



## Efecto clínico y antibacteriano de la *Copaifera reticulata* como apoyo al tratamiento de la periodontitis en diabéticos tipo 2

Donald Ramos-Perfecto,\* Américo Castro Luna,\* Hilda Moromi Nakata,\*  
Elba Martínez Cadillo,\* Hugo Arbañil Huaman,§ Dante Gamarra Gonzales,§ Rafael Chucos Ortiz,<sup>¶</sup>  
Jorge Villavicencio Gastelú,\* Darío Dávila Paredes<sup>||</sup>

\* Docente de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

§ Médico-Endocrinólogo del Servicio de Endocrinología del Hospital Dos de Mayo, Lima, Perú.

¶ Licenciado en Enfermería del Servicio de Endocrinología del Hospital Dos de Mayo, Lima, Perú.

|| Ingeniero Forestal Asistente del Herbario Amazonense de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Loreto, Perú.

### RESUMEN

**Introducción:** en la actualidad el uso de productos naturales son una opción en el tratamiento de diversas enfermedades, como bien podría ser la oleoresina de copaiba, que presenta propiedades que podrían ser usadas como un coadyuvante en el tratamiento de la periodontitis. **Objetivo:** determinar el efecto clínico y antibacteriano de la *Copaifera reticulata* (*C. reticulata*) «copaiba» como apoyo a la terapia periodontal no quirúrgica (TPNQ) en el tratamiento de la periodontitis en pacientes diabéticos tipo 2. **Material y métodos:** se identificaron 40 zonas homólogas con periodontitis en las hemiarquadas del maxilar superior o inferior de 20 pacientes diabéticos tipo 2, registrándose las variables clínicas: profundidad al sondaje (PS), nivel de inserción clínica (NIC), sangrado al sondaje (SS) y color de encía (CE); también se tomaron muestras de biofilm subgingival y de sangre, para el recuento bacteriano y la determinación de la hemoglobina glucosilada (HbA1c), respectivamente. Se evaluaron dos zonas homólogas por paciente, formando un grupo control de 20 zonas con periodontitis, el cual recibió TPNQ más clorhexidina y un grupo de estudio de 20 zonas con periodontitis que recibió TPNQ más *C. reticulata*. Los valores obtenidos fueron procesados mediante las pruebas estadísticas de Wilcoxon y Fisher. **Resultados:** la PS tuvo una diferencia de la comparación entre los grupos control y estudio de  $2.0 \pm 0.79$  mm y  $2.05 \pm 0.89$  mm, respectivamente. Para el NIC los valores de la diferencia de comparación entre los grupos control y estudio fue de  $2.35 \pm 0.93$  mm y  $2.05 \pm 0.58$  mm, respectivamente, no encontrando diferencias estadísticas significativas en ambos indicadores ( $p > 0.05$ ). El SS se redujo en 95 y 90% en el grupo control y de estudio. En

relación al recuento bacteriano este mostró reducción en ambos grupos, observándose que el grupo de estudio tuvo una menor cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC), no encontrando diferencias estadísticas significativas ( $p > 0.05$ ). **Conclusiones:** la *C. reticulata* como apoyo a la TPNQ tuvo un similar comportamiento que la clorhexidina, obteniéndose efectos similares en los indicadores clínicos y microbiológicos.

**Palabras clave:** *Copaifera*, antibacteriano, periodontitis, diabetes mellitus tipo 2.

### Abreviaturas:

CE = color de la encía.  
DT2 = diabetes tipo 2.  
HbA1c = hemoglobina glucosilada.  
NIC = nivel de inserción clínica.  
PS = profundidad al sondaje.  
SS = sangrado al sondaje.  
TPNQ = terapia periodontal no quirúrgica.  
UFC = unidades formadoras de colonias.

### INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus es una enfermedad no infecciosa que forma parte de las patologías de desorden metabólico, caracterizada principalmente por una hiperglicemia, acompañada de una deficiente producción y/o accionar de la insulina.<sup>1</sup> En el mundo 425 millones de personas tiene diabetes;<sup>2</sup> 50% no han sido diagnosticados. La prevalencia se ha triplicado en el mundo entre el 2006 y 2017.<sup>1</sup> La prevalencia como el número de casos nuevos sigue creciendo en todo el planeta. En los Estados Unidos 30.3 millones de adultos tenían diabetes en el año 2017, de los cuales 23.1 millones fueron diagnosticados y los 7.2 millones restantes no estaban diagnosticados.<sup>1</sup> En el Perú la prevalencia de la diabetes en adultos es de 6.8 a 7.2%, teniendo diferencias según las regiones: costa 8.2%, sierra 4.5% y selva 3.5%.<sup>3</sup> De los tipos de diabetes que se pue-

Recibido: Junio 2020. Aceptado: Mayo 2021.

**Citar como:** Ramos-Perfecto D, Castro LA, Moromi NH, Martínez CE, Arbañil HH, Gamarra GD et al. Efecto clínico y antibacteriano de la *Copaifera reticulata* como apoyo al tratamiento de la periodontitis en diabéticos tipo 2. Rev Odont Mex. 2022; 26 (1): 19-31.

© 2022 Universidad Nacional Autónoma de México, [Facultad de Odontología]. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

den presentar, las más frecuentes son; diabetes tipo 2 (DT2), diabetes tipo 1 y diabetes gestacional, siendo la DT2 la que se presenta en más de 90% de los casos.

La diabetes mellitus es una gran carga para el sistema del cuidado de la salud en el Perú, ya que presenta un crecimiento en alza que genera mortalidad, morbilidad y discapacidad en las personas, con una prevalencia en crecimiento de dos nuevos casos por cada cien personas al año.<sup>4</sup> En el Perú la diabetes es la octava causa de muerte, la sexta generadora de ceguera por retinopatía diabética, la primera causa de amputación no traumática de miembros inferiores. También es factor de riesgo para la presentación de formas severas de periodontitis, causante de la pérdida de la pieza dentaria.<sup>5</sup>

En relación a la periodontitis, ésta es considerada la sexta complicación más común en el diabético<sup>5</sup> con una bidireccionalidad en el origen y desarrollo de la enfermedad con la diabetes, si bien es cierto que la periodontitis se caracteriza por una disbiosis a nivel del surco periodontal, donde bacterias anaerobias Gram negativas tiene una gran relevancia para su presentación; son factores importantes para su origen la susceptibilidad del huésped, así como factores sistémicos como la diabetes. Es así que varios estudios han podido confirmar la asociación de periodontitis en pacientes diabéticos, llegando a determinar mayor prevalencia de bolsa periodontal, pérdida de inserción clínica, incremento en el sangrado, pérdida de dentición, entre otras.<sup>6-10</sup>

El tratamiento de la periodontitis se basa en la remoción mecánica del biofilm subgingival, biopelícula compuesta principalmente por una flora bacteriana, donde los complejos rojo y naranja mencionados por Socrasky<sup>11</sup> son los más agresivos. La remoción de esta biopelícula, reduciéndola a una mínima expresión, está relacionada con mejoras clínicas: disminución de la bolsa periodontal, ganancia de inserción, reducción o ausencia de sangrado. Sumado a esta fase inicial de remoción, varios investigadores han propuesto como apoyo el uso de antimicrobianos, sistémicos o locales, que mejoren las condiciones del periodonto.<sup>12-19</sup> Pero estos beneficios no sólo se dan en la periodontitis, sino también en las condiciones del diabético tipo 2, principalmente al reducir el nivel de hemoglobina glucosilada (HbA1c) en los pacientes en un rango de 1 a 2%.<sup>13,14,17,18</sup>

Respecto a los productos de apoyo al tratamiento de la periodontitis, son varios los antimicrobianos usados; pero bajo una visión más innovadora, los productos naturales son una muy buena opción. Ya sea en presentación de extracto, aceite esencial u oleoresina, presentan principios activos antimicrobianos contra bacterias periodontopatógenas; así, productos

como el té verde,<sup>20</sup> tara,<sup>21</sup> copaiba,<sup>22</sup> podrían ser propuestos como coadyuvantes al tratamiento. La *Copaifera reticulata* (*C. reticulata*) «copaiba», también llamada aceite de palo de árbol, es un producto extraíble por perforación de un árbol del género *Copaifera*; este aceite u oleoresina ha evidenciado varias propiedades farmacológicas: antiinflamatorio,<sup>23</sup> cicatrizante,<sup>24</sup> antimicrobiano,<sup>25</sup> entre otras. Su propiedad principalmente antibacteriana podría reducir la flora bacteriana patógena que persiste luego de la remoción mecánica del biofilm, por lo que podría ser la opción de apoyo a la terapia periodontal no quirúrgica (TPNQ). La *C. reticulata* presenta en su composición sesquiterpenes como el beta-cariofileno, compuesto químico que estaría siendo el principal componente activo de carácter antibacteriano.<sup>26</sup> La propiedad antibacteriana de la *C. reticulata* ha sido demostrada en estudios realizados por diferentes investigadores.<sup>22,27-31</sup>

