

Efecto antimicrobiano de tetraciclina 2% y clorhexidina 0,12% sobre *biofilm* dental de pilares de cicatrización

Antimicrobial effect of 2% tetracycline and 0,12% chlorhexidine on dental biofilm of healing abutments

Resumen

Objetivo. Comparar el efecto antimicrobiano de la tetraciclina en gel al 2% y de la clorhexidina en gel al 0,12% sobre el *biofilm* dental de pilares de cicatrización en implantes dentales. **Métodos.** Estudio experimental en laboratorio, de corte transversal. Se tomaron 25 muestras de *biofilm* dental presente en los pilares de cicatrización de implantes dentales de la zona en contacto con la mucosa del surco periimplantario de 19 pacientes. Las muestras fueron sembradas en placas Petri con agar Schaedler, a las cuales se les hizo tres pocillos, en uno se colocó tetraciclina en gel al 2%, en otro clorhexidina en gel al 0,12% y en el último agua destilada en cantidades iguales. Las placas Petri fueron incubadas a 37 °C en medio anaerobio por 96 horas luego de los cuales se midieron los halos de inhibición. **Resultados.** Ambos geles inhibieron el crecimiento de *biofilm* dental. La tetraciclina en gel al 2% obtuvo mayores diámetros de halos de inhibición que la clorhexidina en gel al 0,12%, con un máximo de 51 mm y 17 mm respectivamente y un mínimo de 21 mm y 10 mm respectivamente, con medias de 35 mm y 12.84 mm respectivamente. **Conclusiones.** La tetraciclina en gel al 2% tuvo un mayor efecto antimicrobiano en comparación a la clorhexidina en gel al 0,12% sobre el *biofilm* dental tomado de pilares de cicatrización de implantes dentales.

Palabras clave: Biopelícula dental; Tetraciclina; Clorhexidina; Implantes dentales (fuente: DeCS BIREME).

Abstract

Objective. To compare the antimicrobial effect of 2% tetracycline gel and 0,12% chlorhexidine gel on the dental biofilm of healing abutments on dental implants. **Methods.** This was an in vitro experimental cross-sectional study. Twenty-five biofilm samples were taken from the dental biofilm present on the area in contact with mucosa and the peri-implant groove of healing abutments of 19 patients. The samples were sowed in Petri dishes with Schaedler agar, three wells were made with a sterile punch and in each one tetracycline 2% in gel, 0,12% chlorhexidine in gel, and distilled water were placed in equal quantities. Then Petri dishes were incubated at 37 °C in an anaerobic medium for 48 hours after which inhibition halos were measured. **Results.** Both gels were inhibitors of dental biofilm growth. Tetracycline 2% in gel obtained larger diameters of inhibition halos than chlorhexidine 0,12% in gel, with a maximum of 51 mm and 17 mm respectively and a minimum of 21 mm and 10 mm, with means of 35 mm and 12.84 mm respectively. **Conclusions.** Tetracycline at 2% in gel had a higher antimicrobial effect than 0,12% in gel chlorhexidine on dental biofilm taken from healing abutments of dental implants.

Keywords: Dental biofilm; Tetracycline; Chlorhexidine; Dental implants (source: MeSH NLM).

Gastón Arizaga-Rujel ^{1a}, María Eugenia Guerrero ^{1b}, Sixto Angel García-Linares ^{1c}

¹ Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Odontología, Escuela de Posgrado Maestría, Lima, Perú.

^a Bachiller en Odontología.

^b PhD. Biomedical Science.

^c Magíster en Estomatología.

Correspondencia:

Gastón Adolfo Martín Arizaga Rujel: gaston.arizaga@unmsm.edu.pe
Av. Aviación 2472 of 201 San Borja, Lima, Perú.
ORCID: 0000-0003-1747-5240

Coautores:

María Eugenia Guerrero Acevedo: mguerreroac@unmsm.edu.pe
ORCID: 0000-0001-5425-870X
Sixto Ángel García Linares: sgarcial@unmsm.edu.pe
ORCID: 0000-0001-5057-5900

Editor:

Juan Carlos Cuevas-González
Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, México.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún tipo de conflicto de intereses.

