



UNIVERSIDADE
FERNANDO
PESSOA

EVIDÊNCIAS DA RESISTENCIA A CLOREXIDINA ASSOCIADA AO USO PROLONGADO: REVISAO SISTEMATICA

[Evidence of Chlorhexidine Resistance Associated with Prolonged Use: A Systematic Review]

Dissertação de Mestrado em Medicina Dentária

Akim Louis Jean Cauchie

Orientador:

Doutor Ricardo Magalhães

Março 2025



UNIVERSIDADE
FERNANDO
PESSOA

EVIDÊNCIAS DA RESISTENCIA A CLOREXIDINA ASSOCIADA AO USO PROLONGADO: REVISAO SISTEMATICA

[Evidence of Chlorhexidine Resistance Associated with Prolonged Use: A Systematic Review]

Dissertação de Mestrado em Medicina Dentária

Akim Louis Jean Cauchie

Orientador:

Doutor Ricardo Magalhães

Março 2025

Agradecimentos

A minha mais profunda gratidão dirige-se, antes de tudo, ao meu orientador, Dr. Ricardo Magalhães, pela exigência científica, clareza de orientação e disponibilidade constante. A sua orientação rigorosa e construtiva foi determinante para o desenvolvimento deste trabalho.

Quero igualmente agradecer aos meus professores do Lycée Beaumont, em Redon, Senhor Magoga e Senhora Le Pironnec, pelo entusiasmo com que partilharam o saber e pela marca duradoura que deixaram no meu percurso académico.

Agradeço profundamente a Deus, fonte constante de força, inspiração e esperança. A sua presença silenciosa acompanhou cada etapa deste caminho. Aos meus pais, expresso o meu mais sentido agradecimento.

À minha mãe, pela ajuda incansável desde a infância, pelo amor, pela escuta, e por estar sempre presente, mesmo nas dificuldades. Ao meu pai, por me transmitir o valor do trabalho, do esforço e do autossuperamento, com o seu exemplo firme e perseverante.

Aos meus avós, pela estabilidade, pelos valores e pelo amor incondicional. À minha avó, Tassadit, um agradecimento muito especial pela sua perseverança e por ser um exemplo silencioso, mas profundamente marcante. Aos meus avós Jean-Pierre e Chantal, pela dedicação, pelo amor desde a minha infância, pelo exemplo do trabalho manual e pela força que sempre representaram como pilares essenciais na minha vida, ontem e hoje. A Papou e Slimane, um tributo cheio de saudade a vossa ausência é uma força tranquila no meu caminho.

A Laure, minha companheira, por estares presente desde o primeiro dia com apoio incondicional e constante, pela paciência, pela tua presença, e pela forma única de me acompanhares esta conquista também te pertence.

A Bernard, Geneviève e Thomas, cuja generosidade, simplicidade e presença discreta sempre com uma genuína benevolência foram um apoio precioso desde o início dos meus estudos, deixo também um agradecimento sincero.

Aos meus companheiros do TDO, pela camaradagem, pela exigência partilhada e pelo equilíbrio. Ao Dr. Cirot, pela lucidez e rigor; ao Engenheiro Clément, pela criatividade e sentido prático; aos militares Tom e Anthony, pela firmeza, lealdade e verdadeiro espírito legio.

Ao Étienne, meu binôme de tantas jornadas, pela cumplicidade, pelo humor e pelas memórias construídas dentro e fora da faculdade E, finalmente, aos amigos que encontrei ao longo do caminho. Aos colegas do CESPU, com uma menção carinhosa à Paula, obrigado pelos momentos de partilha e amizade que tanto enriqueceram esta etapa.

Resumo

A clorexidina (CHX) é um dos antissépticos mais utilizados em medicina dentária devido à sua eficácia na redução da carga microbiana oral e na prevenção de doenças periodontais e peri-implantares. No entanto, o seu uso prolongado e por vezes indiscriminado tem suscitado preocupações quanto ao desenvolvimento de resistência bacteriana, potencialmente comprometendo a sua eficácia a longo prazo e complicando o controlo de infeções orais. Esta revisão sistemática visa analisar criticamente as evidências científicas disponíveis sobre o impacto do uso prolongado de CHX no desenvolvimento de resistência bacteriana na cavidade oral. Foi realizada uma pesquisa abrangente nas bases de dados PubMed, Scopus e ScienceDirect, incluindo artigos publicados entre 2012 e 2024. Os estudos selecionados incluíram ensaios clínicos controlados e randomizados, estudos observacionais e relatos de casos que abordavam diretamente a relação entre o uso contínuo de CHX e a resistência bacteriana. A qualidade metodológica dos estudos incluídos foi avaliada utilizando a Ferramenta de Avaliação do Risco de Viés da Cochrane. Os resultados revelam mecanismos complexos de adaptação bacteriana, incluindo a ativação de bombas de efluxo, alterações na permeabilidade da membrana e mudanças na expressão génica. Estas adaptações podem reduzir a sensibilidade não só à CHX, mas também a certos antibióticos comumente utilizados na prática dentária. No entanto, a heterogeneidade observada entre estudos *in vitro* e *in vivo* destaca a importância de fatores como a concentração de CHX, a duração da exposição e as espécies bacterianas envolvidas. Esta revisão enfatiza a necessidade de uma abordagem mais matizada no uso de CHX em medicina dentária. São propostas estratégias como limitar a duração do uso, alternar com outros antissépticos e otimizar os protocolos de aplicação para minimizar o risco de resistência. Além disso, recomenda-se a monitorização contínua da sensibilidade microbiana à CHX e mais investigação sobre o seu impacto a longo prazo no microbioma oral. Em conclusão, embora a CHX continue a ser um agente antimicrobiano eficaz, o seu uso deve ser orientado por uma compreensão aprofundada dos seus potenciais efeitos na resistência bacteriana. Esta revisão fornece uma base para o desenvolvimento de diretrizes mais rigorosas sobre o uso de CHX em medicina dentária, promovendo uma aplicação mais racional e segura deste antisséptico.

Palavras-chave: Clorexidina, Resistência bacteriana, Biofilme oral, Microbiota oral, Resistência cruzada

Abstract

Chlorhexidine (CHX) is one of the most widely used antiseptics in dentistry due to its effectiveness in reducing oral microbial load and preventing periodontal and peri-implant diseases. However, its prolonged and sometimes indiscriminate use has raised concerns about the development of bacterial resistance, potentially compromising its long-term efficacy and complicating the control of oral infections. This systematic review aims to critically analyze the available scientific evidence regarding the impact of prolonged CHX use on the development of bacterial resistance in the oral cavity. A comprehensive search was conducted in PubMed, Scopus, and ScienceDirect databases, including articles published between 2012 and 2024. Selected studies included randomized controlled clinical trials, observational studies, and case reports directly addressing the relationship between continuous CHX use and bacterial resistance. The methodological quality of included studies was assessed using the Cochrane Risk of Bias Tool. Results reveal complex bacterial adaptation mechanisms, including activation of efflux pumps, alterations in membrane permeability, and changes in gene expression. These adaptations can reduce sensitivity not only to CHX but also to certain antibiotics commonly used in dental practice. However, the heterogeneity observed between in vitro and in vivo studies highlights the importance of factors such as CHX concentration, exposure duration, and bacterial species involved. This review emphasizes the need for a more nuanced approach to CHX use in dentistry. Strategies such as limiting duration of use, alternating with other antiseptics, and optimizing application protocols are proposed to minimize the risk of resistance. Additionally, continuous monitoring of microbial sensitivity to CHX and further research on its long-term impact on the oral microbiome are recommended. In conclusion, while CHX remains an effective antimicrobial agent, its use should be guided by a thorough understanding of its potential effects on bacterial resistance. This review provides a basis for developing stricter guidelines on CHX use in dentistry, promoting a more rational and safer application of this antiseptic.

Keywords: Chlorhexidine, Bacterial resistance, Oral biofilm, Oral microbiota, Cross resistance

ÍNDICE GERAL

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Antecedentes e justificção do tema.....	1
1.2 Resistência aos antibióticos: um problema mundial importante para o século XXI.....	2
1.3 O paradoxo da antissepsia e do equilíbrio microbiano.....	3
1.4 Mecanismos biológicos e genéticos da resistência aos antibióticos relacionada com a clorexidina	4
1.4.1 Resistência cruzada.....	4
1.4.2 Transferência horizontal de genes e co-seleção	6
1.5 Objetivos da revisão sistemática.....	6
1.5.1 Objetivos específicos	7
 2. MÉTODOS.....	9
2.1 Desenho do estudo/Protocolo.....	9
2.2 Pergunta de investigação e critérios de inclusão e exclusão.....	9
Quadro 1	9
2.3 Critérios de inclusão	10
2.4 Critérios de exclusão	10
2.5 Palavras-chave.....	10
2.6 Estratégia de pesquisa e seleção de artigos	10
2.7 Avaliação da qualidade metodológica dos estudos	11
 3. RESULTADOS	13
3.1 Seleção dos estudos	13
Tabela 1	15
3.2 Resultados dos estudos.....	19
3.2.1 Estudos realizados em pacientes.	19
3.2.1.1 Sangal et al. (2012) – Vigilância ativa e resistência em hospitais.....	19
3.2.1.2 Kim et al. (2016) – Uso da CHX em Unidades de Cuidados Intensivos.....	19
3.2.1.3 Bartsch et al. (2021) – Impacto da CHX na microbiota oral...	19
3.2.2 Estudos realizados em microrganismos.	19
3.2.2.1 Früh et al. (2022) – Resistência em biofilmes supragengivais	19
3.2.2.2 Zhang et al. (2019) – Resistência adquirida de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	20
3.2.2.3 Laumen et al. (2021) – Resistência em <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	20
3.2.2.4 Hashemi et al. (2019) – Alterações na resistência de bactérias Gram- negativas.....	20
3.2.2.5 Verspecht et al. (2019) – Mecanismos de resistência em patógenos orais	20
3.2.2.6 Kulik et al. (2015) – Resistência em <i>Streptococcus mutans</i> e <i>P. gingivalis</i>	21
3.2.3 Síntese geral dos resultados	21

4. DISCUSSÃO	23
4.1 Resumo e contexto dos resultados.....	23
4.1.1 Comparação pormenorizada dos estudos com doentes.....	24
4.1.2 Comparação pormenorizada de estudos sobre microrganismos.....	26
4.2 Análise comparativa dos mecanismos de resistência observados	27
4.2.1 Resistência direta à clorexidina.....	27
4.2.2 Resistência cruzada com antibióticos.....	28
4.2.3 Alterações da microbiota oral	30
4.2.4 Resumo final dos resultados clínicos e experimentais	31
4.3 Análise crítica da metodologia dos estudos incluídos	32
4.3.1 Heterogeneidade das abordagens experimentais.....	32
4.3.2 Variabilidade nos protocolos de exposição à clorexidina	33
4.3.3 Diversidade das espécies bacterianas estudadas	34
4.3.4 Avaliação do risco de enviesamento	34
4.4 Implicações clínicas e recomendações práticas.....	35
4.4.1 Implicações para a utilização da clorexidina em medicina dentária e hospitalar.....	35
4.4.2 Estratégias para minimizar o risco de resistência.....	37
4.4.3 Acompanhamento e investigação futura	38
4.4.3.1 Impacto socioeconómico e na saúde da resistência aos antibióticos na medicina dentária	38
4.4.3.2 Monitorização da resistência à CHX e direções futuras de investigação	39
4.5 Limitações do estudo.....	40
5. CONCLUSÃO.....	41
5.1 Conclusão geral.....	41
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
7. ANEXOS.....	46

Índice de figura

Figura 1 - Fluxograma PRISMA de seleção dos artigos.....	13
--	----

Índice de quadros

Quadro 1 - Formulação da questão de pesquisa mediante os critérios PICO	9
---	---