Conociendo los beneficios de un producto natural como la *C. reticulata*, así como su fácil manejo y aplicación, este estudio tuvo como objetivo determinar el efecto clínico y antibacteriano de la *C. reticulata* «copaiba» como apoyo al tratamiento de la periodontitis en pacientes diabéticos tipo 2.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio fue un ensayo clínico, comparativo, prospectivo, a boca partida. Incluyó un grupo de 20 pacientes diabéticos tipo 2 con periodontitis. Éstos fueron captados en el Servicio de Diagnóstico de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y en el Consultorio del Pie Diabético del Hospital Dos de Mayo, Lima, Perú. Todos los participantes del estudio tenían que cumplir con los criterios de selección. *Criterios de inclusión:* pacientes diabéticos tipo 2 con periodontitis. *Criterios de exclusión:* a) participante que hubiera recibido tratamiento periodontal o antimicrobiano 60 días antes del inicio del estudio, b) pacientes edéntulos o con ausencia de piezas dentarias homólogas en diferentes hemiarquadas, c) fumadores, d) pacientes con enfermedad autoinmunitaria, e) menores de 18 años, f) pacientes alérgicos a las sustancias a evaluar y g) pacientes que no firman su consentimiento informado. El estudio fue evaluado y aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina San Fernando de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, con número de acta 0288 y código de proyecto No. 0369. También, al tener participantes captados del Consultorio del Pie Diabético del Hospital Dos de Mayo, la investigación fue evaluada por su Comité de Ética, aprobándolo y dándole el registro No. 004270.

Del grupo seleccionado, se evaluó el periodonto de las piezas homólogas seleccionadas presentes en diferentes hemiarquadas, ya fuese en el maxilar o en la mandíbula, que presentarían periodontitis. Se evaluaron en total 40 zonas, distribuidas en un grupo control de 20 que recibió TPNQ más clorhexidina al 0.12% y en el grupo de estudio de 20 que recibió TPNQ más *C. reticulata*. Se evaluaron variables o indicadores de la enfermedad como: profundidad al sondaje (PS), nivel de inserción clínica (NIC), sangrado al sondaje (SS) y color de la encía (CE), al inicio del estudio; después de efectuar la TPNQ se evaluaron los cambios en el grupo control y en el grupo de estudio. Se obtuvieron registros de estos indicadores por el desarrollo de un periodontograma al inicio y a los dos meses después del tratamiento. También se tomaron muestras de biofilm subgingival al inicio y a los dos meses, para evaluar los cambios en la flora bacteriana después del tratamiento.

**Obtención de la oleoresina de *Copaifera reticulata*.** La *C. reticulata* se obtuvo por perforación del tronco de los árboles del género *Copaifera* y de la especie *reticulata*, la cual se identificó taxonómicamente tomando como muestra la hoja del árbol y llevándola a ser analizada en el Herbario Amazonense de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP), situada en Iquitos-Loreto-Perú. Esta muestra de oleoresina fue obtenida en el distrito de Santiago de Estrecho, en la provincia de Putumayo, frontera con Colombia. Este árbol también crece y desarrolla de forma natural en las zonas de Punchana y Remanso. Una vez identificada, la *C. reticulata* fue depositada en recipientes de vidrio ámbar y llevada a un proceso de esterilización convencional mediante autoclave, quedando lista para su aplicación como apoyo al tratamiento de la periodontitis.

**Desarrollo y evaluación de la terapia periodontal en el paciente diabético tipo 2.** Previo al diagnóstico y registro de las lesiones periodontales en el paciente, el personal odontológico fue calibrado en el reconocimiento de los indicadores de la periodontitis, elaboración del periodontograma y toma de muestra del biofilm subgingival. Tratando así, de que sus mediciones fueran lo más fidedignas a lo encontrado. Respecto a la terapia periodontal, de las cuarenta zonas identificadas, éstas fueron divididas en dos grupos de 20 zonas homólogas, en diferentes hemiarquadas. Se realizó en un inicio el registro de los indicadores: PS, NIC, SS y CE, en una ficha diseñada para el estudio.

Una vez obtenido los datos de inicio, se realizó la TPNQ, basada en raspado y alisado radicular de las zonas identificadas en el grupo control y en el de estudio. Este procedimiento se realizó con raspadores y

curetas periodontales Gracey (Hu-Friedy, EEUU). Una vez realizado este procedimiento, se apoyó el tratamiento con clorhexidina al 0.12% en el grupo control y con *C. reticulata* en el grupo de estudio. La cantidad del producto de apoyo fue de 10  $\mu$ L llevados al surco periodontal por medio de un microbrush (Micro-applicators, China) de diámetro 1.5 mm. La aplicación de los productos se realizó a la primera, segunda, tercera y cuarta semanas, así como a los dos meses después de la TPNQ. En estas semanas, fueron evaluados visualmente los cambios de algunos de los indicadores de la periodontitis, así como el control de placa dental detectado por el paciente.

Para evaluar la condición del control de la diabetes del paciente, se tomaron dos muestras de sangre (una al inicio y otra al final del estudio) para determinar su hemoglobina glucosilada (HbA1c), prueba de referencia para determinar el estado de la diabetes en el paciente.

**Desarrollo y evaluación del estudio microbiológico de las bolsas periodontales en los pacientes diabéticos tipo 2.** Se identificaron bolsas periodontales en las piezas homólogas con periodontitis, 20 en el grupo control y 20 piezas en el grupo de estudio. Estas muestras se tomaron en dos momentos: al inicio y al final del estudio. Para este procedimiento, se realizó primero el aislamiento relativo de la zona seleccionada para tomar la muestra, se retiró la placa supragingival de la pieza con periodontitis, luego se colocaron en el surco periodontal dos conos de papel No. 40 por un periodo de tiempo de 40 a 60 segundos; una vez pasado este lapso, se retiraron los conos de papel y se llevaron a un medio de transporte BHI (infusión cerebro corazón), para luego ser trasladado al laboratorio para su procesamiento. En el laboratorio se realizaron diluciones de la muestra a  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ; de esta última dilución, se tomaron 100  $\mu$ L para siembra en el medio agar Schaedler o agar sangre al 5% suplementado con vitamina K y hemina. Este medio fue incubado a 37 °C en condiciones de anaerobiosis durante siete días. Pasado este tiempo, se realizó un recuento de las unidades formadoras de colonias (UFC). Este procedimiento de toma de muestra y conteo de UFC se realizó al inicio y final del estudio en ambos grupos.

**Análisis estadístico.** Los resultados fueron analizados en el programa estadístico SPSS versión 21. Las variables clínicas y microbiológicas fueron evaluadas, comparando el antes y después de cada grupo. Las diferencias de medias de las variables cuantitativas se analizaron con la prueba de Wilcoxon. La variable color de encía se analizó con la prueba  $\chi^2$  de McNemar.

Las variables cualitativas, sangrado al sondaje y color de encía se dicotomizaron para facilitar el análisis diferencial entre los grupos control y de estudio,

por medio de la prueba exacta de Fisher. Todas las pruebas fueron evaluadas con un nivel de significancia del 0.05 ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 1:** Características generales de los pacientes diabéticos tipo 2 con periodontitis.

*General characteristics of type 2 diabetic patients with periodontitis.*

Variables	n (%)
Sexo	
Femenino	9 (45.0)
Masculino	11 (55.0)
Edad [años]*	62.3 ± 9.5
Años de diabético*	8.5 ± 4.5
IHO % inicial*	72.7 ± 14.2
IHO % final*	30 ± 4.7
HbA1c % inicial*	7.3 ± 1.4
HbA1c % final*	6.2 ± 0.9
Control de glucosa [mg/dL]*	144.2 ± 64.0
Diagnóstico de periodontitis	
Leve	0 (0)
Moderada	8 (40.0)
Severa	12 (60.0)
Medicación <sup>§</sup>	
Ninguna	1 (5.0)
Metformina	14 (70.0)
Glibenclamida	4 (20.0)
Insulina	6 (30.0)

IHO = índice de higiene oral.

