

Vânia Filipa da Silva Rocha Relvas

EFEITOS DO USO DE ANTISSÉPTICOS NA FLORA ORAL

UNIVERSIDADE FERNANDO PESSOA

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2015

Vânia Filipa da Silva Rocha Relvas

EFEITOS DO USO DE ANTISSÉPTICOS NA FLORA ORAL

UNIVERSIDADE FERNANDO PESSOA

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2015

Vânia Filipa da Silva Rocha Relvas

EFEITOS DO USO DE ANTISSÉPTICOS NA FLORA ORAL

Trabalho apresentado à Universidade
Fernando Pessoa como parte dos
requisitos para a obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas

RESUMO

A cavidade oral é constituída por mais de 600 espécies bacterianas, tornando-se esta um principal foco de estudo. A microbiota oral é extremamente complexa e única em cada indivíduo, sendo o género *Streptococcus* o mais prevalente. O microbioma oral é um dos mais completos do organismo humano, existindo várias comunidades bacterianas, que se encontram bem organizadas e estruturadas. Na verdade, a microbiota oral desempenha um papel fundamental na saúde do paciente, uma vez que contribui não só para o desenvolvimento do sistema imunitário, como também possui aspetos prejudiciais para os seres vivos. O desequilíbrio da placa bacteriana leva ao aparecimento de doenças orais, sendo a cárie e a doença periodontal as principais. De forma a minimizar a acumulação da placa bacteriana e as doenças associadas a estas, surgiram os métodos mecânicos de higienização oral. No entanto, estes apresentam algumas limitações, surgindo os antissépticos orais de forma a colmatá-las. Entre os antissépticos mais utilizados temos a clorexidina e o triclosan. A clorexidina é o *gold-standard*, possuindo um amplo espectro de ação, contra bactérias, vírus, fungos e leveduras. Esta substância é eficaz contra a redução de placa bacteriana, apresentando efeitos secundários, principalmente manchas ou coloração castanha nos dentes. O triclosan apresenta um espectro de ação contra fungos, vírus e bactérias, principalmente contra Gram-positivo, possuindo efeito antimicrobiano e um ligeiro efeito anti-inflamatório. Este antisséptico é preferencialmente utilizado em pastas dentífricas e elixires, principalmente porque possui menos interação com outros compostos.

Palavras-chaves: “microbiologia oral”, “microbioma oral”, “placa dentária”, biofilme oral”, “doença periodontal”, “cárie”, “gingivite”, “higiene oral”, “elixires”, “antisséptico oral”, “clorexidina”, “triclosan”, “mecanismo de ação”.

ABSTRACT

The oral cavity is constituted by more than 600 bacterial species, that's why this cavity will be becoming a major focus of study. The oral microbiota is extremely complex, and unique to each person, and the most prevalent genus is *Streptococcus*. The oral microbiome is one of the most complete microbiomes in the human body, there are several bacterial communities, lying well organized and structured. In fact, the oral microflora plays a key role in the health of the patient, since it contributes to the development of the immune system, but also has aspects that are harmful to living things. The imbalance of bacterial plaque leads to the appearance of oral diseases, as caries and periodontal diseases are the principal ones. In order to minimize the buildup of the bacterial plaque and disease, the mechanical methods of oral hygiene appeared. However, they have some limitations, arising oral antiseptics in order to overcome the limitations of these methods. Among the most used antiseptic chlorhexidine and we triclosan. Chlorhexidine is the gold standard, having a broad spectrum of action, which includes bacteria, viruses, fungi and yeasts. This is effective against plaque reduction, with side effects, especially stains or brown staining on the teeth. Triclosan has a spectrum of activity against fungi, viruses and bacteria, especially against Gram-positive, having antimicrobial effect and having a slight anti-inflammatory effect. This antiseptic is preferably used in tooth pastes and elixirs, mainly because it has less interaction with other compounds.

Keywords: “oral microbiology”, “oral microbiome”, “dental plaque”, “oral biofilm”, “periodontal disease”, “dental cáries”, gingivitis”, “oral hygiene”, “mouthwash”, “oral antiseptic”, “chlorhexidine”, “triclosan”, “action mechanism”.

Não é o trabalho, mas o saber trabalhar, que é o segredo do êxito no trabalho. Saber trabalhar quer dizer: não fazer um esforço inútil, persistir no esforço até ao fim, e saber reconstruir uma orientação quando se verificou que ela era, ou se tornou, errada.

(Fernando Pessoa)

DEDICATÓRIAS

Aos meus pais, irmão e avó
por todo o amor e apoio.
a vocês devo tudo!

Muito obrigada!

AGRADECIMENTOS

À minha família pela compreensão e apoio prestados ao longo destes anos.

À minha orientadora Prof. Dr^a. Maria João Coelho, pela disponibilidade e tempo dedicados à realização deste trabalho. Quero também agradecer à minha co-orientadora Prof. Dr^a. Cristina Pina por toda a disponibilidade demonstrada.

A Universidade Fernando Pessoa por toda ajuda a nível académico, influenciando o meu trajeto tanto profissional como pessoal.

À Ana Rita Moreira, amiga, por todos os momentos que partilhamos, pelas palavras, lágrimas, sorrisos e por nunca me deixares desistir.

Aos meus amigos pelo apoio incondicional e paciência que tiveram comigo ao longo desta minha jornada, tanto profissional como pessoal.

Muito obrigada!

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE TABELAS	xii
I. INTRODUÇÃO.....	1
II. DESENVOLVIMENTO	4
1. Flora microbiana da cavidade oral.....	4
1.1. Definição de microbioma oral.....	4
1.2. Tipos de flora oral	4
1.3. Natureza da flora oral - Espécies mais prevalentes na cavidade oral	5
1.4. Fatores que afetam o crescimento da microbiota oral.....	13
1.5. Aspectos benéficos da flora oral	17
1.6. Aspectos prejudiciais da flora oral - Placa bacteriana e consequência do seu desequilíbrio.....	18
2. Antisséticos orais.....	22
2.1. Terminologia e conceitos	22
2.2. Tipos de antisséticos	27
2.2.1. Clorexidina	32
2.2.1.1. Mecanismo de ação	33
2.2.1.2. Efeitos farmacológicos	35
2.2.1.3. Uso clínico.....	36
2.2.1.4. Efeitos adversos	38
2.2.2. Triclosan	41
2.2.2.1. Mecanismo de ação	41
2.2.2.2. Efeitos farmacológicos	43
2.2.2.3. Uso clínico.....	44
2.2.2.4. Efeitos adversos	45
III. CONCLUSÃO.....	47
IV. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Processo de formação da placa bacteriana (Marinho e Araújo, 2007; Scannapieco, 2013).....	11
Figura 2. Fatores que regulam a composição, quantidade e distribuição da microbiota oral (Jorge, 1998; Marcotte e Lavoie, 1998; Ureña; 2002).....	17
Figura 3. Ciclo do desequilíbrio oral que pode resultar em doença oral (Zarco <i>et al.</i> , 2012).....	20
Figura 4. Representação da evolução de uma gengiva saudável até periodontite (Jain <i>et al.</i> , 2008).....	21
Figura 5. Características de um antisséptico ideal (González <i>et al.</i> , 2014).....	23
Figura 6. Atuação dos diferentes tipos de antissépticos orais na sucessão da placa bacteriana (Lindhe, 2003).....	28
Figura 7. Estrutura química da clorexidina (Maya <i>et al.</i> , 2011).....	32
Figura 8. Representação do mecanismo de ação da clorexidina (About Chlorhexidine: Mechanism of Action. [Em linha]. Disponível em < http://chlorhexidinefacts.com/mechanism-of-action.html >. [Consultado em 10/05/2015].).....	34
Figura 9. Estrutura química do triclosan (Food <i>et al.</i> , 2008).....	41
Figura 10. Formação do complexo ternário estável entre FabI-NAD ⁺ -Triclosan (Heath <i>et al.</i> , 2000).....	42

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela I. Principais espécies isoladas na cavidade oral (Jorge, 1998; Gendron <i>et al.</i> , 2000; Ureña, 2002; Human Oral Microbiome Database. [Em linha]. Disponível em < http://www.homd.org/modules.php?op=modload&name=HOMD&file=index >. [Consultado em 08/02/2015].).....	8
Tabela II. Normas existentes para produtos utilizados no controlo da gengivite e placa bacteriana supragengival (Barnett, 2003; Krayner <i>et al.</i> , 2010).....	26
Tabela III. Classes de antissépticos com respetiva ação (Lindhe, 2003; Marsh, 2010; González <i>et al.</i> , 2014).....	30

I. INTRODUÇÃO

A cavidade oral apresenta uma enorme diversidade microbiana, cerca de 700 diferentes espécies, que inclui bactérias, vírus, fungos e até mesmo protozoários (He e Shi, 2009; Scannapieco, 2013; Wade, 2013). Esta é considerada o segundo maior complexo de bactérias do nosso organismo, possuindo, apenas, menos bactérias que o cólon (Wade, 2013). As patologias que afetam as estruturas anatómicas da cavidade oral, especificamente os tecidos dentários e as mucosas gengivais, como a cárie e a periodontite, encontram-se entre as mais prevalentes na população humana. Existe um amplo consenso de que essas patologias são o resultado da interação entre a microflora oral, a presença de nutrientes e os tecidos anatómicos envolvidos (Barnett, 2003; Lindhe *et al.*, 2003; Jenkinson e Lamont, 2005; Leszczyńska *et al.*, 2011).