Índice de tabelas

Tabela 1 - Compilação dos resultados dos estudos.....	15
Tabela 2 - Avaliação do Risco de Viés segundo a Abordagem Cochrane.....	46

Lista de Siglas e Acrônimos

CAP – Plasma Atmosférico Frio (Cold Atmospheric Plasma)

CFU – Unidade Formadora de Colônias (Colony-Forming Unit)

CHX – Clorexidina

CMI – Concentração Mínima Inibitória

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

EPS – Substâncias Poliméricas Extracelulares (Extracellular Polymeric Substances)

FAO – Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (Food and Agriculture Organization)

FDA – Administração de Alimentos e Medicamentos (Food and Drug Administration)

GLASS – Sistema Global de Vigilância da Resistência Antimicrobiana (Global Antimicrobial Resistance Surveillance System)

HGT – Transferência Horizontal de Genes (Horizontal Gene Transfer)

LPS – Lipopolissacarídeos (Lipopolysaccharides)

MICU – Unidade de Cuidados Intensivos Médicos (Medical Intensive Care Unit)

MtrCDE – Sistema de bomba de efluxo múltiplo resistente a medicamentos (Multidrug Efflux System)

MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à Meticilina

NorM – Proteína de bomba de efluxo relacionada com resistência múltipla (Multidrug Efflux Transporter Protein)

OIE – Organização Mundial de Saúde Animal (World Organisation for Animal Health)

OMS – Organização Mundial da Saúde (WHO - World Health Organization)

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase (Polymerase Chain Reaction)

pH – Potencial Hidrogeniônico

VIH – Vírus da Imunodeficiência Humana (equivalente de HIV - Human Immunodeficiency Virus)

1. Introdução

1.1 Antecedentes e justificação do tema

A clorexidina (CHX) é um dos antissépticos mais utilizados em medicina dentária devido à sua notável eficácia na redução da carga microbiana na cavidade oral e na prevenção de doenças periodontais e peri-implantares. A sua ação antimicrobiana abrange um largo espectro de microrganismos, incluindo *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, tornando-a um agente fundamental no controlo da formação de biofilme oral (Bartsch et al., 2021). A utilização generalizada da CHX na prática dentária pode ser atribuída à sua substantividade (retenção prolongada nas superfícies orais), à atividade antimicrobiana de largo espectro e à eficácia clínica numa variedade de aplicações, incluindo enxugamentos pré-procedimento, cuidados pós-cirúrgicos, terapia periodontal e gestão de infeções orais.

Na prática dentária contemporânea, a CHX é habitualmente prescrita sob a forma de colutórios (concentrações de 0,12% a 0,2%), géis, vernizes e soluções de irrigação. Continua a ser o agente de referência para o controlo químico da placa bacteriana, particularmente em situações em que a remoção mecânica da placa bacteriana está comprometida ou é inadequada. O seu mecanismo de ação envolve a rutura das membranas celulares bacterianas, levando à fuga de componentes intracelulares e, em última análise, à morte celular em concentrações bactericidas. Em concentrações mais baixas, a CHX demonstra propriedades bacteriostáticas ao interferir com o metabolismo bacteriano e a adesão às superfícies orais (Verspecht et al., 2019).

A CHX, uma molécula lipofílica de carga positiva, interage com fosfolípidos e lipopolissacáridos (LPS) de carga negativa na parede celular bacteriana ou na membrana externa. A baixas concentrações (0,2%), esta interação provoca danos na parede celular e a fuga de constituintes de baixo peso molecular, como o potássio e o fosfato. Em concentrações mais elevadas (2% e superiores), a CHX penetra na membrana plasmática, causando citólise, libertação de componentes intracelulares e coagulação e precipitação de proteínas citoplasmáticas, levando à morte celular (Hashemi et al., 2019).

No entanto, a utilização prolongada e por vezes indiscriminada deste composto suscitou preocupações significativas quanto ao desenvolvimento de resistência bacteriana específica à clorexidina, comprometendo potencialmente a sua eficácia a longo prazo e complicando o controlo das infeções orais. A resistência aos antissépticos como a CHX representa um problema emergente que merece particular atenção. Além disso, tem-se discutido a possibilidade de resistência cruzada entre a CHX e certos antibióticos, agravando o panorama da resistência antimicrobiana, hoje reconhecida como uma crise de saúde global pela Organização Mundial da Saúde (Kampf, 2016).

1.2 Resistência aos antibióticos: um problema mundial importante para o século XXI

A resistência aos antibióticos é um dos desafios de saúde mais preocupantes do nosso tempo, sendo considerada pela Organização Mundial de Saúde como uma das dez principais ameaças à saúde global. Esta crise silenciosa, mas crescente, está a comprometer a nossa capacidade de tratar infeções bacterianas comuns e ameaça fazer-nos regressar a uma era pré-antibiótica, em que as infeções que hoje são facilmente tratáveis podem voltar a ser fatais (Organização Mundial de Saúde, 2023).

De acordo com estimativas recentes, as infeções resistentes aos antimicrobianos já causam quase 1,3 milhões de mortes diretas por ano e contribuem para 4,95 milhões de mortes associadas em todo o mundo, excedendo as mortes atribuídas ao VIH ou à malária (Murray et al., 2022).

Neste contexto alarmante, o estudo de agentes antissépticos como a clorexidina assume uma dimensão particular. Embora os antissépticos e os antibióticos pertençam a classes distintas de agentes antimicrobianos, os mecanismos de resistência que induzem podem revelar-se interligados, criando uma rede complexa de resistência cruzada que agrava o problema global da resistência aos antibióticos (Cieplik et al., 2019). A compreensão das ligações entre a utilização prolongada de antissépticos como a CHX e o desenvolvimento de resistência aos antibióticos está, por conseguinte, a tornar-se crucial para o desenvolvimento de estratégias eficazes de prevenção e controlo de infeções.

Esta interligação é particularmente preocupante num contexto em que o desenvolvimento de novos antibióticos abrandou drasticamente. Entre 1980 e 2018, o número de aprovações de novos antibióticos pela FDA diminuiu mais de 80%, criando um "vazio de inovação" que contrasta com o rápido aumento da resistência (Theuretzbacher et al., 2020). Esta situação está a criar uma "corrida ao armamento" assimétrica, em que as bactérias estão a desenvolver resistência mais rapidamente do que a nossa capacidade de desenvolver novas armas terapêuticas. Assim, compreender os mecanismos e a extensão da resistência bacteriana induzida por antissépticos de larga utilização como a CHX incluindo fenómenos como a resistência cruzada com antibióticos e a sua persistência na microbiota oral torna-se crucial para o desenvolvimento de estratégias eficazes de prevenção e controlo de infeções, no contexto de saúde pública global.

1.3 O paradoxo da antissepsia e do equilíbrio microbiano

O estudo da resistência bacteriana à CHX é de extrema importância tanto na prática dentária como no contexto hospitalar. Se os agentes patogénicos orais desenvolverem uma sensibilidade reduzida a este antisséptico amplamente utilizado, os clínicos poderão enfrentar desafios significativos na gestão da doença periodontal, da peri-implantite e de outras infeções orais. Além disso, a potencial resistência cruzada entre a CHX e os antibióticos é particularmente preocupante, uma vez que pode comprometer a eficácia da terapia antimicrobiana sistémica quando necessária para infeções orais graves. Esta preocupação é ampliada por observações recentes que sugerem que as concentrações sub-inibitórias de CHX podem influenciar a suscetibilidade aos antibióticos. (Cieplik et al., 2019).

O paradoxo fundamental da antissepsia reside na tensão entre a eliminação a curto prazo dos agentes patogénicos e as consequências a longo prazo para o ecossistema microbiano. A utilização prolongada de CHX, embora reduza efetivamente a carga bacteriana imediata, pode criar um desequilíbrio ecológico que favorece o aparecimento de resistências e compromete as defesas naturais (Sreenivasan et al., 2022). Este paradoxo é particularmente relevante na cavidade oral, um ecossistema microbiano complexo onde mais de 700 espécies bacterianas coexistem num equilíbrio dinâmico essencial para a saúde oral.

Um número crescente de estudos sugere que as perturbações deste equilíbrio microbiano oral, nomeadamente através da utilização repetida de antissépticos como a CHX, podem ter repercussões sistémicas que vão para além da saúde oral. Foram estabelecidas ligações entre a disbiose oral e várias condições sistémicas, incluindo doenças cardiovasculares, diabetes e certas patologias neurológicas (Kamer et al., 2021). Estas associações sublinham a importância de uma abordagem holística na avaliação dos benefícios e dos riscos da utilização prolongada de CHX.

1.4 Mecanismos biológicos e genéticos da resistência aos antibióticos relacionada com a clorexidina

A resistência bacteriana aos antimicrobianos é um fenómeno complexo que envolve múltiplos mecanismos de adaptação, tais como a redução da permeabilidade da membrana celular, o aumento da atividade de bombas de efluxo, alterações nos alvos moleculares e a produção de enzimas inibidoras. No contexto da clorexidina, estas adaptações refletem a notável plasticidade genética e fisiológica das bactérias face às pressões ambientais.

1.4.1 Resistência cruzada

A resistência cruzada é um fenómeno em que uma única alteração adaptativa numa bactéria confere resistência simultânea a diferentes classes de agentes antimicrobianos, mesmo quando estes não partilham a mesma estrutura química ou o mesmo alvo molecular. Este mecanismo é particularmente relevante no contexto da utilização prolongada de antissépticos, como a clorexidina (CHX), uma vez que pressões seletivas constantes podem favorecer a seleção de bactérias com mecanismos de defesa amplos, comprometendo também a eficácia de antibióticos essenciais.

No caso da CHX, os dados emergentes sugerem que a exposição prolongada pode induzir resistência cruzada a antibióticos clínicos importantes, através de mecanismos moleculares partilhados. Entre os mais significativos destaca-se a ativação de bombas de efluxo multi-substrato, que expulsam ativamente compostos antimicrobianos do interior da célula bacteriana para o meio externo, reduzindo assim a sua concentração intracelular efetiva.

Sistemas como MexAB-OprM em *Pseudomonas aeruginosa* e AcrAB-TolC em *Enterobacteriaceae* têm sido amplamente estudados por confiarem simultaneamente resistência a compostos como a CHX e a múltiplas classes de antibióticos, incluindo β -lactâmicos, fluoroquinolonas, tetraciclina e aminoglicosídeos (Kampf, 2016). A sobre-expressão destas bombas pode ser induzida por contacto prolongado com CHX, funcionando como mecanismo defensivo genérico.

Outro mecanismo comum à CHX e aos antibióticos diz respeito a alterações estruturais da membrana externa nas bactérias de Gram-negativo, como mudanças nos lipopolissacáridos (LPS) ou nas porinas, que reduzem a permeabilidade da membrana. Estas alterações dificultam a penetração de compostos como a colistina, um antibiótico de última linha usado contra infeções multirresistentes, reduzindo assim drasticamente a sua eficácia terapêutica (Hashemi et al., 2019).

Para além disso, respostas genéticas coordenadas, frequentemente mediadas por reguladores globais como MarA, SoxS e RamA, podem ser ativadas em resposta à CHX. Estes reguladores controlam vastas redes de genes associados à resposta ao stress antimicrobiano, incluindo aqueles relacionados com resistência a antibióticos, tolerância ao stress oxidativo, e reparação de danos celulares (Webber et al., 2015). A ativação destas vias não apenas aumenta a resistência à CHX, mas também confere tolerância cruzada a diversos antibióticos, reforçando o risco clínico de seleção de estirpes multirresistentes.

Do ponto de vista clínico, este fenómeno é extremamente relevante: uma bactéria exposta repetidamente à CHX, mesmo na ausência de antibióticos, pode desenvolver uma resistência cruzada que a torna simultaneamente menos suscetível a tratamentos antimicrobianos convencionais. Em ambientes como a cavidade oral, onde a CHX é frequentemente utilizada sob a forma de colutórios, géis ou vernizes, este risco é amplificado devido à presença de biofilmes densos e à possibilidade de transferência horizontal de genes entre microrganismos (incluindo genes de resistência localizados em plasmídeos e transposões).