\* Datos expresados en media ± desviación estándar / Data expressed as mean ± standard deviation. <sup>§</sup> Más de una posible respuesta / More than one possible answer.

## RESULTADOS

En general se pudo determinar el efecto de apoyo de la *C. reticulata* en la TPNQ, obteniendo mejoras en los aspectos clínicos y microbiológicos estudiados. Dentro de las características generales, se identificó que 55% eran del sexo masculino; la edad promedio fue de 62 años y el periodo de padecimiento de la diabetes de entre ocho y nueve años. El 60% presentó periodontitis severa y el 40% periodontitis moderada. La HbA1c de estos pacientes tuvo una media de 7.3% al inicio del estudio y de 6.2% al final del estudio. Las características generales de los pacientes con DT2 y periodontitis se detallan en la *Tabla 1*. Pasado el periodo de estudio donde se aplicaron los productos de apoyo a la TPNQ, se pudo comparar las variables clínicas y microbiológicas.

En los pacientes del grupo control destacó que la PS de  $4.25 \pm 0.44$  disminuyó a  $2.25 \pm 0.85$  y el NIC de inicio  $5.90 \pm 2.08$  se redujo a  $3.55 \pm 2.24$ . Respecto al sangrado, éste fue evaluando según el índice de hemorragia de la papila según Saxer y Muhlemann; en un principio se registraron grados 1, 2, 3 y 4, para pasar después a encontrarse sólo el grado 1, que es la representación de un punto de sangrado al sondaje de la papila. En cuanto al CE, en el inicio todas las zonas presentaban color rojo, el cual cambió a color

**Tabla 2:** Estadísticos de las variables clínicas y bacterianas del grupo control, comparando el antes y el después al finalizar la investigación.

*Statistics of the clinical and bacterial variables of the control group, comparing the before and after, at the end of the investigation.*

Variables	Antes n (%)	Después n (%)	p
<b>Clínicas</b>			
Profundidad al sondaje [mm]*	4.25 ± 0.44	2.25 ± 0.85	< 0.001 <sup>§</sup>
Nivel de inserción clínica [mm]*	5.90 ± 2.08	3.55 ± 2.24	< 0.001 <sup>§</sup>
Sangrado al sondaje			
No hay sangrado	0 (0)	19 (95.0)	< 0.001 <sup>§</sup>
Un punto	4 (20.0)	1 (5.0)	
Una línea	11 (55.0)	0 (0)	
Un triángulo	4 (20.0)	0 (0)	
Una gota	1 (5.0)	0 (0)	
Color de encía			
Rosado coral	0 (0)	19 (95.0)	0.5 <sup>¶</sup>
Rojo	20 (100.0)	1 (5.0)	
<b>Bacterianas*</b>			
UFC [media ± DE] × 10 <sup>3</sup>	146.30 ± 108.64	48.0 ± 57.62	< 0.001 <sup>§</sup>

\* Datos expresados en media ± desviación estándar / Data expressed as mean ± standard deviation. <sup>§</sup> Wilcoxon. <sup>¶</sup>  $\chi^2$  McNemar. UFC = unidades formadoras de colonias.



**Tabla 3:** Estadísticos de las variables clínicas y bacterianas del grupo de estudio comparando el antes y el después al finalizar la investigación. *Statistics of the clinical and bacterial variables of the study group comparing before and after, at the end of the investigation.*

Variables	Antes n (%)	Después n (%)	p
<b>Clínicas</b>			
Profundidad al sondaje [mm]*	4.50 ± 0.69	2.45 ± 1.19	< 0.001 <sup>§</sup>
Nivel de inserción clínica [mm]*	6.70 ± 3.34	4.55 ± 3.36	< 0.001 <sup>§</sup>
<b>Sangrado al sondaje</b>			
No hay sangrado	0 (0)	18 (90.0)	< 0.001 <sup>§</sup>
Un punto	6 (30.0)	2 (10.0)	
Una línea	11 (55.0)	0 (0)	
Un triángulo	3 (15.0)	0 (0)	
Una gota	0 (0)	0 (0)	
<b>Color de encía</b>			
Rosado coral	0 (0)	18 (90.0)	0.436 <sup>¶</sup>
Rojo	20 (100.0)	2 (10.0)	
<b>Bacterianas*</b>			
UFC [media ± DE] × 10 <sup>3</sup>	146.55 ± 145.08	35.50 ± 31.24	< 0.001 <sup>§</sup>

\* Datos expresados en media ± desviación estándar / Data expressed as mean ± standard deviation. <sup>§</sup> Wilcoxon. <sup>¶</sup>  $\chi^2$  McNemar.  
UFC = unidades formadoras de colonias.

rosado coral en 95%. En el aspecto microbiológico, el recuento de UFC se tuvo en un inicio de 146.30 ( $\pm$  108.64)  $\times$  10<sup>3</sup> UFC y al final se pudo contabilizar en 48.0 ( $\pm$  57.62)  $\times$  10<sup>3</sup>. Tanto los valores clínicos como microbiológico tuvieron diferencia estadística significativa con  $p < 0.001$ , salvo en el caso de CE (Tabla 2).

En relación al grupo de estudio, los resultados indicaron que la PS pasó de 4.5  $\pm$  0.69 al inicio a 2.45  $\pm$  1.19 al final del estudio. El NIC fue de 6.70  $\pm$  3.34 mm al inicio y se redujo a 4.55  $\pm$  3.36 mm al final. El sangrado se identificó en grados 1, 2, 3, obteniéndose al final grado 1 en dos pacientes. El CE tuvo un color rojo en todos los pacientes, pasando al final del estudio a un color rosado coral en 90%. Respecto al recuento bacteriano en UFC al inicio tuvo una media de 146.55 ( $\pm$  145.08)  $\times$  10<sup>3</sup> pasando al final a tener un conteo de 35.50 ( $\pm$  31.24)  $\times$  10<sup>3</sup>. Las variables estudiadas tuvieron un valor  $p < 0.001$ , salvo el CE (Tabla 3).

Al comparar los resultados de las diferencias de las variables de los grupos control y de estudio al término de la investigación, se pudo determinar que la PS fue para el control de 2.0  $\pm$  0.79 mm y para el de estudio 2.05  $\pm$  0.89 mm, no encontrándose diferencias significativas ( $p > 0.05$ ). En el NIC, el grupo control tuvo 2.35  $\pm$  0.93 mm y en el estudio de 2.15  $\pm$  0.58 mm, no registrándose diferencias estadísticas significativas ( $p > 0.05$ ). En relación al sangrado, fue controlado en 90% del grupo de estudio y en 95% del grupo control, no encontrándose diferencias estadísticas significati-

vas entre ellas  $p > 0.05$ . El CE cambió de un color rojo a uno rosado coral en 95% del grupo control y en 90% del grupo de estudio, no habiendo diferencias estadísticas significativas ( $p > 0.05$ ). En relación a la variable microbiológica, las UFC tuvieron un valor promedio de 98.3 ( $\pm$  88.54)  $\times$  10<sup>3</sup> en el grupo control y de 111.05 ( $\pm$  137.07)  $\times$  10<sup>3</sup> para el de estudio, no encontrando diferencias estadísticas significativas  $p = 0.456$  (Tabla 4).

## DISCUSIÓN

La oleorresina de *Copaifera reticulata* ha demostrado tener una variedad de propiedades, entre ellas la de ser un buen antimicrobiano. Esta característica es apoyada por investigadores como Oliveira Dos Santos y su grupo,<sup>27</sup> Mendonca y asociados,<sup>25</sup> Pieri y colaboradores,<sup>29</sup> entre otros, que en sus estudios han demostrado su actividad contra microorganismos Gram positivos, Gram negativos y formas de levaduras, apoyando así a su posible uso como coadyuvante a la TPNQ, generando mejoras en las variables o parámetros clínicos como; PS, NIC, Sangrado, CE. Así también cambios en la flora microbiana presente en el surco gingival alterado.

