. Por otro lado, la gingivitis asociada a *biofilm* se define como una lesión inflamatoria resultante de interacciones entre el *biofilm* y la respuesta inmunoinflamatoria del huésped, que permanece contenida dentro de la encía y no se extiende a la inserción periodontal (cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar). Tal inflamación permanece confinada a la encía y no se extiende más allá de la unión mucogingival siendo reversible al reducir los niveles de placa dental en el margen gingival y apical a este, pudiendo darse en pacientes con un periodonto intacto o en un periodonto reducido, tanto en pacientes sanos como en pacientes tratados de periodontitis (Chapple y cols., 2018).

La gingivitis produce enrojecimiento de las encías, inflamación y sangrado, aunque raramente sangrado espontáneo y/o dolor (Murakami y cols., 2018; Blicher y cols., 2005) y su extensión, severidad y progresión está condicionada por factores locales y sistémicos. Es un paso previo al desarrollo de periodontitis, que implica pérdida de inserción periodontal. Diversos estudios longitudinales sobre el desarrollo de periodontitis concluyen que la existencia de gingivitis de forma persistente representa un riesgo para la aparición de periodontitis y la futura pérdida dental, por lo que es de gran importancia su control para prevenir su progresión (Schätzle y cols., 2004; Lang y cols., 2009). Además, debido a que las enfermedades periodontales se consideran enfermedades inflamatorias, producidas por una disbiosis del *biofilm* causada por bacterias Gram (-) (Haffajee & Socransky 1994), se ha demostrado su conexión con gran variedad de enfermedades sistémicas (enfermedades cardiovasculares, diabetes etc.), por la conexión

que tienen los procesos inflamatorios en el desarrollo de estas enfermedades crónicas, con las que además comparten también otros factores de riesgo. Dicha relación, ha sido ampliamente estudiada, encontrándose más de 50 enfermedades sistémicas relacionadas, siendo las enfermedades cardiovasculares y la diabetes las que mayor evidencia presentan (Sanz y cols., 2018; Sanz y cols., 2020).

A pesar de la heterogeneidad en la forma de medir la gingivitis a lo largo del tiempo, la mayoría de los estudios coinciden en la alta prevalencia de dicha enfermedad. Muchos de ellos han usado diferentes índices, como índices de severidad y extensión. Uno de los índices que más se han usado para el diagnóstico de gingivitis es el Índice de Necesidad de Tratamiento Periodontal Comunitario (CPITN/ Community Periodontal Index of Treatment Need), aunque este índice fue inicialmente diseñado para la detección de presencia de periodontitis (Ainamo y cols., 1982; World Health Organization 1997). Actualmente, los estudios de la prevalencia de gingivitis son más homogéneos, debido a que usan la nueva definición de caso de gingivitis para clasificarla, y también han visto una alta prevalencia de la condición tanto en población adulta como en población joven (Botelho y cols., 2019, Erchick y cols., 2019).

Un adecuado control del *biofilm* es crucial, debido a que no es solo un factor etiológico de enfermedades como la gingivitis y periodontitis, sino también de enfermedades periimplantarias, halitosis y caries. (Loe y cols., 1965; Theilade y cols., 1966; Timmerman y cols., 2006). Para su control existen mecanismos naturales de limpieza, como los movimientos y contactos linguales, que limpian las superficies dentales o el flujo salival, que limpia los espacios interproximales y las superficies oclusales de restos. También existen barreras naturales para evitar el crecimiento del *biofilm* como los contactos de las mejillas con las superficies de los dientes. Pero estos mecanismos

naturales son insuficientes y se consideran solo acciones superficiales. Para ser controlado, el *biofilm* tiene que ser eliminado con frecuencia por métodos activos. El control mecánico por parte del paciente es fundamental para el mantenimiento de salud oral, siendo el cepillado y la higiene interproximal los hábitos de mantenimiento de salud oral y prevención más comunes. La importancia de medidas de control de placa para contribuir a la salud oral ha sido enfatizada en todos los Workshops de Periodoncia (Claydon y cols., 2008).

El cepillado dental es la técnica de higiene oral más implementada (Hugoson y cols., 1998) y de la cual se ha demostrado su eficacia en la eliminación del *biofilm* y el control de la gingivitis (Van der Weijden y cols., 2005). Igualmente, el uso de dispositivos de limpieza interproximal muestra reducción en el índice de placa e índices gingivales (Chapple y cols., 2015) . En una revisión sistemática Slot y cols., (2020) encontraron evidencia de una mejor limpieza, cuando al cepillado se complementa con cepillos interproximales, además de tener un mejor efecto de limpieza los cepillos interproximales que la seda dental.

Aun así, el control mecánico de *biofilm*, presenta limitaciones tales como: falta de control o de acceso a otras partes de la cavidad oral (Greenstein 2002; 2004) o el tiempo limitado de uso (Beals y cols., 2000), por lo que el uso complementario de agentes químicos, administrados tanto en enjuagues como en dentífricos puede ser útil proporcionando beneficios en el mantenimiento de la salud oral y periodontal (Serrano y cols., 2015). Actualmente se considera que los dentífricos son los vehículos ideales para el transporte de agentes químicos tales como abrasivos, detergentes, espesantes, edulcorantes, humectantes, aromas, fluoruros, etc, (Sheen y cols., 2001) y que junto con el cepillado es la forma más común y extendida de higiene oral. Los agentes químicos consiguen un

control del *biofilm* basado en diferentes mecanismos de acción, con un efecto cualitativo (alterando la vitalidad del *biofilm*) o cuantitativo (reduciendo el número de microorganismos, impidiendo la adhesión bacteriana, evitando el crecimiento bacteriano y la co-agregación, eliminado el *biofilm* ya establecido y alterando su patogenicidad).

La efectividad de diferentes compuestos activos como la clorhexidina (CHX) (Olympio y cols., 2006), fluoruro estañoso (SNF) (Øgaard y cols., 2006), triclosán (Gunsolley y cols., 2006) y aceites esenciales en diferentes formas ha sido evaluada en ensayos clínicos. La mayoría de los estudios muestra beneficios en la reducción de placa y la reducción de gingivitis. Estos beneficios se deben a que la mayoría de ellos son agentes antiplaca y/o agentes antigingivitis. La capacidad antiplaca es la capacidad que tiene un compuesto de reducir la placa lo suficiente como para mostrar un beneficio en términos de control de la gingivitis y/o la caries. Por otro lado, la capacidad antigingivitis reduce la inflamación gingival, sin necesariamente afectar a la placa dental (Lang y cols., 1997).

En los últimos años, el uso del cloruro de cetilpiridinio (CPC) ha llamado la atención, debido a la aparición de nuevas formulaciones de CPC con una mejor biodisponibilidad o una mayor concentración, las cuales han mostrado un incremento en los beneficios clínicos del compuesto en términos de reducción de placa y gingivitis, además de indicaciones para largos periodos de uso con escasez de efectos adversos (Herrera y cols., 2018). La gran mayoría de estudios relacionados con el CPC se han llevado a cabo con colutorios que han demostrado efecto antiplaca y antigingivitis (Jenkins y cols., 1994; Haps y cols., 2008). Por otro lado, hay pocos estudios evaluando el CPC en dentífricos basados en los protocolos de *Food and Drug Administration & Department of Health and Human Services* y de la *American Dental Association* (ADA), que requiere ensayos

clínicos con una duración mínima de 6 meses. Sin embargo, es un compuesto que se encuentra en gran cantidad de dentífricos en el mercado.

El estudio de nuevas formulaciones de dentífricos bucales es fundamental para evaluar su efecto real antiplaca/antigingivitis, ya que la inclusión de un agente activo conocido en una formulación no garantiza su eficacia clínica (Herrera y cols., 2003). Diferentes diseños de estudios, que van desde ensayos *in vitro*, por ejemplo, para evaluar los efectos antimicrobianos en el *biofilm* (Fernández y cols., 2017; Sánchez y cols., 2013), hasta ensayos clínicos aleatorios de uso doméstico (ECA) (Costa y cols., 2013; Pulcini y cols., 2019), pueden ser implementados para el estudio de nuevas formulaciones. Las recomendaciones finales para el estudio de un dentífrico nuevo y ver su efecto se basan en ensayos clínicos aleatorizados con una duración de 6 meses (*Food and Drug Administration & Department of Health and Human Services, 2003*).

2. JUSTIFICACIÓN

Si bien existen muchos tipos de dentífricos con diferentes composiciones químicas, es necesario explorar, comparar y estudiar nuevos compuestos para ver sus características preventivas y sus efectos en la higiene oral y su aceptación por parte de los pacientes.

3. HIPÓTESIS

La hipótesis nula planteada es que no se espera encontrar diferencias del uso del dentífrico estudiado que contiene cloruro de cetilpiridinio y cimenol respecto a un control negativo en términos de seguridad, eficacia clínica, impacto microbiológico y percepción del paciente.

La hipótesis alternativa espera encontrar diferencias en el uso del dentífrico estudiado que contiene cloruro de piridinio y cimenol respecto a un control negativo en términos de seguridad, eficacia clínica, impacto microbiológico y percepción del paciente.