Assim, a resistência cruzada induzida pela CHX emerge como uma preocupação crítica tanto em ambientes hospitalares como em medicina dentária. Este fenómeno obriga a uma reflexão aprofundada sobre o uso prolongado de antissépticos, bem como à

implementação de estratégias que minimizem a pressão seletiva sobre o microbioma oral, reduzindo assim o risco de emergência de resistência cruzada com impacto clínico direto.

1.4.2 Transferência horizontal de genes e co-seleção

Um aspeto particularmente preocupante da resistência associada à CHX diz respeito ao fenómeno da co-seleção genética. Os genes que conferem resistência à CHX, nomeadamente *qacA/B* e *smr* em *Staphylococcus aureus*, estão frequentemente localizados em elementos genéticos móveis, como plasmídeos ou transposões, que também podem transportar genes de resistência a antibióticos (Liu et al., 2015). Esta co-localização facilita a co-seleção: a exposição à CHX pode selecionar indiretamente bactérias resistentes a antibióticos, mesmo na ausência de antibióticos.

A transferência horizontal de genes (HGT) desempenha um papel central na disseminação de genes de resistência entre as bactérias orais. O microbiota oral, caracterizado por uma elevada densidade e diversidade microbiana, proporciona condições ideais para a troca de material genético através de mecanismos como a conjugação, transformação e transdução. Este processo facilita não só a propagação de genes de resistência a antibióticos, mas também de genes de virulência, contribuindo para a rápida adaptação das comunidades bacterianas às pressões seletivas dos agentes antimicrobianos. Consequentemente, o HGT aumenta a dificuldade do tratamento das infeções orais, como a periodontite, as lesões periapicais e a peri-implantite, e representa um desafio significativo para a saúde oral e geral (Li & Yu., 2021). Estudos recentes mostraram também que os biofilmes orais expostos à CHX apresentam um aumento da frequência de eventos de transferência de plasmídeos por conjugação, sugerindo que o antisséptico poderia paradoxalmente estimular este tipo específico de intercâmbio genético entre bactérias (Zhang et al., 2019).

1.5 Objetivos da revisão sistemática

O principal objetivo desta revisão sistemática é analisar criticamente a evidência científica disponível sobre o impacto do uso prolongado de clorexidina no desenvolvimento de resistência bacteriana na cavidade oral.

1.5.1 Objetivos específicos

Examinar se a exposição prolongada à CHX leva a um aumento da resistência bacteriana, tanto em contextos clínicos como laboratoriais. Identificar os principais microrganismos afetados e os mecanismos moleculares envolvidos neste processo de resistência. Avaliar a potencial resistência cruzada entre a CHX e os antibióticos habitualmente utilizados em medicina dentária. Comparar os resultados de estudos clínicos que envolvem pacientes expostos à CHX com os de estudos in vitro em microrganismos isolados.

Avaliar as implicações destes resultados para a prática e os protocolos dentários atuais. Esta revisão abrangente da literatura é essencial para informar recomendações baseadas em evidências para o uso de CHX em medicina dentaria, promovendo uma aplicação mais racional e segura deste antisséptico. A adoção de estratégias que minimizem o risco de resistência bacteriana poderia preservar a eficácia a longo prazo da CHX, garantindo melhores resultados clínicos e aumentando a segurança do paciente.

2. Métodos

2.1 Desenho do estudo/Protocolo

Para a elaboração da presente revisão sistemática foram utilizadas as diretrizes e recomendações Cochrane para revisão sistemática (Versão 6.4, 2023), seguindo a estratégia de pesquisa Population, Intervention, Comparison, Outcome (PICO) (Marques, 2008) e sistematizada através do diagrama de análise: Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis (PRISMA) (Page, 2021).

2.2 Pergunta de investigação e critérios de inclusão e exclusão

Para iniciar o processo de investigação, colocou-se a seguinte questão: “Qual o impacto do uso prolongado da clorexidina na resistência bacteriana na cavidade oral ?”

O Quadro 1 apresenta os critérios PICO (Paciente/População, Intervenção, Comparação e Resultado) utilizados na formulação das perguntas de pesquisa para a revisão sistemática.

Quadro 1

Formulação da questão de pesquisa mediante os critérios PICO.

Critérios:

● População	Pessoas/Microrganismos expostas à clorexidina.
● Intervenção	Uso prolongado e repetitivo da clorexidina.
● Comparação	Pessoas/Microrganismos não expostos ou expostos a clorexidina.

● Resultados (Outcomes)	Desenvolvimento de resistência bacteriana a clorexidina e resistência cruzada.
--	--

2.3 Critérios de inclusão

- Estudos que abordem o uso da clorexidina em ambiente médico.
- Estudos in vitro.
- Estudos que avaliem a resistência bacteriana à clorexidina.

2.4 Critérios de exclusão

- Estudos que avaliem apenas a eficácia da clorexidina sem considerar a resistência bacteriana.
- Estudos de revisão sistemática.
- Estudos de meta análise.
- Artigos que focassem exclusivamente em higiene ou prevenção foram excluídos.

2.5 Palavras-chave

- Chlorexidine
- Bacterial resistance
- Oral biofilm
- Oral microbiota
- Cross resistance

2.6 Estratégia de pesquisa e seleção de artigos

A pesquisa bibliográfica desta revisão sistemática foi realizada em três bases de dados eletrônicas: Science Direct, PubMed e Scopus. As palavras-chave utilizadas incluíram «chlorhexidine», «bacterial resistance» e «cross resistance», combinadas com operadores booleanos (AND, OR).

Foi aplicado um filtro para selecionar apenas artigos publicados em inglês, português ou francês, disponíveis na íntegra e referentes ao período entre 2012 e 2024. A escolha deste

intervalo temporal justifica-se pela necessidade de garantir a atualidade dos dados e refletir as evidências mais recentes sobre a resistência à clorexidina. Após a aplicação rigorosa destes critérios de inclusão e exclusão, foram selecionados nove artigos para análise final.

O número relativamente reduzido de artigos resulta do foco específico da revisão e da exigência de qualidade e relevância científica das publicações incluídas. Pesquisas adicionais e leitura integral foram realizadas após a identificação de artigos relevantes nas referências bibliográficas de outros já analisados (pesquisa manual).

O processo de seleção está representado na Figura 1.

De forma geral, os estudos *in vitro* apresentaram boa qualidade metodológica com risco de viés baixo ou moderado, enquanto os estudos clínicos demonstraram maior variabilidade, especialmente no controlo de fatores de confundimento e na aleatorização dos participantes.

A seleção dos artigos foi realizada de forma independente por dois revisores, com base nos títulos, resumos e textos completos. As divergências foram resolvidas por consenso, assegurando a fiabilidade do processo de inclusão. Do mesmo modo, a avaliação metodológica dos estudos incluídos foi efetuada de forma independente por dois leitores, sendo que o segundo possui formação adequada para a análise crítica e compreensão dos artigos científicos, o que reforça a validade do processo. As discordâncias foram resolvidas por consenso.

2.7 Avaliação da qualidade metodológica dos estudos

A avaliação do risco de viés dos estudos incluídos nesta revisão sistemática foi realizada utilizando a Ferramenta de Avaliação de Risco de Viés da Cochrane. Esta ferramenta permite avaliar vários aspetos metodológicos-chave de cada estudo para determinar a validade interna dos resultados. Cada artigo foi avaliado de acordo com os seguintes critérios:

1. Seleção dos Participante.
2. Atribuição das Intervenções.
3. Dados Ausentes.

4. Medição dos Resultados.
5. Viés de Relato.
6. Outros Viéses.

A avaliação da qualidade metodológica foi complementada por uma análise geral da robustez dos estudos incluídos. Observou-se que os estudos experimentais *in vitro* tendem a apresentar uma qualidade metodológica mais homogênea, com menor risco de viés, ao passo que os estudos clínicos demonstraram maior heterogeneidade, principalmente no controlo de variáveis de confundimento e na aleatorização.

3. Resultados

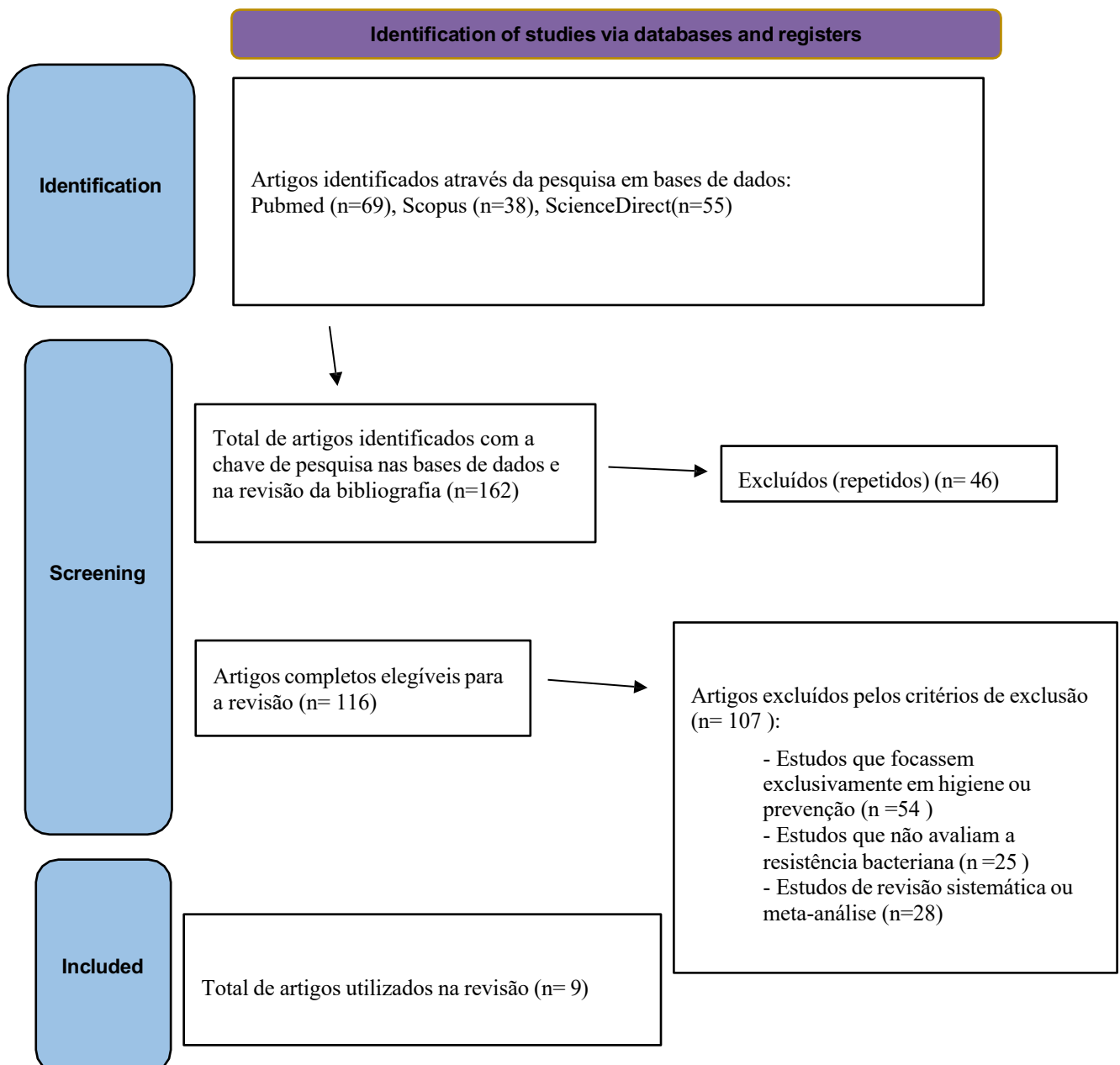
3.1 Seleção dos estudos

Todas as recomendações do diagrama de fluxo PRISMA foram seguidas na seleção dos artigos, respeitando os critérios de exclusão.