En relación a la PS, este parámetro clínico tuvo una reducción, tanto en el grupo control como de estudio de 2.0  $\pm$  0.93 mm y 2.05  $\pm$  0.89 mm, respectivamente. Valores que fueron similares al de Famarzi y colaboradores,<sup>14</sup> que en su estudio usaron la TPNQ apoyada con gel de clorhexidina al 1.5%, logrando una reduc-

ción de la PS, en el grupo que recibió este producto en  $1.93 \pm 0.33$  mm. Tsoigny y colaboradores<sup>18</sup> realizaron su estudio con la misma técnica apoyada con iodopovidona al 10%, pudiendo reducir la PS en  $1.1 \pm 0.4$  mm. Duarte y colaboradores,<sup>19</sup> utilizaron como coadyuvante amoxicilina y metronidazol por vía sistémica, logrando reducir en el grupo de estudio 1.11 mm de la PS. Estos estudios respaldan algún beneficio extra al usar algún antimicrobiano como apoyo. También hay investigaciones que no utilizan antimicrobiano de apoyo a la TPNQ, obteniendo resultados menores de reducción de la PS; como el de Palka y colaboradores,<sup>32</sup> que logró una reducción promedio de la PS de 0.9 mm en el grupo de estudio.

En relación al NIC se obtuvo al término del estudio una ganancia de la inserción de  $2.35 \pm 0.93$  mm y de  $2.15 \pm 0.58$  mm en el grupo control y en el de estudio, respectivamente. Estos valores son similares a los obtenidos por Tsoigny y colaboradores<sup>18</sup> quienes, usando el irrigante de iodopovidona al 10% como apoyo a la TPNQ, obtuvieron una ganancia de  $1.3 \pm 0.5$  mm. Famarzi y asociados,<sup>14</sup> teniendo como apoyo al gel de clorhexidina al 1.5%, lograron obtener una ganancia de  $0.87 \pm 0.1$  mm en el NIC. También Duarte y colaboradores,<sup>19</sup> apoyados con el uso de antibióticos por vía sistémica, pudieron obtener una ganancia de 0.86 mm del NIC en el grupo de estudio; estos dos investigadores obtuvieron valores por debajo de 1 mm, marcando una diferencia con los resultados del estudio en este parámetro. Valores por encima de los obtenidos en el estudio realizado son mencionados por Rovai y

colaboradores,<sup>15</sup> quienes en su revisión sistemática sobre el uso local de antimicrobiano como apoyo a la TPNQ, señalan que Martorelli, usando gel de doxiciclina al 10% como apoyo a la TPNQ logra una ganancia de  $3.2 \pm 0.4$  mm en el NIC, en los cuadros de periodontitis de pacientes diabéticos. Valores muy bajos en la ganancia del NIC también son obtenidos por Goel y colaboradores,<sup>17</sup> que al desarrollar solamente la TPNQ en pacientes diabéticos tipo 2 con periodontitis lograron una ganancia del NIC en 0.3 mm, cifra muy por debajo de todos los estudios antes mencionados, dando a entender el beneficio que podría tener el uso de un antimicrobiano como apoyo a la TPNQ.

En relación al sangrado, éste se pudo controlar casi en su totalidad, estando ausente tanto en el grupo control como de estudio en 95 y 90%, respectivamente. Resultados similares son obtenidos por Tsoigny y su grupo,<sup>18</sup> quienes, usando como coadyuvante iodopovidona al 10% en la TPNQ, lograron disminuir el índice de sangrado a  $4.2 \pm 4.7\%$ . También Duarte y asociados<sup>19</sup> obtuvieron un control del sangrado, logrando un porcentaje al final de  $10.6 \pm 5.7\%$ . En relación al CE, éste presentó un cambio de color, al rosado coral, en el grupo control y en el de estudio en 95 y 90%, respectivamente. Esta es una variable poco relacionada en las investigaciones, pero de gran presencia en la clínica, no habiendo estudios con quien comparar este parámetro.

Respecto al efecto antibacteriano que tuvo la aplicación de los productos coadyuvantes de la TPNQ, se pudo cuantificar las UFC antes y después del tra-

**Tabla 4:** Estadísticos de comparación de las diferencias de las variables clínicas y bacterianas correspondientes al grupo control y al grupo de estudio al finalizar la investigación.  
*Comparison statistics of the differences in the clinical and bacterial variables corresponding to the control group and the study group at the end of the investigation.*

Variables	Control n (%)	Estudio n (%)	p
<b>Clínicas</b>			
Profundidad al sondaje [mm]*	$2.0 \pm 0.79$	$2.05 \pm 0.89$	0.926 <sup>§</sup>
Nivel de inserción clínica [mm]*	$2.35 \pm 0.93$	$2.15 \pm 0.58$	0.285 <sup>§</sup>
Sangrado al sondaje			
No hay sangrado	19 (95.0)	18 (90.0)	1 <sup>¶</sup>
Con sangrado	1 (5.0)	2 (10.0)	
Color de encía			
Rosado coral	19 (95.0)	18 (90.0)	1 <sup>¶</sup>
Rojo	1 (5.0)	2 (10.0)	
<b>Bacterianas*</b>			
UFC [media $\pm$ DE] $\times 10^3$	$98.3 \pm 88.54$	$111.05 \pm 137.07$	0.456 <sup>§</sup>

\* Datos expresados en media  $\pm$  desviación estándar / Data expressed as mean  $\pm$  standard deviation. <sup>§</sup> Wilcoxon. <sup>¶</sup> Fisher.  
UFC = unidades formadoras de colonias.

tamiento, tanto en el grupo control como de estudio, obteniéndose diferencia de las medias de las UFC, de  $98.3 (\pm 88.54) \times 10^3$  para el grupo control y de  $111.05 (\pm 137.07) \times 10^3$  para el grupo de estudio. Estos resultados indicarían una mayor reducción en el grupo de estudio, que recibió *C. reticulata* más TPNQ. Resultados similares fueron obtenidos por Tamashiro y colaboradores,<sup>12</sup> los cuales evaluaron la flora bacteriana subgingival y los indicadores periodontales de la enfermedad en diabéticos tipo 2 después de realizar la TPNQ, teniendo como apoyo el uso de antibióticos; luego de un periodo de evaluación de dos años, encontraron que el grupo de estudio que recibió antibióticos tuvo una proporción baja de bacterias del complejo rojo 5.5% y el grupo control que no recibió antimicrobiano un valor de 12%.

Un indicador del control metabólico de la diabetes, tomado en cuenta en diversos estudios con pacientes diabéticos, es el resultados de la prueba de la HbA1c, ya que permite conocer el control o descontrol de la condición del paciente con diabetes; este valor debe estar, en el mejor de los casos, por debajo de 7%, por lo que procedimientos que puedan reducir este porcentaje ayudarán al control metabólico de la enfermedad. En relación al estudio, éste efectuó una TPNQ apoyada con productos antimicrobianos locales, consiguiendo una recuperación de los indicadores de salud del periodonto, pero también se pudo obtener una mejora en el valor de la HbA1c; el total de diabéticos tuvieron una media de  $7.3 \pm 1.4\%$  de la HbA1c al inicio del estudio y de  $6.2 \pm 0.9\%$  al finalizarlo, es decir, la HbA1c se redujo en un 1.1%. Este resultado apoyaría la naturaleza bidireccional de la enfermedad diabetes-periodontitis, donde manipulando una de ellas para bien, se puede obtener un beneficio en la otra. En este estudio se mejoró la condición de enfermedad periodontal, obteniendo como consecuencia una mejora en su condición de control de la diabetes. Estos resultados son similares a los referidos por Cuaresma y colaboradores,<sup>13</sup> quienes obtuvieron una reducción de la HbA1c en una media de 0.8%; valores un poco mayores los obtuvieron Tsoigny y colaboradores,<sup>18</sup> quienes usaron como apoyo clorhexidina en la TPNQ en pacientes diabéticos tipo 2 con periodontitis, reduciendo en  $3.0 \pm 2.4\%$  la HbA1c.

Resultados menores en la reducción de la HbA1c fueron reportados por Preshaw y asociados,<sup>6</sup> en su revisión de diabetes como factor de riesgo para la periodontitis, manifestando que la TPNQ estaría relacionada con una reducción de 0.4% de la HbA1c, aproximadamente. Siguiendo esta línea, Saenz y colaboradores,<sup>10</sup> en su revisión con expertos, señalan

que la TPNQ mejora el control de glucemia de los pacientes diabéticos tipo 2, generando una disminución de la HbA1c en un rango de 0.27 a 0.48%.