Fuente de financiamiento: financiamiento propio.

Recibido: 01/11/20

Aceptado: 15/12/20

Publicado: 15/02/21

Introducción

Los microorganismos del *biofilm* dental son los responsables de la enfermedad periodontal en dientes naturales y como también de la mucositis y periimplantitis en implantes dentales. Este *biofilm* dental está integrado generalmente por bacterias anaerobias gram negativas y anaerobias gram positivas en menor cantidad^{1,2}. Cuando una mucositis no es tratada podría evolucionar a una periimplantitis. En la periimplantitis el *biofilm* dental también migra al implante, lo que podría llevar más adelante a la pérdida del hueso y a la pérdida del implante. Debido a que el sellado biológico en el implante no es igual al del diente, el avance de la infección bacteriana puede ser rápido y pasar de una mucositis a una periimplantitis en poco tiempo³.

Los pilares de cicatrización son aditamentos de los implantes que se utilizan por aproximadamente 21 días para la conformación de la mucosa para el futuro pilar protésico. La zona interna del surco periimplantario es invadida por bacterias del *biofilm* dental¹. Se ha reportado presencia de *biofilm* dental, incluso 30 minutos después de la instalación del implante y a las 2 semanas ya es una comunidad bacteriana establecida y madura similar a la que se encuentra alrededor de los dientes naturales. Esta acumulación puede ocurrir incluso antes de la colocación del pilar de cicatrización, así el implante se instale por debajo del nivel óseo aumentando el tiempo de recuperación de la mucosa periimplantaria debido al aumento de la inflamación⁴.

Dentro del surco periimplantario no solo existen bacterias periodontopatógenas Gram negativas anaerobias sino también Gram positivas anaerobias, siendo el ambiente en las profundidades del surco muy adecuado para el crecimiento de bacterias anaerobias¹. Para el control del *biofilm* dental se han usado diferentes fármacos, entre ellos la clorhexidina y tetraciclina^{5,6}. La clorhexidina es la más investigada y la más usada pero tiene efectos secundarios locales como son tinción de dientes, encía y mucosa, tinción de restauraciones, cambio del gusto, formación de cálculos⁵ y también está demostrado que los residuos de la clorhexidina afecta la fisicoquímica del titanio por lo cual la respuesta biológica a la superficie del implante no sería la adecuada⁷, mientras que las tetraciclina no tiene efectos secundarios locales y tiene efectos osteogénicos en estudios experimentales^{8,9}.

Se han usado diferentes concentraciones de tetraciclina y se han comparado con diferentes fármacos para el control del *biofilm* dental. Pereira *et al.*¹⁰ utilizaron tetraciclina y clorhexidina en diferentes concentraciones encontrando mayor efecto antimicrobiano en la tetraciclina. Shahi *et al.*¹¹ utilizaron tetraciclina en diferentes concentraciones, logrando inhibir en todas las concentraciones la formación del *biofilm* dental. Fortes *et al.*¹² encontraron un alto nivel de descontaminación frente a bacterias específicas del *biofilm* dental utilizando la tetraciclina hidroclicorada en solución y en pasta seguido del digluconato de clorhexidina sobre la superficie de implantes dentales. Setiawati⁶ realizó un

estudio utilizando diferentes concentraciones de gel de tetraciclina y reportó la inhibición del crecimiento del *biofilm* dental subgingival.

