

# Atividade de um enxaguatório bucal com clorexidina a 0,12% sobre a microbiota sacarolítica da saliva

Ana Cristina Azevedo Moreira<sup>1</sup>

Tiago Afonso Maltez dos Santos<sup>2</sup>

Milena Couto Carneiro<sup>2</sup>

Mariana Ribeiro Porto<sup>2</sup>

## Resumo

Este trabalho avaliou a ação de um enxaguatório bucal com gluconato de clorexidina a 0,12% sobre o crescimento e produção de placa *in vitro* de estreptococos do grupo *mutans* e de outros microrganismos da saliva. A amostra foi composta por um *pool* de saliva, fracionada em duas partes, constituindo dois grupos. No grupo 1, adicionou-se 0,1 ml de saliva pura a tubos com caldo tioglicolato com 5% de sacarose e um bastão de vidro. No grupo 2, adicionou-se ao mesmo meio de cultura 0,1 ml de saliva previamente misturada a enxaguatório com gluconato de clorexidina a 0,12%, por 1 minuto. Após incubação a 37°C, observou-se o aspecto dos meios de cultura e a presença de placa no bastão de vidro, seguindo-se de coloração de Gram e isolamento de estreptococos do grupo *mutans*. Em 100% dos tubos do grupo 1, observou-se produção de placa *in vitro*, turbidez e sedimento. Ao Gram, foram visualizados estreptococos, bacilos Gram positivos, bacilos Gram negativos, com alguns fusiformes e leveduras. Na cultura, foram isolados estreptococos do grupo *mutans*. No grupo 2, não houve produção de placa *in vitro* na maioria dos tubos (75%), e constatou-se escassez ou ausência de turbidez e sedimento, não sendo isolados estreptococos do grupo *mutans*. Nesse grupo, onde houve pouco crescimento bacteriano e placa *in vitro* (25%), foram isolados *Streptococcus* sp. Os resultados confirmaram a efetividade da clorexidina a 0,12% incorporada a enxaguatórios na redução da microbiota da saliva, inibição do crescimento de estreptococos do grupo *mutans*, leveduras e formação do biofilme dental.

**Palavras-chave:** Enxaguatório bucal; Gluconato de clorexidina - Microbiota da saliva - Produção de placa.

## INTRODUÇÃO

A cárie e a doença periodontal são infecções bucais relacionadas com a presença da placa, ou biofilme dental, que pode ser definida como uma biomassa densa, não calcificada, constituída por microrganismos envolvidos em matriz rica em polissacarídeos extracelulares e glicoproteínas salivares, estando firmemente aderida aos dentes e a outras superfícies bucais (GEBRAN; GEBERT, 2002; LORENZO,

2004; LANG; MOMBELLI; ATTSTRÖN, 2005).

O biofilme dental não se apresenta como uma entidade única, ocorrendo variações na sua composição e localização. Em indivíduos com boa higiene bucal e dieta pouco sacarolítica, a simples presença do biofilme não é indicativa de patologias, pois ele pode ser formado por uma microbiota pouco patogênica. Os biofilmes relacionados com a doença periodontal estão associados com higiene bucal deficiente,

<sup>1</sup> Professora da Universidade Federal da Bahia - Laboratório de Microbiologia Oral e da Universidade do Estado da Bahia – UNEB.

<sup>2</sup> Graduandos do curso de Odontologia da Universidade Federal da Bahia.

Correspondência para / Correspondence to:

Ana Cristina Moreira

Rua da Paz , 257, apt. 201- Graça.

CEP: 40.150 -140 Salvador – Bahia –Brazil

E-mail: crisazev@ufba.br

predominando os anaeróbios estritos Gram negativos, proteolíticos (JORGE, 1998; LORENZO, 2004).

O biofilme associado com a cárie dental tem localização supragengival e desenvolve-se na presença constante da sacarose. É caracterizado por elevado número de bactérias cariogênicas, fermentadoras e produtoras de polissacarídeos extracelulares solúveis e insolúveis, destacando-se, neste tipo de biofilme, a presença de estreptococos do grupo *mutans*, *Lactobacillus* e *Actinomyces* (LORENZO, 2004).

Os principais microrganismos envolvidos com o início e desenvolvimento da cárie são os estreptococos do grupo *mutans*. Eles possuem atributos que os capacitam a colonizar a superfície dentária, a exemplo de fímbrias e fibrilas, com produção de polissacarídeos extracelulares insolúveis, adesinas, além de serem acidogênicos e acidúricos, características importantes para o processo cariogênico (TIRAPELLI; ITO, 2003; LORENZO, 2004).