## CONCLUSIONES

En este estudio se pudo determinar el efecto clínico y antibacteriano de la *C. reticulata* como apoyo a la TPNQ, terapia considerada «estándar de oro» para el tratamiento de la periodontitis, así como el uso de la clorhexidina, agente químico de mayor uso como coadyuvante en el tratamiento de esta enfermedad, que fue utilizada como control. Se puede concluir que los resultados en todos los indicadores periodontales y microbiológicos tuvieron mejoras, restaurando la salud periodontal en el 100% de los pacientes diabéticos tipo 2 con periodontitis. Se propone el posible uso de la copaiba como coadyuvante a la TPNQ, aunque estudios con un mayor número de caso podrían concretar esta propuesta.

## Original research

### Clinical and antibacterial effect of *Copaifera reticulata* to support the treatment of periodontitis in type 2 diabetics

Donald Ramos-Perfecto,\* Américo Castro Luna,\* Hilda Moromi Nakata,\* Elba Martínez Cadillo,\* Hugo Arbañil Huaman,<sup>§</sup> Dante Gamarra Gonzales,<sup>§</sup> Rafael Chucos Ortiz,<sup>¶</sup> Jorge Villavicencio Gastelú,\* Darío Dávila Paredes<sup>||</sup>

\* Docente de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

§ Médico-Endocrinólogo del Servicio de Endocrinología del Hospital Dos de Mayo, Lima, Perú.

¶ Licenciado en Enfermería del Servicio de Endocrinología del Hospital Dos de Mayo, Lima, Perú.

|| Ingeniero Forestal Asistente del Herbario Amazonense de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Loreto, Perú.

#### ABSTRACT

**Introduction:** nowadays the use of natural products are an option in the treatment of various diseases, as could well be copaiba oleoresin, which presents properties that could be used as an adjuvant in the treatment of periodontitis. **Objective:** to determine the clinical and antibacterial effect of *Copaifera reticulata* («copaiba») as support for non-surgical periodontal therapy (NSPT) in the treatment of periodontitis in type 2 diabetic patients. **Material and methods:** 40 homologous zones with periodontitis were identified in the maxillary or mandibular hemiarcs of 20 type 2 diabetic patients, recording the clinical variables: probing depth (PD), clinical insertion level (CIL), bleeding on

probing (BP) and gingival color (GC). Subgingival biofilm and blood samples were also collected for bacterial count and determination of glycosylated hemoglobin (HbA1c), respectively. Two homologous areas per patient were evaluated, forming a control group of 20 areas with periodontitis that received NSPT plus chlorhexidine and a study group of 20 areas with periodontitis that received NSPT plus *C. reticulata*. The obtained values were processed by the statistical tests of Wilcoxon and Fisher. **Results:** the PD had a difference of comparison between the control and study groups of the before and after of  $2.0 \pm 0.79$  mm and  $2.05 \pm 0.89$  mm, respectively. For the CIL, the values of the comparison difference between the control and study groups were  $2.35 \pm 0.93$  mm and  $2.05 \pm 0.58$  mm, respectively, thus no significant statistical differences were found in both indicators ( $p > 0.05$ ). BP was reduced by 95% and 90% in the control and study group. Concerning bacterial count, it was reduced in both groups, therefore, it was observed that the study group had a lower number of colony-forming units (CFU) so no statistically significant differences were found ( $p > 0.05$ ). **Conclusions:** *C. reticulata* as support for NSPT showed similar behavior to chlorhexidine, obtaining similar effects for both clinical and microbiological indicators.

**Keywords:** *Copaifera*, antibacterial, periodontitis, type 2 diabetes mellitus.

#### Abbreviations:

BP = bleeding on probing.  
 CFU = colony-forming units.  
 CIL = clinical insertion level.  
 GC = gingival color.  
 HbA1c = glycosylated hemoglobin.  
 NSPT = non-surgical periodontal therapy.  
 PD = probing depth.  
 T2D = type 2 diabetes.

## INTRODUCTION

Diabetes mellitus is a non-infectious disease that is part of metabolic disorders. It is mainly characterized by hyperglycemia, accompanied by a deficient production and/or action of insulin.<sup>1</sup> Worldwide, 425 million people have diabetes,<sup>2</sup> 50% of whom are undiagnosed, and the prevalence has tripled between 2006 and 2017.<sup>1</sup> Prevalence as the number of new cases continues to grow in the world, in the United States (USA) 30.3 million adults had diabetes in 2017, of which 23.1 million were diagnosed and 7.2 million did not know their diagnosis.<sup>1</sup> In Peru, the prevalence of diabetes in adults is 6.8 to 7.2%, with differences according to regions: coast (8.2%), highlands (4.5%), and jungle (3.5%).<sup>3</sup> Of the types of diabetes that can occur, the most frequent are: type 2 diabetes (T2D), type 1 diabetes, and gestational diabetes being T2D the one which occurs in more than 90% of the cases.

Diabetes mellitus is a great burden for the health care system in Peru, since it is a disease on the rise, generating mortality, morbidity, and disability in

people. Its growing prevalence is demonstrated by the fact that two new cases per one hundred people are identified per year.<sup>4</sup> In Peru, diabetes is the eighth leading cause of death, the sixth leading cause of blindness due to diabetic retinopathy, and the first cause of non-traumatic amputation of lower limbs. It is also a risk factor for the presentation of severe forms of periodontitis, which causes tooth loss.<sup>5</sup>

Regarding periodontitis, it is considered the sixth most common complication in diabetics<sup>5</sup> with bidirectionality in the origin and development of the disease with diabetes. Although periodontitis is indeed characterized by a dysbiosis at the periodontal sulcus level, where the presence of Gram-negative anaerobic bacteria has great relevance, it is also true that the host's susceptibility as well as systemic factors such as diabetes are factors for its origin. Thus, several studies have been able to confirm the association of periodontitis in diabetic patients, determining a higher prevalence of periodontal pockets, loss of clinical insertion, increased bleeding, and loss of teeth, among others.<sup>6-10</sup>

The treatment of periodontitis is based on the mechanical removal of subgingival biofilm, a biofilm composed mainly of bacterial flora, where the red and orange complexes mentioned by Socrasky<sup>11</sup> are the most aggressive. Removal of this biofilm, reducing it to a minimum, is related to clinical improvements such as reduction of the periodontal pocket, attachment gain as well as reduction or absence of bleeding. In addition to this initial removal phase, several researchers have proposed the use of systemic or local antimicrobials to improve periodontal conditions.<sup>12-19</sup> But these benefits not only occur in periodontitis but also in type 2 diabetic conditions, mainly by reduction of the level of glycosylated hemoglobin (HbA1c) in patients in a range of 1 to 2%.<sup>13,14,17,18</sup>

Regarding support products for the treatment of periodontitis, there are several antimicrobials used, but taking a more innovative view, natural products are a very good option. Whether in the form of an extract, essential oil, or oleoresin, they show antimicrobial active principles against periodontopathogenic bacteria, so products such as green tea,<sup>20</sup> tara,<sup>21</sup> and copaiba<sup>22</sup> have been suggested as adjuvant treatments. *Copaifera reticulata* (*C. reticulata*) «copaiba» or also called palo de árbol oil, is a product extractable by perforation of a tree of the *Copaifera* genus. This oil or oleoresin has shown several pharmacological properties such as anti-inflammatory,<sup>23</sup> healing,<sup>24</sup> and antimicrobial,<sup>25</sup> among others. Its antibacterial property may reduce the pathogenic bacterial flora that persists after mechanical removal of the biofilm, so it could be an option to support non-surgical periodontal



therapy (NSPT). *C. reticulata* has sesquiterpenes in its composition, such as beta-caryophyllene, a chemical compound that is the main antibacterial active component.<sup>26</sup> The antibacterial property of *C. reticulata* has been demonstrated in studies carried out by different researchers.<sup>22,27-31</sup>

Knowing the benefits of a natural product such as *C. reticulata*, as well as its easy handling and application, this study aimed to determine the clinical and antibacterial effect of *C. reticulata* «copaiba» as a support treatment for periodontitis in type 2 diabetic patients.