Se ha reportado en la literatura diferentes concentraciones de clorhexidina, las cuales han sido utilizadas para el control del *biofilm* dental. Kumar *et al.*¹³ utilizaron clorhexidina en gel en diferentes concentraciones y lograron mejorar los parámetros clínicos de bolsas periodontales con profundidad al sondaje y sangrado gingival. Franco *et al.*¹⁴ también utilizaron clorhexidina en diferentes concentraciones y no encontraron diferencias significativas en el control del *biofilm* dental para mejorar parámetros clínicos. Paolantonio *et al.*¹⁵ utilizaron clorhexidina en gel en la parte interna de los implantes dentales logrando una disminución en el recuento bacteriano. Lorenz *et al.*¹⁶ compararon un enjuague bucal con clorhexidina con alcohol y sin alcohol y un enjuague bucal con clorhexidina al 0,12% con fluoruro de sodio al 0,055% encontrando que todas las soluciones controlaban el crecimiento bacteriano. Sin embargo, existen pocas investigaciones que comparen el efecto antimicrobiano para el control de *biofilm* dental en pilares de cicatrización entre dos o más fármacos. En este sentido, como la clorhexidina es utilizada como gold estándar pero posee muchos efectos secundarios, la tetraciclina podría ser una buena alternativa con menores efectos secundarios y mejores efectos biológicos para el control del *biofilm* dental. El objetivo de la presente investigación es comparar el efecto antimicrobiano de la tetraciclina en gel al 2% y de la clorhexidina en gel al 0,12% sobre el *biofilm* dental de pilares de cicatrización en implantes dentales.

Métodos

El presente estudio es un estudio experimental en laboratorio de corte transversal. El tamaño de la muestra por conveniencia fue de 25, la muestra fue recolectada de pilares de cicatrización de implantes dentales de 19 pacientes que acudieron a la Clínica de Posgrado de Periodoncia e Implantología de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en el período de julio a diciembre del año 2019. El estudio fue aprobado por el Comité Institucional de Ética e Investigación del Instituto de Medicina Tropical “Daniel Alcides Carrión” de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos con código CIEI 2019-010.

Los criterios de exclusión fueron: pacientes medicados o que hayan recibido medicación de tetraciclina por alguna patología sistémica o local hasta 3 meses antes de la recolección de la muestra, pacientes que estén usando cremas dentales o colutorios a base de clorhexidina hasta 3 meses antes de la recolección de la muestra, pacientes a los que se les hayan removidos los pilares de cicatrización con anterioridad y pacientes gestantes.

Los criterios de inclusión fueron: pacientes entre 20 a 85 años de edad, pacientes portadores de pilares de cicatrización de implantes dentales que no hayan sido removidos anteriormente.

El estudio, registro de datos y resultados se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Se emplearon las siguientes variables: tetraciclina en gel al 2% (Farmacia Universal, Lima, Perú), clorhexidina en gel al 0,12% (control positivo) (Perioaid, Dentaïd, España), agua destilada (control negativo) y la actividad antimicrobiana que tuvo como indicador el diámetro de halo de inhibición expresado en milímetros.

Técnica y procedimientos de obtención de la información. Antes de la toma de la muestra del *biofilm* dental se le informó al paciente sobre la investigación y este decidió libremente participar en el estudio firmando un consentimiento informado.

Con respecto a la obtención de la muestra, el *biofilm* dental fue tomado solo una vez de la parte del pilar de cicatrización que corresponde a la zona en contacto con el surco periimplantario, aproximadamente 1 a 2 mm en contacto con la mucosa periimplantaria (Figura 1). La muestra de *biofilm* dental se tomó mediante un hisopo esterilizado en autoclave (Figura 2). Luego se colocó con mucho cuidado en un medio de transporte BHL (Merck Alemania), y fue trasladado de inmediato para su cultivo al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. La siembra de la muestra en las placas Petri fue inmediata, no hubo incubación previa y se utilizó la muestra total sin diluir. La toma de

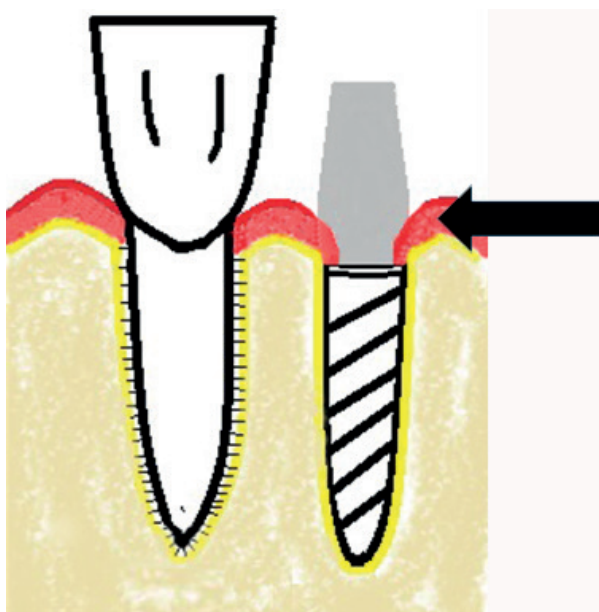


Figura 1. Dibujo donde se muestra señalado el lugar del pilar de cicatrización de donde se tomó la muestra, entre 1 a 2 mm del pilar de cicatrización