4. OBJETIVOS

El objetivo del estudio es evaluar el dentífrico “*Bexident pasta encías uso diario (ref.410.21)*” que contiene cloruro de cetilpiridinio (CPC) y cimenol (Bexident Gums Daily Used Toothpaste-new fórmula, Barcelona, Spain) (fórmula del dentífrico completa en anexo 1), en términos de seguridad, eficacia clínica, impacto microbiológico, y percepción del paciente al ser comparado con un control negativo que contiene que contiene fluoruro de sodio y monofluorofosfato de sodio (Colgate Protección Caries toothpaste, Colgate-Palmolive España S.A., Madrid, Spain).

4.1 Objetivo primario

- Evaluar la seguridad del compuesto probado en términos de tolerabilidad y de efectos adversos incluyendo la seguridad microbiológica

4.2 Objetivos secundarios

- Evaluar la eficacia antiplaca y antigingivitis, así como su comparación con el control negativo.
- Evaluación del producto por parte del paciente en términos de resultados reportados por el paciente (Patient-reported outcome measures (PROM)).
- Evaluación en el impacto que tiene en el microbioma subgingival.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Diseño del estudio y comité ético

Se trata de un estudio piloto de un ensayo clínico randomizado controlado, paralelo, a doble ciego, con una duración de 6 semanas. Los pacientes que cumplan los criterios de inclusión y que consientan su participación en el estudio serán evaluados en la Clínica Especialista de Periodoncia de la Universidad Complutense de Madrid durante la duración de dicho estudio. Se seleccionarán 80 pacientes para tener 60 pacientes evaluables en el estudio.

El protocolo, el consentimiento informado y la información que se da a los pacientes ha sido aprobado por un comité independiente, el comité ético del Hospital Cínico de San Carlos (Anexo 2) previo al inicio del estudio. El paciente firma un consentimiento informado antes de comenzar el estudio (Anexo 3).

5.2 Criterios de inclusión y de exclusión

Criterios de inclusión:

Los pacientes que participen en el estudio deben cumplir los siguientes criterios:

- ≥ 18 años.
- Acepta y firma el consentimiento informado.
- Presentan al menos 3 dientes evaluables por cuadrante.
- Inflamación gingival moderada (≥ 40 % en sangrado al sondaje marginal (BOMP; por sus siglas en inglés *Bleeding on Marginal Probing*) y un índice de placa de Turesky ≥ 1.5 . Además, un sangrado al sondaje (BOP; por sus siglas en inglés *Bleeding On Probing*) de al menos 10%, que indicará la presencia de gingivitis.

- Ausencia de profundidades de sondaje (PPD; por sus siglas en inglés *Probing Pocket Depth*) de ≥ 5 mm.
- Ausencia de bandas ortodóncicas o de prótesis removible.
- Pacientes que se cepillan 1 o 2 veces al día.

Criterios de exclusión:

Los pacientes que cumplan los siguientes criterios serán descartados para la participación del estudio:

- Periodontitis no tratada o no controlada.
- Uso regular de enjuagues bucales que contengan antisépticos (pacientes que los han usado durante el último mes).
- Mujeres embarazadas.
- Uso de antibiótico en el último mes.
- Historias médicas adversas (diabetes, inmunosupresión, osteoporosis) o toma de medicación a largo plazo (quimioterapia o tratamiento inmunosupresor o tratamiento farmacológico que puede generar sobrecrecimiento gingival como el uso de fenitoína, fenobarbital, lamotrigina, vigabatrina, etosuximida, topiramato, primidona, nifedipina, amlodipino, verapamilo, ciclosporina) que influyen en las condiciones de las encías.
- Condiciones que requieran el uso profiláctico de antibióticos (endocarditis infecciosa, válvulas cardiacas, etc.).
- No quieran participar o no quieran cumplir con el calendario requerido para el estudio.

5.3 Examinadores

Se cuenta con dos examinadores, (F.L), estudiante de postgrado de periodoncia de la Universidad Complutense de Madrid (UCM) siendo el examinador 1 y (V.V) doctorando por la UCM, siendo el examinador 2.

5.4 Aleatorización

La aleatorización se realiza usando números aleatorios verdaderos de una lista generada por computadora (usando la función "aleatorio" en Microsoft Excel®), en bloques de seis pacientes.

5.5 Variables

Variable primaria

- Evaluar la incidencia y la tolerabilidad de los eventos adversos, incluida la seguridad microbiológica.

Variables secundarias

- Evaluar la eficacia antiplaca frente al dentífrico de control negativo.
- Evaluar la eficacia antigingivitis frente al dentífrico de control negativo.
- Evaluación de la satisfacción del sujeto con el tratamiento.
- Evaluación del impacto en el microbioma subgingival.

5.6 Procedimiento del estudio

El estudio tiene una duración de 6 semanas para cada paciente en la que se realizan varias visitas: el *screening*, visita basal y visitas en las semanas 3 y 6. El *screening* y la visita basal pueden ser realizados en el mismo día. En la tabla 1 se resumen los procedimientos que se realizan en cada visita. Los exámenes orales y mediciones de parámetros clínicos

realizados a los pacientes, siempre que les correspondan en sus visitas, siguen el siguiente orden:

1. Evaluación general de la condición oral
2. Fotografías superiores e inferiores vestibulares
3. Índice de placa
4. BOMP
5. Sondaje periodontal, incluyendo la evaluación del BOP, empezando por el diente que había sido evaluado el primero en el BOMP.
6. Toma de muestras microbiológicas
7. Cuestionarios y otros aspectos

Previamente al inicio del estudio se hace la calibración de los examinadores, tanto interexaminador como intraexaminador, en sesiones de doble medición en cuatro pacientes, para los parámetros clínicos, índice placa de Turesky (I.P), sangrado al sondaje marginal (BOMP) y sangrado al sondaje (BOP). Para el análisis de ambas calibraciones se usó el *Índice Kappa (I.K)*, cuyos resultados se expresan la tabla 2. Además, también se realiza la calibración microbiológica en dos pacientes, eligiendo dos localizaciones con presencia de sangrado al sondaje, en mesial de los molares o premolares superiores o inferiores.

Visitas:

- *Screening:* los pacientes que acuden a la clínica especialista de Periodoncia, en la facultad de odontología (UCM), realizan un cuestionario acerca de su estado de salud, medicación, hábito tabáquico (considerando fumador a quien fume más de 9 cigarrillos al día), y se les realiza una meticulosa exploración midiendo el sangrado al sondaje y el sangrado al sondaje marginal. Si los pacientes cumplen

los criterios de inclusión, el investigador informa al paciente acerca del estudio y le pregunta por su participación voluntaria. Una vez que este haya aceptado, firma el consentimiento informado (anexo 3) aprobado por el comité ético, y es incluido en el estudio

- *Visita Basal:* en esta visita, se hacen fotografías superiores e inferiores, se toman los parámetros clínicos I.P, BOMP y BOP de todos los dientes presentes, excepto de los terceros molares, y se toman muestras microbiológicas subgingivales. Tras el inicio del estudio y durante las 6 semanas que dura el mismo, el paciente no recibirá ningún otro tipo de tratamiento periodontal. Los pacientes son aleatoriamente asignados en uno de los dos grupos (30 sujetos en cada grupo), grupo test o grupo control.

- 1) El grupo experimental (test) usará 3 veces al día un cepillo de dientes manual proporcionado en el estudio con el dentífrico a evaluar.
- 2) El grupo control (control negativo) usará un cepillo de dientes manual proporcionado en el estudio con un dentífrico control que contiene fluoruro de sodio y monofluorofosfato de sodio.

A todos los sujetos se les oculta la asignación al grupo de estudio que pertenecen y reciben un kit que contiene: cepillo de dientes manual y una adecuada cantidad de pasta de dientes (codificada A o B) dependiendo al grupo al que pertenezcan. Así mismo, se les instruye en cepillarse durante 2 minutos, 3 veces al día después de los almuerzos, pero no se les dan instrucciones para el tipo de cepillado o el uso de seda dental, por lo que se les pedirá a los pacientes que mantengan sus procedimientos habituales de higiene oral. Cada sujeto recibe instrucciones sobre cómo usar los productos asignados de forma verbal y escrita, y se le pide rellenar

un formulario de cumplimiento donde registrará el número de veces que usa el producto, así como comentarios y efectos adversos ocurridos durante su utilización.

- *Visita semana 3:* en la tercera semana (+/- 5 días) tras el uso del producto se realiza un exhaustivo y meticuloso examen oral y se toman los parámetros clínicos I.P e índices BOMP y BOP. Se le pregunta al paciente por los efectos adversos, por los formularios de cumplimiento, así como por los tubos de dentífricos sin usar o vacíos. Además, los pacientes rellenan un cuestionario de uso y percepción (PROM). Para finalizar esta visita los sujetos reciben un nuevo kit con botes nuevos de los productos asignados y unas hojas de cumplimiento para el siguiente periodo de seguimiento.
- *Visita semana 6:* tras 6 semanas de uso, se realiza una exhaustiva y meticulosa examinación oral, la cual se explica al final del apartado. Se le pregunta al paciente por los efectos adversos, por los formularios de cumplimiento, así como por los tubos de dentífricos sin usar o vacíos. Además, los pacientes rellenan un cuestionario de uso y percepción (PROM). Se toma una nueva muestra microbiológica subgingival y se evalúan los parámetros clínicos. Al final de la cita y del estudio se le hace al paciente una profilaxis dental.