De um total de 162 artigos potencialmente relevantes, restaram 116 após a remoção de duplicados. Uma triagem subsequente excluiu 107 artigos após uma avaliação criteriosa. Foram assim selecionados 9 artigos que integram os resultados desta revisão sistemática, tal como se ilustra na Figura 1.

Figura 1

Fluxograma PRISMA de seleção dos artigos



A Figura 1 apresenta o processo de seleção dos estudos incluídos na revisão sistemática. O diagrama descreve detalhadamente as etapas de identificação, triagem, elegibilidade e inclusão, indicando o número de registros encontrados, os estudos excluídos e as razões para sua exclusão em cada fase.

A Tabela 1 apresenta os 9 estudos analisados na revisão sistemática.

Tabela 1*Compilação dos resultados dos estudos analisados;*

Categoria	Referência	Objetivo do estudo	Amostra	Metodologia	Comparação (Exposto vs Nao exposto)	Resultados principais
Pacientes	Bartsch et al. (2021)	Avaliar as alterações na microbiota oral após exposição prolongada à CHX	Pacientes que utilizaram elixir oral com CHX	Análise da microbiota oral antes e depois da exposição prolongada	Comparação antes/depois da exposição	Redução da diversidade bacteriana e aumento de patógenos oportunistas
Pacientes	Kim et al. (2016)	Estudar o efeito dos banhos diários com CHX na aquisição de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina (MRSA)	Pacientes em unidades de cuidados intensivos (MICU)	Estudo com séries temporais interrompidas ao longo de 30 meses	Pacientes antes e depois da introdução dos banhos com CHX	Redução progressiva da colonização por MRSA sem aumento detectável da resistência

Pacientes	Sangal et al. (2012)	Avaliar o impacto da vigilância ativa e dos banhos de CHX na resistência bacteriana em unidades de cuidados intensivos	Pacientes em unidades de cuidados intensivos na Escócia	Estudo longitudinal sobre a evolução da resistência bacteriana	Comparação antes/depois da implementação dos banhos com CHX	Nenhum aumento detectado na resistência aos antibióticos, apesar da exposição prolongada à CHX
Microrganismos	Hashemi et al. (2019)	Estudar o impacto da CHX na resistência de bactérias Gram-negativas	Bactérias Gram-negativas provenientes de amostras clínicas	Análise proteômica após exposição à CHX	Bactérias não expostas vs. adaptadas à CHX	Aumento da resistência à colistina e alteração das proteínas da membrana
Microrganismos	Verspecht et al. (2019)	Avaliar a adaptação de patógenos orais à CHX e a resistência cruzada	Bactérias orais (<i>Streptococcus</i> , <i>P. gingivalis</i>)	Exposição prolongada a diferentes antissépticos, incluindo a CHX	Bactérias expostas vs. não expostas	Desenvolvimento progressivo de resistência à CHX e a outros antissépticos

Microrganismos	Kulik et al. (2015)	Estudar a resistência de <i>Streptococcus mutans</i> e <i>P. gingivalis</i> após exposição à CHX	Culturas bacterianas em laboratório	Exposição prolongada à CHX e monitorização de mutações	Bactérias expostas vs. não expostas	Nenhuma mutação conferindo resistência duradoura à CHX foi detectada
Microrganismos	Früh et al. (2022)	Avaliar o impacto da CHX na resistência bacteriana no biofilme supragengival	Biofilmes supragengivais	Exposição prolongada a concentrações subinibitórias de CHX	Biofilmes expostos vs. não expostos à CHX	Aumento da CMI de antibióticos (eritromicina, clindamicina) após exposição à CHX
Microrganismos	Zhang et al. (2019)	Estudar a resistência adquirida de <i>Klebsiella pneumoniae</i> após exposição à CHX	Estirpes clínicas de <i>K. pneumoniae</i>	Exposição progressiva a concentrações crescentes de CHX	Comparação antes/depois da exposição prolongada	Aumento da CMI à colistina, sugerindo resistência cruzada

Microrganismos	Laumen et al. (2021)	Analisar o efeito da CHX na resistência de <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Culturas de <i>N. gonorrhoeae</i>	Exposição repetida a concentrações subinibitórias de CHX	Estirpes expostas vs. não expostas	Desenvolvimento progressivo de resistência à CHX e redução da sensibilidade à azitromicina e ciprofloxacina
-----------------------	-----------------------------	---	-----------------------------------	--	------------------------------------	---

3.2 Resultados dos estudos

De forma global, os estudos analisados demonstram um aumento significativo da resistência bacteriana após exposição prolongada à CHX em modelos laboratoriais, contrastando com resultados clínicos menos evidentes.

3.2.1 Estudos realizados em pacientes.

3.2.1.1 Sangal et al. (2012) – Vigilância ativa e resistência em hospitais

Este estudo avaliou o impacto da vigilância ativa e do uso da CHX em Unidades de Cuidados Intensivos na Escócia. Os autores relataram que, apesar do uso prolongado da CHX, não houve um aumento significativo na resistência bacteriana. Esse achado sugere que o uso controlado da CHX pode ser uma estratégia eficaz na prevenção de infecções nosocomiais, sem induzir resistência significativa.

3.2.1.2 Kim et al. (2016) – Uso da CHX em Unidades de Cuidados Intensivos

Um estudo realizado em uma Unidade de Cuidados Intensivos Médicos (MICU) avaliou a eficácia dos banhos diários com CHX na aquisição de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA). Os resultados indicaram que a exposição contínua à CHX levou a uma redução progressiva da colonização por MRSA, sem evidências claras de aumento da resistência. Este achado sugere que a CHX pode desempenhar um papel benéfico na prevenção da disseminação de patógenos resistentes em ambientes hospitalares.

3.2.1.3 Bartsch et al. (2021) – Impacto da CHX na microbiota oral

Bartsch et al. investigaram o impacto do uso prolongado da CHX na microbiota oral. Os resultados demonstraram uma redução significativa da diversidade bacteriana, acompanhada por um aumento na presença de patógenos oportunistas. Esse efeito pode predispor os pacientes a infecções secundárias e desequilíbrios na microbiota oral, enfatizando a necessidade de monitoramento clínico durante o uso prolongado da CHX.

3.2.2 Estudos realizados em microrganismos.

3.2.2.1 Fröh et al. (2022) – Resistência em biofilmes supragengivais

Este estudo analisou o efeito da CHX na resistência bacteriana em biofilmes supragengivais. Os autores observaram um aumento significativo da Concentração Mínima Inibitória (CMI) para antibacterianos como eritromicina e clindamicina após a exposição repetida à CHX. Estes achados sugerem que a CHX pode induzir resistência cruzada, aumentando a dificuldade no tratamento de infecções bacterianas orais.

3.2.2.2 Zhang et al. (2019) – Resistência adquirida de *Klebsiella pneumoniae*

Zhang et al. investigaram a resistência adquirida de *Klebsiella pneumoniae* após exposição prolongada à CHX. O estudo revelou que a CMI para colistina aumentou significativamente, indicando um risco de resistência cruzada entre a CHX e antibióticos de última linha. Esses resultados são preocupantes, especialmente considerando o uso clínico da colistina no tratamento de infecções multirresistentes.

3.2.2.3 Laumen et al. (2021) – Resistência em *Neisseria gonorrhoeae*

Este estudo examinou a resistência de *Neisseria gonorrhoeae* após exposição contínua à CHX. Os pesquisadores identificaram um aumento progressivo da resistência à CHX e uma redução da sensibilidade a antibióticos como azitromicina e ciprofloxacina. Esses achados demonstram que a exposição prolongada à CHX pode comprometer a eficácia de terapias antimicrobianas convencionais.

3.2.2.4 Hashemi et al. (2019) – Alterações na resistência de bactérias Gram- negativas

Hashemi et al. estudaram as alterações na resistência de bactérias Gram-negativas após exposição repetida à CHX. Os resultados indicaram que as bactérias desenvolveram mudanças na expressão de proteínas de membrana, reduzindo a eficácia da colistina e dos peptídeos antimicrobianos naturais. Este estudo reforça a hipótese de que a CHX pode contribuir para mecanismos de resistência adaptativa.

3.2.2.5 Verspecht et al. (2019) – Mecanismos de resistência em patógenos orais

Verspecht et al. analisaram os mecanismos de resistência desenvolvidos por patógenos orais após exposição prolongada à CHX. O estudo revelou que as bactérias ativaram bombas de efluxo, reduzindo tanto a eficácia da CHX quanto a de antibióticos utilizados

na prática odontológica. Esses achados demonstram que a CHX pode favorecer a seleção de microrganismos resistentes, representando um risco potencial para tratamentos clínicos futuros.

3.2.2.6 Kulik et al. (2015) – Resistência em *Streptococcus mutans* e *P. gingivalis*

Kulik et al. estudaram a resistência adquirida por *Streptococcus mutans* e *Porphyromonas gingivalis* após exposição prolongada à CHX. Os resultados indicaram que nenhuma mutação significativa foi observada que conferisse resistência duradoura, sugerindo que esses microrganismos podem ter mecanismos diferentes de adaptação à CHX quando comparados a bactérias Gram-negativas.

3.2.3 Síntese geral dos resultados

Em termos globais, os resultados dos estudos incluídos revelam tendências consistentes, sobretudo nas experiências laboratoriais. Das seis investigações realizadas com microrganismos in vitro, cinco demonstraram um aumento significativo da concentração mínima inibitória (CMI) da CHX após exposição prolongada, e quatro delas reportaram fenômenos de resistência cruzada com antibióticos de uso clínico, como colistina, eritromicina, clindamicina e ciprofloxacina. Em contraste, entre os três estudos clínicos realizados com pacientes, dois observaram alterações na composição do microbioma oral (incluindo aumento de patógenos oportunistas), mas nenhum evidenciou aumento direto e significativo de resistência fenotípica à CHX ou aos antibióticos. Esta divergência sugere que os efeitos observados em laboratório nem sempre se traduzem imediatamente em contextos clínicos reais, o que justifica a importância de analisar ambos os tipos de evidência de forma integrada e crítica.

4. Discussão

4.1 Resumo e contexto dos resultados

A clorexidina (CHX) é um dos antissépticos mais utilizados em medicina dentária devido à sua eficácia antimicrobiana de largo espectro. Esta revisão sistemática analisou nove estudos relevantes publicados entre 2012 e 2022, incluindo três estudos clínicos realizados diretamente em pacientes e seis estudos experimentais *in vitro* realizados em microrganismos isolados. O principal objetivo foi avaliar o impacto da exposição prolongada à CHX na emergência de resistência bacteriana e identificar possíveis resistências cruzadas com antibióticos.

É essencial comparar os resultados obtidos em pacientes com os de estudos experimentais, uma vez que os resultados obtidos em condições laboratoriais controladas nem sempre são diretamente transponíveis para condições humanas reais, onde múltiplos fatores ambientais e fisiológicos podem influenciar o aparecimento e o desenvolvimento de resistência bacteriana.

A análise combinada destes dois tipos de resultados fornece, portanto, uma imagem mais completa e realista dos riscos associados à utilização prolongada de CHX em medicina dentária e em hospitais, informando assim futuras recomendações práticas sobre a utilização deste antisséptico.

Em geral, os estudos experimentais *in vitro* tendem a mostrar que a exposição repetida à CHX pode induzir um aumento da resistência bacteriana a este antisséptico, bem como uma resistência cruzada a determinados antibióticos. Por exemplo, vários estudos laboratoriais relatam um aumento significativo das concentrações inibitórias mínimas (CIM) da CHX após uma exposição prolongada, acompanhado de uma diminuição da sensibilidade a antibióticos como a colistina, a eritromicina ou a clindamicina (Zhang et al., 2019; Früh et al., 2022). Por outro lado, os estudos clínicos realizados em doentes não observaram sistematicamente esse aumento da resistência, possivelmente devido à complexidade do ambiente oral *in vivo*, onde fatores como a presença da saliva, a

renovação constante do biofilme e as interações microbianas podem atenuar ou mascarar os efeitos seletivos da CHX observados em condições laboratoriais controladas.

