

# CLOREXIDINA: MECANISMO DE AÇÃO E EVIDÊNCIAS ATUAIS DE SUA EFICÁCIA NO CONTEXTO DO BIOFILME SUPRAGENGIVAL

## CHLORHEXIDINE: ACTION'S MECHANISMS AND RECENT EVIDENCES OF IT'S EFFICACY OVER SUPRAGINGIVAL BIOFILM CONTEXT

Fabício Batistin Zanatta<sup>1</sup>, Cassiano Kuchenbecker Rösing<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Professor de Clínica Integrada e Microbiologia-Imunologia do Centro Universitário Franciscano – UNIFRA – Santa Maria, RS.

<sup>2</sup> Professor de Periodontia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS e da Universidade Luterana do Brasil – ULBRA – RS.

### RESUMO

Anti-sépticos a base de clorexidina têm sido utilizados em odontologia há muitos anos como padrão-ouro de controle químico da placa bacteriana. Entretanto, o entendimento da estrutura da placa bacteriana como um biofilme traz novos conhecimentos e repercussões clínicas da utilização da clorexidina. Assim, o objetivo desta revisão da literatura é revisar os mecanismos de ação e efeitos adversos da clorexidina, bem como contextualizar, baseado em evidências recentes, o seu efeito no biofilme formado e as repercussões clínicas de sua utilização em superfícies com biofilme dental presente.

**Palavras-chave:** clorexidina; placa dentária – prevenção e controle; biofilmes.

### ABSTRACT

*Chlorhexidine-containing antiseptics have been used in clinical dentistry for years as the gold standard for chemical plaque control. However, the understanding of the structure of the dental plaque as a biofilm sheds light into the understanding and clinical relevance of chlorhexidine usage. Thus, the aim of this literature review is to approach the mechanisms of action and adverse effects of chlorhexidine, as well as to contextualize, based on recent evidence, its effect on formed biofilm as well as the clinical relevance for its utilization in surfaces with previously present dental biofilm.*

**Keywords:** chlorhexidine; dental plaque – prevention and control; biofilms.

## INTRODUÇÃO

O equilíbrio do processo saúde-doença periodontal é atingido com um adequado controle dos biofilmes supra e subgengival. Dentre os fatores que podem influenciar neste equilíbrio, destacam-se a exposição a fatores de risco e hábitos de controle de placa (Albandar<sup>4</sup> 2002). Desses, especialmente o controle diário do biofilme assume um papel de destaque na prevenção de estabelecimento ou recorrência de doença periodontal (Schätzle *et al.*<sup>63</sup> 2003; Schätzle *et al.*<sup>64</sup> 2004). Ainda, fatores relacionados ao paciente como habilidade, motivação e seleção de adequados instrumentos para o controle do biofilme irão nortear a qualidade da higienização. (Rodrigues e Serpa<sup>59</sup> 2001; Rapp *et al.*<sup>58</sup> 2001).

Em algumas situações temporárias e/ou permanentes, o controle mecânico do biofilme pode estar comprometido. Nestes casos, pode-se lançar mão de meios de controle químico do biofilme supragengival, que poderão ser coadjuvantes ou substitutos ao controle mecânico (Rösing *et al.*<sup>61</sup> 2005). Na indicação de um agente químico que substitua o controle mecânico, há necessidade de emprego de uma substância que apresente propriedades que a coloque em papel de destaque frente aos demais agentes químicos (Pillon<sup>56</sup> 2001). Nesse sentido, a clorexidina apresenta propriedades que a coloca em papel de destaque de efetividade anti-placa e anti-gengivite frente aos demais agentes químicos, podendo ser utilizada, com segurança, em diversas situações clínicas (Jones<sup>42</sup> 1997).

### ENTENDIMENTO DA PLACA BACTERIANA SUPRAGENGIVAL COMO UM BIOFILME

O fato de não haver renovação na superfície dental cria condições para o estabelecimento de um biofilme bacteriano (Fejerskov e Thylstrup<sup>28</sup> 1994). Assim, bactérias dissolvidas na saliva se aderem naturalmente às superfícies dos dentes e se medidas mecânicas e/ou químicas forem empregadas corretamente, impedindo o acúmulo e organização destas bactérias na superfície dental, o controle desta placa será atingido. No entanto, falhas nestas medidas podem levar a formação de um biofilme bacteriano patogênico podendo acarretar um desequilíbrio no processo saúde-doença nos tecidos moles e duros (Cury<sup>20</sup> 1999; Oppermann e Rösing<sup>55</sup> 1999).

O conceito de biofilme foi dado a comunidades bacterianas que se estabelecem em ambientes úmidos como rochas existentes em mares e rios, cascos de barcos, interior de tubulações, dentre outros (Costerton *et al.*<sup>18</sup> 1995). Assim, a placa bacteriana entendida como um biofilme traz o conceito de que as bactérias orais não se com-

portam como uma entidade bacteriana isolada e sim como uma ou mais comunidades de microrganismos agrupadas em uma matriz extracelular de polímeros de origem bacteriana e do hospedeiro (Marsh<sup>48</sup> 2004; Marsh<sup>47</sup> 2005). Essa organização é espacialmente estruturada a partir de interações físicas, metabólicas e moleculares entre as bactérias, sendo essa integração essencial para a adesão, crescimento e sobrevivência das células bacterianas. Assim, organizando-se num biofilme, torna-se possível a colonização e o crescimento bacteriano em inúmeras estruturas duras como dentes, restaurações, próteses e implantes (Socransky e Haffajee<sup>67</sup> 2002).