A utilização da sequência genética 16S rRNA como marcador molecular permitiu a identificação de cerca de 300 espécies de microrganismos, tornando-se o microbioma oral, o mais estudado do corpo humano (Chen *et al.*, 2010; Dewhirst *et al.*, 2010).

O impulso para o combate às doenças orais compreende o conhecimento das relações simbióticas entre o hospedeiro e os microrganismos orais. Desta forma, a compreensão da complexidade microbiana existente na cavidade oral, fornece mais ferramentas no diagnóstico médico, possibilitando um tratamento mais particular, tendo como finalidade a beneficiação da saúde oral (Faran Ali e Tanwir, 2012).

A saúde oral possui um enorme efeito na saúde em geral do humano, uma vez que bactérias colonizadoras desta cavidade podem provocar doenças sistêmicas, tais como endocardite, bacteremia, entre outras (Munro e Cindy, 2004; Wade, 2013). Mais importante, a recorrente existência de infecções orais, como periodontite, favorece a entrada de bactérias nas mucosas, e, conseqüentemente, na corrente sanguínea (Gendron *et al.*, 2000; Wade, 2013).

A remoção de placa bacteriana, que está na origem da maioria das doenças da cavidade oral, tem sido conseguida através de métodos mecânicos, nomeadamente a escovagem dos dentes, igualmente eficaz no controlo do biofilme (Wade, 2013; Haas *et al.*, 2014).

A utilização de métodos mecânicos, com a finalidade de controlar a placa bacteriana, tem demonstrado ser o procedimento mais eficaz contra a cárie e as doenças periodontais; no entanto, existem estudos que comprovam que esta conduta não é realizada de forma eficaz pela população, muitas vezes devido à falta de tempo e motivação, bem como à falta de destreza manual, especialmente em idosos e crianças (Marinho e Araújo, 2007; Haas *et al.*, 2014). É de salientar que através deste processo não se consegue eliminar o biofilme existente no espaço interdentário, sendo necessário complementar com o uso de fio dentário. Todavia, o recurso a este último também depende de uma técnica específica, não sendo acessível para todas as pessoas (Rojas e Santos-Aleman, 2005; Pedrazzi *et al.*, 2009). Segundo Kim, não existe nenhum procedimento padrão correto para todos os indivíduos, uma vez que este está dependente da morfologia oral, do estado de saúde/doença oral e, por fim, da destreza manual. Contudo, a técnica de escovagem ideal baseia-se naquela que possibilita a remoção da placa bacteriana no menor tempo possível, sem provocar danos nos tecidos, tal como a gengiva (Kim, 2012).

Perante as limitações dos métodos mecânicos de higiene oral, e de forma a reforçar a higienização da cavidade oral, começaram a ser utilizados antissépticos orais, na forma de colutórios ou elixires. Importa, ainda, salientar que os antissépticos orais não podem substituir os métodos mecânicos, sendo utilizados como adjuvantes na higienização oral. Recorre-se, então, à utilização de agentes químicos de forma a combater o biofilme, minimizando os agentes patogénicos, prevenindo e controlando o aparecimento da placa bacteriana. Existem vários tipos de antissépticos biguaninas, compostos fenólicos, compostos de amina quaternários, fluoretos, sais metálicos, óleos essenciais. De acordo com a bibliografia utilizada, pode-se mencionar que os antissépticos orais são utilizados como adjuvantes na limpeza mecânica dos dentes, tanto na restrição da placa bacteriana, como na prevenção de doenças associadas à cavidade oral (Marinho e Araújo, 2007; Fardin *et al.*, 2011; Haas *et al.*, 2014).

O trabalho que se segue pretende fazer uma revisão bibliográfica sobre os efeitos observados dos antissépticos de dois dos antissépticos mais utilizados, clorexidina e triclosan, na cavidade oral. Neste sentido, pretende-se compreender a composição e o

funcionamento da flora oral, bem como descrever os mecanismos de ação e os efeitos adversos dos antissépticos aqui apresentados.

II. DESENVOLVIMENTO

1. Flora microbiana da cavidade oral

1.1. Definição de microbioma oral

A cavidade oral contempla um dos diversos e interessantes microbioma presentes no corpo humano. De facto, e apesar da totalidade do microbioma oral ser constituído por mais de 600 espécies predominantes, incluindo vírus, fungos, protozoários e bactérias, cada superfície pertencente à cavidade oral e/ou estruturas anexas é colonizada seletivamente por diferentes espécies bacterianas, organizadas maioritariamente sob a forma de biofilme, o que torna a cavidade oral um dos principais focos de estudo do microbioma humano (He e Shi, 2009; Parahitiyawa *et al.*, 2010; Scannapieco, 2013, Wade, 2013).

A microflora oral humana integra os microrganismos encontrados na cavidade oral e respetivas estruturas anexas (Dewhirst *et al.*, 2010). Por definição e segundo Joshua Lederberg (*cit. in* Dewhirst *et al.*, 2010) esta define-se como uma “comunidade ecológica de microrganismos comensais, simbióticos e patogénicos, que partilham o espaço do corpo humano (...)”, os quais se encontram envoltos em produtos salivares e bacterianos (Munro e Grap, 2004).

1.2. Tipos de flora oral

Preferencialmente, os microrganismos alojam-se na cavidade oral em locais como mucosas (incluindo lábios, bochechas, língua e palato), nos dentes e na saliva. Estes locais são independentes e apresentam um crescimento microbiano distinto suportado pelos recursos biológicos existentes. Assim, a elevada diversidade microbiana existente na cavidade oral permite, de acordo com fatores como a superfície adequada à adesão e as estruturas específicas de microrganismos, a existência de um ecossistema típico (Ureña, 2002; Dewhirst *et al.*, 2010; Faran Ali *et al.*, 2012; Wade, 2013).

O termo ecossistema emprega-se quando existem diferentes comunidades de seres vivos que interatuam entre si, num ambiente específico. Desta forma, a cavidade oral pode ser considerada um grande ecossistema, existindo várias comunidades que se relacionam entre si (Ureña, 2002).

O microbioma oral é constituído por microrganismos que podem ser classificados como residentes, por colonizarem a cavidade oral por um longo período de tempo, participando nas funções fisiológicas do organismo e/ou transitórios, quando são constituídos por microrganismos não patogénicos, ou parcialmente patogénicos que apresentam contínuas flutuações na sua constituição e que habitualmente não são essenciais para a sobrevivência do hospedeiro (Jorge, 1998, Ureña, 2002).

Alguns estudos (Jorge, 1998) indicam ainda que a flora indígena oral é constituída por espécies de microrganismos presentes em elevado número (> a 1%) como é o caso dos *Streptococcus spp.*, presentes na cavidade oral de muitos animais, incluindo humanos. A prevalência destas bactérias indica que estas se encontram em equilíbrio com o hospedeiro não comprometendo o mesmo. Por outro lado, os microrganismos presentes em baixa percentagem (< a 1%) constituem a flora suplementar, podendo também fazer parte da flora indígena quando expostos a alterações ambientais, como é o caso dos *Lactobacillus spp.*, que quando presentes em lesões provocadas por cáries, e, na presença de um ambiente ácido, tornam-se dominantes e constituem parte da flora indígena oral. Desta forma, a flora suplementar parece incluir a maior parte dos microrganismos patogénicos potencialmente presentes na flora oral. Não obstante, sendo uma flora transitória, é constituída por microrganismos que estão presentes num intervalo curto de tempo cujo veículo de disseminação é, por exemplo a alimentação, não sobrevivendo na cavidade oral e acabando erradicados (Jorge, 1998).