O controle do biofilme dental e das patologias decorrentes da sua presença pode ser realizado através de procedimentos mecânicos, químicos ou através da dieta. O controle mecânico representa o método mais valioso para a prevenção e remoção do biofilme, mas nem sempre é realizado adequadamente. Desse modo, substâncias antimicrobianas vêm sendo utilizadas para o controle químico do biofilme dental, como adjuvâncias aos procedimentos mecânicos ou para afecções específicas. São recomendadas para pacientes com dificuldades operacionais frente ao controle mecânico, para pacientes sob o uso de aparelhos ortodônticos, no pré e pós-operatório de cirurgias ou em pacientes especiais (MONFRIN; RIBEIRO, 2000; TORRES et al., 2000; GEBRAN; GEBERT, 2002; MATTOS, 2003; TIRAPELLI; ITO, 2003; BUGNO et al., 2006).

Diversos veículos são utilizados para a liberação de agentes antimicrobianos na cavidade oral: pastilhas, vernizes, géis e soluções. Os colutórios ou enxaguatórios constituem o veículo mais simples, sendo uma mistura do componente ativo, água, álcool, surfactantes,

umectantes e flavorizantes (TORRES et al., 2000; GEBRAN; GEBERT, 2002; ADDY, 2005; BUGNO et al., 2006).

As substâncias antimicrobianas mais utilizadas sob a forma de enxaguatórios são: fluoreto de sódio, cloreto de cetilpiridínio, triclosan, timol e clorexidina, dentre outras (MONFRIN; RIBEIRO, 2000).

A clorexidina é uma bisguanida catiônica, disponível principalmente na forma de sais de digluconato. Apresenta amplo espectro de ação, substantividade e excelente atividade. É eficaz contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, leveduras e dermatófitos. Diminui significativamente a formação da placa, pois afeta a aderência microbiana. Aumenta a permeabilidade celular, podendo causar lise dos microrganismos ou coagulação e precipitação dos seus constituintes citoplasmáticos. É mais utilizada na forma de digluconato de clorexidina, em concentrações de 0,12% , 0,2% ou 2% (MENDES et al., 1995; TORRES et al., 2000; MOREIRA et al., 2001).

Alguns efeitos colaterais são atribuídos ao uso oral da clorexidina em enxaguatórios: manchas acastanhadas nos dentes, em restaurações ou no dorso da língua, descamação e perda da sensibilidade oral, gosto amargo e a interferência na sensação gustativa. Embora existam, no mercado consumidor, enxaguatórios com concentração de 2%, a utilização de produtos com clorexidina a 0,12% é mais indicada, pois, nessa concentração, são diminuídos os efeitos adversos das soluções mais concentradas, mantendo-se a eficácia contra os microrganismos (MENDES et al., 1995; GEBRAN; GEBERT, 2002; SOUZA; ABREU, 2003).

Devido aos efeitos colaterais apresentados, a clorexidina, assim como qualquer outro agente antimicrobiano potente, deverá ser administrada somente sob supervisão profissional (MONFRIN; RIBEIRO, 2000; ADDY, 2005). É utilizada como adjuvante da higiene bucal mecânica, durante o tratamento periodontal, em procedimentos orais cirúrgicos, após exodontia, para a redução do número de bactérias da saliva em pacientes fisicamente ou mentalmente incapacitados, nas candidoses