Parámetros clínicos

- **Placa dental:** se evalúa mediante el índice de Turesky y cols., (1970), utilizando una solución reveladora de placa (Plac-control®, Dentaïd, Barcelona, Spain) en la visita basal, visita semana 3 y visita semana 6.

El índice está diseñado para estudiar el efecto del cepillado dental (Quigley y Hein, 1962). Más tarde fue modificado por Lobene y cols., (1982) y Turesky y

cols., (1970) para mejorar la definición de las categorías. El índice tiene una escala de 6 puntos (0-5) para describir la cantidad de placa en las caras vestibular y lingual de cada diente. Se evalúan 6 localizaciones por diente en todos los dientes excepto los terceros molares, usando un colorante aprobado adecuado, por ejemplo, eritromicina al 0,5%. El resultado final se obtiene dividiendo el resultado final entre el número de localizaciones evaluadas.

Los dientes a estudiar y la encía adyacente se secan ligeramente con aire comprimido y cada diente se puntúa basándose en los siguientes criterios:

- Puntuación 0: no hay presencia de placa.
 - Puntuación 1: hay presencia de una línea discontinua de placa en el margen gingival, por ejemplo, pequeños puntos.
 - Puntuación 2: presencia de una línea continua de placa en el margen gingival que no se extiende más allá de 1 mm desde el margen gingival.
 - Puntuación 3: cubrimiento de placa superior a 1 mm pero que no se extiende más de un tercio del diente.
 - Puntuación 4: cubrimiento de placa de más de un tercio de la superficie del diente, pero no más de dos tercios.
 - Puntuación 5: la placa cubre más de dos tercios de la superficie del diente.
- Condición gingival: se evalúa en la visita basal, y en las visitas de la semana 3 y 6:
 - El índice BOMP evalúa la presencia o ausencia de sangrado al sondaje a los 30 segundos con una escala de 0-2 (Lie, Timmerman, Van der Velden,

& Van der Weijden, 1998; Van der Weijden, Timmerman, Nijboer, y cols.,1994; Van der Weijden, Timmerman, Saxton, y cols.,1994).

Para el registro de este índice, las encías se secan ligeramente con aire comprimido y se introduce la sonda periodontal en el surco gingival hasta 2 mm o hasta notar una ligera resistencia. La sonda periodontal se desplaza a lo largo del margen gingival manteniendo la sonda a 60° y en contacto con el epitelio sulcular. Se usa una fuerza mínima axial para evitar la penetración indebida en el tejido. La sonda se mueve alrededor del surco estirando suavemente el epitelio y se mueve con un movimiento continuo a lo largo de la entrada del surco hasta la siguiente zona interproximal tanto en la superficie vestibular como en la lingual. Se da una puntuación de sangrado en seis localizaciones gingivales del diente; mesio-vestibular, disto-vestibular, vestibular, lingual, disto-lingual, mesio-lingual. Se sonda primero la superficie vestibular y en segundo lugar la superficie lingual. Para obtener el índice se suman el número de localizaciones con sangrado y se dividen entre el número total de localizaciones que se han sondado. El índice tiene una escala de tres puntos (0-2) para describir la tendencia al sangrado en la cara bucal o lingual de cada diente.

Los dientes y la encía adyacente se puntúan según los siguientes criterios:

- Puntuación 0: sin sangrado.
- Puntuación 1: sangrado durante los primeros 30 segundos.
- Puntuación 2: exceso de sangrado, se puntúa después de los 30 segundos posteriores al sondaje.

- BOP, mediante el Índice de Sangrado Gingival (Ainamo y cols., 1975), que evalúa dicotómicamente el sangrado tras el sondaje.

De acuerdo al “World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions” de 2017, basado en los métodos para evaluar la inflamación gingival, un caso de gingivitis puede ser fácilmente, objetivamente y precisamente evaluado y medido usando el sangrado al sondaje (BOP) (Chapple y cols., 2018).

Se evalúa como la proporción de localizaciones que sangran (evaluación dicotómica) a una fuerza estímulos controlada a profundidad gingival en 6 localizaciones (mesio-vestibular, disto-vestibular, vestibular, lingual, disto-lingual, mesio-lingual) en todos los dientes presentes (Chapple y cols., 2018).

El criterio de evaluación es el siguiente:

- Resultado 0: no sangrado.
- Resultado 1: sangrado dentro de los primeros 30 segundos tras el sondaje.

Parámetros de uso y percepción

- Resultados reportados por el paciente (PROM): un cuestionario predefinido de uso (Anexo 4) y percepciones es completado por el sujeto en las visitas 3 y 6.
- Evaluación de cumplimiento: los sujetos rellenan un formulario de cumplimiento en la visita basal y en las visitas de la semana 3 y 6.

Obtención, procesamiento y parámetros de muestras microbiológicas

Las muestras para el test microbiológico se toman en la visita basal y en la semana 6.

- Se seleccionan dos localizaciones, uno en el maxilar y otro en la mandíbula. La selección de las localizaciones se basa en la presencia de sangrado durante el *screening*, y preferiblemente en mesial de los primeros molares (o alternativamente en los segundos molares o segundos premolares). Las mismas localizaciones son usadas en la visita de la semana 6. Las localizaciones en las que se toma la muestra microbiológica se aíslan con rollos de algodón y se secan con aire (Mombelli y cols., 1991).
- Se insertan de forma consecutiva dos puntas de papel estériles (medium size, Maillefer, Ballaigues, Switzerland) en el surco lo más profundo posible, dejándolo durante 10 segundos. Todas las puntas se recogen en un único vial por visita.

Las puntas de papel se transfieren al vial recomendado por Microomics SL. (crio-vial), empresa biotecnóloga encargada del procesamiento y análisis de las muestras. El vial recomendado contiene reactivo DNA/RNA Shield[®], que lisan eficazmente las muestras e inactivan los patógenos (por ejemplo, virus y bacterias), y es compatible con el protocolo de extracción de ADN.

El vial se enviará al laboratorio local para su almacenamiento durante 24 horas, y se mantendrá a temperatura ambiente durante un máximo de tres semanas. Después, las muestras se enviarán por mensajería a Microomics SL, siguiendo las recomendaciones pertinentes para el transporte de seguridad. Más tarde se procesarán mediante *secuenciación de nueva generación* (NGS), siguiendo los siguientes pasos:

- Extracción del ADN genómico total: el ADN de las muestras se extraerá con el kit *DNeasy PowerLyzer PowerSoil* (Qiagen) siguiendo las instrucciones del fabricante. Los tubos de extracción se agitarán dos veces con el *Tissue lyser II* (Qiagen) a 30 Hz/s durante 5 minutos a 4°C.

- Secuenciación de genes 16S rRNA: las muestras se amplificarán utilizando cebadores/primers específicos. EL ADN de las muestras se utilizará para amplificar las mismas y se secuenciará por pares, en *Illumina MiSeq Benchtop Sequencer*, en una PCR de ciclo limitado.

La PCR se realizará en un volumen de 10- μ l con una concentración de cebadores de 0,2- μ M. Las condiciones del ciclo serán de una desnaturalización inicial de 3 minutos a 95 °C, seguida de 25 ciclos de 95 °C durante 30 segundos, 55 °C durante 30 segundos, y 72 °C durante 30 segundos, terminando con un paso final de elongación de 5 minutos a 72 °C. Las reacciones de PCR se purificarán utilizando perlas *AMPure*. Los productos de la PCR se extraerán con 32 μ l de agua y 30 μ l de los 32 μ l se transferirán a una nueva placa de 96 pocillos.

Para la segunda PCR se procede de misma manera, utilizando la misma mezcla de PCR y mismo perfil térmico que para la primera PCR, pero con 8 ciclos. Después de la segunda PCR, se utilizarán 25 μ l del producto final para la purificación y normalización utilizando el kit de normalización *SequalPrep* (Invitrogen). El producto será diluido en un volumen de 20- μ l y agrupados para la secuenciación. Las agrupaciones finales se cuantificarán mediante qPCR.

La secuenciación se realizará en un *Illumina MiSeq*. Los controles negativos del *buffer* de recogida de muestras, la extracción de ADN y los pasos de amplificación de la PCR se realizarán rutinariamente en paralelo, utilizando las mismas condiciones y reactivos.

- Asignación taxonómica: se realiza la asignación taxonómica y se calcula las relaciones filogenéticas entre las diferentes especies.