1.3. Natureza da flora oral - Espécies mais prevalentes na cavidade oral

Pelo facto da microbiota oral ser extremamente complexa, não é surpreendente que cada indivíduo possa apresentar um microbioma distinto e único (Wade, 2013).

De facto, num indivíduo saudável, a flora microbiana normal/residente mantém-se constante ao longo da vida. Se, aquando do nascimento, a cavidade oral apresenta-se estéril, após a erupção do primeiro dente, inicia-se a colonização na superfície dos dentes (Jorge, 1998). Posteriormente, ao terceiro mês de vida do indivíduo, o microbioma oral é composto essencialmente por espécies pertencentes aos géneros *Streptococcus*, *Lactobacillus* e *Neisseria* e a partir da adolescência o predomínio de espécies bacterianas é bastante idêntico à do adulto, (Jorge, 1998; Ureña, 2002; Munro e Grap, 2004; Parahitiyawa *et al.*, 2010; Faran Ali *et al.*, 2012) sendo constituída principalmente por *Streptococcus*, *Fusobacterium* e *Actinomyces* (Zarco *et al.*, 2012; Wade, 2013).

De acordo com Wade e os seus colaboradores (Wade, 2013), nem o ambiente nem a dieta alimentar parecem influenciar o tipo de colonização oral, sendo as espécies hospedeiras o principal fator determinante para a colonização desta cavidade. De facto, a cavidade oral é um ecossistema aberto e dinâmico que é frequentemente exposto a diversos factores e a bactérias exógenas através da alimentação, respiração, contacto social, entre outros, sendo difícil a determinação da colonização de bactérias a longo prazo. Estes fatores condicionam as características e composição das diferentes comunidades bacterianas; assim, as bactérias devem usufruir de certas particularidades, a saber variabilidade, heterogeneidade, quantidade e especificidade (Jorge, 1998; Ureña, 2002; Wade, 2013).

Na cavidade oral, existem diferentes superfícies que podem ser colonizadas, sendo elas, palato duro e mole, gengiva, bochecha, lábio, saliva, língua, dentes, sulco gengival. Na continuidade desta mesma cavidade existem as amígdalas, faringe, esófago e traqueia, definindo-se que o microbioma oral inclui a cavidade oral e as suas extensões contíguas até ao esófago (Dewhirst *et al.*, 2010; Wade, 2013).

Pelo facto dos microrganismos possuírem mecanismos específicos de aderência (Jorge, 1998), e destas superfícies apresentarem também características únicas que facilitam a colonização microbiana, a especificidade encontrada é portanto inequívoca (Jorge, 1998; Wade, 2013).

De acordo com o Human Oral Microbiome Database (HOMD), cerca de 700 espécies bacterianas estão presentes na cavidade oral humana (Chen *et al.*, 2010), sendo as espécies pertencentes ao género *Streptococcus* a mais prevalente (Faran Ali *et al.*, 2012), nomeadamente *S. agalactiae*, *S. anginosus*, *S. australis*, *S. constellatus*, *S. cristatus*, *S. downei*, *S. gordonii*, *S. infantis*, *S. intermedius*, *S. mitis*, *S. mitis bv 2*, *S. mutans*, *S. oligofermentans*, *S. oralis*, *S. parasanguinis*, *S. parasanguinis II*, *S. peroris*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. sinensis*, *S. sobrinus* e *S. vestibularis* (Chen *et al.*, 2010). Contudo, apenas cerca de 300 destas espécies é que foram isoladas e cultivadas por métodos laboratoriais convencionais (Chen *et al.*, 2010).

Na tabela I estão apresentados os principais géneros e espécies de microrganismos passíveis de serem encontrados na cavidade oral.

Tabela I. Principais espécies isoladas na cavidade oral (Jorge, 1998; Gendron *et al.*, 2000; Ureña, 2002; Human Oral Microbiome Database. [Em linha]. Disponível em <<http://www.homd.org/modules.php?op=modload&name=HOMD&file=index>>. [Consultado em 08/02/2015].).

	Género	Espécies
Cocos Gram-positivo	<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecalis</i>
		<i>E. faecium</i>
	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>P. anaerobius</i>
		<i>P. micros</i>
	<i>Staphylococcus</i>	<i>S. aureus</i>
		<i>S. epidermidis</i>
	<i>Streptococcus</i>	<i>S. cricetus</i>
		<i>S. gordonii</i>
		<i>S. milleri</i>
		<i>S. mitis</i>
<i>S. mutans</i>		
<i>S. oralis</i>		
<i>S. rattus</i>		
<i>S. salivarius</i>		
<i>S. sanguis</i>		
<i>S. sobrinus</i>		
Cocos Gram-negativo	<i>Neisseria</i>	<i>N. flavescens</i>
		<i>N. mucosa</i>
		<i>N. sicca</i>
		<i>N. subflava</i>
	<i>Veillonella</i>	<i>V. atypica</i>
<i>V. párvula</i>		
Bacilos Gram-positivo	<i>Actinomyces</i>	<i>A. israeli</i>
		<i>A. meyeri</i>
		<i>A. naeslundii</i>
		<i>A. odontolyticus</i>
		<i>A. viscosus</i>
<i>Arachnia</i>	<i>A. propionica</i>	

	<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. dentium</i>
	<i>Corynebacterium</i>	<i>C. matruchotti</i> <i>C. xerosis</i>
	<i>Eubacterium</i>	<i>E. alactolyticum</i> <i>E. lentum</i> <i>E. yurii</i>
	<i>Lactobacillus</i>	<i>L. acidophilus</i> <i>L. crispatus</i> <i>L. gasseri</i> <i>L. oris</i> <i>L. salivarius</i>
	<i>Rothia</i>	<i>R. dentocariosa</i>
Bacilos Gram-negativos	<i>Actinobacillus</i>	<i>A. actinomycetemcomitans</i>
	<i>Bacteroides</i>	<i>B. buccae</i> <i>B. denticola</i> <i>B. oralis</i> <i>B. oris</i>
	<i>Campylobacter</i>	<i>C. concisus</i> <i>C. curvus</i> <i>C. rectus</i> <i>C. sputorum</i>
	<i>Eikenella</i>	<i>E. corrodens</i>
	<i>Fusobacterium</i>	<i>F. nucleatum nucleatum</i> <i>F. nucleatum polymorphum</i> <i>F. nucleatum vincentii</i>
	<i>Haemophilus</i>	<i>H. aphrophilus</i> <i>H. influenzae</i> <i>H. parainfluenzae</i> <i>H. paraphrophilus</i> <i>H. segnis</i>
	<i>Porphyromonas</i>	<i>P. catoniae</i> <i>P. endodontalis</i> <i>P. gingivalis</i>

	<i>Selenomonas</i>	<i>S. noxia</i> <i>S. sputigena</i>
Espiroquetas Gram-negativo	<i>Treponema</i>	<i>T. denticola</i> <i>T. macrodentium</i> <i>T. orali</i> <i>T. vincentii</i>
Micoplasmas	<i>Mycoplasma</i>	<i>M. buccale</i> <i>M. orale</i> <i>M. salivarium</i>
Outros microrganismos	<i>Candida</i>	<i>C. albicans</i>

A placa bacteriana é considerada o biofilme que se encontra nas superfícies dos dentes, possibilitando a existência de um micro-habitat para os microrganismos viverem. O biofilme é constituído por uma complexa matriz de comunidades bacterianas, predominantes tanto nas superfícies duras como nas moles da cavidade oral (Munro e Grap, 2004; He e Shi, 2009; Zarco *et al.*, 2012). Através da placa bacteriana, existe possibilidade das bactérias aderirem, sendo considerada um reservatório de agentes patogénicos nos indivíduos com baixa higiene oral. Consegue-se diminuir a predominância desta placa recorrendo a métodos mecânicos (escovagem dos dentes) e farmacológicos (antissépticos) (Munro e Grap, 2004).