Imediatamente após a limpeza de uma superfície dura na cavidade oral, macromoléculas hidrofóbicas são adsorvidas pelas superfícies, formando um filme condicionante denominado película adquirida (Leach e Saxton<sup>43</sup> 1966). Este é rico em proteínas e glicoproteínas salivares e sua formação altera a carga e a energia livre de superfície do esmalte, aumentando assim a eficiência da adesão bacteriana. A colonização primária da superfície dos dentes parece ser governada por bactérias que possuem adesinas em suas superfícies, possibilitando uma interação direta com receptores na película. Análises microbiológicas revelam que esta colonização primária se dá predominantemente por cocos e bastonetes gram-positivos, envolvendo bactérias do complexo amarelo, verde e roxo de Socransky e Haffajee<sup>67</sup>, com predominância das espécies de *Actinomyces* e *Streptococcus*. Receptores de superfície nos cocos e bastonetes gram-positivos permitem a aderência subsequente de microrganismos gram-negativos que possuem pouca capacidade de adesão diretamente à película. Assim, com o passar das horas observa-se a co-agregação de cocos e bastonetes gram-negativos, fusobactérias, filamentos e, finalmente, espiroquetas. Com o envelhecimento e aumento da massa bacteriana ao longo do tempo, há um aumento da heterogeneidade da mesma com um aumento proporcional de bactérias dos complexos vermelho e laranja (Marsh<sup>49</sup> 2005; Bernimoulin<sup>8</sup> 2003; Socransky e Haffajee<sup>68</sup> 2005). O fato de não ocorrer renovação na superfície dental cria condições para o estabelecimento de um biofilme bacteriano que demonstra claramente desenvolver uma dinâmica biomolecular que vai se tornando complexa com o tempo (Fejerskov e Thylstrup<sup>28</sup> 1994).

Técnicas recentes da análise do biofilme, como a microscopia a laser confocal, que permitem a observação do biofilme *in situ* sem sua ruptura, geraram impacto na comunidade científica no entendimento do biofilme. Assim, observa-se uma complexa organização espacial e funcional destas bactérias permeada por canais de circulação que ligam a superfície do biofilme ao esmalte dental e possibilitam a difusão de nutrientes, oxigênio, remoção de células mortas, revelando um verdadeiro sistema de circu-

lação primitiva (Tolker-Nielsen e Molin<sup>70</sup> 2000).

Investigações genéticas têm mostrado que as bactérias assim que se estruturam num biofilme realizam diversas modificações genéticas como, por exemplo, o caso da bactéria *Staphylococcus aureus* que uma vez no interior do biofilme passa a codificar os genes phosphoglycerato mutase, triosephosphato isomerase e álcool desidrogenase, permitindo então que ela realize os processos de glicólise e fermentação, possibilitando uma melhor adaptação no biofilme com provável carência de oxigênio. A transferência gênica também pode ser observada como, por exemplo, quando o plasmídeo de uma bactéria é transmitido para uma outra bactéria que não o contenha, recombinando-se com o material genético da bactéria receptora e, dessa forma, tornando-a mais resistente. No biofilme, pode também ser observada uma notável comunicação interbacteriana que acontece tanto de maneira vertical como horizontal. Essa comunicação, denominada Quorum Sensing, acontece através de sinais que passam de célula para célula e desempenha um importante papel no agrupamento e desagrupamento de novas espécies. Assim, o biofilme seleciona novas bactérias para adesão, conforme sua necessidade, bem como expulsa ou não permite a fixação de espécies que não ofereçam vantagem ao biofilme (Donlan<sup>25</sup> 2000; XIE *et al.*<sup>74</sup> 2000; Ghigo<sup>33</sup> 2001; Marsh<sup>49</sup> 2005).

As razões pelas quais as bactérias se estruturam num biofilme são óbvias, pois no biofilme elas adquirem inúmeras vantagens como por exemplo maior proteção contra defesas do hospedeiro, substâncias tóxicas, antimicrobianos, maior capacidade de troca de nutrientes, possibilidade de viver em ambientes com diferentes potências de oxidação-redução, bem como o desenvolvimento de uma maior diversidade de expressões genotípicas e fenotípicas modificando muitas propriedades de suas células como a adesão, motilidade, requisição nutricional, secreção de produtos e enzimas, dentre outros. Todas essas características permitem às células bacterianas se organizarem em uma comunidade e uma vez estruturadas como um biofilme potencializarem seus fatores de virulência bem como lidarem com condições estressantes adversas mais facilmente do que se estivessem em formas puramente planctônicas (Marsh<sup>48</sup> 2004; Marsh<sup>49</sup> 2005; Socransky e Haffajee<sup>67</sup> 2002; Socransky e Haffajee<sup>68</sup> 2005; Fux *et al.*<sup>32</sup> 2003).

## MECANISMO DE AÇÃO DA CLOREXIDINA

A clorexidina foi sintetizada nos anos 40 e introduzida no mercado em 1954 como um anti-séptico para ferimentos na pele (Davies *et al.*<sup>21</sup> 1954). Ela se caracteriza por ser um detergente catiônico, da classe das bisbiguanidas, disponível nas formas de acetato, hidrocloreto e digluconato, sendo este último, o sal mais comumente

empregado em fórmulas e produtos. Ela possui um amplo espectro de ação, agindo sobre bactérias gram-positivas, gram-negativas, fungos, leveduras e vírus lipofílicos (Tortora *et al.*<sup>71</sup> 2000). Desta forma, ela foi testada primeiramente por Løe e Rindom Schiott<sup>46</sup> (1970) no qual demonstraram que bochechos de uma solução de gluconato de clorexidina 0,2%, realizados duas vezes por dia, se mostraram eficazes em diminuir o crescimento do biofilme bacteriano e o desenvolvimento de gengivite clinicamente detectáveis por um período de 21 dias.