bucais, em pacientes sob uso de aparelhos ortodônticos ou em pacientes com alto risco de cárie, sendo considerada como substância “padrão ouro” no controle do biofilme dental (SOUSA; ABREU, 2003).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação de um enxaguatório bucal com 0,12% de gluconato de clorexidina (Periogard), sobre o crescimento e produção de placa *in vitro* de estreptococos do grupo *mutans* e de outros microrganismos da saliva.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Para este estudo, foi utilizada uma mistura de saliva obtida de 10 voluntários, de ambos os sexos, com idade que variava entre 18 a 50 anos. Após homogeneização, a amostra de saliva foi fracionada em duas partes, constituindo dois grupos. No Grupo 1, adicionou-se 0,1 ml de saliva pura a tubos com caldo tioglicolato de sódio com 5% de sacarose e um bastão de vidro. No Grupo 2, adicionou-se ao mesmo meio de cultura 0,1 ml de saliva, previamente misturada em partes iguais em 20 ml de enxaguatório bucal com 0,12% de gluconato de clorexidina (marca comercial Periogard, Colgate), por um tempo de contato de 1 minuto. Os tubos foram incubados em atmosfera de microaerofilia, em estufa bacteriológica regulada a 37°C por 48 horas. Após esse tempo, observou-se, nos tubos, presença ou ausência de turbidez, sedimento e produção de placa nos bastões de vidro. Turbidez indicou crescimento microbiano. Nos tubos que apresentaram crescimento e formação de placa nos bastões de vidro, foram feitas colorações de Gram, seguindo-se o isolamento de estreptococos do grupo *mutans*, homogeneizando-se o depósito aderido ao vidro em solução salina. Após homogeneização, foram feitas semeaduras em ágar Mitis-Salivarius, com incubação em atmosfera de microaerofilia a 37 °C. A identificação dos estreptococos do grupo *mutans* foi realizada através de observação da morfologia colonial, Gram, provas de fermentação do manitol e sorbitol, hidrólise da esculina e produção de placa *in vitro*. Em alguns

tubos onde houve produção de placa no bastão de vidro, foi feita a revelação com solução de fucsina a 1%.

## RESULTADOS

Os resultados obtidos podem ser visualizados nos Quadros 1 e 2, e nas Figuras 1 a 5. Nas Figuras de 3 a 5, são observadas as características morfológicas dos microrganismos formadores de placa *in vitro* dos grupos 1 e 2, através da coloração de Gram.

## DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho e visualizados no Quadro 1 demonstraram a redução da microbiota sacarolítica da saliva em 75%, após o contacto da saliva com o enxaguatório com gluconato de clorexidina a 0,12% (Periogard) por um minuto. A efetividade do enxaguatório foi demonstrada através da presença ou ausência de turbidez nos tubos que compunham os dois grupos sob análise, estando a turbidez e sua intensidade diretamente relacionadas ao crescimento microbiano (FIGURA 1). O crescimento e formação de placa observados em alguns tubos (25%) do grupo 2, após a exposição da saliva ao enxaguatório, foi menos intenso, sendo isolados apenas estreptococos, provavelmente resistentes à ação da clorexidina (FIGURA 5). Esses resultados estão de acordo com os obtidos por outros autores que comprovaram a eficácia da clorexidina como agente antimicrobiano, inclusive superando a atividade de outros princípios ativos (MENDES et al., 1995; MONFRIN; RIBEIRO, 2000; MOREIRA et al., 2001).

A clorexidina é considerada como antisséptico de amplo espectro, que age contra bactérias Gram positivas, Gram negativas, leveduras e dermatófitos (MONFRIN; RIBEIRO, 2000; GEBRAN; GEBERT, 2002). Os resultados obtidos nas colorações de Gram realizadas no depósito aderido ao vidro dos grupos 1 e 2 confirmaram a efetividade do

GRUPOS/TUBOS	TURBIDEZ	PRODUÇÃO DE SEDIMENTO	GRAM	
GRUPO 1	Tubo 1	+++	+++	Estreptococos, diplococos, bacilos Gram positivos e Gram negativos, bacilos fusiformes e leveduras
	Tubo 2	+++	+++	idem
	Tubo 3	+++	+++	idem
	Tubo 4	+++	+++	idem
	Tubo 5	+++	+++	idem
	Tubo 6	+++	+++	idem
	Tubo 7	+++	+++	idem
	Tubo 8	+++	+++	idem
GRUPO 2	Tubo 1	-	-	-
	Tubo 2	-	-	-
	Tubo 3	-	-	-
	Tubo 4	-	-	-
	Tubo 5	-	-	-
	Tubo 6	-	-	-
	Tubo 7	- +	- +	estreptococos
	Tubo 8	- +	- +	estreptococos

Quadro 1 - Aspectos macroscópicos e microscópicos dos tubos com caldo tioglicolato com 5% de sacarose nos Grupos 1 e 2, após incubação a 37 °C por 48 h.