A presença dos biofilme possibilita o fornecimento de nutrientes às bactérias, protegendo-as das agressões ambientais. No entanto, pensa-se que também apresenta algumas vantagens, tal como a inibição da colonização por microrganismos patogénicos e o fornecimento de informação ao sistema imunitário relativamente às espécies invasoras (Kumar, 2013).

As comunidades bacterianas encontram-se estruturalmente bem organizadas, formando o biofilme oral. Na figura 1, estão representadas as etapas que levam à formação da placa bacteriana ou biofilme. Neste, as bactérias encontram-se em interação entre elas, permitindo uma grande diversidade do biofilme (Scannapieco, 2013; McLean, 2014). A cavidade oral possui o biofilme humano mais diversificado, encontrando-se o seu desenvolvimento relacionado com o género *Streptococcus*, sendo este considerado o principal grupo colonizador oral. Desta forma, a sua fixação na cavidade determina a posterior diversidade dos colonizadores, como também os impactos de saúde ou doença do hospedeiro (Dewhirst *et al.*, 2010; Faran Ali *et al.*, 2012; Alcaraz *et al.*, 2012).

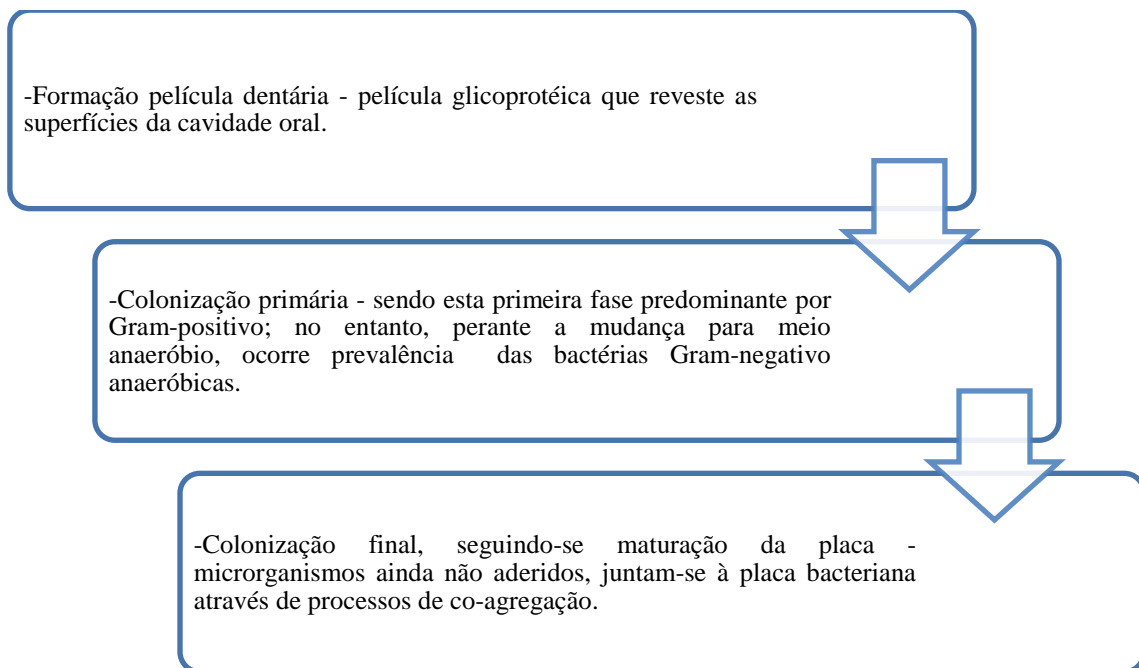


Figura 1. Processo de formação da placa bacteriana (Marinho e Araújo, 2007; Scannapieco, 2013).

Indivíduos com boa higiene oral possuem uma microbiota dominada por bactérias Gram-positivo, nomeadamente *Streptococcus spp.* e *Actinomyces spp.*. Menos frequentemente, poderão também ser encontradas bactérias Gram-negativo como *Veillonella spp.* Por outro lado, em pessoas com baixo controlo da higienização oral verifica-se uma maior diversidade, complexidade e virulência da cavidade oral, sendo dominada por bactérias Gram-negativo anaeróbicas, incluindo espiroquetas (Munro *et al.*, 2004; Scannapieco, 2013).

A língua é um reservatório de bactérias anaeróbias Gram-negativo, como *Veillonella*, que se encontram relacionadas com doenças periodontais e mau hálito (Munro *et al.*, 2004; Faran Ali *et al.*, 2012). As espécies *Streptococcus oralis* e *Streptococcus sanguis* são predominantes nas superfícies das mucosas, tal como bochechas e palato (Marcotte e Lavoie, 1998).

Por sua vez, o sulco gengival é considerado um reservatório de patogénicos sistémicos, entre eles, *Haemophilus influenzae* e *Pseudomonas aeruginosa* (Kumar, 2013). A espécie *Fusobacterium nucleatum* é prevalente no biofilme sub-gengival, sendo considerado um patogénico oportunista. A presença de *Fusobacterium nucleatum* e *Streptococcus gordonii* favorece a colonização de microrganismos patogénicos, desempenhando um papel importante tanto na iniciação como na progressão da doença periodontal (Faran Ali *et al.*, 2012).

Os dentes permitem a acumulação de bactérias, levando ao aparecimento da placa dentária (conjunto de comunidades microbianas organizadas numa matriz complexa), que acaba por levar ao aparecimento de cárie e doença periodontal. Os dentes não possuem um habitat uniforme, detendo superfícies distintas, cada uma com uma colonização diferenciada. Na face proximal dos dentes e na fenda gengival pode-se encontrar a população mais diversificada, visto que o fluido crevicular é nutritivamente rico (Faran Ali *et al.*, 2012). Os organismos predominantes na parte supragengival são bactérias Gram-positivo como *Actinomyces spp.* e *Streptococcus spp.*, enquanto que bactérias Gram-negativo como *Veillonella* e *Bacteroides*, são encontradas em menor percentagem (Marcotte e Lavoie, 1998).

A saliva protege os dentes, possibilitando a neutralização de ácidos produzidos pelas bactérias aquando da metabolização de hidratos de carbono. A saliva é rica em fosfatos, bicarbonato, péptidos, proteínas e fatores anti-microbianos (lisozimas, lactoferrinas), os quais ajudam no controlo bacteriano e fúngico da cavidade oral. Por sua vez, a microbiota salivar desempenha um importante papel, na medida que previne a colonização por bactérias patogénicas, como por exemplo *Pseudomonas aeruginosa*, que é uma bactéria oportunista (Faran Ali *et al.*, 2012). A composição da saliva é muito complexa, sendo constituída na sua maior parte por água, que ajuda a manter a

integridade dos dentes, fornecendo iões para a remineralização dos mesmos (Marcotte e Lavoie, 1998).

1.4. Fatores que afetam o crescimento da microbiota oral

O crescimento de microrganismos na cavidade oral é influenciado por uma série de fatores, apresentados na figura 2 e subdivididos em: físico-químico, hospedeiro-dependentes, microbianos e externos. Todos estes fatores estão interligados e dependem de aspectos relacionados com o hospedeiro, interna e externamente, e com os microrganismos *per se* (Jorge, 1998; Marcotte e Lavoie, 1998).

Factores físico-químico: Estes fatores resultam da ação combinada entre hospedeiro, microrganismos e factores externos. Dentro destes, destacam-se a influência da temperatura, pH, disponibilidade de água, disponibilidade de nutrientes, e potencial de oxidação-redução (Jorge, 1998; Marcotte e Lavoie, 1998).

Temperatura:

A temperatura na cavidade oral é relativamente constante (variando entre 34 a 36° C), o que possibilita o crescimento de uma ampla gama de microrganismos, apesar de na superfície das mucosas e dos dentes poder ser mais variável. Por outro lado, durante a ingestão de alimentos, os microrganismos podem ser expostos a variações térmicas (alimentos quentes e frios) pelo que, possivelmente adquirem uma capacidade de adaptação metabólica a estas variações, possibilitando a sua sobrevivência (Jorge, 1998; Marcotte e Lavoie, 1998).

pH:

Este parâmetro, para além de afetar diretamente os microrganismos e as suas enzimas, pode também interferir na dissolução de muitas moléculas que influenciam indiretamente a colonização microbiana. Geralmente, os microrganismos não toleram valores extremos de pH, sendo que, na cavidade oral, o pH é mantido próximo da neutralidade pela saliva, entre 6,7 e 7,3 (Jorge, 1998; Marcotte e Lavoie, 1998).