Em determinadas condições de utilização prática, não foi detectada a emergência significativa de estirpes resistentes à CHX (Sangal et al., 2012), embora tenham sido observadas alterações mais subtis na flora microbiana oral (Bartsch et al., 2021). Esta heterogeneidade de resultados entre modelos experimentais e situações clínicas realça a complexidade do fenómeno da resistência à CHX e exige uma análise aprofundada das suas implicações fundamentais e aplicadas.

É de salientar que estes resultados, embora contrastantes, levantam uma grande preocupação no contexto de um aumento global da resistência antimicrobiana. Conferem a esta discussão uma importância particular na informação da prática clínica em medicina dentária e hospitalar, e contribuem para o desenvolvimento de protocolos mais racionais para a utilização da CHX.

Num contexto global de vigilância acrescida contra a resistência antimicrobiana, a compreensão dos mecanismos e fatores que favorecem o desenvolvimento da resistência à CHX é uma questão importante de saúde pública.

4.1.1 Comparação pormenorizada dos estudos com doentes

Os estudos clínicos incluídos nesta revisão sistemática mostram uma relativa consistência quanto aos efeitos imediatos da exposição prolongada à clorexidina (CHX). Embora nenhum estudo tenha relatado claramente um aumento significativo e imediato da resistência aos antibióticos após a utilização repetida de CHX, foram observados alguns efeitos notáveis na composição microbiana oral. No entanto, estes estudos têm diferenças metodológicas e contextuais importantes a considerar. O estudo de Sangal et al. (2012), realizado numa unidade de cuidados intensivos com a utilização diária de banhos de CHX a 2%, não identificou qualquer emergência significativa de resistência à CHX ou aos antibióticos habitualmente utilizados, mesmo após vários anos de acompanhamento. Estes resultados sugerem que, num ambiente hospitalar rigorosamente controlado, a CHX pode ser utilizada eficazmente sem encorajar a rápida emergência de resistência bacteriana detetável. Resultados semelhantes foram comunicados por Kim et al. (2016),

que também demonstram que a utilização diária de banhos de CHX reduz significativamente a aquisição de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) em unidades de cuidados intensivos, sem detetar um aumento significativo da resistência bacteriana.

Em contraste, o estudo odontológico de Bartsch et al. (2021) mostrou que a exposição prolongada (4 semanas) à CHX através de elixires bucais resultou numa redução significativa da diversidade microbiana oral, associada a um aumento relativo de bactérias oportunistas.

No entanto, este estudo não relatou um aumento significativo imediato dos genes de resistência aos antibióticos, o que sugere uma influência mais subtil e indireta da CHX na microbiota oral, em vez de uma indução direta rápida de resistência antimicrobiana.

As disparidades observadas entre os estudos podem ser explicadas por vários fatores. Em primeiro lugar, o número reduzido de participantes em alguns ensaios clínicos pode ter amplificado o impacto da variabilidade individual, incluindo diferenças na composição do microbiota oral, na resposta imunitária ou na adesão às instruções de uso da CHX.

Além disso, a duração real da exposição ao antisséptico pode ter variado substancialmente entre os indivíduos, mesmo quando os protocolos pareciam semelhantes. Por fim, a presença de múltiplos fatores de confusão como o uso concomitante de outros antissépticos ou antibióticos, hábitos de higiene oral distintos, dieta ou estado de saúde geral torna difícil isolar o efeito específico da CHX em condições clínicas reais.

Apesar das aparentes divergências entre os resultados dos estudos in vitro e dos estudos clínicos, observa-se uma coerência clínica subjacente: ambos os tipos de evidência apontam para a necessidade de vigilância reforçada no uso prolongado da CHX, devido ao potencial risco de desenvolvimento de resistência bacteriana e de alterações na microbiota oral.

No entanto, estes mecanismos podem ser menos visíveis num contexto clínico real, devido a múltiplos fatores ambientais difíceis de controlar, como as variações individuais do pH salivar, a diversidade alimentar dos doentes ou as diferenças individuais do sistema

imunitário. Estes fatores ambientais tornam a detecção da resistência num contexto clínico mais complexa e poderiam explicar a relativa discrição destes fenómenos nos pacientes em comparação com os resultados muito claros observados no laboratório.

4.1.2 Comparação pormenorizada de estudos sobre microrganismos

Estes resultados laboratoriais reforçam a evidência de que a exposição repetida à CHX pode promover rapidamente o desenvolvimento de resistência ao próprio antisséptico, bem como resistência cruzada a vários antibióticos, tal como já discutido anteriormente nesta revisão.

O estudo de Zhang et al. (2019) é um exemplo notável, revelando um aumento substancial da concentração inibitória mínima (CIM) à colistina em *Klebsiella pneumoniae* após exposição repetida à CHX. Estes resultados experimentais são particularmente alarmantes, pois mostram que a exposição prolongada à CHX pode induzir rapidamente mecanismos significativos de adaptação bacteriana, comprometendo potencialmente a eficácia de antibióticos críticos utilizados em hospitais. Da mesma forma, Fröh et al. (2022) relatam um aumento significativo da CIM de vários antibióticos habitualmente utilizados em medicina dentária, como a eritromicina e a clindamicina, após a exposição de biofilmes supragengivais à CHX.

No entanto, surge uma diferença interessante no comportamento das bactérias de Gram-positivo estudadas por Kulik et al. (2015), em particular *Streptococcus mutans*. Estas bactérias mostraram menos ou nenhuma resistência após exposição prolongada à CHX, ao contrário das bactérias de Gram-negativo.

Esta divergência poderia ser explicada por diferenças estruturais notáveis, em particular a presença de uma membrana externa mais complexa nas bactérias de Gram-negativo, o que facilita a ativação de mecanismos de adaptação, tais como bombas de efluxo ou mutações que afetam a permeabilidade da membrana. Estes resultados mostram claramente que as condições experimentais controladas em laboratório facilitam a detecção de mecanismos de resistência.

4.2 Análise comparativa dos mecanismos de resistência observados

4.2.1 Resistência direta à clorexidina

A análise dos estudos incluídos revela que a resistência à CHX se desenvolve de forma diferenciada consoante a espécie bacteriana e as condições de exposição. O trabalho *in vitro* de Fröh et al. (2022) sobre biofilmes supragengivais demonstrou que a exposição repetida a concentrações subinibitórias de CHX induziu um aumento significativo da CIM de várias bactérias orais. Este aumento da tolerância à CHX foi particularmente observado em biofilmes polimicrobianos, sugerindo que a arquitetura complexa do biofilme desempenha um papel protetor ao facilitar a adaptação bacteriana ao antisséptico. Esta observação é relevante no contexto clínico, onde a CHX é frequentemente utilizada para combater os biofilmes orais no tratamento da doença periodontal.

Por outro lado, um estudo experimental de Kulik et al. (2015) não revelou quaisquer mutações significativas que conferissem resistência duradoura em *Streptococcus mutans* e *Porphyromonas gingivalis* após exposição prolongada à CHX. Esta diferença entre os estudos poderia ser explicada por mecanismos de adaptação específicos de determinadas espécies ou por diferenças metodológicas nos protocolos de exposição. Estes resultados contraditórios sublinham a complexidade dos fenómenos de resistência e a importância de considerar as especificidades microbianas e as condições experimentais ao avaliar o risco.

Uma análise aprofundada dos mecanismos moleculares envolvidos na resistência direta à CHX indica que várias vias adaptativas podem ser ativadas simultaneamente. O estudo de Verspecht et al. (2019) destacou, por exemplo, o papel principal dos sistemas de efluxo, como as bombas MtrCDE e NorM, que permitem que as bactérias expulsem ativamente a CHX da célula, reduzindo assim a sua concentração intracelular efetiva. Este mecanismo de evasão é uma importante estratégia adaptativa, particularmente observada em bactérias de Gram-negativo, e contribui para uma redução na eficiência da CHX.

De um ponto de vista clínico, deve notar-se que o aparecimento de uma resistência acentuada à CHX nos doentes continua mal documentado. Por exemplo, Sangal et al.

(2012), num estudo realizado numa unidade de cuidados intensivos, não observaram o aparecimento de estirpes de *Staphylococcus aureus* significativamente menos sensíveis à CHX, apesar da utilização diária de banhos de CHX durante um longo período não foi detectado qualquer aumento significativo das CIM ou dos genes de resistência associados. Este sugere que, em condições de utilização controladas, o risco de aparecimento de uma verdadeira resistência fenotípica à CHX in vivo pode ser limitado.

Alguns estudos incluídos nesta revisão indicam que a exposição prolongada e mal controlada à CHX pode induzir adaptações em determinadas bactérias. Embora a evidência em humanos ainda seja limitada, este risco potencial justifica uma utilização criteriosa a longo prazo (Hashemi et al., 2019; Zhang et al., 2019; Verspecht et al., 2019; Laumen et al., 2021).

4.2.2 Resistência cruzada com antibióticos

Um dos aspectos mais preocupantes salientados por esta revisão sistemática diz respeito ao potencial de resistência cruzada entre a CHX e certos antibióticos. Os estudos experimentais fornecem exemplos eloquentes a este respeito. Por exemplo, o estudo in vitro de Zhang et al. (2019) mostrou que a exposição prolongada de *Klebsiella pneumoniae* à CHX induziu não só um aumento da resistência a este anti-séptico (aumento da CIM), mas também um aumento dramático de 128 vezes na CIM da colistina, um antibiótico de último recurso (de 0,25 µg/mL para 32 µg/mL). Este resultado ilustra a escala potencial do fenómeno de resistência cruzada e as suas implicações clínicas preocupantes nos hospitais, onde a colistina é utilizada contra agentes patogénicos multirresistentes.

Do mesmo modo, Früh et al. (2022) observaram nos seus ensaios que os isolados bacterianos orais expostos à CHX apresentavam uma sensibilidade reduzida à eritromicina e à clindamicina, dois antibióticos habitualmente utilizados em medicina dentária. Este fenómeno, se ocorresse na cavidade oral de um paciente, poderia comprometer a eficácia dos tratamentos antibióticos convencionais, nomeadamente no caso de infeções orais polimicrobianas em que estes antibióticos estão indicados.

Do mesmo modo, os trabalhos de Laumen et al. (2021) sobre a *Neisseria gonorrhoeae* confirmam esta tendência: mostraram uma redução da sensibilidade deste agente patogénico aos antibióticos azitromicina e ciprofloxacina após exposição contínua à CHX. Estas observações sugerem que os mecanismos de resistência induzidos pela CHX podem afetar a suscetibilidade bacteriana a várias classes de antibióticos, incluindo os macrólidos e as fluoroquinolonas, alargando o espectro das preocupações terapêuticas.

Os mecanismos subjacentes a esta resistência cruzada parecem envolver tanto alterações na permeabilidade da membrana como a sobre expressão de bombas de efluxo de largo espectro. Hashemi et al. (2019) demonstraram que a exposição prolongada à CHX pode levar a alterações na expressão de proteínas de membrana em bactérias de Gram-negativos, afetando a sua suscetibilidade não só à colistina, mas também a certos péptidos antimicrobianos naturais do hospedeiro. Por outras palavras, as adaptações bacterianas à CHX quer sob a forma de uma membrana celular menos permeável ou de uma expulsão mais eficiente de compostos tóxicos - podem simultaneamente reduzir a eficácia de certos antibióticos e das defesas imunitárias inatas.