Nota: +++ = acentuada; -+ = moderada; - = ausência

GRUPOS/TUBOS	PRODUÇÃO DE PLACA "IN VITRO"	GRAM	Estreptococos do grupo <i>mutans</i>	
GRUPO 1	Tubo 1	+++	Estreptococos, diplococos, bacilos Gram positivos e Gram negativos, bacilos fusiformes e leveduras	+
	Tubo 2	+++	idem	+
	Tubo 3	+++	idem	+
	Tubo 4	+++	idem	+
	Tubo 5	+++	idem	+
	Tubo 6	+++	idem	+
	Tubo 7	+++	idem	+
	Tubo 8	+++	idem	+
GRUPO 2	Tubo 1	-	-	-
	Tubo 2	-	-	-
	Tubo 3	-	-	-
	Tubo 4	-	-	-
	Tubo 5	-	-	-
	Tubo 6	-	-	-
	Tubo 7	- +	estreptococos	-
	Tubo 8	- +	estreptococos	-

Quadro 2 - Produção de placa *in vitro*, Gram e isolamento de estreptococos do grupo *mutans* nos Grupos 1 e 2.

Nota: +++ = acentuada; -+ = moderada; - = ausência; + = presença

enxaguatório com clorexidina e o seu amplo espectro de ação sobre os micro-organismos, pois, após contacto da saliva com o mesmo, foram inibidos os bacilos Gram positivos, Gram negativos, leveduras e, na maioria dos tubos, estreptococos (QUADRO 1; QUADRO 2 ; FIGURA 3; FIGURA 4; FIGURA 5).

Farias, Bufon e Cini (2003), comparando *in vitro* a ação antifúngica do diclonato de clorexidina e da nistatina sobre o crescimento de *Candida albicans*, obtiveram maior atividade

com o gluconato de clorexidina do que com a nistatina. Considerando que as leveduras visualizadas ao Gram da placa formada nos bastões de vidro do grupo 1 (FIGURA 4) foram inibidas após contato da saliva com a clorexidina, os resultados obtidos, em ambos os trabalhos, sugerem a indicação da clorexidina como opção terapêutica para o tratamento de candidoses bucais.

A prova da produção de placa *in vitro* é um ensaio microbiológico utilizado para



Figura 1- Crescimento e produção de placa *in vitro* no grupo 1 (esquerda) e ausência de crescimento no grupo 2 (direita).

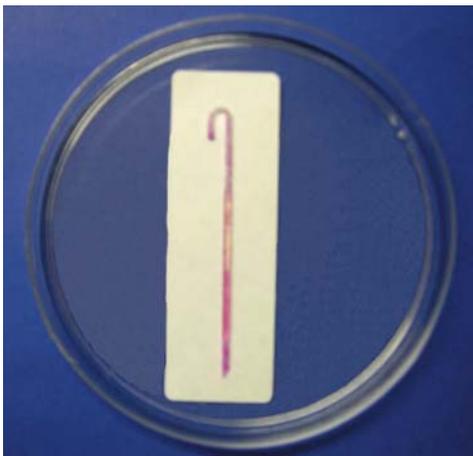


Figura 2- Placa *in vitro* corada com fucsina a 1% (grupo 1).

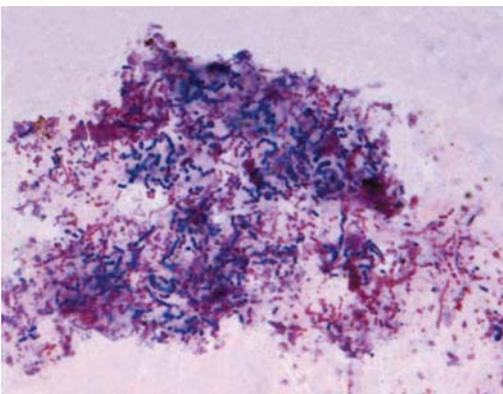


Figura 3- Gram da placa *in vitro* produzida no grupo 1

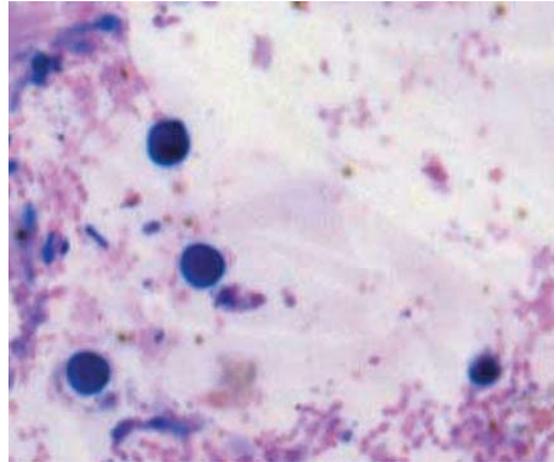


Figura 4- Leveduras placa *in vitro* grupo 1.