Potencial de oxidação-redução (Eh) e anaerobiose:

A cavidade oral é caracterizada por uma ampla gama de potenciais de oxidação-redução (Eh) e concomitantemente influenciada pela presença ou ausência de oxigênio molecular, permitindo o crescimento de bactérias aeróbias (Eh positivo), anaeróbias facultativas e bactérias anaeróbias (Eh negativo). Na generalidade, a língua, a mucosa oral e o palato são ambientes aeróbios, permitindo o desenvolvimento de bactérias anaeróbias facultativas. Por sua vez, o sulco gengival e superfícies entre os dentes possuem menor Eh, potenciando o crescimento de bactérias anaeróbicas estritas (Jorge, 1998; Marcotte e Lavoie, 1998).

Nutrientes:

A prevalência de determinadas bactérias na cavidade oral pode ainda ser afetada pela disponibilidade de nutrientes/substratos, dado que cada espécie bacteriana é mais favorecida na utilização de um ou alguns substratos particulares, sob certas condições. Na cavidade oral, os microrganismos que vivem no ambiente supra-gengival têm acesso a nutrientes endógenos (saliva) e exógenos (dieta). A saliva, quimicamente constituída por água, hidratos de carbono, glicoproteínas, proteínas, aminoácidos, íões de sódio, potássio, cálcio, cloreto, bicarbonato e fosfato, é uma importante fonte de nutrientes que influencia em grande escala a composição da microflora oral, mesmo na ausência de nutrientes exógenos (Jorge, 1998; Marcotte e Lavoie, 1998).

Paralelamente algumas inter-relações nutricionais podem também ocorrer entre os microrganismos, nomeadamente através de ações de cooperação para a degradação de nutrientes ou ainda através de utilização de os nutrientes e outras substâncias decorrentes da metabolização de outros microrganismos (Jorge, 1998; Marcotte e Lavoie, 1998).

Os fatores hospedeiro-dependentes estão relacionados com os mecanismos de defesa do hospedeiro e ainda com a idade e fatores genéticos do mesmo (Marcotte e Lavoie, 1998).

Mecanismos de defesa do hospedeiro:

O ambiente supra-gengival da cavidade oral é essencialmente controlado pela saliva, pelo que o seu fluxo contínuo aumenta a atividade muscular dos lábios e da língua, potenciando a remoção de um grande número de bactérias da placa dentária e das superfícies das mucosas. Por outro lado, a saliva também contém vários fatores de defesa específicos (IgA) e inespecíficos (mucinas, glicoproteínas salivares não imunes, lactoferrina, lisozima, peroxidase, histatinas e cistatinas) (Jorge, 1998; Marcotte e Lavoie, 1998).

Idade:

A composição da microflora oral varia com a idade do hospedeiro, pelo que as mudanças nesta microflora incluem fatores relacionados com a erupção dentária, mudanças de hábitos alimentares, hormonas, fluxo salivar e sistema imunológico (Marcotte e Lavoie, 1998).

Fatores genéticos:

A seleção de uma determinada microbiota oral está também dependente de fatores imunológicos, fisiológicos, metabólicos, e ainda com a composição do muco ou com as interações ligando-receptores (Marcotte e Lavoie, 1998).

Fatores bacterianos:

Os fatores bacterianos estão interligados com aspetos relacionados com a adesão bacteriana e suas interações (Jorge, 1998; Marcotte e Lavoie, 1998).

Adesão:

Para se estabelecerem na cavidade oral, os microrganismos necessitam de aderirem aos dentes ou às superfícies de mucosas. Assim, a adesão, fenómeno mediado por adesinas

microbianas (quimicamente constituídas por polissacarídeos, ácidos lipoteicóicos, glucosiltransferases, e proteínas de ligação a hidratos de carbono - lectinas) é essencial para proporcionar resistência ao fluxo salivar. Por outro lado, o fenómeno de adesão pode ainda ser resultado de interações físico-químicas não específicas entre as bactérias e as superfícies orais (Jorge, 1998; Marcotte e Lavoie, 1998).

Interações bacterianas:

As interações bacterianas contribuem para a manutenção da homeostase da microbiota oral, podendo ser benéficas e/ou antagónicas, como é o caso da co-agregação, competição e antagonismo (Marcotte e Lavoie, 1998).

A co-agregação é um exemplo de comensalismo e sinergismo que ocorre entre espécies microbianas e que permite a aderência indireta de algumas bactérias nas superfícies orais. Por sua vez, a competição e o antagonismo entre as bactérias orais, impede o crescimento excessivo de algumas espécies bacterianas ou o estabelecimento de bactérias alóctones, ajudando na manutenção do equilíbrio ecológico da flora oral (Marcotte e Lavoie, 1998).

Relativamente aos **fatores externos** que podem potencialmente influenciar a colonização bacteriana da flora oral, destacam-se a dieta do indivíduo e a sua higiene oral, a utilização de agentes antimicrobianos e outros fármacos e ainda a existência de doenças (Marcotte e Lavoie, 1998).

Outros fatores

Outros fatores externos podem ainda afetar a microbiota oral, os quais incluem o uso de próteses, o tabagismo, o uso de contraceptivos orais, a desnutrição e ainda a exposição a espécies bacterianas exógenas (Marcotte e Lavoie, 1998).

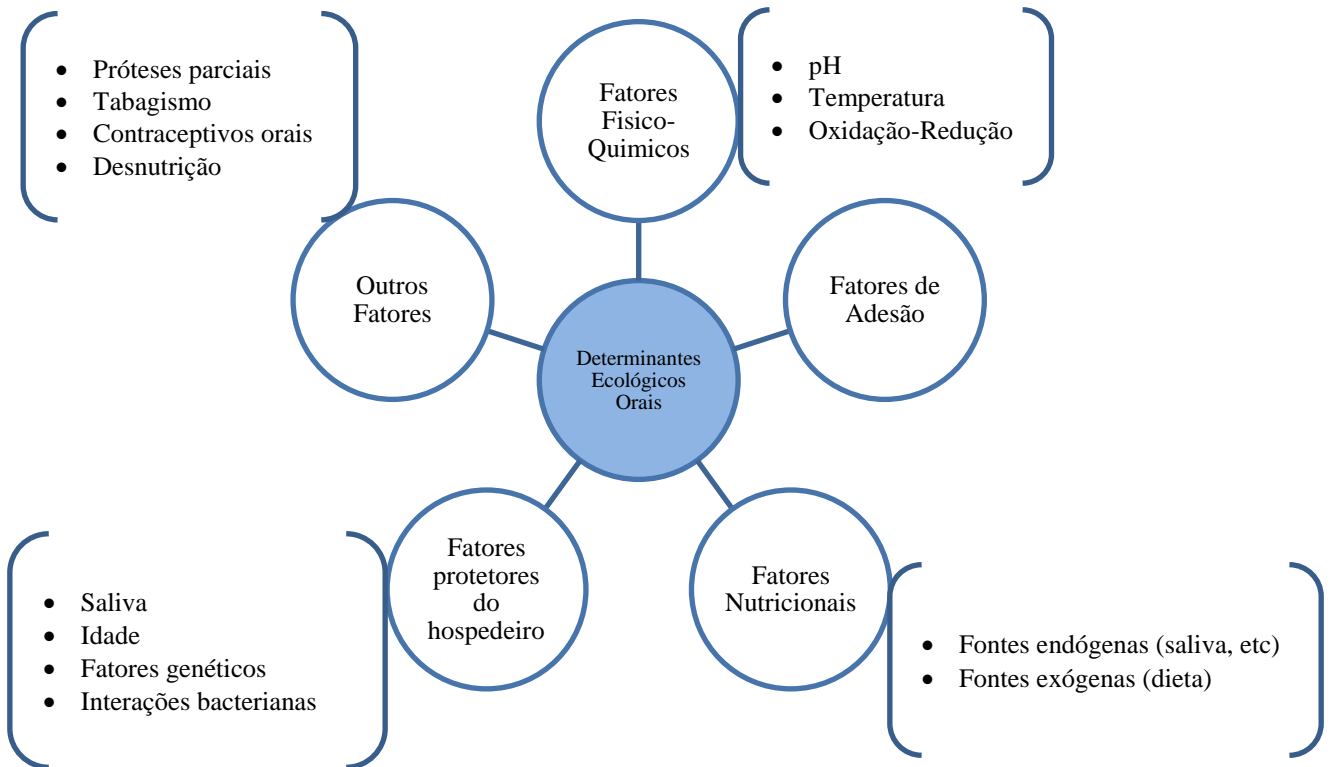


Figura 2. Fatores que regulam a composição, quantidade e distribuição da microbiota oral (Jorge, 1998; Marcotte e Lavoie, 1998; Ureña; 2002).