A relevância clínica destes resultados é significativa. Indicam que a utilização intensiva de CHX poderia reduzir indiretamente a eficácia dos tratamentos antibióticos subsequentes, selecionando estirpes bacterianas tolerantes. Um organismo que tenha desenvolvido mecanismos de resistência sob o efeito da CHX poderia, de facto, revelar-se mais difícil de erradicar, mesmo com antibióticos de último recurso, e potencialmente escapar, em certa medida, aos mecanismos de controlo imunitário.

No entanto, este cenário permanece teórico na maioria dos contextos clínicos, uma vez que depende da extensão da adaptação bacteriana e da presença real de tais estirpes nos doentes. A este respeito, deve notar-se que o estudo clínico de Bartsch et al. (2021) mencionado abaixo (secção 4.2.3) não mostrou qualquer aumento significativo na abundância de genes de resistência a antibióticos na microbiota oral, apesar da utilização prolongada de CHX, o que sugere que, em condições reais, estes efeitos de resistência cruzada podem ser mais limitados ou mais lentos a manifestarem-se do que os modelos *in vitro* sugerem. No entanto, a possibilidade de seleção insidiosa de estirpes com um fenótipo multi-resistente sob pressão da CHX justifica uma vigilância especial na prática.

4.2.3 Alterações da microbiota oral

Para além dos efeitos diretos na resistência bacteriana medida pelas CIM, a exposição prolongada à CHX pode levar a alterações significativas no ecossistema microbiano oral, ou seja, a disbiose. Um estudo clínico recente de Bartsch et al. (2021) mostrou que a utilização sustentada de colutórios com CHX foi acompanhada por uma redução significativa da diversidade bacteriana da flora oral, bem como por um aumento da prevalência de determinados agentes patogénicos oportunistas. Ao eliminar ou inibir fortemente parte da microbiota comensal benéfico, a CHX parece criar um vazio ecológico que pode ser preenchido por microrganismos mais resistentes ou menos desejáveis. Esta perturbação do equilíbrio microbiano pode ter consequências a longo prazo para a saúde oral, favorecendo potencialmente o desenvolvimento de patologias oportunistas, como a candidíase oral ou infeções periodontais recorrentes, uma vez passado o efeito antisséptico.

A redução da diversidade microbiana observada após uma exposição prolongada à CHX poderia também alterar as interações simbióticas na microbiota oral. Estas interações desempenham um papel protetor essencial na prevenção da colonização por agentes patogénicos exógenos. Paradoxalmente, a utilização intensiva de CHX poderia assim aumentar a longo prazo a suscetibilidade a certas infeções orais, apesar da eficácia antimicrobiana imediata deste antisséptico. Por outras palavras, uma boca regularmente exposta à CHX poderia tornar-se um ambiente menos resistente, mais facilmente perturbado pela passagem de agentes patogénicos ou por desequilíbrios locais.

É interessante notar que, segundo Bartsch et al. (2021), as alterações da composição microbiana induzidas pela CHX não são sistematicamente acompanhadas por um aumento dos genes de resistência aos antibióticos na microbiota oral. Esta observação qualifica a relação entre a utilização da CHX e a emergência da resistência antimicrobiana: sugere que outros factores, quer ambientais (por exemplo, a dieta, a higiene geral do paciente) quer genéticos (por exemplo, a presença inicial de estirpes naturalmente menos sensíveis), poderiam modular o impacto da CHX na seleção da resistência.

Além disso, este tipo de desequilíbrio ecológico global é difícil de reproduzir em modelos *in vitro* simplificados onde muitas vezes apenas uma ou algumas espécies são estudadas o que justifica a complementaridade dos estudos clínicos para compreender plenamente as consequências da CHX na microbiota como um todo. Só as investigações *in vivo* podem revelar estes efeitos à escala do ecossistema, evidenciando problemas de saúde que não seriam detectados num tubo de ensaio. Em resumo, os dados dos modelos experimentais controlados e as observações clínicas apresentam um quadro contrastante.

In vitro, as bactérias mostram uma capacidade inegável de adaptação à CHX, desenvolvendo múltiplas resistências diretas e cruzadas assim que são sujeitas a uma pressão prolongada.

In vivo, nos doentes, não se verifica uma "explosão" visível de resistência franca à CHX nos cenários estudados, mas sim efeitos indirectos - como a perturbação da flora oral - que podem, em última análise, influenciar a suscetibilidade global à infeção e ao tratamento.

Esta dualidade realça a importância de interpretar os resultados experimentais à luz do contexto clínico atual e vice-versa. As lições aprendidas em laboratório devem ser consideradas como sinais de alerta e áreas de vigilância, enquanto os resultados clínicos devem orientar a adaptação de hipóteses científicas para investigação futura. A conjugação destas duas fontes de conhecimento é essencial para formular recomendações equilibradas sobre a utilização da CHX na prática.

4.2.4 Resumo final dos resultados clínicos e experimentais

A comparação dos resultados obtidos a partir de estudos experimentais *in vitro* com observações clínicas permite uma melhor compreensão do impacto real da exposição prolongada à clorexidina (CHX) no aparecimento de resistência bacteriana. Os estudos experimentais fornecem condições controladas idealizadas e reproduzem com precisão a exposição prolongada à CHX, revelando assim sinais de alerta precoce do potencial desenvolvimento de resistência direta ou cruzada a vários antibióticos. Estes estudos, como os de Zhang et al. (2019) e Früh et al. (2022), ilustram claramente como, em ambientes controlados, certas espécies bacterianas, nomeadamente as Gram-negativo,

como a *Klebsiella pneumoniae*, podem desenvolver rapidamente mecanismos de defesa como bombas de efluxo ou alterações das membranas. Estes resultados experimentais devem ser considerados como indicadores precoces e preocupantes dos riscos potenciais associados à utilização prolongada de CHX

Por outro lado, os dados obtidos a partir de estudos clínicos em condições reais, como os de Sangal et al. (2012) ou Bartsch et al. (2021), oferecem uma perspectiva complementar, mais diretamente aplicável à prática quotidiana da medicina dentária e hospitalar. Estes estudos ilustram como estes fenómenos de resistência observados em laboratório se podem manifestar em situações clínicas, revelando ao mesmo tempo algumas diferenças notáveis. Por exemplo, mostram que o aparecimento de uma resistência clínica significativa pode não ser imediatamente aparente, provavelmente devido aos muitos factores de confusão presentes no mundo real, como as diferenças individuais entre os pacientes (variações genéticas e imunitárias), os protocolos de higiene oral pessoal ou a utilização concomitante de outros antimicrobianos.

Esta complementaridade entre os dois tipos de estudo sublinha a importância de uma interpretação cuidadosa e integradora dos resultados: as observações experimentais alertam para os riscos potenciais, enquanto os estudos clínicos demonstram como esses riscos se podem materializar na prática.

É essencial combinar estes dois tipos de dados, a fim de fornecer orientações fundamentadas para a prática clínica e antecipar estratégias preventivas eficazes face ao potencial desenvolvimento de resistência bacteriana induzida pela utilização prolongada de CHX.

4.3 Análise crítica da metodologia dos estudos incluídos

4.3.1 Heterogeneidade das abordagens experimentais

A avaliação metodológica dos estudos incluídos nesta revisão revela uma considerável heterogeneidade de abordagens, o que influencia a interpretação dos resultados e a sua generalização para a prática clínica. Os estudos *in vitro*, como os de Früh et al. (2022) e Zhang et al. (2019), oferecem um controlo preciso das condições de exposição e permitem

uma análise detalhada dos mecanismos moleculares. No entanto, a sua relevância clínica é limitada pela ausência de certos factores específicos do ambiente oral ou hospitalar, como a diluição salivar e o efeito tampão na cavidade oral, a renovação dos tecidos, a presença de um sistema imunitário ativo ou a coexistência de outros microrganismos em grande número. Estes factores, que são difíceis de reproduzir em laboratório, podem influenciar a ocorrência de resistência no mundo real.

Por outro lado, os estudos realizados em condições reais, como o de Sangal et al. (2012) numa unidade de cuidados intensivos, fornecem dados que são diretamente aplicáveis à prática clínica. No entanto, enfrentam desafios metodológicos significativos, incluindo a dificuldade de controlar todas as variáveis ambientais e a presença de factores de confusão (por exemplo, a utilização concomitante de outros antissépticos ou antibióticos pelos doentes, ou diferenças individuais na suscetibilidade microbiana). Esta dicotomia entre abordagens *in vitro* e *in vivo* é uma limitação inerente ao estudo da resistência antimicrobiana. É crucial ter este facto em conta na interpretação global dos dados: um resultado obtido *in vitro* deve ser extrapolado para os doentes com precaução e, inversamente, uma observação clínica isolada deve ser confirmada por investigações mecanicistas para compreender o seu significado.

4.3.2 Variabilidade nos protocolos de exposição à clorexidina

Outro aspeto metodológico crítico diz respeito à variabilidade dos protocolos de exposição à CHX entre os diferentes estudos. As concentrações de CHX utilizadas variam consideravelmente, desde doses subinibitórias em alguns estudos *in vitro* até concentrações clinicamente relevantes, noutros. Do mesmo modo, a duração da exposição difere significativamente: alguns estudos avaliam os efeitos de uma exposição única (alguns minutos ou horas), enquanto outros analisam o impacto da exposição repetida ao longo de várias semanas ou mesmo meses. Esta variabilidade nas condições de exposição poderia explicar, pelo menos em parte, os resultados divergentes observados entre os estudos.

Por exemplo, a ausência de um aumento significativo da resistência relatada por Sangal et al. (2012) no contexto clínico poderia estar ligada a um protocolo otimizado de utilização da CHX (concentração adequada, duração limitada, higiene concomitante

rigorosa), minimizando assim o risco de desenvolvimento de resistência. Inversamente, a utilização de concentrações subinibitórias em certos estudos *in vitro*, embora relevante para modelar situações clínicas específicas (como a persistência de CHX em doses baixas em locais de difícil acesso ou após diluição salivar), poderia favorecer a seleção de estirpes resistentes que poderiam não ter surgido com um padrão de utilização diferente.

4.3.3 Diversidade das espécies bacterianas estudadas

A diversidade das espécies bacterianas exploradas é também um importante fator de variabilidade. Alguns estudos centraram-se em agentes patogênicos orais específicos, como *Streptococcus mutans* ou *Porphyromonas gingivalis*, enquanto outros examinaram biofilmes polimicrobianos que são mais representativos do ecossistema oral completo. Além disso, vários estudos incluíram agentes patogênicos não orais, como a *Klebsiella pneumoniae* ou a *Neisseria gonorrhoeae*, cuja relevância para a medicina dentária pode parecer indireta, mas que fornecem informações valiosas sobre os mecanismos gerais de resistência e sobre o comportamento das bactérias oportunistas num contexto de exposição à CHX.

Esta heterogeneidade taxonômica dificulta a síntese global dos resultados, mas reflecte, por outro lado, a complexidade intrínseca do microbiota humano e a diversidade de interações entre a clorexidina (CHX) e diferentes espécies bacterianas. É relevante destacar que certas bactérias, particularmente algumas Gram-negativos, parecem apresentar uma maior propensão para desenvolver tolerância à CHX e resistência cruzada a antibióticos. Este dado reforça a necessidade de contextualizar a análise de risco microbiológico: uma conclusão obtida num determinado ecossistema (como a cavidade oral) pode não ser diretamente extrapolável para outros ambientes, como a pele de pacientes hospitalizados ou superfícies clínicas, onde a composição microbiana e os fatores seletivos são significativamente distintos.

4.3.4 Avaliação do risco de enviesamento

A avaliação do risco de viés, utilizando a abordagem Cochrane, revelou níveis variáveis de qualidade metodológica entre os estudos incluídos. Os critérios mais frequentemente

associados a um risco de viés elevado ou incerto dizem respeito à geração aleatória da sequência de aleatorização, à cegueira (dos doentes, dos intervenientes ou dos avaliadores) e à atribuição secreta dos tratamentos nos ensaios clínicos. Estas fragilidades metodológicas, particularmente presentes - e por vezes inevitáveis - em certos estudos *in vitro* (por exemplo, a ausência de uma possível ocultação numa experiência laboratorial), podem potencialmente afetar a fiabilidade dos resultados e devem ser tidas em conta na interpretação global dos dados.