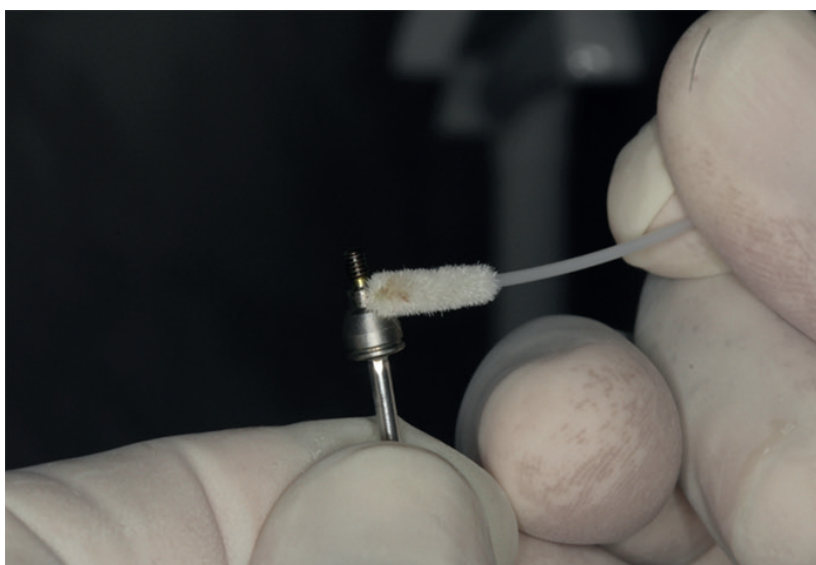


Figura 2. Toma de muestra del *biofilm* del pilar de cicatrización

muestra, manipulación, procesamiento y eliminación del *biofilm* dental fue realizada tomando en cuenta todas las recomendaciones hechas por el Laboratorio de Microbiología.

El medio de cultivo empleado fue agar sangre Schaedler preparado con sangre estéril bovina (Instituto Nacional de Salud, Lima Perú). La muestra de *biofilm* dental en caldo BHL fue homogenizada y luego sembrada, sin dilución en placas Petri en medio de Schaedler utilizando el método de difusión en pozos. Las placas Petri se dividieron en tres sectores y en cada sector se realizó un pocillo con sacabocado estéril. Se realizaron tres pozos de 5 mm de diámetro con un sacabocado estéril, en uno de los pozos se colocó tetraciclina en gel al 2%, en otro clorhexidina en gel al 0,12% y en otro agua destilada, por medio de jeringas estériles 1 ml (Family Doctor®, China) para cada uno respectivamente. Luego se procedió a cerrar las placas Petri incubándolas a 37 °C por 96 horas en garrafas o bolsas selladas y con sobre de Anaerocult® A (Merck, Alemania), para producir la atmósfera anaeróbica, pasado este tiempo se observó el crecimiento bacteriano y se tomó la medida de los halos de inhibición.

Los halos de inhibición fueron medidos por una sola persona y con una sola regla milimetrada transparente (Figura 3) y se identificó con ello los de mayor y menor medida. Para mejorar la visibilidad del halo de inhibición se utilizó como fuente de luz un negatoscopio portátil de luz led debajo de las placas Petri.

Procesamiento de la información. La información fue procesada utilizando el software Microsoft Word® 2016 (Microsoft, USA), Microsoft Excel® 2016 (Microsoft Washington USA) y Stata® 2017 (Stata Corp. Texas, USA) versión 15.1 en español. Para el análisis estadístico se utilizaron medidas de tendencia central, media, valor máximo y mínimo, para la prueba de normalidad

se utilizó la prueba de Shapiro Wilk y para el análisis inferencial la prueba t de Student. Se utilizó un nivel de significancia de 5 %.