Eventos adversos

En el caso de que se produzcan, se recogerán los eventos adversos (EA), eventos adversos graves (EAG) y la severidad de los eventos adversos (SEA). Se recogerán todos aquellos relacionados con el producto desde el inicio del estudio hasta el final siguiendo los siguientes criterios:

- *Evento adverso*: cualquier acontecimiento adverso para la salud humana que haya ocurrido durante o después del uso normal, razonablemente uso normal o razonablemente previsible de un producto.
- *Evento adverso grave*: es un EA que cumple por lo menos uno de los siguientes criterios:
 - Provoca la muerte.
 - Pone en peligro la vida (riesgo inmediato de muerte).
 - Requiere hospitalización (o prolongación de la hospitalización existente).
 - Provoca una incapacidad persistente o significativa o una alteración sustancial de la capacidad de llevar a cabo las funciones vitales normales.
 - Es una sospecha de transmisión de cualquier agente infeccioso a través de un medicamento.
 - Da lugar a una anomalía congénita/defecto de nacimiento.
 - Es otro evento médicamente significativo (es decir, una condición médicamente significativa que puede que pueda poner en peligro al sujeto o que requiera una intervención médica o quirúrgica para evitar cualquiera de los resultados enumerados anteriormente).
- Severidad de eventos adversos: grave no es sinónimo de severo. La severidad se utiliza para describir la intensidad del efecto. La gravedad se utiliza para describir el resultado o la acción del consumidor/evento.

La severidad de los efectos adversos puede calificarse en una escala de tres puntos:

- Grave: malestar extremo, que causa un deterioro significativo del funcionamiento o incapacidad; interfiere significativamente con la función habitual del sujeto; impide las actividades cotidianas normales.
- Moderado: suficiente malestar presente para causar interferencia hasta cierto punto con la función habitual o la actividad diaria normal del sujeto.
- Leve: conocimiento de los síntomas que se toleran fácilmente, causando una molestia mínima y no interferir con la función habitual del sujeto o las actividades cotidianas normales.

5.7 Determinación del tamaño muestral y análisis de los datos

Debido a que se trata de un estudio piloto para evaluar la seguridad de un nuevo compuesto, así como explorar su eficacia en parámetros clínicos y el impacto en el microbioma oral, para el cálculo de tamaño muestral de un futuro ensayo más largo, se propone una muestra de conveniencia de 60 pacientes (30 pacientes por grupo).

Los datos de resultados categóricos se compararán con la prueba de *Chi-cuadrado* o las pruebas de *Fisher*. Para la determinación de distribución normal de las variables cuantitativas se usará la prueba de bondad de ajuste de Shapiro-Wilk. Las diferencias entre los grupos en la visita basal, semana 3 y semana 6, y cambios en la línea base a la tercera semana y en la línea de base a sexta semana dentro de los grupos de tratamiento, se determinarán mediante la prueba *t de Student* o la prueba *U de Mann-Whitney* para los resultados cuantitativos. Se realizará un análisis adicional de la placa y los índices gingivales mediante un modelo lineal general (*ANOVA* de medidas repetidas).

En el análisis de datos obtenidos de las muestras microbiológicas (microbioma), la diferencia de taxones se calcula usando dos métodos; AMCOM (Mandaland y cols.,

2015) y Mann-Whitney (o Kruskal Wallis) prueba no paramétrica sobre la abundancia relativa de los taxones. Una vez hecha la prueba de Kruskal Wallis, se hace la prueba de Conover con corrección FDR Benjamini-Hochberg para la comparación por pares. Además, se usan las matrices de distancia Unifrac y tablas ASV para calcular las coordenadas principales y construir gráficos de ordenación utilizando el paquete de software R versión 3.6.0. La significación de los grupos en estructura de la comunidad se comprueba utilizando Permanova. Se usa la versión BiodiversityR 2.11-1 y la versión Vegan 2.5-5, y además se usa la versión Ggplot 2.2.1 para el trazado.

Por otro lado, los PROM se calcularán como valores medios para cada uno de los ítems del cuestionario. A cada *subítem* dentro de los *ítems* principales (cualidades cosméticas, eficacia cosmética etc..) se le asigna un valor del 1 al 4, siendo el 1 el valor negativo o el valor más bajo, y el 4 el valor positivo o el más alto, de acuerdo a la respuesta del paciente en el cuestionario. Una vez se tienen los valores, se hace la media aritmética de los *subítems*, obteniéndose así un valor sobre 4 para cada *ítem*.

6. RESULTADOS

El presente estudio presenta resultados preliminares de 50 pacientes tratados entre enero y julio de 2022 del estudio piloto final de 60 pacientes. De los 50 pacientes se evalúan 48 pacientes, debido a que dos de los pacientes no cumplen los criterios pre-establecidos. Los pacientes están divididos aleatoriamente en el grupo test y en el grupo control. La edad media de los 48 pacientes es de 29,76 años. Otras características de la edad se presentan en la tabla 2. De los 48 pacientes 19 son varones y 29 mujeres. Se recogen características de los pacientes mostrados en la tabla 3 que incluyen si los pacientes son fumadores, presentan alergias, medicación, enfermedades sistémicas y si tienen alto nivel de estrés.

Índice de placa (Turesky)

La media del índice de Turesky en el grupo test es de 2,71 en la visita basal, y 2,69 en el grupo control. En ambos grupos hay una reducción de los índices en la tercera semana. En la sexta semana hay reducción del índice en el grupo control, pero un aumento en el grupo test desde la tercera semana. Respecto al índice desde la visita basal a la sexta semana hubo una reducción en ambos grupos (tabla 4) (figura 2). Las medias de reducción del índice de placa son similares en el grupo test y el grupo control, no siendo la diferencia de medias estadísticamente significativa, a excepción de la media de reducción de la visita basal a la visita de la tercera semana, que fue de 0,55 en el grupo test y de 0,10 en el grupo control, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,02$) (tabla 5).

Respecto a los cambios de la visita basal a la tercera semana, en el grupo test hay una media de reducción de 0,55, siendo esta reducción estadísticamente significativa ($p < 0,05$). Así mismo, la reducción desde la visita basal a la sexta semana es de 0,34 siendo también estadísticamente significativa ($p < 0,005$) (tabla 6). En la comparación intragrupo

del grupo control no se observa una reducción en el índice de placa estadísticamente significativa ($p>0,05$) en ninguna de las visitas, siendo la reducción media de la visita basal a la sexta semana de 0,31 (tabla 7).

BOMP

En la visita basal la media del índice BOMP en el grupo test y control es de 0,29 y 0,30 respectivamente. En ambos grupos se reduce la media del índice tanto en la tercera semana como en la sexta semana, siendo la media en la sexta semana de 0,13 en el grupo test y de 0,16 en el grupo control (tabla 4) (figura 4). La media de reducción del índice BOMP de la visita basal a la tercera semana es de 0,13 en el grupo test y de 0,11 en el grupo control. Las medias de reducción son similares también en la sexta semana, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p>0,02$) en ninguna reducción al compararse el grupo test con el grupo control (tabla 8).

En los cambios de la visita basal del grupo test a la tercera semana y a la sexta, las medias de reducción son estadísticamente significativas ($p<0,05$) (tabla 9). Por otro lado, en el grupo control, la media de reducción a la tercera y sexta semana desde la visita basal también son estadísticamente significativas ($p<0,05$) siendo 0,10 y 0,13 respectivamente (tabla 10).

BOP

En el índice BOP se observa una media del índice de 0,44 en el grupo test y de 0,41 en el grupo control en la visita basal. Ambos índices se reducen tanto en la tercera semana como en la sexta semana. En la sexta semana el grupo test presenta una media de 0,27 y el grupo control una media de 0,28 (tabla 4) (figura 4). Respecto a las medias de reducción, es de 0,16 en la tercera semana en el grupo test y de 0,11 en el grupo control. En la sexta semana es de 0,01 en el grupo test y de 0,02 en el control. No se observan

diferencias estadísticamente significativas al comparar las medias de reducción en ninguna semana, tal y como se observa en la tabla 11.

En la comparación intragrupo, en el grupo test se obtienen resultados estadísticamente significativos en las medias de reducción desde la línea base a la 3ª y 6ª semana ($p < 0.05$), pero no se obtienen resultados estadísticamente significativos (tabla 12). Por otro lado, en la comparación intragrupo del grupo control se obtienen también resultados estadísticamente significativos en la media de reducciones desde la visita basal a la tercera y a la sexta semana ($p < 0,05$) (tabla 13).

PROM

En los PROM de la tercera semana, es decir en la segunda visita, para los diferentes *ítems* se obtienen en todos puntuaciones iguales o mayores de 3 calificados sobre 4. En la evaluación de cualidades cosméticas se obtiene una puntuación de 3,5. Por otro lado, los pacientes evalúan la eficacia cosmética con una puntuación de 3,1. Para los *ítems* de evaluación global y de intención de compra se extraen puntuaciones de 3,25 y de 3,08 respectivamente (tabla 14).

En las calificaciones de los PROM de la sexta semana o tercera visita, todos los *ítems* también tienen puntuaciones medias superiores a 3. El *ítem* de las cualidades cosméticas obtiene una puntuación de 3,48 y el *ítem* de la eficacia cosmética una media de 3,1. La evaluación global y la intención de compra es evaluado por los pacientes con 3,25 y 3,1 respectivamente (tabla 14).

Eventos adversos

Durante el periodo de estudio de los 48 pacientes, ninguno de ellos presentó eventos adversos relacionados con el producto.

7. DISCUSIÓN

El control mecánico del biofilm es fundamental para la prevención y control de las enfermedades periodontales (Garmyn y cols., 1989). Una serie de limitaciones, como la falta de control, cumplimiento y motivación, hace que no se realice de forma correcta y eficaz el control del *biofilm*, por lo que el uso de agentes químicos como agentes coadyuvantes puede ser de utilidad. Se busca, por lo tanto, su incorporación en dentífricos para reducir y prevenir la aparición de la gingivitis (Aninamo y cols., 1977). Actualmente existen muchos compuestos químicos que han sido estudiados y han demostrado resultados positivos en estos términos.