Por outro lado, a maioria dos estudos apresentou um baixo risco de viés no que diz respeito ao relato seletivo dos resultados e à gestão dos dados em falta, o que reforça a confiança na exaustividade dos dados apresentados. Esta análise crítica da qualidade metodológica permite, assim, ponderar a robustez dos resultados de cada estudo e identificar áreas onde são necessárias melhorias para investigação futura (por exemplo, normalização de protocolos, melhores métodos de aleatorização ou cegueira, etc.).

4.4 Implicações clínicas e recomendações práticas

4.4.1 Implicações para a utilização da clorexidina em medicina dentária e hospitalar

Os resultados desta revisão sistemática têm implicações importantes para a utilização clínica da CHX, tanto em medicina dentária como em ambiente hospitalar. Embora a CHX continue a ser um antisséptico altamente eficaz para o controlo a curto prazo da placa dentária e para o tratamento da doença periodontal, a evidência da potencial indução de resistência bacteriana e de resistência cruzada com determinados antibióticos sugere que os protocolos de utilização devem ser reavaliados quando envolvem uma exposição prolongada ou repetida.

Na medicina dentária, uma duração limitada do uso de colutórios com CHX tipicamente entre 2 a 3 semanas poderá representar um equilíbrio adequado entre eficácia clínica e minimização do risco de perturbações na microbiota oral ou de seleção de estirpes resistentes (Direção-Geral da Saúde, 2020; Sociedade Portuguesa de Estomatologia e Medicina Dentária, s.d.). Esta abordagem parece particularmente pertinente em pacientes com maior risco de disbiose ou de infeções bacterianas multirresistentes, como os

imunocomprometidos, nos quais uma avaliação cuidadosa da relação benefício/risco é essencial.

Além disso, os profissionais de saúde devem estar cientes do potencial da CHX para alterar o equilíbrio da microbiota oral e podem considerar estratégias para minimizar este impacto indesejável. Por exemplo, a CHX pode ser alternada com outros agentes antimicrobianos (com diferentes modos de ação) durante os cuidados orais, ou a utilização de probióticos orais pode ser incorporada após uma fase de tratamento antisséptico para ajudar a restaurar uma flora benéfica. Estas abordagens visam tirar partido dos benefícios imediatos da CHX, reduzindo simultaneamente o risco de efeitos negativos a longo prazo, tal como sugerido por Verspecht et al. (2019) em relação à alternância de antissépticos para limitar a seleção de estirpes resistentes.

No ambiente hospitalar, as conclusões desta análise são igualmente relevantes. A CHX é habitualmente utilizada para a descontaminação da pele de doentes em risco (por exemplo, banhos diários de CHX em unidades de cuidados intensivos) e para a desinfecção de determinados dispositivos médicos invasivos. Estas práticas demonstraram o seu valor na redução da transmissão de agentes patogénicos nosocomiais em especial *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) sem induzir uma aparente resistência a curto prazo em determinados contextos (Sangal et al., 2012).

No entanto, os nossos resultados sugerem que é necessária uma vigilância especial no que respeita às bactérias Gram-negativas presentes no ambiente hospitalar. Com efeito, os dados experimentais indicam que a exposição repetida à CHX pode selecionar estirpes tolerantes que apresentam simultaneamente uma menor sensibilidade aos antibióticos críticos (como observado para a colistina no estudo de Zhang et al. (2019)). Por conseguinte, recomenda-se que as equipas de cuidados de saúde utilizem a CHX de forma racional no hospital, reservando a sua utilização prolongada para situações em que o benefício clínico esteja bem estabelecido (por exemplo, prevenção comprovada de infeções da corrente sanguínea relacionadas com cateteres ou controlo de uma epidemia de MRSA). Sempre que possível, a CHX deve ser integrada numa estratégia de higiene combinada (incluindo medidas de limpeza mecânica, fricção hidroalcoólica, etc.) em vez de ser utilizada como única barreira antisséptica. Além disso, seria aconselhável incorporar a monitorização da sensibilidade dos isolados microbianos hospitalares aos

antissépticos nos programas de vigilância existentes tal como é feito para os antibióticos a fim de detetar precocemente qualquer redução da eficácia da CHX no terreno.

4.4.2 Estratégias para minimizar o risco de resistência

Podem ser previstas várias estratégias para reduzir o risco de desenvolvimento de resistência bacteriana aquando da utilização da CHX, tendo em conta os mecanismos evidenciados pelos estudos analisados:

- **Alternar com outros antissépticos:** Alternar a utilização de diferentes antissépticos poderia limitar a seleção de estirpes resistentes específicas a um determinado agente, uma vez que cada antisséptico tem alvos e modos de ação distintos. Por exemplo, Verspecht et al. (2019) sugerem que a alternância da CHX com outros agentes antimicrobianos, pode impedir que uma população bacteriana se adapte uniformemente a um único stress, reduzindo a pressão de seleção contínua exercida apenas pela CHX.
- **Otimização das concentrações e dos métodos de aplicação:** É crucial utilizar a CHX em concentrações adequadas para maximizar a sua eficácia, evitando criar condições subinibitórias conducentes ao desenvolvimento de resistência. Uma diluição excessiva da CHX (por exemplo, através de uma mistura inadequada ou de uma lavagem demasiado rápida na boca) ou uma aplicação insuficientemente rigorosa (por exemplo, tempo de contacto demasiado curto, áreas mal cobertas) podem expor as bactérias a doses não letais de CHX, incentivando-as a adaptar-se. O cumprimento dos protocolos recomendados (concentração padrão, tempo de contacto adequado) é, portanto, essencial.
- **Limitação da duração da utilização contínua:** Os protocolos devem definir claramente a duração recomendada dos tratamentos com CHX e prever uma reavaliação regular da necessidade de os prolongar. Como já foi referido, para a maioria das indicações em medicina dentária, 2 a 3 semanas são geralmente suficientes. Para além disso, a relação benefício/risco deve ser reavaliada. Do mesmo modo, no contexto hospitalar, a necessidade de manter banhos prolongados de CHX ou irrigações antissépticas deve ser reconsiderada logo que a situação do doente o permita (por exemplo, interromper os banhos de CHX num doente de cuidados intensivos logo que o risco de colonização crítica diminua ou o doente deixe a unidade de alto risco).

- **Combinação com medidas mecânicas e de higiene:** Em medicina dentária, a remoção mecânica do biofilme oral através da escovagem e da utilização de dispositivos de higiene interdentária continua a ser a pedra angular da prevenção. A garantia de um controlo mecânico eficaz da placa bacteriana pode reduzir a dependência e, por conseguinte, a exposição prolongada a antissépticos químicos. Do mesmo modo, no ambiente hospitalar, as medidas básicas de higiene (limpeza diária cuidadosa, mudança frequente de roupa, desinfeção de superfícies) combinadas com a antisepsia com CHX podem reduzir a carga microbiana inicial e impedir a formação de nichos onde a CHX estagna em baixas concentrações.

4.4.3 Acompanhamento e investigação futura

4.4.3.1 Impacto socioeconómico e na saúde da resistência aos antibióticos na medicina dentária

A resistência aos antibióticos representa um encargo económico e sanitário considerável para os sistemas de saúde mundiais. Prevê-se que, sem uma intervenção eficaz, as infeções resistentes possam causar 10 milhões de mortes por ano até 2050, com um impacto económico cumulativo superior a 100 triliões de dólares (O'Neill, 2016). No domínio da medicina dentária, as consequências desta resistência crescente são particularmente preocupantes.

As infeções odontogénicas resistentes aos antibióticos convencionais requerem frequentemente hospitalização prolongada, cirurgia adicional e a utilização de antibióticos de último recurso, multiplicando os custos dos cuidados por um fator que pode ir até 3 a 5 (Teughels et al., 2020). A dimensão socioeconómica deste problema é ainda mais acentuada, uma vez que as infeções orais afectam desproporcionadamente as populações vulneráveis e economicamente desfavorecidas, exacerbando as desigualdades de saúde já existentes. Para além do aspeto económico, o aparecimento de resistência cruzada entre anti- sépticos e antibióticos está a ameaçar a eficácia dos protocolos de tratamento normalizados em medicina dentária. Patologias como a periodontite recalcitrante, a peri-implantite e as infeções endodônticas persistentes podem tornar-se

cada vez mais difíceis de tratar, comprometendo não só a saúde oral, mas também a qualidade de vida global dos pacientes (Saleem et al., 2016).

4.4.3.2 Monitorização da resistência à CHX e direções futuras de investigação

A evidência emergente de uma possível resistência bacteriana à CHX realça a importância da monitorização contínua deste fenómeno. Os programas de monitorização da suscetibilidade microbiana à CHX poderiam ser integrados de forma útil nos sistemas existentes de vigilância da resistência aos antibióticos, em especial em ambientes de alto risco, como unidades de cuidados intensivos, oncologia ou enfermarias de queimados, onde a CHX é amplamente utilizada. Isto permitiria a deteção precoce de estirpes que demonstram uma maior tolerância à CHX e o ajustamento das políticas de antissepsia em conformidade (por exemplo, mudando o antisséptico de referência se for observada localmente uma redução da eficácia).

A investigação futura deve centrar-se em várias áreas prioritárias:

(1) o desenvolvimento de métodos normalizados para avaliar a suscetibilidade à CHX, o que facilitaria a comparação de resultados entre estudos e a monitorização das tendências epidemiológicas;

(2) a identificação de fatores de risco específicos - quer estejam ligados ao doente (antecedentes genéticos, estado imunitário), ao agente infeccioso (plasticidade genómica, potencial adaptativo) ou ao ambiente (biofilme, coexistência de outros biocidas) - que favorecem o aparecimento de resistência à CHX;

(3) exploração de novas formulações ou combinações de antissépticos concebidas para minimizar o risco de resistência, mantendo simultaneamente uma elevada eficácia clínica (por exemplo, a adição de enzimas de degradação do biofilme ou de inibidores da bomba de efluxo aos elixires bucais com CHX);

(4) avaliação do impacto a longo prazo da utilização de CHX no microbiota oral e sistêmico, tendo em conta as ligações cada vez mais bem documentadas entre a saúde oral e vários problemas de saúde gerais (doenças cardiovasculares, diabetes, etc.)

(5) estudos longitudinais em contextos clínicos, que monitorizariam a eficácia da CHX nos doentes ao longo do tempo, em paralelo com alterações na sensibilidade microbiana da sua flora, a fim de compreender melhor a dinâmica da emergência (ou ausência) de resistência em situações reais.

Em suma, esta revisão sublinha a necessidade de encontrar o equilíbrio correto entre a exploração dos benefícios inegáveis da clorexidina e a prevenção dos riscos potenciais associados à sua utilização prolongada. Só uma abordagem orientada por provas científicas e uma vigilância multidisciplinar (clínicos, microbiologistas, investigadores) permitirá que a CHX continue a ser utilizada de forma segura e eficaz nos próximos anos. É essencial implementar sistemas de vigilância contínua da resistência cruzada em contexto clínico, especialmente em situações de utilização prolongada da CHX.

4.5 Limitações do estudo

As limitações desta revisão incluem a heterogeneidade metodológica e os diferentes protocolos utilizados nos estudos analisados, bem como a dificuldade inerente de extrapolar resultados laboratoriais diretamente para contextos clínicos reais. Além disso, o número relativamente reduzido de estudos clínicos identificados constitui uma limitação que deve ser considerada na interpretação dos resultados desta revisão sistemática.

5. Conclusão

5.1 Conclusão geral

Esta revisão sistemática realça a complexidade das interações entre a clorexidina (CHX), as bactérias orais e os antibióticos. Embora a eficácia imediata da CHX como antisséptico em medicina dentária seja indiscutível, as evidências de uma potencial indução de resistência bacteriana e resistência cruzada com antibióticos suscitam preocupações legítimas quanto ao seu uso prolongado.