1.5. Aspectos benéficos da flora oral

A microbiota oral desempenha um papel fundamental na saúde do paciente, contribuindo para o desenvolvimento do seu sistema imunitário e proporcionando resistência à colonização por microrganismos patogênicos ou alóctones. Desta forma, o conhecimento destas comunidades potencia uma melhor compreensão da sua complexidade e dinâmica, e possibilita a exploração de ferramentas de diagnóstico médico melhorado (Avila *et al.*, 2009).

Considerando as suas inúmeras características, a flora existente na cavidade oral pode influenciar a saúde do paciente, quer do ponto de vista local (oral), quer sistêmico. A existência de uma microbiota diversa que estabeleça relações de comensalismo consigo própria e de mutualismo com o hospedeiro mostra-se como sendo um dos factores-chave para o estabelecimento de um estado de saúde (Zarco *et al.*, 2012).

São diversos os autores que realçam a importância desta biodiversidade, fortalecendo a

ideia de que cada espécie desempenha uma função, a qual se revela essencial para manter o equilíbrio e a homeostasia da cavidade oral (Zarco *et al.*, 2012; Wade, 2013). Em concordância com este facto, Wade escreve que a resistência à colonização de microrganismos patogénicos é um fenómeno que poderá ser assegurado pela simples presença da flora oral (Wade, 2013).

A sobrevivência bacteriana é assegurada pela existência de biofilmes na medida em que são fornecidos os nutrientes necessários. Por sua vez, os lipopolissacarídeos e as endotoxinas constituem produtos de origem bacteriana que estão associados com o desencadeamento de uma resposta inflamatória nos órgãos alvos (Kumar, 2013).

Zarco (Zarco *et al.*, 2012) enumera, ainda, diferentes formas de prevenção da progressão da doença pelos microrganismos, referindo que estes poderão ocupar os nichos preferidos dos patogénicos e, desta forma, impedir a sua aderência à superfície, e impedir a sua multiplicação ou ainda degradar os fatores de virulências.

1.6. Aspetos prejudiciais da flora oral - Placa bacteriana e consequência do seu desequilíbrio

Na cavidade oral, as bactérias indígenas podem ser frequentemente associadas com a etiologia das duas principais doenças orais, cárie e doença periodontal (Dewhirst *et al.*, 2010).

O biofilme possui a capacidade de estimular a resposta imunitária, tal como promover a produção de mecanismos de resistência perante a colonização de bactérias. Estas duas características permitem uma manutenção da cavidade oral. Embora os biofilmes sejam necessários para a manutenção da saúde da cavidade oral, eles são também conhecidos por contemplarem agentes potencialmente patogénicos (Ruby e Barbeau, 2002). As doenças periodontais, como a gengivite e a periodontite crónica, podem advir de um aumento na complexidade e no volume de biofilmes localizados no sulco gengival, constituídos principalmente por bactérias Gram-positivo anaeróbias facultativas (nomeadamente *Streptococcus anginosus* e *A. naeslundii*). No entanto, na ausência de uma boa higiene oral, a percentagem de espécies Gram-negativo nos biofilmes pode

aumentar (por exemplo, *Porphyromonas* spp., *Campylobacter* spp., *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) e contribuir para a inflamação periodontal (Ruby e Barbeau, 2002). Os indivíduos que não possuem uma boa higiene oral também são propensos a endocardite bacteriana, halitose, infecção endodôntica e actinomicose (Wilson, 2005). Assim, uma cavidade não devidamente higienizada pode aumentar a probabilidade de gengivite e doença periodontal e afetar negativamente a saúde geral de um indivíduo (Wilson, 2005).

De facto, muitos estudos realizados com biofilmes concentram-se sobre o papel desempenhado por bactérias, embora algumas espécies de fungos (como *Candida albicans*) possam também participar na estruturação e formação de biofilmes, exibindo um elevado nível de resistência a antifúngicos. Por outro lado, os vírus, como o vírus *Herpes simplex*, também têm sido associados com a periodontite, possivelmente pela ação sinérgica com bactérias que viabilizam a mesma (Bahrani-Mougeot *et al.*, 2008).

A microbiota oral, mais precisamente a placa bacteriana, influencia a saúde oral. Tal como já foi referido anteriormente, a placa bacteriana constitui um micro-habitat, onde as bactérias se encontram em equilíbrio, no entanto, certas patologias (cárie, gengivite, periodontite) podem surgir quando ocorre um desequilíbrio na cavidade oral (Gendron *et al.*, 2000; Munro e Grap, 2004; Parahitiyawa *et al.*, 2010; Fardin *et al.*, 2011).

Contudo, algumas alterações que ocorrem no microbioma oral podem ser responsáveis pela patogencidade de um microrganismo benéfico: alteração entre a simbiose hospedeiro-microrganismo, aquisição de fatores de virulência ou aumento muito significativo do patogéneo (figura 3). Desta forma, as bactérias patogénicas reproduzem-se, ficando o hospedeiro mais propenso a infeções (Zarco *et al.*, 2012).

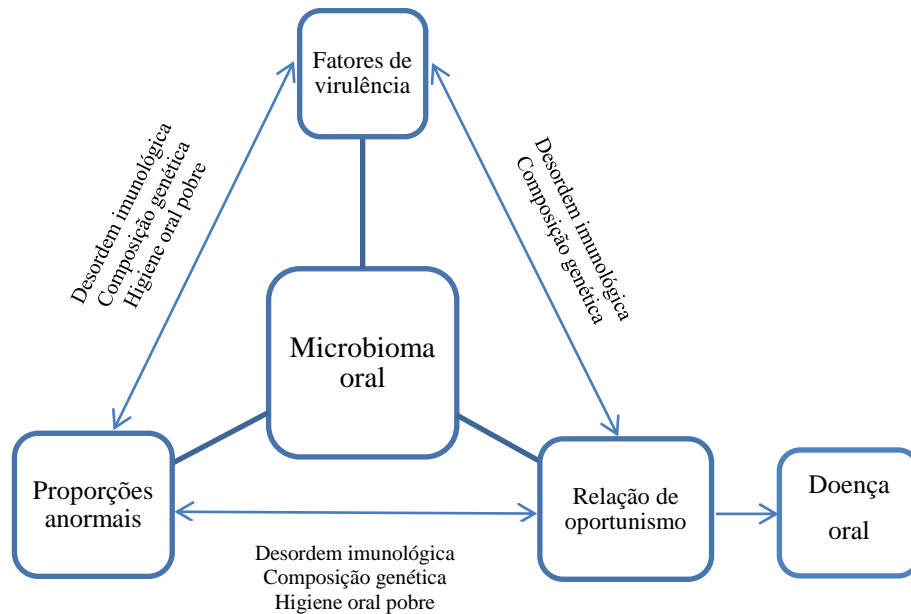


Figura 3. Ciclo do desequilíbrio oral que pode resultar em doença oral (Zarco *et al.*, 2012).

Entre as doenças orais, as mais prevalentes são: cárie, gengivite e periodontite (He e Shi, 2009; Zarco *et al.*, 2012; Wade, 2013). A cárie é a doença infecciosa mais comum entre os humanos (Scannapieco, 2013), desordem esta que ocorre devido à desagregação da estrutura do dente, por ação do ácido produzido resultante da fermentação de hidratos de carbono pelas bactérias orais. Indivíduos que ingerem elevada quantidade de hidratos de carbono, produzem frequentemente ácido, o qual fomenta a descida do pH oral, destruindo a superfície dos dentes (Zarco *et al.*, 2012; Wade, 2013). As bactérias mais comuns responsáveis pela cárie são *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus acidophilus* (Pignatelli *et al.*, 2012; Zarco *et al.*, 2012; Scannapieco, 2013; Wade, 2013).