## MATERIAL AND METHODS

The study was a prospective, comparative, split-mouth clinical trial. The participants were a group of 20 type-2 diabetic patients with periodontitis. They were recruited at the Diagnostic Service of the Faculty of Dentistry of the Universidad Nacional Mayor de San Marcos and at the Diabetic Foot Clinic of the Hospital Dos de Mayo, Lima, Peru. All the participants in the study had to meet the selection criteria. The inclusion criteria were: type 2 diabetic patients with periodontitis. As for the exclusion criteria, they were: a) Participants who had received periodontal or antimicrobial treatment 60 days before the start of the study. b) Edentulous patients or patients with absence of homologous teeth in different hemiarcs. c) Smokers. d) Patients with autoimmune disease. e) Patients under 18 years of age. f) Patients allergic to the substances to be evaluated, and g) Patients who did not sign the informed consent. The study was assessed and approved by the Ethics Committee of the San Fernando School of Medicine of the Universidad Nacional Mayor de San Marcos, with certificate number No. 0288 and project code No. 0369. Also, since participants were recruited from the Diabetic Foot Clinic of the Dos de Mayo Hospital, the hospital evaluated the research by its own ethics committee, approving it and giving it a registration number No. 004270.

From the selected group, the periodontium of homologous pieces present in different hemiarcs, either in the maxilla or the mandible presenting periodontitis, was evaluated. A total of 40 zones were assessed. They were distributed in a control group of 20 that received NSPT plus 0.12% chlorhexidine and a study group of 20 that received NSPT plus *C. reticulata*. Disease variables or indicators such as probing depth (PD), clinical insertion level (CIL), bleeding on probing (BP), and gingival color (GC) were registered at the beginning of the study, as well

as the changes after performing the NSPT, supported by chlorhexidine in the control group and *C. reticulata* in the study group. Records of these indicators were obtained by the development of a periodontogram at baseline and two months after treatment. Subgingival biofilm samples were also taken at baseline and at two months to appraise changes in the bacterial flora after treatment.

**Obtainment of the oleoresin from *Copaifera reticulata*.** *C. reticulata* was obtained by drilling the trunk of trees of the *Copaifera* genus and the species *reticulata*, which was taxonomically identified by taking as a sample a tree leaf and taking it to be analyzed in the Amazonian Herbarium of the National University of the Peruvian Amazon (UNAP), located in Iquitos-Loreto-Peru. The sample of oleoresin used in this study was obtained in the district of Santiago de Estrecho, in the province of Putumayo, on the border with Colombia. Also, the areas of Remanso and Punchana are places where this tree grows and develops naturally. Once *C. reticulata* was identified, it was deposited in amber glass containers and taken to a conventional sterilization process by autoclave. Afterward, it was ready for its application as a support treatment for periodontitis.

**Development and evaluation of periodontal therapy in type 2 diabetic patients.** Before the diagnosis and registration of periodontal lesions in the patient, the dental staff was calibrated in the recognition of periodontitis indicators, periodontal charting, and sampling of subgingival biofilm. This was done in order to try to make measurements as reliable as possible. In relation to periodontal therapy, the forty identified zones with periodontitis were divided into two groups of 20 homologous zones, in different hemiarcs. Initially, the following indicators were recorded: PD, CIL, BP, and GC, in a card designed for the study.

Once the initial data were obtained, NSPT was performed. NSPT included scaling and root planing of the identified areas in both the control and study groups. This procedure was performed with Gracey periodontal scalers and curettes (Hu-Friedy, USA). Once this procedure was finished, the treatment was supported in the control group with 0.12% chlorhexidine and in the study group with *C. reticulata*. The amount of the support product was 10  $\mu$ L taken to the periodontal sulcus utilizing a micro brush (Micro-applicators, China) of 1.5 mm diameter. The application of the products was performed in the first, second, third, and fourth weeks, and two months after NSPT. Changes in some of the indicators of periodontitis, as well as dental plaque

control by the patient, were also evaluated visually during these weeks.

To assess the patient's diabetes control condition, two blood samples were taken, one at the beginning and one at the end of the study, to determine the patient's glycosylated hemoglobin (HbA1c), the reference test to determine the patient's diabetes status.

**Development and assessment of the microbiological study of periodontal pockets in type 2 diabetic patients.** Periodontal pockets were identified in homologous teeth with periodontitis, 20 in the control group and 20 in the study group. These samples were taken at two moments: at the beginning and the end of the study. For this procedure, first, relative isolation of the selected area for sampling was performed and the supragingival plaque was removed from the tooth with periodontitis. Afterward, two No. 40 paper cones were placed in the periodontal sulcus for a time frame of 40 to 60 s. Once the time was over, the paper cones were removed and brought into a BHI (brain-heart infusion) transport medium. Then they were taken to the laboratory for processing. In the laboratory, dilutions of the sample were made at 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, and 10<sup>-3</sup>, from this last dilution 100  $\mu$ L were taken for sowing in Schaedler agar medium or 5% blood agar supplemented with vitamin K and hemin. This medium was incubated at 37 °C under anaerobic conditions for 7 days. After this time, a colony-forming unit (CFU) count was performed for both the control and study groups. This sampling and CFU counting procedure were performed at the beginning and end of the study in both groups.

**Statistical analysis.** The results were analyzed by the SPSS statistical program version 21. Clinical and microbiological variables were evaluated, comparing the before and after of each group as well as the mean differences of the quantitative variables. The Wilcoxon test was applied for all the variables except Gum Color in which the McNemar  $\chi^2$  test was applied.

The qualitative variables, bleeding on probing and gum color, were dichotomized to facilitate the differential analysis between the control and study groups using Fisher's exact test. All tests were performed at a significance level of 0.05 ( $p < 0.05$ ).

## RESULTS

In general, it was possible to determine the supportive effect of *C. reticulata* on NSPT by demonstrating improvements in the studied clinical and microbiological aspects. Among the general characteristics of the sample, it was identified that 55% were male, with an average age of 62 years,

and had been suffering from diabetes between 8 to 9 years. Sixty percent had severe periodontitis and 40% had moderate periodontitis. Something that stands out about these patients' HbA1c is its average since at the beginning of the study the mean was 7.3% and at the end of the study, it was 6.2%. These data and others concerning the patients are detailed in *Table 1*. After the study phase in which the NSPT support products were applied, the clinical and microbiological variables were compared.

For the patients in the control group, PD went from  $4.25 \pm 0.44$  to  $2.25 \pm 0.85$  and the initial CIL of  $5.90 \pm 2.08$  was reduced to  $3.55 \pm 2.24$ . Bleeding was assessed using the Papilla Hemorrhage Index as described by Saxer and Muhlemann. Initially, grades 1, 2, 3, and 4 were registered, and at the end of the study, grade 1, which is the representation of a bleeding point when probing the papilla. Regarding GC, in the beginning, all the areas showed a red color that changed to a coral pink color in 95% of the sample after the study. Concerning the microbiological aspect, the CFU count was  $146.30 (\pm 108.64) \times 10^3$  at the beginning and  $48.0 (\pm 57.62) \times 10^3$  at the end. Both the clinical and microbiological values had a significant statistical difference with a  $p$ -value  $< 0.001$ , except for GC (*Table 2*).

With regard to the study group, the results indicated that PD decreased from  $4.5 \pm 0.69$  at baseline to  $2.45 \pm 1.19$  at the end of the study. The CIL was  $6.70 \pm 3.34$  at baseline and  $4.55 \pm 3.36$  mm at the end of the study. Bleeding was identified in grades 1, 2, and 3. In the end, grade 1 was obtained in two patients. GC was red in all patients and at the end of the study, it changed to a coral-pink color in 90% of the cases. Regarding the CFU bacterial count, this had a mean of  $(146.55 \pm 145.08) \times 10^3$  at the beginning, and at the end of the study, it was recorded at  $(35.50 \pm 31.24) \times 10^3$ . The studied variables had a  $p$  value  $< 0.001$ , except for GC (*Table 3*).

When comparing the results of the differences between the variables of the control and study groups at the end of the investigation, it was determined that the PD was  $2.0 \pm 0.79$  for the control group and  $2.05 \pm 0.89$  mm for the study group. As for CIL, the control group had  $2.35 \pm 0.93$  mm and in the study  $2.15 \pm 0.58$  mm, with no statistically significant differences ( $p > 0.05$ ). In relation to bleeding, in the control group, it was controlled in 95% and in the study group in 90%, thus the differences between them were considered statistically non-significant ( $p > 0.05$ ). GC changed from red to coral pink in 95% of the control group and 90% of the study group, so it was considered statistically non-significant  $p > 0.05$ . As for the microbiological variable, the CFU had a value of  $(98.3 \pm 88.54) \times 10^3$  in the

control group and  $(111.05 \pm 137.07) \times 10^3$  for the study group, showing no statistically significant differences  $p = 0.456$  (Table 4).