El estudio presenta datos preliminares de un estudio clínico aleatorizado, paralelo a doble ciego, de duración de 6 semanas, que evalúa un dentífrico a base de cloruro de cetilpiridinio y cimenol. El principal hallazgo del estudio es la reducción en el I.P, en los índices BOMP y BOP y los resultados positivos de los PROM evaluados a las 6 semanas. Por otro lado, el compuesto es también comparado con un control negativo, obteniendo resultados no estadísticamente significativos.

En términos de índice de placa, al compararse con el grupo control, no presenta diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) a las 6 semanas, pero sí los presenta a las 3 semanas ($p = 0,02$). El grupo test presenta medias de reducción estadísticamente significativas ($p = 0,00$) en los cambios de la primera semana a la tercera y a la 6 semana, mostrándose así una efectiva reducción de placa. Un estudio de similar duración, llevado a cabo por Rosing y cols., (2017) evaluó el cloruro de cetilpiridinio en colutorio en diferentes concentraciones, mostrando también reducción en el índice de placa de forma significativa al compararse con sus índices iniciales durante el mismo periodo de evaluación.

En cuanto a la capacidad antigingivitis del compuesto, evaluada a través de los índices BOP y BOMP, no muestran diferencias significativas ($p > 0,005$) respecto al grupo control a largo de las 6 semanas del estudio, a pesar de que las medias finales de los índices sean menores que las del grupo control. Por otro lado, el compuesto sí que muestra diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,005$) en los cambios de medias de reducción desde el inicio del estudio a la tercera ($p = 0,00$) y a la sexta semana ($p = 0,00$) en ambos índices.

La carencia de estudios del cloruro de cetilpiridinio en dentífricos hace difícil la comparación de estos resultados con ensayos clínicos similares, debido a que la mayoría de estudios evalúan el compuesto a base de cetilpiridinio y cimenol en colutorios. La eficacia en la reducción de formación de placa de los colutorios que contienen cloruro de cetilpiridinio ha sido demostrada en varios estudios clínicos (Rawlinson y cols., 2008; Silva y cols., 2009), así como su capacidad en la reducción de la gingivitis (Mankodi y cols., 2005; Albert-Kiszely y cols., 2007). Dicha carencia de ensayos en dentífricos se puede evidenciar en la revisión sistemática realizada por Figuero y cols., (2019), donde se evalúa la eficacia de diferentes compuestos de higiene oral para el control químico de biofilm, buscando en la literatura ensayos clínicos aleatorizados que tengan una duración de 6 meses. En la revisión no se encontró ningún estudio que evaluase el cloruro de cetilpiridinio en dentífricos, lo que deja ver la inexistencia de ensayos clínicos aleatorizados que estudien el compuesto en dentífricos.

Por otra parte, sí que hay ensayos clínicos de menor duración en dentífricos. Herrera y cols., (2018) en un ensayo clínico aleatorizado sobre pacientes con aparatología fija, con una duración de 3 meses, midió la reducción de placa y de gingivitis. No se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos, sin embargo, se encontró disminución de alguno de los índices, obteniendo resultados similares a nuestro estudio. Por otro lado, un

ensayo clínico aleatorizado de 3 meses de duración sí encontró diferencias significativas en la reducción de placa y de inflamación gingival al ser comparado con un grupo control (Yoo y cols., 2011).

En cuanto a los eventos adversos, durante el periodo de 6 semanas no se produjo ningún evento adverso como: tinciones, ardor, ulceraciones, disgeusia etc... En la revisión sistemática de Tartaglia y cols., (2019), se evalúan diversos efectos adversos del producto recogidos en diferentes estudios, y determina que los más comunes son la alteración del sabor o las tinciones. Se destaca también que las tinciones ocurren tras un largo periodo de uso, por lo que se podría esperar que no hayan aparecido debido a la corta duración del estudio.

En relación con las limitaciones, se presentan datos preliminares debido a la limitación del tiempo. El estudio ha sido elaborado para ser un estudio piloto de duración de 6 semanas, que servirá de pretexto para un futuro estudio clínico aleatorizado de 6 meses, que aporte mayor validez siguiendo así las recomendaciones propuestas por el “Council on Dental Therapeutics”. Debido a que el estudio no está completo y no se ha llegado a tener la muestra completa de los 60 pacientes, no se ha podido realizar el análisis de las muestras microbiológicas, que se analizarán cuando finalice el estudio.

8. CONCLUSIONES

El uso de CPC en dentífrico reduce la acumulación de placa y la inflamación gingival a lo largo del periodo de estudio, pero tiene efecto limitado cuando es comparado con un grupo control. Su uso no está asociado a la aparición de eventos adversos. Además, el dentífrico es bien tolerado por parte de los pacientes, teniendo cualidades y eficacia cosmética alta de acuerdo a su percepción.

9. BIBLIOGRAFÍA

Ainamo, J. (1977). "Control of plaque by chemical agents." J Clin Periodontol **4**(5): 23-35.

Ainamo, J., et al. (1982). "Development of the World Health Organization (WHO) community periodontal index of treatment needs (CPITN)." Int Dent J **32**(3): 281-291.

Ainamo, J. and I. Bay (1975). "Problems and proposals for recording gingivitis and plaque." Int Dent J **25**(4): 229-235.

Albandar, J. M. (2002). "Periodontal diseases in North America." Periodontol 2000 **29**: 31-69.

Beals, D., et al. (2000). "Development and laboratory evaluation of a new toothbrush with a novel brush head design." Am J Dent **13**(Spec No): 5a-14a.

Blicher, B., et al. (2005). "Validation of self-reported periodontal disease: a systematic review." J Dent Res **84**(10): 881-890.

Bolyen, E., et al. (2019). "Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2." Nat Biotechnol **37**(8): 852-857.

Botelho, J., et al. (2019). "Study of Periodontal Health in Almada-Seixal (SoPHiAS): a cross-sectional study in the Lisbon Metropolitan Area." Sci Rep **9**(1): 15538.

Chapple, I. L., et al. (2015). "Primary prevention of periodontitis: managing gingivitis." J Clin Periodontol **42 Suppl 16**: S71-76.

Chapple, I. L. C., et al. (2018). "Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions." J Periodontol **89 Suppl 1**: S74-s84.

Claydon, N. C. (2008). "Current concepts in toothbrushing and interdental cleaning." Periodontol 2000 **48**: 10-22.

Comission, F. (2002). "Mouthrinses and dental caries." Int Dent J **52(5)**: 337-345.

Comission, F. (2002). "Mouthrinses and periodontal disease." Int Dent J **52(5)**: 346-352.

Costa, X., et al. (2013). "Efficacy of a new mouth rinse formulation based on 0.07% cetylpyridinium chloride in the control of plaque and gingivitis: a 6-month randomized clinical trial." J Clin Periodontol **40(11)**: 1007-1015.

Erchick, D. J., et al. (2019). "Oral hygiene, prevalence of gingivitis, and associated risk factors among pregnant women in Sarlahi District, Nepal." BMC Oral Health **19(1)**: 2.

Figuro, E., et al. (2019). "Efficacy of adjunctive anti-plaque chemical agents in managing gingivitis: A systematic review and network meta-analyses." J Clin Periodontol **46(7)**: 723-739.

Food, U. and D. Administration (2003). "Oral health care drug products for over-the-counter human use; antigingivitis/antiplaque drug products; establishment of a monograph; proposed rules." Fed Regist **68**(103): 32241.

Greenstein, G. (2002). "Full-mouth therapy versus individual quadrant root planning: a critical commentary." J Periodontol **73**(7): 797-812.

Greenstein, G. (2004). "Efficacy of full-mouth disinfection vs quadrant root planing." Compend Contin Educ Dent **25**(5): 380-382, 384-386, 388 passim.

Haffajee, A. D. and S. S. Socransky (1994). "Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases." Periodontol 2000 **5**: 78-111.

Haps, S., et al. (2008). "The effect of cetylpyridinium chloride-containing mouth rinses as adjuncts to toothbrushing on plaque and parameters of gingival inflammation: a systematic review." Int J Dent Hyg **6**(4): 290-303.

Herrera, D., et al. (2018). "Clinical and microbiological effects of the use of a cetylpyridinium chloride dentifrice and mouth rinse in orthodontic patients: a 3-month randomized clinical trial." Eur J Orthod **40**(5): 465-474.

Herrera, D., et al. (2003). "Differences in antimicrobial activity of four commercial 0.12% chlorhexidine mouthrinse formulations: an in vitro contact test and salivary bacterial counts study." J Clin Periodontol **30**(4): 307-314.

Hugoson, A., et al. (1998). "Oral hygiene and gingivitis in a Swedish adult population 1973, 1983 and 1993." J Clin Periodontol **25**(10): 807-812.

Jenkins, S., et al. (1994). "A comparison of cetylpyridinium chloride, triclosan and chlorhexidine mouthrinse formulations for effects on plaque regrowth." J Clin Periodontol **21**(6): 441-444.