Após um bochecho com solução de clorexidina, aproximadamente 30% da droga fica retida na boca. Devido à sua natureza catiônica, ela adsorve-se a compostos aniônicos como glicoproteínas salivares, radicais fosfatados e carboxílicos presentes no biofilme dental como bactérias e polissacarídeos extracelulares, película dental e macromoléculas presentes na mucosa oral (Rölla e Melsen<sup>60</sup> 1975; Gjermo *et al.*<sup>35</sup> 1974; Bonesvoll *et al.*<sup>10</sup> 1974). O seu mecanismo de ação anti-bacteriano é explicado pelo fato de a molécula catiônica da clorexidina ser rapidamente atraída pela carga negativa da superfície bacteriana, sendo adsorvida à membrana celular por interações eletrostáticas, provavelmente por ligações hidrofóbicas ou por pontes de hidrogênio, sendo essa adsorção concentração-dependente. Assim, em dosagens elevadas, ela causa precipitação e coagulação das proteínas citoplasmáticas e morte bacteriana e, em doses mais baixas, a integridade da membrana celular é alterada, resultando num extravasamento dos componentes bacterianos de baixo peso molecular (Hjeljord *et al.*<sup>37</sup> 1973; Hugo e Longworth<sup>38</sup> 1964; Rölla e Melsen<sup>60</sup> 1975). Além do mais, a clorexidina é estável, não é tóxica aos tecidos, a absorção pela mucosa e pele é mínima, é bem tolerada quando administrada em animais via parenteral e intravenosa, parece não atravessar a barreira placentária e não provoca efeitos tóxicos colaterais sistêmicos com o uso prolongado bem como alterações na microbiota oral (Davies e Hull<sup>23</sup> 1973; Case<sup>15</sup> 1977; Rush-ton<sup>62</sup> 1977; Winrow<sup>73</sup> 1973; Løe *et al.*<sup>45</sup> 1976).

A clorexidina apresenta uma substantividade, isto é, tempo de permanência ativa na cavidade bucal, de aproximadamente 12 horas, o que é explicado pela sua natureza dicatiônica. Assim, uma extremidade catiônica da molécula se prende à película, que apresenta carga negativa, e a outra extremidade catiônica fica livre para interagir com bactérias que buscam colonizar o dente. Desta forma, ela exercerá uma ação bactericida inicial imediatamente depois do bochecho, combinada com uma ação bacteriostática prolongada. Essa hipótese foi testada por Bonesvoll e Gjermo<sup>9</sup> (1978) que compararam a capacidade de retenção da clorexidina e de compostos quaternários de amônia, os quais compartilham a mesma carga positiva em sua molécula. A quantidade de composto quaternário de

amônia retido na cavidade bucal inicialmente foi de 65% contra 32% de clorexidina, mostrando que num primeiro momento, a concentração salivar desses compostos foi maior do que a concentração de clorexidina. Por outro lado, esta concentração declinou mais rapidamente, uma vez que, após 4 horas da utilização das substâncias, a concentração de clorexidina era significativamente maior. A natureza monocatiônica desses compostos e dicatiônica da clorexidina foram então sugeridas como plausibilidade biológica que explicava a retenção mais prolongada dessa última, a despeito de inicialmente apresentar menor quantidade retida.

Primeiramente, acreditava-se que a ação da clorexidina se dava pela sua lenta desadsorção uma vez que estaria ligada a grupos carboxílicos presentes na mucosa oral, sendo esta uma espécie de reservatório de clorexidina que serviria como fonte adicional da droga para a película e a placa dental (Bonesvoll *et al.*<sup>10</sup> 1974; Rölla e Melsen<sup>60</sup> 1975; Hull<sup>39</sup> 1980). No entanto, estudos posteriores mostraram que a sua ação parece ser condicionada apenas pela sua adsorção inicial à película dental, exercendo localmente sua ação bactericida e bacteriostática (Jenkins *et al.*<sup>40</sup> 1988; Addy e Moran<sup>1</sup> 1983). Cabe salientar que algumas substâncias químicas como o cálcio, detergentes aniônicos e flúor podem influenciar as ligações da clorexidina, reduzindo sua retenção e sua atividade anti-bacteriana (Rölla e Melsen<sup>60</sup> 1975; Bonesvoll<sup>11</sup> 1977; Barkvoll *et al.*<sup>7</sup> 1989). O pH bucal parece também exercer uma importante influência sobre a retenção da droga, sendo alcançado o melhor efeito quando o pH apresenta uma variação entre 6.4 a 9.0 (Gjerme *et al.*<sup>35</sup>, 1974).

Há várias formas de utilização da clorexidina no ambiente supragengival como bochechos, dentifrícios, géis, sprays e palitos (Flötra<sup>31</sup> 1973; Pillon<sup>56</sup> 2001). No entanto, a forma mais universalmente utilizada era através de bochechos de solução de clorexidina, realizados duas vezes ao dia, utilizando 10mL de uma solução de 0,2% de clorexidina (Cumming e Löe<sup>19</sup> 1973). Estudos posteriores mostraram que diminuindo a concentração do produto e aumentando o volume bochechado da solução a quantidade de droga usada era praticamente a mesma e a efetividade anti-placa manteve-se semelhante com reduções do manchamento dos dentes. Assim, a concentração a 0,12% com bochechos de 15 mls passou a ser empregada em larga escala (Segreto *et al.*<sup>65</sup> 1986, Smith *et al.*<sup>66</sup> 1995). O tempo de duração do bochecho recomendado é de 1 minuto nestas concentrações. Entretanto, observações recentes de Van Der Weijden *et al.*<sup>72</sup>, 2005 sugerem não haver diferenças estatisticamente significantes quanto à formação de placa bacteriana quando bochechados uma solução de clorexidina 0,2% por 15, 30 ou 60 segundos. Infelizmente, o uso da clorexidina é limitado pelos efei-

tos adversos relacionados, como manchamento de dentes, restaurações, próteses e língua, alterações do paladar, principalmente para o sal, formação de cálculo supragengival e, raramente, tumefação reversível nos lábios ou glândulas parótidas, descamações na mucosa oral, urticária, dispnéia e choque anafilático (Flötra *et al.*<sup>30</sup> 1971; Addy *et al.*<sup>2</sup> 1979; Okano *et al.*<sup>54</sup> 1989; Ciancio<sup>16</sup> 1995). Dentre estes efeitos, o manchamento dental destaca-se como a principal queixa por parte dos pacientes (Albandar *et al.*<sup>3</sup> 1994) sendo o principal fator limitante do uso da clorexidina por períodos prolongados.