Resultados

Se evaluaron 25 muestras de *biofilm* dental recolectadas de pilares de cicatrización de implantes dentales que fueron sembradas y tratadas con tetraciclina en gel al 2%, clorhexidina en gel al 0,12% (control positivo) y con agua destilada (control negativo).

La mayor medida del diámetro de los halos de inhibición de crecimiento del *biofilm* dental fueron hallados en los pocillos que contenían tetraciclina en gel al 2%. En 25 muestras de *biofilm* dental, la medida mínima del diámetro del halo de inhibición de los pocillos con tetraciclina al 2% fue de 21 mm, la máxima de 51 mm y la media 35 mm \pm 7,80 mm. En los pocillos con clorhexidina en gel al 0,12% la medida mínima del diámetro del halo de inhibición fue de 10 mm, la máxima de 17 mm, y la media 12,84 mm \pm 1,84 mm. No se encontró halo de inhibición en el pocillo de agua destilada por lo que la medida del diámetro del halo de inhibición fue cero (Tabla 1).

Luego de comprobar que las variables tenían distribución normal, se eligió la prueba de t de Student, para el análisis inferencial, y se encontró una diferencia significativa (Tabla 2).

Discusión

El uso de fármacos para el control del *biofilm* dental es parte importante para prevenir la aparición de enfermedades periimplantarias como son la mucositis o periimplantitis^{5,6} dado que así el implante se coloque sumergido es invadido por el *biofilm* dental¹⁷. La clorhexidina es el fármaco más utilizado para el control del *biofilm* dental pero no quiere decir que sea la mejor alternativa,

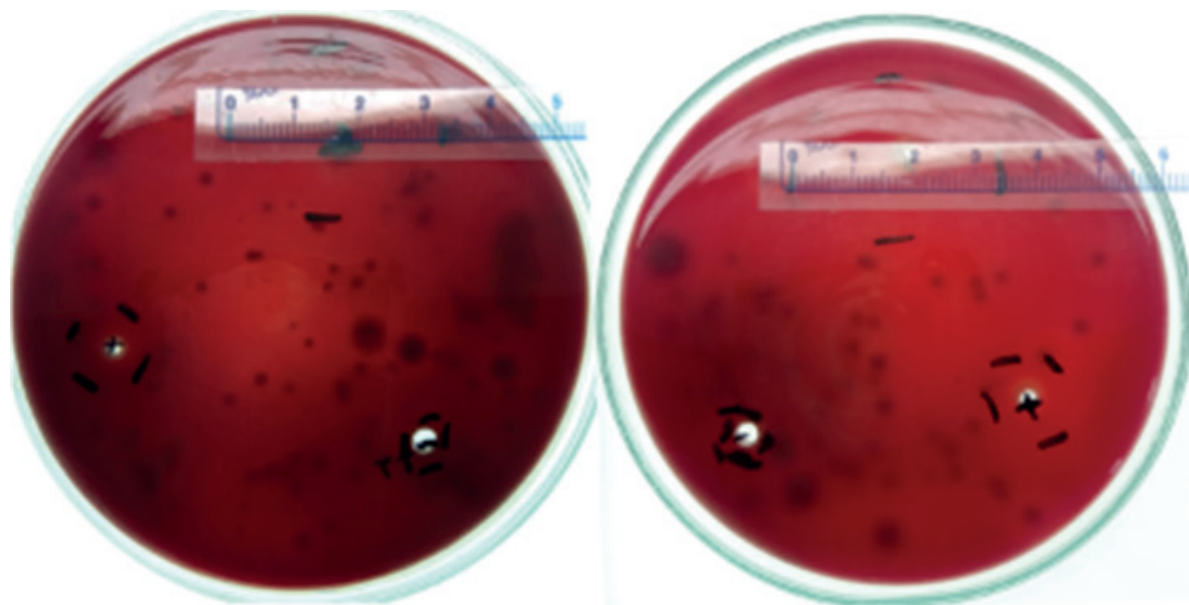


Figura 3. Medida de halos de inhibición con regla milimetrada

Tabla 1. Medidas en mm de halos de inhibición de fármacos sobre el *biofilm* dental