Katoh, K. and D. M. Standley (2013). "MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability." Mol Biol Evol **30**(4): 772-780.

Lang, N. and H. Newman (1997). Consensus report of session II. Proceedings of the 2nd European Workshop on Periodontology, Chemicals in Periodontics. London, Quintessence.

Lang, N. P., et al. (2009). "Gingivitis as a risk factor in periodontal disease." J Clin Periodontol **36 Suppl 10**: 3-8.

Lie, M. A., et al. (1998). "Evaluation of 2 methods to assess gingival bleeding in smokers and non-smokers in natural and experimental gingivitis." J Clin Periodontol **25**(9): 695-700.

Lobene, R. R. (1968). "Effect of dentifrices on tooth stains with controlled brushing." J Am Dent Assoc **77**(4): 849-855.

Lozupone, C. and R. Knight (2005). "UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities." Appl Environ Microbiol **71**(12): 8228-8235.

Mandal, S., et al. (2015). "Analysis of composition of microbiomes: a novel method for studying microbial composition." Microb Ecol Health Dis **26**: 27663.

Mankodi, S., et al. (2005). "A 6-month clinical trial to study the effects of a cetylpyridinium chloride mouthrinse on gingivitis and plaque." Am J Dent **18 Spec No**: 9a-14a.

Mombelli, A., McNabb, H., & Lang, N. P. (1991). Black-pigmenting Gram-negative bacteria in periodontal disease. II. Screening strategies for detection of *P. gingivalis*. Journal of Periodontal Research, **26**(4), 308-313.

Murakami, S., et al. (2018). "Dental plaque-induced gingival conditions." J Periodontol **89 Suppl 1**: S17-s27.

Øgaard, B., et al. (2006). "A prospective, randomized clinical study on the effects of an amine fluoride/stannous fluoride toothpaste/mouthrinse on plaque, gingivitis and initial caries lesion development in orthodontic patients." Eur J Orthod **28**(1): 8-12.

Olympio, K. P., et al. (2006). "Effectiveness of a chlorhexidine dentifrice in orthodontic patients: a randomized-controlled trial." J Clin Periodontol **33**(6): 421-426.

Price, M. N., et al. (2009). "FastTree: computing large minimum evolution trees with profiles instead of a distance matrix." Mol Biol Evol **26**(7): 1641-1650.

Pulcini, A., et al. (2019). "Clinical effects of the adjunctive use of a 0.03% chlorhexidine and 0.05% cetylpyridinium chloride mouth rinse in the management of peri-implant diseases: A randomized clinical trial." J Clin Periodontol **46**(3): 342-353.

Quigley, G. A. and J. W. Hein (1962). "Comparative cleansing efficiency of manual and power brushing." J Am Dent Assoc **65**: 26-29.

Rawlinson, A., et al. (2008). "Efficacy of two alcohol-free cetylpyridinium chloride mouthwashes - a randomized double-blind crossover study." J Clin Periodontol **35**(3): 230-235.

Rösing, C. K., et al. (2017). "Efficacy of two mouthwashes with cetylpyridinium chloride: a controlled randomized clinical trial." Braz Oral Res **31**: e47.

Sanz, M., et al. (2018). "Scientific evidence on the links between periodontal diseases and diabetes: Consensus report and guidelines of the joint workshop on periodontal diseases and diabetes by the International diabetes Federation and the European Federation of Periodontology." Diabetes Res Clin Pract **137**: 231-241.

Sanz, M., et al. (2020). "Periodontitis and cardiovascular diseases: Consensus report." J Clin Periodontol **47**(3): 268-288.

Schätzle, M., et al. (2004). "The clinical course of chronic periodontitis." J Clin Periodontol **31**(12): 1122-1127.

Serrano, J., et al. (2015). "Efficacy of adjunctive anti-plaque chemical agents in managing gingivitis: a systematic review and meta-analysis." J Clin Periodontol **42 Suppl 16**: S106-138.

Sheen, S., et al. (2001). "The benefits of toothpaste--real or imagined? The effectiveness of toothpaste in the control of plaque, gingivitis, periodontitis, calculus and oral malodour." Dent Update **28**(3): 144-147.

Silva, M. F., et al. (2009). "A clinical investigation of the efficacy of a commercial mouthrinse containing 0.05% cetylpyridinium chloride to control established dental plaque and gingivitis." J Clin Dent **20**(2): 55-61.

Slot, D. E., et al. (2020). "Mechanical plaque removal of periodontal maintenance patients: A systematic review and network meta-analysis." J Clin Periodontol **47 Suppl 22**: 107-124.

Tartaglia, G. M., et al. (2019). "Adverse events associated with home use of mouthrinses: a systematic review." Ther Adv Drug Saf **10**: 2042098619854881.

Theilade, E., et al. (1966). "Experimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation." J Periodontal Res **1**: 1-13.

Therapeutics, C. o. D. (1986). "Guidelines for acceptance of chemotherapeutic products for the control of supragingival dental plaque and gingivitis." J Am Dent Assoc **112**(4): 529-532.

Timmerman, M. F. and G. A. van der Weijden (2006). "Risk factors for periodontitis." Int J Dent Hyg **4**(1): 2-7.

Turesky, S., et al. (1970). "Reduced plaque formation by the chloromethyl analogue of vitamin C." J Periodontol **41**(1): 41-43.

Van der Weijden, G. A. and K. P. Hioe (2005). "A systematic review of the effectiveness of self-performed mechanical plaque removal in adults with gingivitis using a manual toothbrush." J Clin Periodontol **32 Suppl 6**: 214-228.

Van der Weijden, G. A., et al. (1994). "Comparison of different approaches to assess bleeding on probing as indicators of gingivitis." J Clin Periodontol **21**(9): 589-594.

Van der Weijden, G. A., et al. (1994). "Intra-/inter-examiner reproducibility study of gingival bleeding." J Periodontal Res **29**(4): 236-241.

Yoo, S.-M., et al. (2011). "The effects of dentifrice mixed with green tea extract and cetylpyridinium chloride in preventing gum diseases and oral malodor." International Journal of Clinical Preventive Dentistry **7**(1): 33-39.

10.TABLAS

Procedimiento del estudio	Screening	Visita basal (día 0)	Visita semana 3 (+/- 5 días)	Visita semana 6 (+/- 7 días)
Consentimiento informado				
Criterios de inclusión/exclusión				
Historia médica				
Evaluación de la salud oral				
Medicación				
Hábito tabáquico				
BOP/BOMP				
Índice de placa				
GMSI				
Muestras microbiológicas				
Aleatorización				
Administración del producto del estudio				
Hojas de cumplimiento				
PROMS				
Revisión de la cantidad del producto y de la hoja de cumplimiento				
Recolección y monitorización de efectos adversos				

Tabla 1. Procedimientos a realizar por visita.

	Intra-1	Intra-2	Inter-examinador
<i>Índice de Placa de Turesky</i>	0,72	0,75	0,65
<i>Sangrado al Sondaje Marginal (BOMP)</i>	0,69	0,77	0,79
<i>Sangrado al Sondaje (BOP)</i>	0,77	0,86	0,73

Tabla 2. Calibración intra e inter-examinador. Índice Kappa.

Grupo	1 (Test)	2 (Control)	(N)
	26	22	48
Sexo	Varón	Mujer	
	19	29	
	SI	NO	
Fumador	5	43	
Enfermedad sistémica	7	41	
Medicación	15	33	
Alto estrés	17	31	
Alergias	6	42	

Tabla 3. Características generales de los pacientes

		Test		Control	
		Media	D.e	Media	D.e
I.Placa	<i>Visita Basal</i>	2,71	0,41	2,69	0,38
	<i>3 semana</i>	2,16	0,83	2,58	0,36
	<i>6 semana</i>	2,36	0,44	2,37	0,81
BOMP	<i>Visita Basal</i>	0,29	0,18	0,30	0,19
	<i>3 semana</i>	0,16	0,13	0,19	0,16
	<i>6 semana</i>	0,13	0,11	0,16	0,15
BOP	<i>Visita Basal</i>	0,44	0,16	0,41	0,20
	<i>3 semana</i>	0,27	0,15	0,29	0,19
	<i>6 semana</i>	0,27	0,12	0,28	0,16

Tabla 4. Medias de I.P, BOMP Y BOP

<i>Índice de placa</i>	Test		Control		Diferencia de medias	95% de i.c de la diferencia		Valor p
	Media	D.e	Media	D.e		Inf.	Sup.	
Reducción Basal-3ª sem.	0,55	0,81	0,10	0,38	0,45	0,06	0,83	0,02*
Reducción 3ª sem.-6ª sem.	0,20	0,93	0,21	0,68	0,41	-0,89	0,06	0,09
Reducción Basal-6ª sem.	0,34	0,46	0,31	0,77	0,03	-0,32	0,39	0,83

Tabla 5. Medias de reducción

Comparación intergrupo: Test vs Control. *estadísticamente significativo ($p < 0,05$)

<i>Test/I.Placa</i>	Media	D.e	95% de i.c de la diferencia		Valor p
			Inf	Sup	
Reducción Basal-3ª sem.	0,55	0,81	0,22	0,88	0,002*
Reducción 3ª sem-6ªsem.	0,2	0,9	-0,57	0,17	0,275
Reducción Basal -6ª sem.	0,34	0,45	0,16	0,53	0,00*