Os resultados revelam diversos mecanismos bacterianos de adaptação à CHX, como a ativação de bombas de efluxo, alterações na permeabilidade da membrana e mudanças na expressão genética. Estes mecanismos podem reduzir a sensibilidade não apenas à CHX, mas também a antibióticos utilizados na prática clínica odontológica, como eritromicina e clindamicina. Contudo, a heterogeneidade observada nos estudos, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, destaca a importância de fatores como concentração da CHX, tempo de exposição, espécies bacterianas envolvidas e contexto clínico ou laboratorial. Assim, a aplicação prática destes resultados requer uma interpretação crítica e contextualmente ajustada às situações clínicas específicas.

É fundamental reconhecer que o uso prolongado e indiscriminado da CHX pode comprometer a sua eficácia e contribuir para o aumento da resistência antimicrobiana. Por isso, é necessário integrar estes conhecimentos na prática clínica odontológica, promovendo um uso racional e baseado em evidência. Além disso, deve ser incentivada uma vigilância clínica contínua e investigação adicional sobre o impacto a longo prazo da CHX no microbiota oral e na emergência de resistências cruzadas aos antibióticos. Esta abordagem integrada ajudará a manter a eficácia terapêutica da CHX, minimizando os riscos do seu uso prolongado, e a sensibilização dos profissionais de saúde para estes perigos é essencial para prevenir problemas futuros de resistência antimicrobiana.

6. Referências Bibliográficas

- Abbood, H. M., Hijazi, K., & Gould, I. M. (2023). Chlorhexidine resistance or cross-resistance, that is the question. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 12(5), 798. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12050798>
- Bartsch, C., Husain, S., Chandrasekaran, S., & Perera, S. (2021). Chlorhexidine digluconate mouthwash alters the oral microbial composition and affects the prevalence of antimicrobial resistance genes. *Journal of Clinical Periodontology*, 48(5), 705–716. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1429692>
- Cieplik, F., Jakubovics, N. S., Buchalla, W., Maisch, T., Hellwig, E., & Al-Ahmad, A. (2019). Resistance toward chlorhexidine in oral bacteria – Is there cause for concern? *Frontiers in Microbiology*, 10, 587. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00587>
- Direção-Geral da Saúde. (2020). *Prevenção e controlo de infeção em medicina dentária*. <https://www.dgs.pt/documentos-e-publicacoes/prevencao-e-controlo-de-infecao-em-medicina-dentaria.aspx>
- Früh, R., Anderson, A., Cieplik, F., Hellwig, E., Wittmer, A., Vach, K., & Al-Ahmad, A. (2022). Antibiotic resistance of selected bacteria after treatment of the supragingival biofilm with subinhibitory chlorhexidine concentrations. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(10), 1420. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101420>
- Hashemi, M., Ahmad, S., & Lin, Y. (2019). Proteomic analysis of resistance of Gram-negative bacteria to chlorhexidine and impacts on susceptibility to colistin, antimicrobial peptides, and ceragenins. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 74(8), 2185–2194. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00210>
- Kamer, A. R., Craig, R. G., Dasanayake, A. P., Brys, M., Glodzik-Sobanska, L., & de Leon, M. J. (2021). Inflammation and Alzheimer's disease: Possible role of periodontal diseases. *Alzheimer's & Dementia*, 17(1), 21–27. <https://doi.org/10.3233/JAD-2008-13408>
- Kampf, G. (2016). Acquired resistance to chlorhexidine - is it time to establish an 'antiseptic stewardship' initiative? *The Journal of Hospital Infection*, 94(3), 213–227. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2016.08.018>
- Kim, J.-S., Chung, Y. K., Lee, S. S., Lee, J.-A., Kim, H.-S., Park, E. Y., ... & Kang, H. J. (2016). Effect of daily chlorhexidine bathing on the acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a medical intensive care unit. *American Journal of Infection Control*. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2016.04.252>
- Kulik, E. M., Waltimo, T., Weiger, R., Schweizer, I., Lenkeit, K., Filipuzzi-Jenny, E., & Walter, C. (2015). Development of resistance of *mutans streptococci* and *Porphyromonas gingivalis* to chlorhexidine digluconate and amine fluoride/stannous fluoride-containing mouthrinses, in vitro. *Clinical Oral Investigations*, 19(6), 1547–1553. <https://doi.org/10.1007/s00784-014-1379-y>
- Laumen, J. G. E., Van Dijck, C., Manoharan-Basil, S. S., Abdellati, S., De Baetselier, I., Cuylaerts, V., ... & Kenyon, C. (2021). Sub-inhibitory concentrations of chlorhexidine induce resistance and decrease antibiotic susceptibility in *Neisseria gonorrhoeae*. *Frontiers in Microbiology*, 12, 776909. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.776909>
- Li, J., & Yu, X. (2021). Advances in studies on horizontal gene transfer promoting the evolution of resistance genes of periodontal pathogens. *Science Discovery*, 9(5), 255–262. <https://doi.org/10.11648/j.sd.20210905.19>
- Liu, Q., Zhao, H., Han, L., Shu, W., Wu, Q., & Ni, Y. (2015). Frequency of biocide-resistant genes and susceptibility to chlorhexidine in high-level mupirocin-resistant, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MuH MRSA). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 82(4), 278–283. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2015.03.023>
- Marques, J. F., Marques, D., Silveira, J., & Mata, A. D. (2008). Revisões sistemáticas: O que são e para que servem. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial*, 49(3), 171–178. [https://doi.org/10.1016/S1646-2890\(08\)70128-6](https://doi.org/10.1016/S1646-2890(08)70128-6)
- Murray, C. J. L., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., et al. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: A systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- O'Neill, J. (2016). *Tackling drug-resistant infections globally: Final report and recommendations*. Review on Antimicrobial Resistance. HM Government & Wellcome Trust. <https://apo.org.au/node/63983>

- Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P. M., Boutron, I., Hoffmann, T. C., Mulrow, C. D., ... & Moher, D. (2021). The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*, 372, n71. <https://doi.org/10.1136/bmj.n71>
- Roberts, A. P., Kreth, J., Mira, A., Leys, E., & Wescombe, P. (2020). The oral microbiome in health and disease: The new opportunities of metagenomics and molecular approaches. *Periodontology 2000*, 82(1), 26–38. <https://doi.org/10.1111/prd.12270>
- Saleem, H. G., Seers, C. A., Sabri, A. N., & Reynolds, E. C. (2016). Dental plaque bacteria with reduced susceptibility to chlorhexidine are multidrug resistant. *BMC Microbiology*, 16, 214. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0833-1>
- Sangal, V., Girvan, E. K., Jadhav, S., Lawes, T., Robb, A., Vali, L., ... & Gould, I. M. (2012). Impacts of a long-term programme of active surveillance and chlorhexidine baths on MRSA in an ICU in Scotland. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 40(4), 323–331. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2012.06.007>
- Sociedade Portuguesa de Estomatologia e Medicina Dentária. (s.d.). *Recomendações para o uso de antissépticos orais*. <http://www.spemd.pt/>
- Sreenivasan, P. K., & Haraszthy, V. I. (2022). Chlorhexidine improves hygiene reducing oral polymorphonuclear leukocytes with antimicrobial effects at distinct microenvironments. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(5), 603. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11050603>
- Teughels, W., Feres, M., Oud, V., Martin, C., Matesanz, P., & Herrera, D. (2020). Adjunctive effect of systemic antimicrobials in periodontitis therapy: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, 47(Suppl 22), 257–281. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13264>
- Theuretzbacher, U., Outtersson, K., Engel, A., & Karlén, A. (2020). The global preclinical antibacterial pipeline. *Nature Reviews Microbiology*, 18(5), 275–285. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0288-0>
- Verspecht, T., Rodriguez Herrero, E., Khodaparast, L., Boon, N., Bernaerts, K., Quirynen, M., & Teughels, W. (2019). Development of antiseptic adaptation and cross-adaptation in selected oral pathogens in vitro. *Scientific Reports*, 9(1), 8326. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44822-y>
- Webber, M. A., Whitehead, R. N., Mount, M., Loman, N. J., Pallen, M. J., & Piddock, L. J. (2015). Parallel evolutionary pathways to antibiotic resistance selected by biocide exposure. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(8), 2241–2248. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv109>
- World Health Organization. (2023). *Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report 2022*. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240062702>
- Zhang, Y., Zhao, Y., Xu, C., Zhang, X., Li, J., Dong, G., Cao, J., & Zhou, T. (2019). Chlorhexidine exposure of *Klebsiella pneumoniae* strains leads to resistance to this disinfectant and to colistin. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 53(6), 864–867. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2019.02.012>

7. Anexos

Anexo A - **Tabela 2.** Avaliação do Risco de Viés segundo a Abordagem Cochrane

Estudo	Geração da sequência de randomização adequada	Atribuição secreta do tratamento	Cegueira (critérios de julgamento subjetivos)	Cegueira (mortalidade)	Dados em falta reportados (curto prazo 2-6 semanas)	Dados em falta reportados (longo prazo >6 semanas)	Resultados reportados de forma seletiva	Outras fontes de viés
Antibiotic Resistance of Selected Bacteria								
Chlorhexidine Digluconate Mouthwash								
Chlorhexidine Exposure of Klebsiella pneumoniae								
Development of Antiseptic Adaptation								
Development of Resistance in Streptococci and P. gingivalis								

Estudo	Geração da sequência de randomização o adequada	Atribuição secreta do tratamento	Cegueira (critérios de julgamento subjetivos)	Cegueira (mortalidade)	Dados em falta reportados (curto prazo 2-6 semanas)	Dados em falta reportados (longo prazo >6 semanas)	Resultados reportados de forma seletiva	Outras fontes de viés
Impacts of Long-Term Chlorhexidine Baths	●	●	●	●	●	●	●	●
Proteomic Analysis of Gram-Negative Bacteria Resistance	●	●	●	●	●	●	●	●
Effect of daily chlorhexidine bathing	●	●	●	●	●	●	●	●
Sub-Inhibitory Chlorhexidine in Neisseria gonorrhoeae	●	●	●	●	●	●	●	●

● = Baixo risco de viés ● = Alto risco de viés ● = Risco incerto

A *tabela 2* apresenta a avaliação do risco de viés dos estudos incluídos nesta revisão sistemática, utilizando a abordagem Cochrane. A análise foi realizada com base nos seguintes critérios:

- Geração da sequência de randomização adequada: Avalia se a alocação dos participantes foi realizada de forma verdadeiramente aleatória para minimizar o viés de seleção.
- Atribuição secreta do tratamento: Verifica se a alocação dos participantes foi ocultada aos pesquisadores responsáveis pela inclusão dos participantes.
- Cegueira (critérios de julgamento subjetivos): Examina se os avaliadores estavam cegos quanto ao tratamento recebido pelos participantes para evitar influências na interpretação dos resultados.
- Cegueira (mortalidade): Determina se a avaliação da mortalidade foi realizada sem conhecimento do grupo de intervenção.
- Dados em falta reportados (curto prazo 2-6 semanas): Analisa se houve perda de participantes e se os dados ausentes foram devidamente relatados no período de curto prazo.
- Dados em falta reportados (longo prazo >6 semanas): Verifica a transparência na apresentação de dados ausentes em avaliações de longo prazo.
- Resultados reportados de forma seletiva: Identifica se houve seleção dos resultados reportados, omitindo dados desfavoráveis.
- Outras fontes de viés: Considera potenciais problemas metodológicos adicionais que podem comprometer a validade dos resultados.

Cada estudo foi classificado como baixo risco (●), alto risco (●) ou risco incerto (●) para cada critério. Esta avaliação permite compreender a robustez metodológica dos estudos incluídos e sua confiabilidade na análise dos efeitos da clorexidina sobre a resistência bacteriana.