Variable	n	Máximo	Mínimo	Media	D.E.*
Tetraciclina al 2%	25	51	21	35	7,80
Clorhexidina al 0,12%	25	17	10	12,84	1,84
Agua destilada	25	0	0	0	0

*D.E.= Desviación estándar

Tabla 2. Pruebas de diferencias significativas y probabilidad entre las medidas de halos de inhibición

Variable	n	Media	*E.S.	†D.E.	‡I.C. 95 %	p
Tetraciclina	25	35	1,56	7,80	31,78 38,22	0,0001
Clorhexidina	25	12,84	0,37	1,84	12,08 13,60	
Combinado	50	23,92	1,77	12,52	20,36 27,48	
Diferencia		22,16	1,60		18,94 25,38	

Prueba t de Student

*E.S. = Error estándar. †D.E. = Desviación estándar. ‡I.C. = Intervalo de confianza

puede ocasionar efectos locales secundarios como tinción de dientes, encía y mucosa, tinción de restauraciones, cambios en el gusto, cálculos dentales⁵, y afecta la fisicoquímica del titanio lo que impide una respuesta biológica adecuada a la superficie del implante⁷. La tetraciclina es también usada para el control del *biofilm* dental y no se han encontrado efectos locales secundarios⁵ más bien efectos beneficiosos como su potencial osteogénico en estudios en laboratorio^{8,9}.

El presente estudio, en laboratorio, evaluó el efecto antimicrobiano de la tetraciclina en gel al 2% y de clorhexidina en gel al 0,12% sobre el *biofilm* dental presente en el surco periimplantario en pilares de cicatrización de implantes dentales, encontrándose que ambos fármacos son eficaces contra dicho *biofilm* dental puesto que disminuyeron el crecimiento bacteriano. Similares resultados sobre el efecto antimicrobiano sobre el *biofilm* dental con tetraciclina han sido reportados en algunos estudios^{6,10-12} y también con clorhexidina^{13-15,18}. Las diferentes concentraciones de tetraciclina como 1%, 2% y 2,5% usadas por Pereira *et al.*¹⁰ tuvieron efecto antimicrobiano sobre el *biofilm* dental similares al presente estudio, pero sobre cepas específicas como son *Escherichia coli*, *Streptococcus sanguinis*, *Fusobacterium nucleatum* y *Prevotella nigrescens*, encontrando medidas de los diámetros de los halos de inhibición de 63,09 mm en promedio. Shahi *et al.*¹¹ utilizaron concentraciones de tetraciclina de 5%, 10% y 15% sobre bacterias específicas del *biofilm* dental de enfermedad periodontal como son *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* y *Porphyromonas gingivalis*, encontrando que la *Prevotella intermedia* fue la bacteria que obtuvo mayor resistencia y que todas las concentraciones inhibieron la formación bacteriana. Sin embargo, la tetraciclina a concentración de 5% sólo inhibió al *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, dato importante porque esta bacteria es una de las más agresivas de la colonización bacteriana en las enfermedades periodontales y periimplantarias¹⁹. Así mismo, Setiawati⁶ reportó sobre el efecto del gel de

tetraciclina a diferentes concentraciones frente al *biofilm* dental subgingival extraído de bolsas periodontales de 5 a 7 mm. En este estudio todas las concentraciones de tetraciclina en gel tuvieron efecto antimicrobiano inhibiendo el crecimiento del *biofilm* dental. Por otro lado, las diferentes concentraciones de clorhexidina usadas no han tenido diferencias significativas en el control del *biofilm* dental tal como lo indica el estudio de Franco *et al.*¹⁴.