Segundo Wade, a gengivite pode ser considerada a doença bacteriana mais comum, sendo prevalente em 90% dos humanos (Wade, 2013). Por sua vez, também é considerada uma doença inflamatória, sendo a fase primária da doença periodontal. A gengivite é o resultado da acumulação da placa bacteriana, existindo uma ineficaz higienização oral; desta forma, e devido ao processo inflamatório resultante, poderá verificar-se hemorragia gengival. Contudo, esta doença pode ser reversível caso se tenha uma higienização correta, sendo importante a detecção da mesma, de forma a prevenir a evolução para periodontite (Gendron *et al.*, 2000; Wade, 2013).

Por conseguinte, a doença periodontal advém da acumulação da placa bacteriana, sendo uma doença inflamatória que afeta a gengiva e os tecidos subjacentes, incluindo o ligamento periodontal e o osso alveolar, tal como se pode observar na figura 4. Os microrganismos patogénicos envolvidos na periodontite são *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forythia*, *Eikenella corrodens* e *Treponema denticola* (Gendron *et al.*, 2000; Jenkinson e Lamont, 2005; Zarco *et al.*, 2012; Wade, 2013).

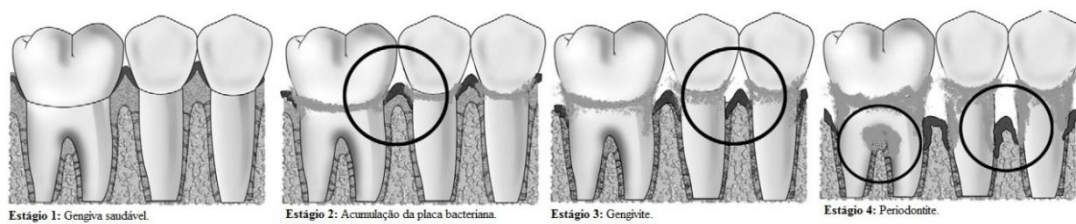


Figura 4. Representação da evolução de uma gengiva saudável até periodontite (Jain *et al.*, 2008).

O que podemos então melhorar para minimizar a doença causada pelo microbioma oral? A recomendação mais óbvia é de facto a melhoria na higiene oral. No entanto, é verdade que indivíduos que detenham boas práticas de higiene oral também podem desenvolver infeções crónicas devido à composição da sua microbiota residente ou a alterações na sua resposta imune. Neste sentido, os antibióticos podem ser usados no tratamento de infeções, embora não sejam totalmente eficazes em bactérias sob a forma de biofilmes. Na verdade, na maioria dos biofilmes, os antibióticos só podem retardar o crescimento bacteriano e não erradicá-lo por completo (Cramton e Gotz, 2004).

Assim, e como não se pode garantir que a existência de uma melhor higiene oral seja uma barreira eficaz e segura para completo controlo de infeção, o aumento no conhecimento dos consórcios microbianos poderá de facto contribuir para uma melhoria significativa nos procedimentos técnicos e médicos para tratamento das doenças decorrentes (Dewhirst *et al.*, 2010).

2. Antissépticos orais

2.1. Terminologia e conceitos

De acordo com Gunsolley (Gunsolley, 2010), a “ higiene oral é a chave para a saúde oral”. Desta forma, surgiram os métodos mecânicos com o objetivo de controlar a placa bacteriana, contudo, estes requerem tempo, destreza manual, motivação e técnicas manuais de forma a eliminar o biofilme dentário. (Addy, 2008; Gunsolley, 2010; Marsh, 2010; Leszczyńska *et al.*, 2011; Macias *et al.*, 2015). Os antissépticos orais surgiram para colmatar as limitações dos métodos mecânicos, tendo como primeiro objetivo a eliminação da placa bacteriana na zona supra e subgingival. Tal como já foi referido anteriormente, os antissépticos orais não devem substituir a higienização oral através dos métodos mecânicos, mas devem ser utilizados como auxiliares no controlo da placa bacteriana (Barnett, 2003; Rojas e Santos-Aleman, 2005; Araújo e Marinho, 2007).

Quando existe uma lesão numa superfície cutânea ou numa mucosa, ocorre contaminação, sendo esta produzida, normalmente, pela flora habitual destas superfícies. Esta contaminação, por parte de vírus, bactérias e fungos, considera-se colonização, quando estes se reproduzem, podendo invadir os tecidos. De forma a prevenir a proliferação destes microrganismos, e consequentemente uma infeção, surgiram os antissépticos (González *et al.*, 2014).

Segundo Bullock e Manias e González (Bullock e Manias, 2014; González *et al.*, 2014) antissépticos são substâncias antimicrobianas utilizadas em tecidos vivos com a finalidade de destruir ou inibir o crescimento dos microrganismos. Os antissépticos diferenciam-se dos desinfetantes uma vez que estes apenas atuam em superfícies inanimadas, sendo que possuem menor toxicidade do que os desinfetantes (Bullock e Mania, 2014; González *et al.*, 2014).



Figura 5. Características de um antisséptico ideal (González *et al.*, 2014).

Todavia não existe ainda um antisséptico disponível que reúna todas as propriedades mencionadas na figura 5. Vários antissépticos orais foram já introduzidos na clínica no sentido de interromper a formação da placa bacteriana ou de eliminar completamente a existente, por ação bactericida ou disruptiva da organização do biofilme bacteriano (Krayner *et al.*, 2010).

Para além da perspectiva de prevenção de patologias orais, para uma utilização no domicílio, os antissépticos orais desempenham um papel importante no tratamento clínico da doença periodontal instalada. Diversos estudos demonstram que os métodos de eliminação mecânica e cirúrgica de placa bacteriana e tecidos mucosos afetados apresentam limitações significativas. Existe uma diminuição significativa e imediata das espécies bacterianas patológicas após o tratamento periodontal, mas que tem uma duração diminuída, particularmente se não for acompanhada com uma melhoria consistente dos métodos de auto-higienização em casa (Ankola *et al.*, 2008). Isso é explicado pela impossibilidade de desbridamento da totalidade dos tecidos contaminados e da placa bacteriana, principalmente em estados avançados da doença periodontal, e pela persistência de reservas bacterianas em vários locais da cavidade oral para além das superfícies das mucosas orais afectadas, incluindo em profundidade no

próprio epitélio ou na estrutura dentária, mas também na língua e outras mucosas orofaríngeas. A utilização prolongada de antissépticos orais após o tratamento periodontal de suporte diminui a capacidade de recolonização bacteriana por espécies virulentas, e a consequente recidiva do processo patológico (Quirynen *et al.*, 2002).

A importância da cavidade oral como foco ou reserva de agentes patológicos é atualmente considerada menor do que no passado, não sendo contudo ignorável, principalmente em pacientes imuno-comprometidos ou fragilizados. Os antissépticos orais podem desempenhar um papel importante tanto na diminuição da atividade bacteriana em infecções periodontais crônicas, como no risco de bacterêmias transitórias associadas a procedimentos clínicos na cavidade oral (Rautemaa *et al.*, 2007).

A formação da placa bacteriana é um processo ordenado, dinâmico e complexo, que envolve o contributo de várias espécies bacterianas. Embora algumas espécies envolvidas estejam bem identificadas, particularmente na formação da placa bacteriana primária, de uma maneira geral a sua composição é demasiado variável e pouco conhecida para a existência de antissépticos com grande especificidade. Algumas linhas de investigação procuram identificar princípios ativos com ações bactericidas mais seletivas (Lindhe, 2003).

Historicamente, existem evidências da utilização de uma variedade de fórmulas e produtos de aplicação oral desde há 6000 anos. Várias culturas da antiguidade preconizavam a utilização de formulações sob a forma de elixires, pastas ou pós de aplicação dentária e oral, para melhoria cosmética das estruturas orais, ou alívio de patologias agudas. Essas formulações baseavam-se essencialmente em produtos de origem animal e vegetal sob os quais existia a suspeita de serem benéficos, sem qualquer tipo de evidência científica. Exemplos proeminentes são a utilização de bebidas alcoólicas (vinho e cerveja), urina (em várias culturas e formas), partes animais, preparados herbários e substâncias ácidas. O objetivo primário dessas formulações ancestrais seria o mascaramento da halitose e o estabelecimento de uma sensação de frescura na cavidade oral. Além disso, o efeito abrasivo de alguns desses produtos contribuía para o desaparecimento de manchas dentárias. Poderia existir algum efeito bactericida, por exemplo através da ureia presente na urina e o álcool presente em

elixires. Seria de esperar que esses produtos provocassem agressões locais e talvez toxicidade sistêmica, devido à sua composição de ácido sulfúrico aromático, perclorato de mercúrio, ácido carbólico e formaldeído. Existem relatos atuais da utilização de tais método arcaicos, contudo de uma maneira marginal e sem validade científica (Triratana *et al.*, 2002; Lindhe, 2003).