Tabla 6. Medias de reducción I.P en grupo test

Comparación intragrupo: grupo test. *estadísticamente significativo (0,005)

<i>Control /I.Placa</i>	Media	D.e	95% de i.c de la diferencia		Valor p
			Inf	Sup	
Reducción Basal-3ª sem.	0,10	0,38	-0,06	0,27	0,22
Reducción 3ª sem-6ªsem.	0,20	0,67	-0,09	0,50	0,16
Reducción Basal -6ª sem.	0,31	0,76	-0,03	0,65	0,07

Tabla 7. Medias de reducción I.P en grupo test

Comparación intragrupo: grupo control. *estadísticamente significativo (0,005)

<i>BOMP</i>	Test		Control		Diferencia de medias	95% de i.c de la diferencia		Valor <i>p</i>
	Media	D.e	Media	D.e		Inf.	Sup.	
Reducción Basal-3ª sem.	0,13	0,16	0,11	0,13	0,02	-0,06	0,11	0,61
Reducción 3ª sem.-6ª sem.	0,02	0,11	0,02	0,09	0,00	-0,05	0,06	0,908
Reducción Basal-6ª sem.	0,15	0,12	0,13	0,13	0,02	-0,04	0,09	0,492

Tabla 8. Medias de reducción
Comparación intergrupo: Test vs Control. *estadísticamente significativo ($p < 0,05$)

<i>Test/BOMP</i>	Media	D.e	95% de i.c de la diferencia		Valor <i>p</i>
			Inf	Sup	
Reducción Basal-3ª sem.	0,13	0,16	0,06	0,19	0,00*
Reducción 3ª sem-6ªsem.	0,02	0,11	-0,01	0,07	0,245
Reducción Basal -6ª sem.	0,15	0,12	0,10	0,20	0,00*

Tabla 9. Medias de reducción BOMP en grupo test
Comparación intragrupo: grupo test. *estadísticamente significativo ($p < 0,005$)

<i>Control/BOMP</i>	Media	D.e	95% de i.c de la diferencia		Valor <i>p</i>
			Inf	Sup	
Reducción Basal-3ª sem.	0,10	0,13	0,05	0,16	0,001*
Reducción 3ª sem-6ªsem.	0,02	0,09	-0,01	0,06	0,25
Reducción Basal -6ª sem.	0,13	0,13	0,07	0,19	0,001*

Tabla 10. Medias de reducción BOMP en grupo control
Comparación intragrupo: grupo control. *estadísticamente significativo ($p < 0,005$)

BOP	Test		Control		Diferencia de medias	95% de i.c de la diferencia		Valor p
	Media	D.e	Media	D.e		Inf.	Sup.	
Reducción Basal-3ª sem.	0,16	0,17	0,12	0,12	0,04	-0,04	0,14	0,283
Reducción 3ª sem.-6ª sem.	0,01	0,16	0,02	0,12	0,01	-0,09	0,07	0,791
Reducción Basal-6ª sem.	0,17	0,14	0,14	0,13	0,03	-0,04	0,12	0,364

Tabla 11. Medias de reducción.

Comparación intergrupo: Test vs Control. *estadísticamente significativo ($p < 0,05$).

Test/BOP	Media	D.e	95% de i.c de la diferencia		Valor p
			Inf.	Sup.	
Reducción Basal-3ª sem.	0,16	0,17	0,09	0,24	0,00*
Reducción 3ª sem-6ªsem.	0,01	0,16	-0,06	0,07	0,88
Reducción Basal -6ª sem.	0,17	0,14	0,11	0,23	0,00*

Tabla 12. Medias de reducción BOP en grupo test

Comparación intragrupo: grupo test. *estadísticamente significativo ($p < 0,005$)

Control/BOP	Media	D.e	95% de i.c de la diferencia		Valor p
			Inf.	Sup.	
Reducción Basal-3ª sem.	0,11	0,12	0,06	0,17	0,001*
Reducción 3ª sem-6ªsem.	0,01	0,12	-0,03	0,07	0,553
Reducción Basal -6ª sem.	0,13	0,13	0,07	0,19	0,00*

Tabla 13. Medias de reducción BOP en grupo control

Comparación intragrupo: grupo control. *estadísticamente significativo ($p < 0,005$)

	<i>Cualidades cosméticas</i>	<i>Eficacia cosmética</i>	<i>Evaluación global</i>	<i>Intención de compra</i>
<i>PROM 3ª sem.</i>	3,5	3,1	3,25	3,1
<i>PROM 6ª sem.</i>	3,48	3,1	3,25	3,1

Tabla 14. Medias de las puntuaciones del cuestionario PROM.

11.FIGURAS

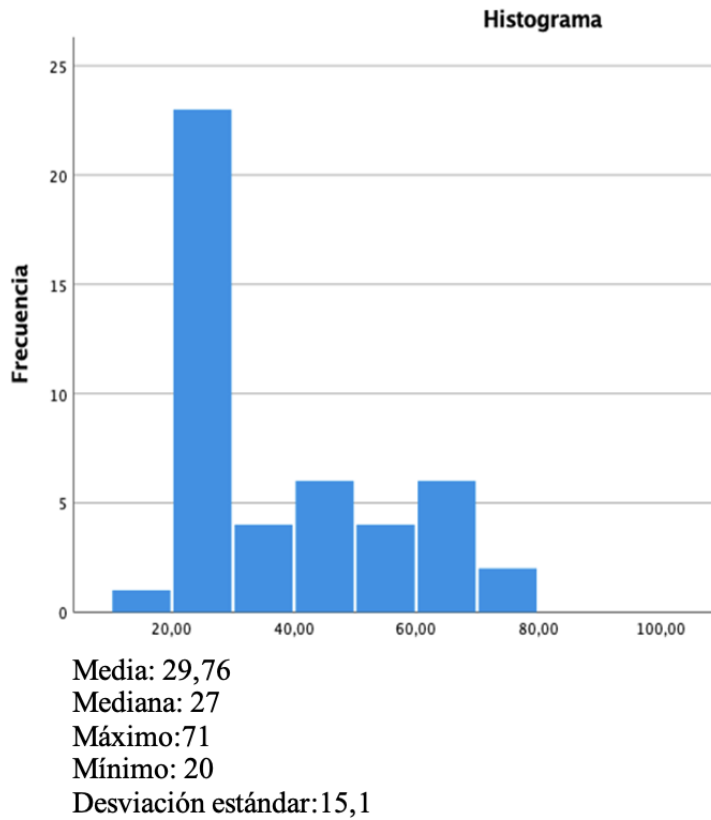


Figura 1. Valores de edad de los pacientes

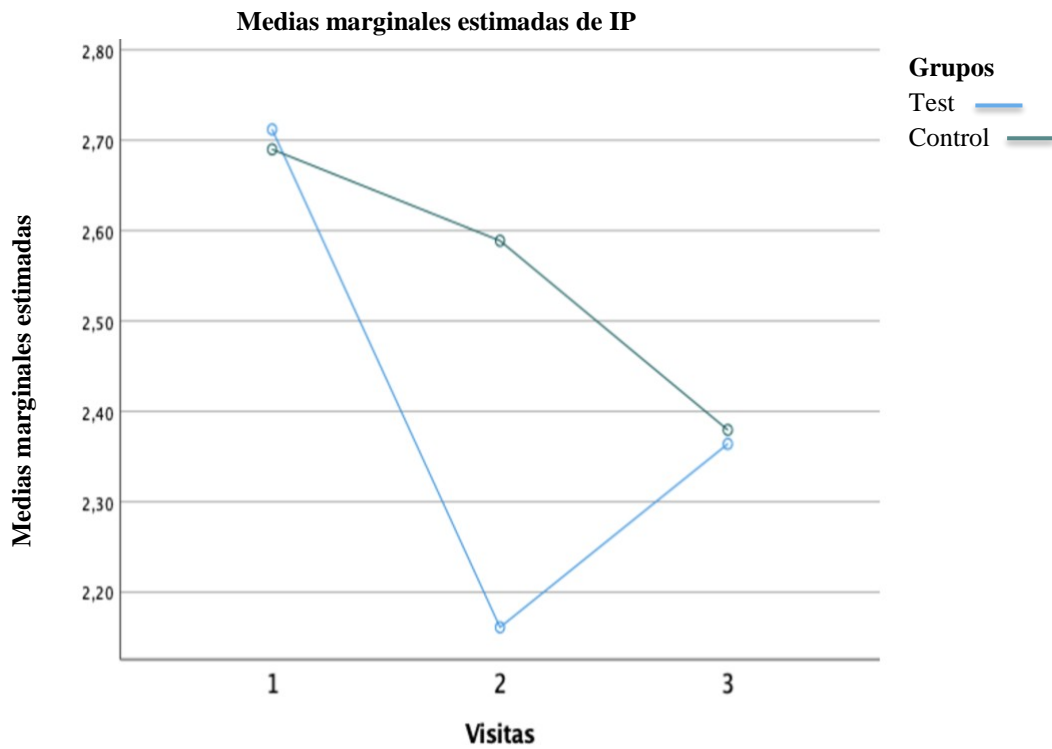


Figura 2. Representación gráfica de evolución de medias de I.P en las tres visitas.