O manchamento dental acomete entre 30-50% dos usuários de clorexidina (Flötra<sup>31</sup> 1973; Löe *et al.*<sup>45</sup> 1976), sendo que sua maior ocorrência se dá no terço cervical da coroa dentária e nas áreas proximais (al-Tannir e Goodman<sup>5</sup> 1994). Dentre os fatores que interferem na prevalência e severidade do manchamento, estão a concentração e o volume da clorexidina que está sendo usado. Assim, concentrações menores, em volumes maiores, a despeito de apresentarem eficácia e efetividade semelhantes (Segre-to *et al.*<sup>65</sup> 1986), mostraram causar menor manchamento dentário (Cumming e Löe<sup>19</sup> 1973).

Diversas hipóteses foram investigadas acerca dos mecanismos associados ao manchamento. Uma delas a clorexidina participaria como catalisadora das reações nãoenzimáticas de acastanhamento (Reações de Maillard), na qual glicoproteínas presentes na película (80% proteínas e 20% de carboidratos) participam como substratos para estas reações e sofrem uma série de reações de condensação e polimerização, levando à formação substâncias acastanhadas chamadas melanoidinas (Sonju<sup>69</sup> 1975; Eriksen *et al.*<sup>27</sup> 1985). A capacidade da clorexidina em promover desnaturação de proteínas e, na seqüência, estas promoverem o manchamento dental pela formação de sulfito férrico e estanhoso, compõem outra teoria do manchamento dentário decorrente da clorexidina (Eriksen *et al.*<sup>27</sup> 1985). Corroborando com esta hipótese está a investigação de Ellingsen *et al.*<sup>26</sup> em 1982, que encontraram maiores concentrações de Ferro (Fe) e Enxofre (S) na película adquirida dos dentes com manchas acastanhadas utilizando ratos como animais experimentais. Ainda, observações laboratoriais relataram que estas moléculas quando passaram para um estado mais oxidado (Sulfito para sulfato) eles geralmente tornaram-se brancos e mais solúveis, justificando assim a capacidade de descoloração de agentes oxidantes (Nordbo *et al.*<sup>52</sup> 1982; Nordbo *et al.*<sup>51</sup> 1983; Nordbo *et al.*<sup>53,19,84</sup>). Por fim, há uma terceira hipótese, na qual a formação do manchamento dental se daria pela precipitação de cromógenos da dieta diretamente na superfície dental, tais como café, chá e vinho tinto, formando produtos coloridos (Jensen<sup>41</sup> 1977; Addy *et al.*<sup>2</sup> 1979). Entretanto, estas duas últimas hipóteses levantadas apresentam, em parte, mecanismos

semelhantes na medida em que se encontram altas concentrações de ferro (Fe) presente no vinho tinto. Assim, apesar do manchamento ainda permanecer um assunto não completamente esgotado, a reação da clorexidina com produtos da dieta, especialmente cromógenos, parece ser a hipótese mais aceita e cientificamente comprovada tanto em trabalhos *in vitro* quanto *in vivo*.

É comprovado que a clorexidina apresenta um efeito anti-placa significativo. Partindo do pressuposto que o cálculo supragengival seja decorrente da placa supragengival que sofreu um processo de cristalização, uma maior formação de cálculo observada durante o uso da clorexidina não deixa de ser um efeito adverso intrigante. Alguns estudos de utilização prolongada de clorexidina encontraram maior formação de cálculo (Löe *et al.*<sup>45</sup> 1976; Grossman *et al.*<sup>36</sup> 1989), enquanto outros autores, em períodos mais curtos de observações, não observaram o mesmo efeito adverso. (Löe *et al.*<sup>44</sup> 1971; Cancro *et al.*<sup>14</sup> 1972). Dentre os locais mais prevalentes, destacam-se a face lingual dos incisivos inferiores e vestibular de dentes póstero-superiores. Apesar do processo de mineralização não estar completamente entendido, parece que a maior formação de cálculo nestes locais se deve à localização dos ductos das glândulas parótidas e submandibular, ocorrendo nestes locais uma constante lavagem da saliva, resultando em baixas concentrações de sacarose e, facilitando assim, uma maior deposição de uréia proveniente da saliva que, na seqüência, promoverá a precipitação do fosfato de cálcio e a conseqüente cristalização da película adquirida dando início ao cálculo supragengival (Dawes e Macpherson<sup>24</sup> 1993; Davies *et al.*<sup>22</sup> 1997).

Portanto, já está bem sedimentada a vantagem clínica da clorexidina sobre os demais agentes anti-placa, o que a coloca como padrão ouro para controle químico de placa em odontologia (Gjermeo *et al.*<sup>34</sup> 1970; Fine<sup>29</sup> 1995; Brex<sup>12</sup> 1997; Jones<sup>42</sup> 1997; Noiri *et al.*<sup>50</sup> 2003). Inúmeros trabalhos já foram realizados e comprovaram tal efetividade, demonstrando uma redução que varia, respectivamente, de aproximadamente 50-55% e 45% para biofilme supragengival e gengivite quando comparada a soluções controle (Löe e Schiott<sup>46</sup> 1970; Addy e Moran<sup>1</sup> 1983; Löe *et al.*<sup>45</sup> 1976; Segreto *et al.*<sup>65</sup> 1986). Entretanto, todos os trabalhos que avaliaram clinicamente a ação da clorexidina em prevenir o desenvolvimento de gengivite utilizaram na metodologia uma deplacagem inicial, previamente ao início do período de uso da clorexidina. Tal metodologia não identifica claramente a efetividade da clorexidina sobre um biofilme previamente formado, bem como se ela será capaz de impedir o desenvolvimento de gengivite. Devido ao fato de que em muitas situações clínicas há presença de biofilme supragengival presente nas superfícies dentais, os resultados destes trabalhos podem ser extrapolados para

situações onde previamente à utilização da clorexidina haja a remoção mecânica de todo o biofilme supragengival eventualmente presente nas superfícies dentais.