## DISCUSSION

*Copaifera reticulata* oleoresin has been shown to have a variety of properties, among them that of being a good antimicrobial. This characteristic is supported by researchers such as Oliveira dos Santos and collaborators,<sup>27</sup> Mendonca and collaborators,<sup>25</sup> Pieri and collaborators,<sup>29</sup> among others, who have demonstrated its activity against Gram-positive and Gram-negative microorganisms as well as yeast forms, thus supporting its possible use as an adjuvant to NSPT, promoting improvements in clinical variables or parameters such as PD, CIL, Bleeding, GC. Changes in the microbial flora present in the altered gingival sulcus have also been suggested.

Concerning PD, this clinical parameter had a reduction in both the control and study groups of  $2.0 \pm 0.93$  mm and  $2.05 \pm 0.89$  mm, respectively. These values were similar to those mentioned by Famarzi and collaborators,<sup>14</sup> who used NSPT supported with 1.5% chlorhexidine gel, achieving a reduction of  $1.93 \pm 0.33$  mm in PD in the group that received this product. Likewise, Tsobgny and collaborators,<sup>18</sup> performed their study with the same technique supported with 10% iodopovidone. PD was reduced by  $1.1 \pm 0.4$  mm. Duarte and collaborators,<sup>19</sup> used amoxicillin and metronidazole systemically as an adjuvant, achieving a reduction of 1.11 mm of PD in the study group. These studies support some extra benefits when using an antimicrobial as support. There are also reports such as the one by Palka and collaborators<sup>32</sup> that do not use antimicrobial support for NSPT, obtaining less PD reduction in their results: they achieved an average BP reduction of 0.9 mm in the study group.

In relation to CIL, at the end of the study, an insertion gain of  $2.35 \pm 0.93$  mm and  $2.15 \pm 0.58$  mm was obtained in the control and study groups, respectively. These values are similar to those obtained by Tsobgny et al,<sup>18</sup> who, using 10% iodopovidone irrigant to support NSPT, obtained a gain of  $1.3 \pm 0.5$  mm. Likewise, Famarzi and collaborators,<sup>14</sup> employing 1.5% chlorhexidine gel, obtained a CIN gain of  $0.87 \pm 0.1$  mm. Duarte and collaborators,<sup>19</sup> supported their therapy with systemic antibiotics and obtained a CIL gain of 0.86 mm in the study group. These two researchers obtained values below 1 mm, unlike the results hereby shown regarding this parameter. Rovai and collaborators,<sup>15</sup> reported values above the ones obtained in the

present study in their systematic review on the local use of antimicrobial agents as support for NSPT, where they mention Martorelli, who used 10% doxycycline gel as support for NSPT and achieved a CIL gain of  $3.2 \pm 0.4$  mm in periodontitis in diabetic patients. Likewise, very low values of CIN gain were obtained by Goel and collaborators,<sup>17</sup> when performing NSPT only in type 2 diabetic patients with periodontitis. They achieved a CIL gain of 0.3 mm, a figure well below all the aforementioned studies.

Bleeding was almost completely controlled, being absent in both the control and study groups at 95 and 90%, respectively. Similar results were obtained by Tsobgny and collaborators,<sup>18</sup> who, using 10% iodopovidone as an adjuvant in NSPT, were able to reduce the bleeding rate to  $4.2 \pm 4.7\%$ . Likewise, Duarte and collaborators,<sup>19</sup> obtained bleeding control with a final percentage of  $10.6 \pm 5.7\%$ . About the GC, a color change to coral pink was observed in both the control and study groups at 95 and 90%, respectively. This is a variable scarcely compared in research but of great clinical importance. There are no previous studies with which to compare this parameter.

Regarding the antibacterial effect of the applied products for NSPT support, it was possible to quantify the CFU count before and after treatment, both in the control and study groups, obtaining a difference in the mean CFU, for the control group of  $98.3 (\pm 88.54) \times 10^3$  and the study group of  $111.05 (\pm 137.07) \times 10^3$ . These results might suggest a greater reduction in the study group, which received *C. reticulata* plus NSPT. Similar results were obtained by Tamashiro and collaborators<sup>12</sup> who evaluated the subgingival bacterial flora and periodontal indicators of the disease in type 2 diabetics, after performing NSPT supported by the use of antibiotics. After an evaluation period of 2 years, they found that the study group had a low proportion of red complex bacteria 5.5%, and the control group that did not receive antimicrobials exhibited a value of 12%.

An indicator of the metabolic control of diabetes considered in several studies with diabetic patients is the HbA1c test since it allows one to know the control (or lack of it) of the condition. This value ideally should be below 7% so that procedures that can reduce this percentage will help the metabolic control of the disease. This investigation performed NSPT supported with local antimicrobial products, demonstrating a recovery of periodontal health indicators, but also, possibly an improvement of the HbA1c value: the total of diabetics at the beginning of the study had a mean HbA1c of  $7.3 \pm 1.4\%$  and at the end of the study this value was  $6.2 \pm 0.9\%$ , thus the value of HbA1c was reduced by 1.1%, this finding might support the



bidirectional nature of the diabetes-periodontitis disease, whereby positively manipulating one of the illnesses, a benefit may be obtained in the other; in this research, the periodontal disease condition was improved, and hence, there was an improvement in the diabetes control condition. These results are similar to those reported by Cuaresma and collaborators.<sup>13</sup> They showed a reduction in HbA1c by an average of 0.8%, although slightly higher values were obtained by Tsoigny and collaborators,<sup>18</sup> who used chlorhexidine as NSPT support in type 2 diabetic patients with periodontitis, reducing HbA1c by  $3.0 \pm 2.4\%$ .

Smaller results of HbA1c reduction were reported by Preshaw et al.,<sup>6</sup> in their review of diabetes as a risk factor for periodontitis, stating that NSPT would be related to a reduction of approximately 0.4% in HbA1c. Following this line Saenz et al.,<sup>10</sup> in their expert review, state that NSPT improves glycaemic control in type 2 diabetic patients, resulting in a decrease in HbA1c in the range of 0.27 to 0.48%.

## CONCLUSIONS

According to the methodology developed in this study, it was possible to determine the clinical and antibacterial effect of *C. reticulata* as support to NSPT which is considered the «gold standard» for the treatment of periodontitis, as well as chlorhexidine (the most used support chemical agent for this disease) that served as control. It can be concluded that the results observed in all periodontal and microbiological indicators demonstrated improvements thus restoring periodontal health in 100% of type 2 diabetic patients with periodontitis. The possible use of copaiba as an adjuvant to NSPT is hereby recommended, although studies with a larger number of cases might strengthen this suggestion.