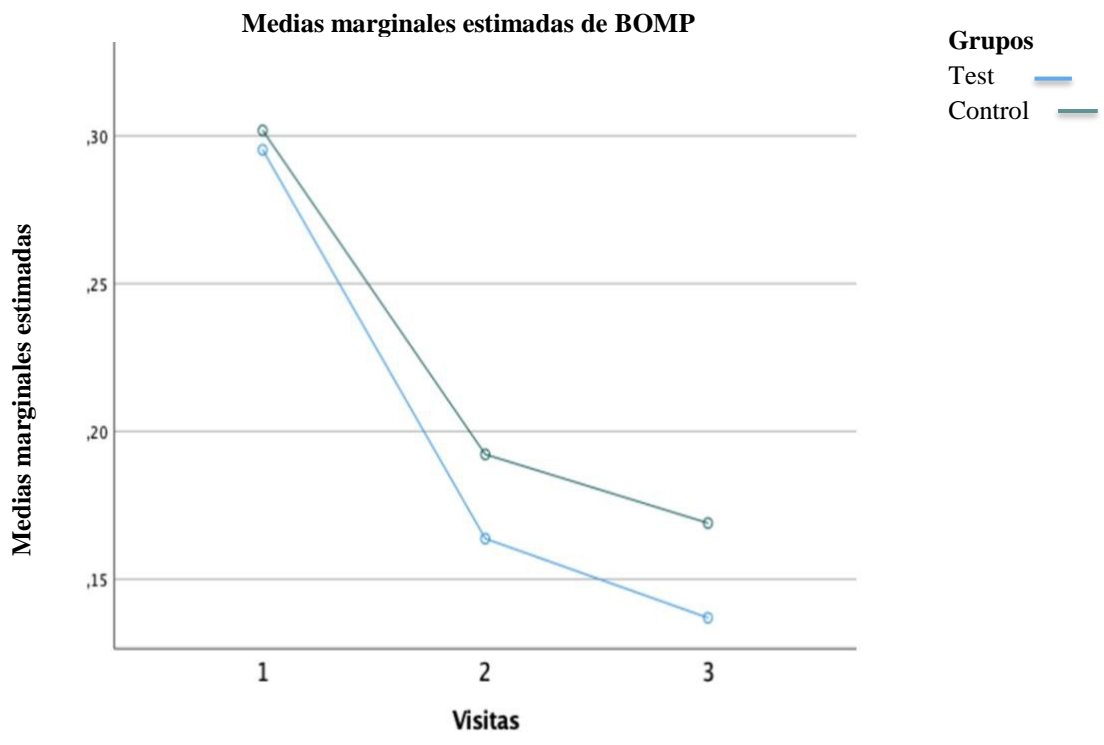


Figura 3. Representación gráfica de evolución de medias del índice BOMP en las tres visitas.

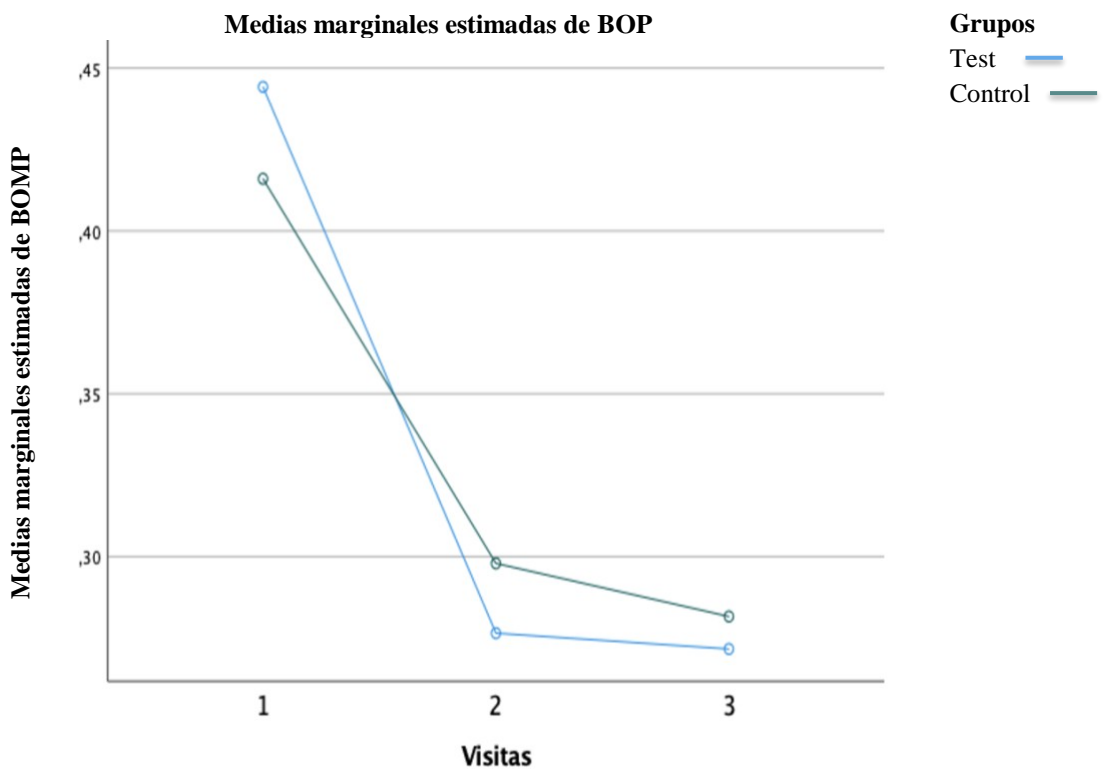


Figura 4. Representación gráfica de evolución de medias del índice BOP en las tres visitas.

12. ANEXOS

1. Fórmula del producto

Agua, Sorbitol, Sílice hidratada, PEG-32, Cocamidopropil Betaína, Aroma (Sabor), Goma de Celulosa, CI 77891 (Dióxido de Titanio), Fluoruro de Sodio, Fenilpropanol, Pantenol, Glicirrizato Dipotásico, Laureth-9, Alantoína, Sacarina Sódica, O-Cymen-5-Ol, Cloruro de Cetilpiridinio, Jugo de Hoja de Aloe Barbadensis, Decilenglicol, Benzoato de Sodio, Limoneno, Sorbato de Potasio

2. Consentimiento informado

CLINICAL EVALUATION OF A TOOTHPASTE FORMULATION INCLUDING CETYL PYRIDINIUM CHLORIDE AND CYMENOL: SAFETY, CLINICAL EFFICACY AND MICROBIOLOGICAL IMPACT AND PATIENT PERCEPTION

HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Estudio: "Evaluación clínica de un dentífrico con cloruro de cetilpiridinio y cimenol: seguridad, eficacia clínica y microbiológica y percepción del paciente"

Yo, _____
(NOMBRE Y APELLIDOS)

He recibido la hoja de información
He podido hacer preguntas sobre el estudio
He recibido respuesta satisfactoria a mis preguntas
He recibido suficiente información sobre el estudio

He hablado con _____
(NOMBRE Y APELLIDOS DEL INVESTIGADOR)

Comprendo que mi participación es voluntaria.
Comprendo que puedo retirarme del estudio:
1º Cuando quiera
2º Sin tener que dar explicaciones
3º Sin que esto repercuta en mis cuidados dentales.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Madrid, ____ de _____ de 202__

Firma del Participante

Firma del Investigador

4.PROM

Cualidades cosméticas				
	Completamente en desacuerdo	Más bien en desacuerdo	Más bien de acuerdo	Completamente de acuerdo
La consistencia de la pasta es agradable				
El olor de la pasta es agradable				
El sabor de la pasta es agradable				
La cantidad de espuma que se forma al cepillar es óptima				

Eficacia cosmética				
	Completamente en desacuerdo	Más bien en desacuerdo	Más bien de acuerdo	Completamente de acuerdo
La pasta proporciona una agradable sensación de frescor				
Después de usar el producto siento mis dientes limpios				
Después de usar el producto siento mis dientes más sanos				
Después de usar el producto mi boca está fresca				
La pasta proporciona un aliento fresco				
Después de usar el producto siento mis encías menos inflamadas				
Después de usar el producto siento que el sangrado de las encías se ha reducido				
Siento que la reducción del sangrado y la inflamación de las encías tiene un efecto duradero				
El producto proporciona una sensación de boca sana				
El producto es suave con las encías				
El producto cuida las encías delicadas				
El producto ayuda eliminar eficazmente la placa dental				
Con el uso del producto siento mis dientes más fuertes y protegidos				
Con el uso del producto siento mis encías más fuertes y protegidas				

El producto ofrece una sensación de alivio/confort a mis encías				
---	--	--	--	--

Evaluación de producto:

Qué puntuación daría al producto (de 1 a 10):

Evaluación global del producto			
No me ha gustado nada	No me ha gustado	Me ha gustado	Me ha gustado mucho

Intención de compra:

	No, seguro que no	No, probablemente no	Si, probablemente	Si, seguramente sí
¿Compraría el producto?				
¿Recomendarías el producto a otras personas?				

¿Qué te ha gustado del producto?	¿Qué no te ha gustado del producto?