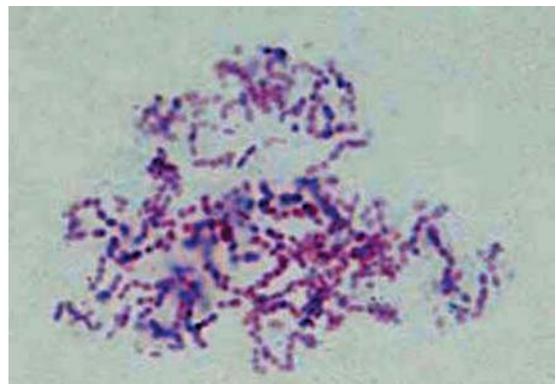


Figura 5- Placa *in vitro*, grupo 2.

detectar a capacidade de aderência das bactérias bucais a superfícies lisas (FIGURA 1; FIGURA 2). Essa prova está relacionada com a produção de polissacarídeos extracelulares insolúveis (PEC), resultantes da ação de enzimas microbianas sobre a sacarose. Os estreptococos do grupo *mutans* e o gênero *Actinomyces* são exemplos de bactérias orais produtoras de placa *in vitro*. Ocasionalmente, outros estreptococos que não os do grupo *mutans* podem produzi-la (LIMA, J.O.; LIMA, M.G.G., 1981; BURTON, 1994).

Os resultados visualizados no Quadro 2 e na Figura 1 demonstraram a capacidade do enxagatório sob teste em inibir a formação de placa *in vitro*. A clorexidina é considerada um antisséptico eficaz na prevenção do biofilme dental, pois inibe consideravelmente a aderência bacteriana (MENDES et al., 1995; MOREIRA et al., 2001).

Nas figuras 3, 4 e 5, são visualizadas as características morfotintoriais dos microorganismos que aderiram ao bastão de vidro, sendo observados estreptococos, bacilos Gram positivos, Gram negativos e leveduras. A aderência desses microrganismos pode ter ocorrido através da produção de polissacarídeos extracelulares insolúveis, derivados da sacarose ou por meio de coagregações homotípicas ou heterotípicas mediadas por adesinas.

A Figura 5 apresenta o Gram da placa *in vitro* detectada em alguns tubos pertencentes ao grupo 2. São observados apenas estreptococos, em pequena quantidade, evidenciando a ação da clorexidina sobre os demais microrganismos que compunham a amostra de saliva.

Os resultados apresentados no Quadro 2 demonstraram a eliminação total dos estreptococos do grupo *mutans* após contacto da saliva com o enxaguatório bucal, confirmando os dados da literatura que consideram a clorexidina como antisséptico eficaz contra os estreptococos do grupo *mutans* (MONFRIN;

RIBEIRO, 2000; TORRES et al., 2000; MATTOS, 2003; LORENZO, 2004). Esse antisséptico foi utilizado com sucesso para suprimir *Streptococcus mutans* de mães altamente colonizadas por esse microrganismo, visando a inibir ou a retardar a transmissão vertical para os seus filhos (TORRES et al., 2000).

## CONCLUSÃO

O enxaguatório com gluconato de clorexidina a 0,12% (Periogard) demonstrou atividade antimicrobiana sobre a microbiota sacarolítica da saliva, inibindo a produção de placa *in vitro* e o crescimento de estreptococos do grupo *mutans*, leveduras e outros microorganismos, podendo ser utilizado para o controle do biofilme dental ou para patologias relacionadas com sua presença, desde que seja utilizado de forma criteriosa, devido aos efeitos adversos consequentes ao seu uso.