El uso de la clorhexidina puede ser efectivo para controlar *biofilm* dental supragingival o por fuera del surco perimplantario, pero no es tan efectivo su uso para desinfección o eliminación del *biofilm* dental dentro del surco periimplantario, donde existen diferentes cepas bacterianas más resistentes¹. Paolantonio *et al.*¹⁵ utilizaron clorhexidina en gel al 1% en la parte interna de los implantes dentales y realizaron controles a los 6 meses de instalados los pilares y coronas, encontrando que los parámetros clínicos como sangrado e inflamación se mantenían estables pero que había una disminución en el recuento bacteriano comparado al inicio. Bressan *et al.*¹⁸ utilizaron enjuagatorios de clorhexidina en un grupo de pacientes con pilares de cicatrización durante 7 días logrando disminuir el crecimiento bacteriano. Además, la clorhexidina puede provocar alteraciones en la composición del titanio lo cual daría como resultado un comportamiento inadecuado de los tejidos blandos en la cicatrización en la superficie del implante⁷, tiene efectos secundarios locales⁵, mientras que la tetraciclina no tiene efectos secundarios locales y tiene efectos osteogénicos en laboratorio^{8,9}.

En conclusión, por los valores encontrados y siendo la mayor medida de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano del *biofilm* dental de los pilares de cicatrización de implantes dentales, de la tetraciclina en gel al 2% comparado a la clorhexidina en gel al 0,12% se considera que la tetraciclina en gel al 2% es una mejor alternativa como fármaco antimicrobiano para el control de este *biofilm* dental (Figura 4).

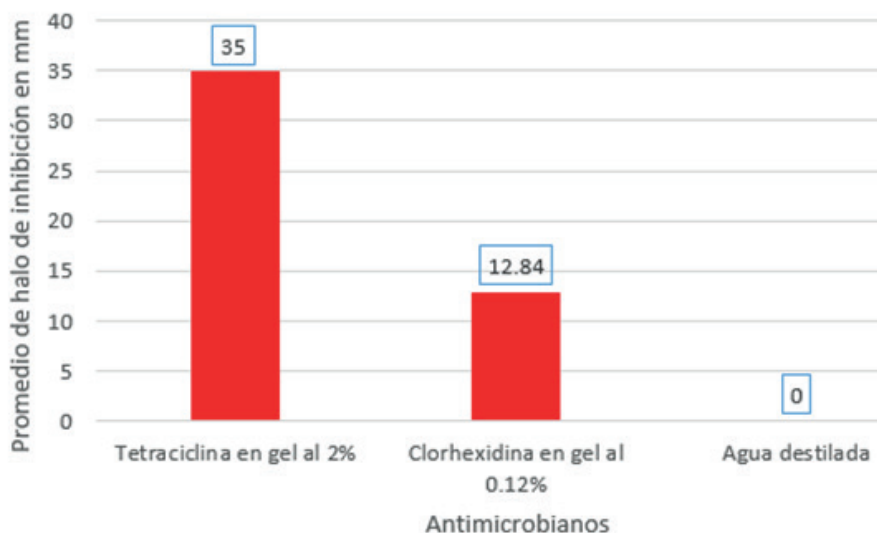


Figura 4. Comparación de promedios de halos de inhibición de *biofilm* dental con tetraciclina en gel al 2% y clorhexidina en gel al 0,12%

En este estudio, los resultados del efecto de la clorhexidina son menores porque se trata de *biofilm* dental establecido, maduro, mayor a 21 días y no *biofilm* dental inicial, en el cual la clorhexidina podría tener mayor efecto antimicrobiano²⁰ comparado con la tetraciclina, por lo que se recomienda realizar estudios aplicando ambos fármacos al *biofilm* dental inicial.