## O EFEITO DA CLOREXIDINA NA PRESENÇA DE BIOFILME

Zaura-Arite *et al.*<sup>76</sup> (2001) verificaram pela primeira vez o comportamento do biofilme oral após exposição a uma solução de clorexidina 0,2% utilizando a microscopia a laser confocal. Foram avaliados 6 indivíduos, saudáveis, divididos em leves formadores de placa e pesados formadores de placa que usaram discos de dentina bovina em um dispositivo *in situ* onde houve crescimento do biofilme sem que houvesse sua ruptura. Foram expostos a uma solução de clorexidina 0,2% os biofilmes que se formaram em 6, 24 e 48 horas. A análise estrutural do biofilme mostrou que à medida que decorriam as horas de exposição, maior foi a complexidade estrutural do biofilme. Assim, os biofilmes mostraram uma espessura média de 10, 27 e 34  $\mu\text{m}$  para 6, 24 e 48 horas, respectivamente. Apesar dos biofilmes terem sido expostos a apenas uma aplicação de clorexidina, e esta ter sido aplicada fora da boca, os autores concluíram que o biofilme de 6 horas em leves formadores de placa apresentou a mais baixa vitalidade bacteriana e, com o aumento das horas, as diferenças entre a vitalidade bacteriana desapareceram entre os formadores de placa leves e pesados. A análise em camadas mostrou que a camada mais externa do biofilme apresentou, estatisticamente, menor vitalidade bacteriana que a camada mais interna, tanto em 24 quanto em 48 horas, deixando clara a ineficácia da clorexidina nas camadas mais internas de biofilme com mais de 24 horas de formação.

Trabalho de metodologia semelhante foi desenvolvido por Auschill *et al.*<sup>6</sup> (2005) que verificaram em um dispositivo *in situ* a aplicação de uma solução de clorexidina 0,2%. Foram recrutados 7 voluntários que bochecharam soluções de fluoreto amino-estano (250 ppm), clorexidina 0,2% e água. Os bochechos foram iniciados após a colocação do dispositivo na boca e tiveram duração de 48 horas. Após este período, esperava-se 14 dias (*wash-out*) para começar o uso do outro produto, permitindo dessa forma, que todos os participantes usassem as três soluções. Os resultados analisados por microscopia a laser confocal mostraram que a vitalidade bacteriana foi reduzida em 64% quando comparados as soluções com água, sem haver diferença estatisticamente significativa entre a clorexidina e o fluoreto amino-estano. No entanto, devido à metodologia usada nesse trabalho, não se pode inferir a ação dessas soluções sobre o biofilme já formado, devido ao fato de que as soluções foram usadas concomitantemente ao uso do dispositivo *in situ*.

Pratten *et al.*<sup>57</sup> (1998) em um trabalho *in vitro*, avaliaram a eficácia da clorexidina sobre a vitalidade de bactérias agrupadas em biofilmes. Após a confecção de biofilmes compostos por bactérias coletadas na placa bacteriana dental, os autores expuseram estes biofilmes formados a soluções de 0,2% de clorexidina por 1 minuto, 5 minutos e 60 minutos. Os resultados mostraram que os biofilmes expostos a 1 e 5 minutos do antimicrobiano não apresentaram efeito significativo na vitalidade bacteriana. No entanto, houve uma redução estatisticamente significativa na contagem de células bacterianas vitais após 60 minutos de exposição ao produto. Desta forma, fica claro que a ação da clorexidina sobre o biofilme oral depende do tempo de exposição ao antimicrobiano e que o tempo usado rotineiramente na odontologia, isto é 1 minuto, se mostrou ineficaz.

Corbet *et al.*<sup>17</sup> (1997) avaliaram o efeito da administração supervisionada de clorexidina sobre gengivite não tratada por um período de três meses em uma amostra de conveniência de uma indústria localizada na China. Foram recrutados 60 indivíduos e divididos em dois grupos: teste (clorexidina) e placebo. Apesar de não ser dada nenhuma instrução de higiene bucal, os indivíduos mantiveram seus hábitos de higiene e realizavam bochechos supervisionados das soluções. Os resultados mostraram que o grupo teste apresentou reduções estatisticamente significantes quanto ao índice gengival e sangramento à sondagem, sem, contudo, apresentar diferenças estatísticas no índice de placa quando foram comparados os dois grupos. Infelizmente por meio desta metodologia não se pode comparar a ação da clorexidina em superfícies com e sem placa dentro do mesmo indivíduo, já que os grupos utilizados eram em paralelo.

Brownstein *et al.*<sup>13</sup> (1990) por meio de um modelo de boca dividida, analisaram a efetividade da clorexidina 0,12% utilizada sob a forma de bochechos em pacientes com gengivite presente. Foram utilizadas solução placebo para comparações. Ainda, todos os participantes receberam uma profilaxia prévia em apenas metade da boca antes do início do estudo. Entre os resultados encontrados pelos autores após dois meses de uso das soluções está o de que a clorexidina 0,12% reduziu significativamente a média do índice gengival, percentagem de sangramento gengival (Escore 2 do índice), bem como o sangramento à sondagem apenas nas superfícies deplacadas no início do estudo, mostrando a dificuldade de ação em superfícies com biofilme presente. É importante ressaltar que os sítios onde a deplacagem inicial não foi realizada não foram submetidos a nenhum acúmulo de placa prévio ao início do controle químico, o que dificulta saber precisamente se havia biofilme formado em todas as superfícies que foram avaliadas.