## *Activity of a mouthrinse containing chlorhexidine at 0.12% against the saccharolitic microbiota of saliva*

### *Abstract*

*This work evaluated the action of a mouthrinse containing chlorhexidine gluconate at 0,12% against the growth and plaque producing in vitro of the mutans group streptococci and of other saliva microorganisms. The sample was composed of a saliva pool divided into two parts forming two groups. In group 1, 0,1ml of pure saliva was added to tubes containing thioglycolate broth with 5% of sucrose and a glass rod. In group 2, 0,1ml of saliva previously mixed with a mouthrinse containing chlorhexidine gluconate at 0,12% for one minute was added to the same culture means. After incubating at 37° C, the appearance of the culture means and the presence of plaque in the glass rod were observed, followed by Gram coloration and isolation of the mutans group streptococci. In one hundred per cent of the group one tubes, plaque production in vitro, turbidity and sedimentation were observed. Streptococci, Gram positive bacilli, Gram negative bacilli with some spindle-shaped bacilli and yeast were observed through Gram. Mutans group streptococci were also detected in the culture. In group 2, there was no plaque production in vitro in the majority of the tubes (75%), little or no turbidity and sedimentation, and mutans group streptococci were not isolated. In group 2, where there was little bacterial growth and plaque in vitro (25%), streptococci sp. were isolated. The results confirmed the effectiveness of the chlorhexidine at 0,12% incorporated to mouthrinses in the reduction of the saliva microbiota, growth inhibition of mutans group streptococci, yeasts and formation of the dental biofilm.*

**Keywords:** Mouthrinse; Chlorhexidine gluconate- Saliva microbiota- Plaque production.

## REFERÊNCIAS

- ADDY, M. O uso de anti-sépticos na terapia periodontal. In: LINDHE, J. **Tratado de periodontia**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. p.450-477.
- BUGNO, A.N. et al. Enxaguatórios bucais: avaliação da eficácia antimicrobiana de produtos comercialmente disponíveis. **R. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v.65, n.1, p.40-45, 2006.
- BURTON, R. Os estreptococos. In: NISENGARD, R.J.; NEWMAN, M.G. **Microbiologia oral e imunologia**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. p.110-125.
- FARIAS, N.C.; BUFON, M.M.; CINI, R. Avaliação *in vitro* da ação antifúngica do diclonato de clorhexidina e nistatina no controle do crescimento de *Candida albicans*. **Visão Acad.**, Curitiba, v.4, n.2, p.83-88, 2003.
- GEBRAN, M.P.; GEBERT, A.P.O. Controle químico e mecânico de placa bacteriana. **Tuiuti: Ciência e Cultura**, Curitiba, n.26, p.45-58, 2002.
- JORGE, A.O.C. Placa bacteriana. In: \_\_\_\_\_. **Microbiologia bucal**. 2.ed. São Paulo: Ed. Santos, 1998. p.31-47.
- LANG, N.P.; MOMBELLI, A.; ATTSTRÖM, R. Placa e cálculo dentais. In: LINDHE, J. **Tratado de periodontia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. p.81-104.
- LIMA, J.O.; LIMA, M.G.G. **Nos domínios da microbiologia oral**. Salvador: EDUFBA, 1981.
- LORENZO, J.L. Placa(biofilme) dental. In: \_\_\_\_\_. **Microbiologia para o estudante de Odontologia**. São Paulo: Atheneu, 2004. p.73-85.
- MATTOS, D.H.Y. de. **Utilização da clorexidina no controle dos estreptococos do grupo mutans e dos lactobacilos em pacientes portadores de aparelhos ortodônticos fixo**. 2003. 122f. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003.
- MENDES, M.M.S.G. et. al. Agentes químicos para o controle da placa bacteriana. **Periodontia**, Fortaleza, v.5, n.2, p.253-256, 1995.
- MONFRIN, R.C.P.; RIBEIRO, M.C. Avaliação *in vitro* de anti-sépticos bucais sobre a microbiota da saliva. **R. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, São Paulo, v.54, n.1, p.401-407, 2000.
- MOREIRA, A.N. et al. Agentes antimicrobianos no controle da placa supragengival. **Arq. Odontol.**, Belo Horizonte, v.37, n.1, p.87-98, 2001.
- SOUZA, R.R.; ABREU, M.H.N.G. Análise crítica da indicação da clorexidina no controle da placa bacteriana e doença periodontal. **Arq. Odontol.**, Belo Horizonte, v.39, n.3, p.163-254, 2003.
- TIRAPELLI, C.; ITO, I.Y. Avaliação do efeito de quatro anti-sépticos orais no nível de estreptococos mutans na saliva *in vivo*. **R. ABO Nac.**, Rio de Janeiro, v.11, n.1, p.47-51, 2003.
- TORRES, C.R.G. et al. Agentes antimicrobianos e seu potencial de uso na odontologia. **R. Fac. Odontol. São José dos Campos**, São José dos Campos, v.2, n.2, p.43-52, 2000.

Recebido em / Received: 22/10/2008

Aceito em / Accepted: 29/11/2008