Referencias bibliográficas

- Colombo APV, Tanner ACR. The Role of Bacterial *Biofilms* in Dental Caries and Periodontal and Peri-implant Diseases: A Historical Perspective. *J Dent Res*. 2019;98(4):373–85.
- García Linares S, Bravo F, Montalvo R, Bardales G, Rios K. Acumulación de placa bacteriana en dos diferentes tipos de hilos de sutura en cirugía periodontal. *Vis Dent* 2008;11(4):453–6.
- Schwarz F, Derks J, Monje A, Wang HL. Peri-implantitis. *J Periodontol*. 2018;89(June 2016):S267–90.
- Fürst MM, Salvi GE, Lang NP, Persson GR. Bacterial colonization immediately after installation on oral titanium implants. *Clin Oral Implants Res*. 2007;18(4):501–8.
- Chye RML, Perrotti V, Piattelli A, Iaculli F, Quaranta A. Effectiveness of Different Commercial Chlorhexidine-Based Mouthwashes after Periodontal and Implant Surgery: A Systematic Review. *Implant Dent*. 2019;28(1):74–85.
- Setiawati EM. The effectiveness of 0.5–0.7% tetracycline gel to reduced subgingival plaque bacteria. *Dent. J. (Majalah Kedokt. Gigi)* 2008;41(3):114.
- Kotsakis GA, Lan C, Barbosa J, et al. Antimicrobial Agents Used in the Treatment of Peri-Implantitis Alter the Physicochemistry and Cytocompatibility of Titanium Surfaces. *J Periodontol*. 2016;87(7):809–19.
- Bottino MC, Münchow EA, Albuquerque MTP, et al. Tetracycline-incorporated polymer nanofibers as a potential dental implant surface modifier. *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl Biomater*. 2017;105(7):2085–92.
- Davidson H, Poon M, Saunders R, Shapiro IM, Hickok NJ, Adams CS. Tetracycline tethered to titanium inhibits colonization by Gram-negative bacteria. *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl Biomater*. 2015;103(7):1381–9.
- Pereira L, Carneiro T, Davi L, Prudente M, Martins C, Penatti M. Microbiological Effectiveness of Anti-Bacterial Agents Used Inside Implants. *J Dent Oral Disord*. 2017;4(3):1065.
- Shahi RG, Albuquerque MTP, Münchow EA, Blanchard SB, Gregory RL, Bottino MC. Novel bioactive tetracycline-containing electrospun polymer fibers as a potential antibacterial dental implant coating. *Odontology*. 2017;105(3):354–63.
- Fortes C, Babu J, Tipton D, Hottel TL. Assessment of the Effect of Chemical Agents Used in Dentistry on the Removal of *Porphyromonas gingivalis* and *Escherichia coli* from Sandblasted Acid-Etched Titanium Dental Implants: An In Vitro Study. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 2015;30(2):299–307.
- Kumar A, Khan RN, Jan SM, Behal R. Effects Of Scaling And Root Planing And 0.2 Chlorhexidine Rinse On Clinical And Microbiological Parameters In Generalised Chronic Periodontitis– A Clinico - Microbiological Study. *Ann Int Med Dent Res*. 2018;4(4):29–35.
- Franco Neto CA, Parolo CCF, Rösing CK, Maltz M. Comparative analysis of the effect of two chlorhexidine mouthrinses on plaque accumulation and gingival bleeding. *Braz Oral Res*. 2008;22(2):139–44.
- Paolantonio M, Perinetti G, D'Ercole S, et al. Internal Decontamination of Dental Implants: An In Vivo Randomized Microbiologic 6-Month Trial on the Effects of a Chlorhexidine Gel. *J Periodontol*. 2008;79(8):1419–25.

16. Lorenz K, Bruhn G, Heumann C, Netuschil L, Brex M, Hoffmann T. Effect of two new chlorhexidine mouthrinses on the development of dental plaque, gingivitis, and discolouration. A randomized, investigator-blind, placebo-controlled, 3-week experimental gingivitis study. *J Clin Periodontol.* 2006;33(8):561–7.
17. De Barros Lucena G, de Molon R, Moretti A, Shibli J, Rego D. Evaluation of Microbial Contamination in the Inner Surface of Titanium Implants Before Healing Abutment Connection: A Prospective Clinical Trial. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2018;33(4):853–62.
18. Bressan E, Tessarolo F, Sbricoli L, Caola I, Nollo G, Di Fiore A. Effect of chlorhexidine in preventing plaque biofilm on healing abutment: A crossover controlled study. *Implant Dent.* 2014;23(1):64–8.
19. Lee HA, Lee HA, Song Y, Na HS, Chung J. Role of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*-induced autophagy in inflammatory response. *J Periodontol.* 2020;91(12):1682–93.
20. Vitkov L, Hermann A, Krautgartner WD, et al. Chlorhexidine-induced ultrastructural alterations in oral biofilm. *Microsc Res Tech.* 2005;68(2):85–9.