Zanatta *et al.*<sup>75</sup> (2007) realizaram um ensaio clínico randomizado, cego, com delineamento de boca dividida para comparar o efeito da clorexidina em superfícies com presença e ausência de biofilme supragengival. Foram avaliados 20 participantes que após 96 horas de acúmulo de placa tiveram 2 quadrantes randomicamente selecionados para a remoção mecânica do biofilme enquanto nos outros 2 não foi realizada intervenção. Após, começou-se o período bochechos com clorexidina 0,12% por 21 dias, permanecendo na ausência de controle mecânico. Foram avaliados índice de placa de Quigley & Hein, índice gengival, fluido gengival, índice de manchamento e a presença de cálculo. Os resultados encontrados nas comparações inter-grupos mostraram quantidades estatisticamente maiores de placa nas superfícies com placa presente quando comparadas com as superfícies sem placa. A variação da resposta inflamatória entre os diferentes tempos experimentais revelou que as superfícies com placa presente mostraram variações do índice gengival maiores que as superfícies sem placa ( $0.21 \pm 0.02$  para  $0.93 \pm 0.03$  versus  $0.18 \pm 0.01$  para  $0.52 \pm 0.03$ ) bem como o volume de fluido gengival ( $48.09$  para  $94.28 \mu\text{L}$  versus  $46.94$  para  $64.99 \mu\text{L}$ ). Ainda, as comparações inter-grupos também mostraram médias estatisticamente maiores de severidade e extensão de manchamento bem como de presença de cálculo nas superfícies com placa presente comparadas às superfícies sem placa. Desta forma, os autores concluíram que a clorexidina 0.12% apresenta menor efeito anti-placa e anti-gengivite em superfícies com biofilme presente. Ainda, os efeitos adversos de formação de cálculo e manchamento são maiores em superfícies com placa. A leitura clínica desta evidência reforça a necessidade de remoção do biofilme supragengival antes do uso da clorexidina 0.12%.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A clorexidina ocupa o papel de destaque dentre os anti-sépticos utilizados para controle químico em odontologia. Entretanto, evidências recentes demonstram claramente a diminuição de sua eficácia no biofilme supragengival formado, o que reforça a necessidade de uma deplacagem prévia sua utilização para potencializar seu efeito antiplaca e anti-gengivite, bem como diminuir seus efeitos adversos de manchamento e formação de cálculo.

## REFERÊNCIAS

1. Addy M, Moran J. Comparison of plaque accumulation after topical application and mouth rinsing with chlorhexidine gluconate. *J Clin Periodontol.* 1983;10(1):69-71.