## REFERENCIAS / REFERENCES

- Genco RJ, Borgnakke WS. Diabetes as a potential risk for periodontitis: association studies. *Periodontol* 2000. 2020; 83(1): 40-45. doi: 10.1111/prd.12270.
- Graves D, Ding Z, Yang Y. The impact of diabetes on periodontal diseases. *Periodontol* 2020. 2020; 82 (1): 214-224. doi: 10.1111/prd.12318.
- Carrillo-Larco R, Bernabe-Ortiz A. Diabetes mellitus tipo 2 en Perú: una revisión sistemática sobre la prevalencia e incidencia en población general. *Rev Perú Med Esp Salud Publica*. 2019; 36 (1): 26-36. doi: 10.17843/rpmesp.2019.361.4027.
- Villena JE. Epidemiología de la diabetes mellitus en el Perú. *Diagnóstico*. 2016; 55 (4): 173-181. doi: 10.33734/diagnostico.v55i4.21.
- Bascones-Martínez A, Muñoz-Corcuera M, Bascones-Ilundáin J. Diabetes y periodontitis: una relación bidireccional. *Med Clin (Barc)*. 2015; 145 (1): 31-35. doi: 10.1016/j.medcli.2014.07.019.
- Preshaw P, Alba AL, Herrera D, Jepsen S, Konstantinidis A, Makrilakis K et al. Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. *Diabetologia*. 2012; 55 (1): 21-31. doi: 10.1007/s00125-011-2342-y.
- Greenblatt AP, Salazar CR, Northridge ME, Kaplan RC, Taylor GW, Finlayson TL et al. Association of diabetes with tooth loss in Hispanic/Latino adults: findings from the Hispanic community health study/ Study of Latinos. *BMJ Open Diab Res Care*. 2016; 4 (1): e000211. doi: 10.1136/bmjdr-2016-000211.
- Pham TAV, Tran TTP. The interaction among obesity, type 2 diabetes mellitus, and periodontitis in Vietnamese patients. *Clin Exp Dent Res*. 2018; 4 (3): 63-71. doi: 10.1002/cre2.106.
- Pumerantz AS, Bisset SM, Dong F, Ochoa C, Wassall RR, Davila H et al. Standardized screening for periodontitis as an integral part of multidisciplinary management of adults with type 2 diabetes: an observational cross-sectional study of cohorts in the USA and UK. *BMJ Open Diab Res Care*. 2017; 5 (1): e000413. doi: 10.1136/bmjdr-2017-000413.
- Sanz M, Ceriello A, Buysschaert M, Chapple I, Demmer RT, Graziani F et al. Scientific evidence on the links between and guidelines of the joint workshop on periodontal diseases and diabetes by the international diabetes federation and the European Federation of Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2018; 45 (2): 138-149. doi: 10.1111/jcpe.12808.
- Socransky S, Haffaje A. Dental biofilm: difficult therapeutic targets. *Periodontol* 2000. 2002; 28: 12-55. doi: 10.1034/j.1600-0757.2002.280102.x.
- Tamashiro NS, Duarte PM, Miranda TS, Maciel SS, Figueiredo LC, Faveri M et al. Amoxicillin plus metronidazole therapy for patients with periodontitis and type 2 diabetes: a 2 year randomized controlled trial. *J Dent Res*. 2016; 95 (7): 829-836. doi: 10.1177/0022034516639274.
- Chaves Araújo Quaresma L, Da Silva RF, Camargo G. Efeitos clínicos e metabólicos da terapia periodontal não cirúrgica em pacientes diabéticos e não diabéticos – revisão de literatura. *Rev Bras Odontol*. 2016; 73 (2): 140-143. doi: 10.18363/rbo.v73n2.p.140
- Faramarzi M, Shirmohammadi A, Chitsazi M, Sadighi SM, Ghanitab S. The clinical and metabolic effects of subgingival application of xanthan-based chlorhexidine gel in type 2 diabetic patients with chronic periodontitis. *Dent Rest J (Isfahan)*. 2017; 14 (5): 299-305. doi: 10.4103/1735-3327.215961.
- Rovai ES, Souto ML, Ganhito JA, Holzhausen M, Chambrone L, Pannuti CM. Efficacy of local antimicrobials in the non-surgical treatment of patients with periodontitis and diabetes: a systematic review. *J Periodontol*. 2016; 87 (12): 1406-1417. doi: 10.1902/jop.2016.160214.
- Mauri E, Merlos A, Estrugo A, Jane E, Lopez LJ, Viñas M. Benefits of non-surgical periodontal treatment in patients with type 2 diabetes mellitus and chronic periodontitis: a randomized controlled trial. *J Clin Periodontol*. 2018; 45 (3): 345-353. doi: 10.1111/jcpe.12858.
- Goel K, Pradhan S, Bhattarai MD. Effects of nonsurgical periodontal therapy in patients with moderately controlled type diabetes mellitus and chronic periodontitis in Nepalese population. *Clin Cosmet Investig Dent*. 2017; 9: 73-80. doi: 10.2147/CCIDE.S138338.
- Tsoigny-Tsague NF, Lontchi-Yimagou E, Nana ARN, Tankeu AT, Katte JC, Dehayem MY et al. Effects of nonsurgical periodontal treatment on glycated haemoglobin on type diabetes patients (PARODIA 1 study): a randomized controlled trial in a sub-saharan Africa population. *BMC Oral Health*. 2018; 18 (1): 28-35. doi: 10.1186/s12903-018-0479-5.
- Duarte PM, Feres M, Yassin LLG, Soares GMS, Miranda TS, Faveri M et al. Clinical and microbiological effects of scaling and root planing, metronidazole and amoxicillin in the treatment of



- diabetic and non-diabetic subjects with periodontitis: a cohort study. *J Clin Periodontol*. 2018; 45 (11): 1326-1335. doi: 10.1111/jcpe.12994.
20. Moromi NH, Martinez-Cadillo E, Ramos-Perfecto D. Antibacterianos naturales orales: Estudios en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. *Odontol Sanmarquina*. 2009; 12(1): 25-28. DOI: 10.15381/os.v12i1.2910.
  21. Montenegro-Chipana A, Ramos-Perfecto D. Actividad antibacteriana de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre *Porphyromonas gingivalis*. *Odontol Sanmarquina*. 2016; 19 (1): 7-11. doi: 10.15381/os.v19i1.12175.
  22. Ramos-Perfecto D, Castro-Luna A. Actividad antibacteriana de *Copaifera reticulata* "copaiba" sobre *Porphyromonas gingivalis* aisladas de pacientes con periodontitis. *Odontol Sanmarquina*. 2014; 17 (1): 7-11. doi: 10.15381/os.v17i1.9721.
  23. Veiga Junior VF, Rosas E, Carvalho M, Henriques M, Pinto A. Chemical composition and anti-inflammatory activity of copaiba oils from *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke, *Copaifera reticulata* Ducke and *Copaifera multijuga* Hayne – A comparative study. *J Ethnopharmacol*. 2007; 112 (2): 248-254. doi: 10.1016/j.jep.2007.03.005.
  24. De Almeida F, Lima A, Nardin E, De Siqueira C, Santo G, Bromerschenkel I et al. Copaiba oil in experimental wound healing in horses. *Cienc Rural*. 2017; 47 (4): e20151292. doi: 10.1590/0103-8478cr20151292.
  25. Mendonca DE, Becker OS. Actividade antimicrobiana do óleo-resina produzido pela Copaiba – *Copaifera multijuga* Hayne (Leguminosae). *Rev Bras Farmacogn*. 2009; 19 (2B): 577-581. doi: 10.1590/S0102-695X2009000400012.
  26. Pieri FA, Souza MC, Vermelho LL, Vermelho ML, Perciano PG, Vargas FS et al. Use of  $\beta$ -caryophyllene to combat bacterial dental plaque formation in dogs. *BMC Vet Res*. 2016; 12 (1): 216. doi: 10.1186/s12917-016-0842-1.
  27. Santos AO, Ueda-Nakamura T, Dias Filho BP, Veiga Junior VF, Pinto AC, Nakamura CV. Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the *Copaifera* genus. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2008; 103 (3): 277-281. doi: 10.1590/s0074-02762008005000015.
  28. Felizardo Vasconcelos KR, Veiga Junior VF, Caldas Rocha W, Costa Lima Bandeira MF. Avaliacao *in vitro* da atividade antibacteriana de um cimento odontológico à base de óleo-resina de *Copaifera multifuga* Hayne. *Rev Bras Farmacogn*. 2008; 18 (Suppl): 733-738. doi: 10.1590/S0102-695X2008000500017.
  29. Pieri FA, Mussi MC, Fiorini JE, Schneedorf JM. Efeitos clínicos e microbiológicos do óleo de copaíba (*Copaifera officinalis*) sobre bactérias formadoras de placa dental em caes. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2010; 62 (3): 578-585. doi: 10.1590/S0102-09352010000300012.
  30. Bardají DK, da Silva JJ, Bianchi TC, de Souza Eugenio D, de Oliveira PF, Leandro LF et al. *Copaifera reticulata* oleoresin: chemical characterization and antibacterial properties against oral pathogens. *Anaerobe*. 2016; 40: 18-27. doi: 10.1016/j.anaerobe.2016.04.017.
  31. Diefenbach AL, Muniz FWMG, Oballe HJR, Rosing CK. Antimicrobial activity of copaiba oil (*Copaifera* ssp.) on oral pathogens: systematic review. *Phytother Res*. 2018; 32 (4): 586-596. doi: 10.1002/ptr.5992.
  32. Kaur P, Narula SC, Rajput R, K Sharma R, Tewari Sh. Periodontal and glycemic effects of nonsurgical periodontal therapy in patients with type diabetes stratified by baseline HbA1c. *J Oral Sci*. 2015; 57 (3): 201-211. doi: 10.2334/josnurd.57.201.

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

*Correspondencia / Correspondence:*  
**Donald Ramos-Perfecto**  
**E-mail:** dramosp@unmsm.edu.pe