2. Addy M, Prayitno S, Taylor L, Cadogan S. An in vitro study of the role of dietary factors in the aetiology of tooth staining associated with the use of chlorhexidine. *J Periodontol Res.* 1979;14(5):403-10.
3. Albandar JM, Gjermo P, Preus HR. Chlorhexidine use after two decades of over-the-counter availability. *J Periodontol.* 1994;65(2):109-12.
4. Albandar JM. Global risk factors and risk indicators for periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2002;29:177-206.
5. al-Tannir MA, Goodman HS. A review of chlorhexidine and its use in special populations. *Spec Care Dentist.* 1994;14(3):116-22.
6. Ausschill TM, Hein N, Hellwig E, Follo M, Sculean A, Arweiler NB. Effect of two antimicrobial agents on early *in situ* biofilm formation. *J Clin Periodontol.* 2005;32(2):147-52.
7. Barkvoll P, Rölla G, Svendsen K. Interaction between chlorhexidine digluconate and sodium lauryl sulfate in vivo. *J Clin Periodontol.* 1989;16(9):593-5.
8. Bernimoulin JP. Recent concepts in plaque formation. *J Clin Periodontol.* 2003;30 Suppl 5:7-9.
9. Bonesvoll P, Gjermo P. A comparison between chlorhexidine and some quaternary ammonium compounds with regard to retention, salivary concentration and plaque-inhibiting effect in the human mouth after mouth rinses. *Arch Oral Biol.* 1978;23(4):289-94.
10. Bonesvoll P, Lökken P, Rölla G. Influence of concentration, time, temperature and pH on the retention of chlorhexidine in the human oral cavity after mouth rinses. *Arch Oral Biol.* 1974;19(11):1025-9.
11. Bonesvoll P. Influence of ionic strength, calcium, sodium dodecyl sulphate and urea on the retention of chlorhexidine in the human mouth after mouth rinses. *Arch Oral Biol.* 1977;22(4):273-9.
12. Brex M. Strategies and agents in supragingival chemical plaque control. *Periodontol 2000.* 1997;15:100-8.
13. Brownstein CN, Briggs SD, Schweitzer KL, Briner WW, Kornman KS. Irrigation with chlorhexidine to resolve naturally occurring gingivitis. A methodologic study. *J Clin Periodontol.* 1990;17(8):588-93.
14. Cancro LP, Paulovich DB, Klein K, Picozzi A. Effects of a chlorhexidine gluconate mouthrinse on dental plaque and calculus. *J Periodontol.* 1972;43(11):687-91.
15. Case DE. Safety of Hibitane. I. Laboratory experiments. *J Clin Periodontol.* 1977;4(5):66-72.
16. Ciancio SG. Chemical agents: plaque control, calculus reduction and treatment of dentinal hypersensitivity. *Periodontol 2000.* 1995;8:75-86.
17. Corbet EF, Tam JO, Zee KY, Wong MC, Lo EC, Mombelli AW, et al. Therapeutic effects of supervised chlorhexidine mouthrinses on untreated gingivitis. *Oral Dis.* 1997;3(1):9-18.
18. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial Biofilms. *Annu Rev Microbiol.* 1995;49:711-45.
19. Cumming BR, Loe H. Optimal dosage and method of delivering chlorhexidine solutions for the inhibition of dental plaque. *J Periodontol Res.* 1973;8(2):57-62.
20. Cury JA. Controle químico da placa dental. In: Kriger L, editor. *ABOPREV- Promoção de saúde bucal.* 2 ed. São Paulo: Artes Médicas; 1999. p. 129-39.
21. Davies GE, Francis J, Martin AR, Rose FL, Swain G. 1:6-Di-4'-chlorophenyldiguanidohexane (hibitane); laboratory investigation of a new antibacterial agent of high potency. *Br J Pharmacol Chemother.* 1954;9(2):192-6.
22. Davies RM, Ellwood RP, Volpe AR, Petrone ME. Supragingival calculus and periodontal disease. *Periodontol 2000.* 1997 Oct;15:74-83.
23. Davies RM, Hull PS. Plaque inhibition and distribution of chlorhexidine in beagle dogs. *J Periodontol Res Suppl.* 1973;12:22-7.
24. Dawes C, MacPherson LM. The distribution of saliva and sucrose around the mouth during the use of chewing gum and the implications for the site-specificity of caries and calculus deposition. *J Dent Res.* 1993;72(5):852-7.
25. Donlan RM. Role of biofilms in antimicrobial resistance. *ASAIO J.* 2000;46(6):S47-52. Erratum in: *ASAIO J* 2001;47(1):99.
26. Ellingsen JE, Rolla G, Eriksen HM. Extrinsic dental stain caused by chlorhexidine and other denaturing agents. *J Clin Periodontol.* 1982;9(4):317-22.
27. Eriksen HM, Nordbo H, Kantanen H, Ellingsen JE. Chemical plaque control and extrinsic tooth discoloration. A review of possible mechanisms. *J Clin Periodontol.* 1985;12(5):345-50.
28. Fejerskov O, Thylstrup A. O ambiente oral – uma introdução. In: Thylstrup A. *Cariologia clínica.* 2 ed. São Paulo: Santos; 1994.
29. Fine DH. Chemical agents to prevent and regulate plaque development. *Periodontol 2000.* 1995;8:87-107.
30. Flötra L, Gjermo P, Rölla G, Waerhaug J. Side effects of chlorhexidine mouth washes. *Scand J Dent Res.* 1971;79(2):119-25.
31. Flötra L. Different modes of chlorhexidine application and related local side effects. *J Periodontol Res Suppl.* 1973;12:41-4.
32. Fux CA, Stoodley P, Hall-Stoodley L, Costerton JW. Bacterial biofilms: a diagnostic and therapeutic challenge. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2003;1(4):667-83.
33. Ghigo JM. Natural conjugative plasmids induce bacterial biofilm development. *Nature.* 2001;412(6845):442-5.
34. Gjermo P, Baastad KL, Rölla G. The plaque inhibiting capacity of 11 antibacterial compounds. *J Periodontol Res.* 1970;5(2):102-9.
35. Gjermo P, Bonesvoll P, Rölla G. Relationship between plaque-inhibiting effect and retention of chlorhexidine in the human oral cavity. *Arch Oral Biol.* 1974;19(11):1031-4.
36. Grossman E, Meckel AH, Isaacs RL, Ferretti GA, Sturzenberger OP, Bollmer BW, et al. A clinical comparison of antibacterial mouthrinses: effects of chlorhexidine, phenolics, and sanguinarine on dental plaque and gingivitis. *J Periodontol.* 1989;60(8):435-40.

37. Hjeljord LG, Rolla G, Bonesvoll P. Chlorhexidine-protein interactions. *J Periodontol Res Suppl.* 1973;12:11-6.
38. Hugo WB, Longworth AR. Some aspects of the mode of action of chlorhexidine. *J Pharm Pharmacol.* 1964;16:655-62.
39. Hull PS. Chemical inhibition of plaque. *J Clin Periodontol.* 1980;7(6):431-42.
40. Jenkins S, Addy M, Wade W. The mechanism of action of chlorhexidine. A study of plaque growth on enamel inserts in vivo. *J Clin Periodontol.* 1988;15(7):415-24.
41. Jensen JE. Binding of dyes to chlorhexidine-treated hydroxyapatite. *Scand J Dent Res.* 1977;85(5):334-40.
42. Jones CG. Chlorhexidine: is it still the gold standard? *Periodontol 2000.* 1997;15:55-62.
43. Leach SA, Saxton CA. An electron microscopic study of the acquired pellicle and plaque formed on the enamel of human incisors. *Arch Oral Biol.* 1966;11(11):1081-94.
44. Löe H, Mandell M, Derry A, Schött CR. The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on calculus formation in man. *J Periodontol Res.* 1971;6(4):312-4.
45. Löe H, Schiött CR, Karring G, Karring T. Two years oral use of chlorhexidine in man. I. General design and clinical effects. *J Periodontol Res.* 1976;11(3):135-44.
46. Löe H, Schiött CR. The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. *J Periodontol Res.* 1970;5(2):79-83.
47. Marsh PD, Nyvad B. A microbiota oral e biofilmes formados sobre os dentes. In: Fejerskov O, Kidd E, editores. *Cárie dentária: a doença e seu tratamento clínico.* São Paulo: Santos; 2005. p. 29-47.
48. Marsh PD. Dental plaque as a microbial biofilm. *Ca-ries Res.* 2004;38(3):204-11.
49. Marsh PD. Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. *J Clin Periodontol.* 2005;32 Suppl 6:7-15.
50. Noiri Y, Okami Y, Narimatsu M, Takahashi Y, Kawahara T, Ebisu S. Effects of chlorhexidine, minocycline, and metronidazole on *Porphyromonas gingivalis* strain 381 in biofilms. *J Periodontol.* 2003;74(11):1647-51.
51. Nordbø H, Attramadal A, Eriksen HM. Adsorption of iron to saliva coated hydroxyapatite. *Scand J Dent Res.* 1983;91(3):182-5.
52. Nordbø H, Eriksen HM, Rølla G, Attramadal A, So-lheim H. Iron staining of the acquired enamel pellicle after exposure to tannic acid or chlorhexidine: preliminary report. *Scand J Dent Res.* 1982;90(2):117-23.
53. Nordbø H, Skjorland KK, Eriksen HM. Auger electron spectroscopy of iron in dental pellicle from stainers and non-stainers. *Acta Odontol Scand.* 1984;42(1):37-40.
54. Okano M, Nomura M, Hata S, Okada N, Sato K, Kitano Y, et al. Anaphylactic symptoms due to chlorhexidine gluconate. *Arch Dermatol.* 1989;125(1):50-2.
55. Oppermann RV, Rösing CK. Prevenção e tratamento das doenças periodontais. In: Kriger L, editor. *ABOPREV - Promoção de saúde bucal.* 2 ed. São Paulo: Artes Médicas; 1999. p. 257-81.
56. Pillon FL. Avaliação crítica dos recursos para o controle da placa bacteriana supragengival. In: Oppermann RV, Rösing CK, editores. *Periodontia: ciência e clínica.* São Paulo: Artes Médicas; 2001. p. 105-18.
57. Pratten J, Barnett P, Wilson M. Composition and susceptibility to chlorhexidine of multispecies biofilms of oral bacteria. *Appl Environ Microbiol.* 1998;64(9):3515-9.
58. Rapp GE, Garcia RV, Cardoso AK. Avaliação crítica dos recursos mecânicos para o controle da placa. In: Oppermann RV, Rösing CK, editores. *Periodontia: ciência e clínica.* São Paulo: Artes Médicas; 2001. p. 87-104.
59. Rodrigues R, Serpa AB. Perfil bioemocional do paciente e o controle da placa bacteriana. In: Oppermann RV, Rösing CK, editores. *Periodontia: ciência e clínica,* São Paulo: Artes Médicas; 2001. p. 73-85.
60. Rølla G, Melsen B. On the mechanism of the plaque inhibition by chlorhexidine. *J Dent Res.* 1975;54 Spec No B:B57-62.
61. Rösing CK, Maltz M, Oppermann RV. Controle químico do biofilme supragengival. *Cadernos da ABOPREV 2005;* 5:1-8.
62. Rushton A. Safety of Hibitane. II. Human experience. *J Clin Periodontol.* 1977;4(5):73-9.
63. Schätzle M, Löe H, Bürgin W, Anerud A, Boysen H, Lang NP. Clinical course of chronic periodontitis. I. Role of gingivitis. *J Clin Periodontol.* 2003;30(10):887-901. Erratum in: *J Clin Periodontol.* 2004;31(9):813.
64. Schätzle M, Löe H, Lang NP, Bürgin W, Anerud A, Boysen H. The clinical course of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2004;31(12):1122-7.
65. Segreto VA, Collins EM, Beiswanger BB, De La Rosa M, Isaacs RL, Lang NP, et al. A comparison of mouthrinses containing two concentrations of chlorhexidine. *J Periodontol Res.* 1986;21 Suppl 16:23-32.
66. Smith RG, Moran J, Addy M, Doherty F, Newcombe RG. Comparative staining in vitro and plaque inhibitory properties in vivo of 0.12% and 0.2% chlorhexidine mouthrinses. *J Clin Periodontol.* 1995;22(8):613-7.
67. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000.* 2002;28:12-55.
68. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol 2000.* 2005;38:135-87.
69. Sonju T. Investigations of some salivary glycoproteins and their possible role in pellicle formation. *Nor Tan-nlaegeforen Tid.* 1975;85(10):393-403.
70. Tolker-Nielsen T, Molin S. Spatial Organization of Microbial Biofilm Communities. *Microb Ecol.* 2000;40(2):75-84.
71. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Controle do crescimento microbiano. In: Tortora GJ, Funke BR, Case CL. *Microbiologia.* 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. p.181-206.
72. Van der Weijden GA, Timmerman MF, Novotny AG, Rosema NA, Verkerk AA. Three different rinsing times and inhibition of plaque accumulation with chlorhexidine. *J Clin Periodontol.* 2005;32(1):89-92.



73. Winrow MJ. Metabolic studies with radiolabelled chlorhexidine in animals and man. *J Periodontal Res Suppl.* 1973;12:45-8.
74. Xie H, Cook GS, Costerton JW, Bruce G, Rose TM, Lamont RJ. Intergeneric communication in dental plaque biofilms. *J Bacteriol.* 2000;182(24):7067-9.
75. Zanatta FB, Antoniazzi RP, Rösing CK. The effect of 0.12% chlorhexidine rinsing in previously plaque-free and plaque-covered surfaces. A randomized controlled clinical trial. *J Periodontol.* 2007;78(11):2127-2134.
76. Zaura-Arite E, van Marle J, ten Cate JM. Conofocal microscopy study of undisturbed and chlorhexidine-treated dental biofilm. *J Dent Res.* 2001;80(5):1436-40.

*Recebido em: 22/08/2007*  
*Aprovado em: 15/10/2007*

---

**Endereço para correspondência**

Cassiano Kuchenbecker Rösing  
Rua Dr. Valle, 433/701 CEP 90560-010 Porto Alegre – RS  
e-mail: ckrosing@hotmail.com