Nas últimas décadas do século XIX, a aceitação da teoria de que as patologias orais estão ligadas ao metabolismo ácido das bactérias sobre matéria orgânica, estimulou a utilização de princípios ativos que contrariaram o processo vigente. Surgiram então pastas dentífricas e colutórios com substâncias alcalinas (sais de potássio e sódio), para além da tendência da diminuição da abrasividade das pastas dentífricas. Contudo, pouca importância era dada ao efeito bactericida direto desses produtos (Lindhe, 2003).

Atualmente existem normas internacionais bem estabelecidas para a segurança de produtos de higienização oral e prevenção de patologias orais, por exemplo a norma internacional ISO 11609:2010, a norma britânica BS 5136: 1981 e o American Dental Association Seal of Acceptance (Association, 2008). Os critérios para aprovação pela American Dental Association (ADA) estão resumidos na tabela II. A introdução no mercado de novos produtos exige sempre a realização de estudos, pois a formulação específica de cada um, nomeadamente dos excipientes utilizados, pode alterar a eficácia do princípio ativo (Barnett, 2003; Krayner *et al.*, 2010).

Tabela II. Normas existentes para produtos utilizados no controlo da gengivite e placa bacteriana supragengival (Barnett, 2003; Kraye *et al.*, 2010).

Normas, aprovadas pela ADA, utilizadas nos produtos químico-terapêuticos para o controlo da gengivite e placa bacteriana supragengival.
Eficácia do produto deve ser apontada por dois estudos independentes, com investigadores independentes. Cada estudo deverá ter um período de duração de 6 meses, possuindo um grupo controlo.
Todos os estudos referentes à eficácia devem ser mencionados, inclusive os estudos que não apresentem nenhum efeito.
Todos os estudos proprietários devem ser fornecidos, mesmo que não apresentem nenhum efeito.
Os estudos devem avaliar a capacidade que o agente químico terapêutico possui para a prevenção ou redução da gengivite e da formação da placa bacteriana.
Estudos com ou sem a rotulagem são necessários. A codificação de grupos deve ser evitada.
Pelo menos um dos estudos deve ser realizado na população dos Estados Unidos da América.
A população selecionada para o estudo deve ser representativa dos utilizadores típicos do produto, neste caso deve possuir gengivite leve a moderada.
Os ensaios devem abranger todos os grupos de tratamento.
Devem ser demonstradas reduções significativas nos casos de gengivite e formação da placa bacteriana, em comparação com o placebo ou, quando aplicável, a um controlo ativo.
A gengivite e a placa bacteriana devem ser medidas no início do ensaio, aos 6 meses e num período intermédio. Deve-se controlar os resultados entre todos os grupos, inclusive com o grupo controlo.
O produto deve demonstrar significado clínico quando comparado com o grupo controlo.
Deve ser realizada amostra microbiológica qualitativa da placa bacteriana, para complementar a medição quantitativa. Durante o estudo não devem surgir espécies oportunistas ou patogénicas.
O resultado da gengivite deve demonstrar uma redução proporcional estimativa (não inferior a 15%).
As medições das placas devem demonstrar reduções quantitativas.
O mecanismo de ação deve ser mencionado.
A aplicação do princípio ativo deve ser realizada num regime típico.
O perfil de toxicidade do produto deve incluir ensaios de carcinogénese e mutagénese, adicionalmente aos testes de segurança típicos.

Por sua vez, a U. S. Food and Drug Administration (FDA), a Canadian Dental Association e a British Dental Association, adotaram estas orientações de forma a avaliar os produtos para controlo e prevenção de formação de placa bacteriana e gengivite (Barnett, 2003).

Os resultados mais promissores no controlo químico da placa bacteriana são a nível da prevenção da sua formação e não na remoção da placa bacteriana já instalada. O efeito mais importante para a sua eficácia é a substantividade. Essa propriedade refere-se à capacidade de um químico manter a sua atividade antimicrobiana na cavidade oral por várias horas após a sua aplicação tópica. A substantividade depende da capacidade do químico ser absorvido nas várias superfícies da cavidade oral, particularmente na superfície dentária; da manutenção da sua atividade bacteriostática, bem como também da neutralização desta na cavidade oral. Essa propriedade é mais importante do que a capacidade antimicrobiana *in vitro* do produto para a sua eficácia como antisséptico oral (Lindhe, 2003; Mathur *et al.*, 2011).

2.2. Tipos de antissépticos

A descrição do processo de formação da placa bacteriana permitiu a classificação dos antissépticos orais. De acordo com Lindhe (Lindhe, 2003), estes fármacos podem ser divididos em quatro grupos distintos, com base na sua forma de atuação na placa bacteriana supragengival: anti-adesivos, antimicrobianos, removedores de biofilme e anti-patogénicos (figura 6). Cada um destes grupos modula ou modifica uma etapa da formação e/ou maturação da placa bacteriana supragengival (Lindhe, 2003)

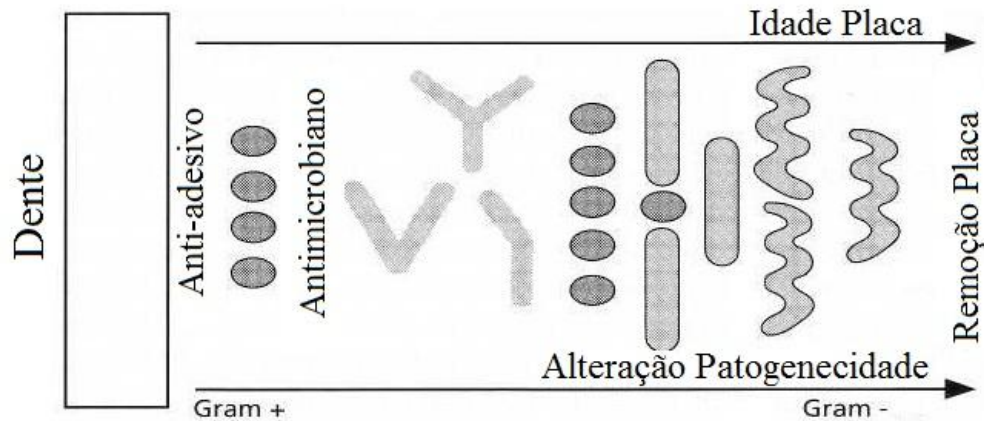


Figura 6. Atuação dos diferentes tipos de antissépticos orais na sucessão da placa bacteriana (Lindhe, 2003).

Os **agentes anti-adesivos** interferem na primeira etapa da adesão da placa bacteriana às superfícies bucais, isto é a adesão de bactérias Gram-positivo aeróbias ao esmalte dentário. Estes agentes atuam modificando a matriz adesiva resultante da atividade bacteriana ou alterando a superfície-alvo do biofilme, tornando-o não adesivo. Estes agentes são utilizados em vários contextos em que é necessário evitar a formação de biofilmes bacterianos e são mais eficazes em superfícies homogêneas e limpas. Infelizmente, os químicos utilizados para este fim são demasiado tóxicos ou agressivos para as estruturas anatómicas. Atualmente investigações experimentais estão a ser conduzidas para a introdução de agentes biocompatíveis com a higiene oral diária, mas a sua aplicação comercial ainda é marginal. Uma substância candidata é o delmopinol, um álcool amina (Lindhe, 2003).

Os **agentes antimicrobianos** têm uma ação direta sobre a modulação da microflora oral. Estas substâncias exercem a sua atividade através de dois mecanismos de ação (isoladamente ou juntos): efeito bacteriostático - atuando sob as bactérias adesivas primárias, de maneira a não permitir a sua proliferação e adesão ao esmalte e efeito bactericida atuando nas espécies bacterianas presentes na cavidade oral. O primeiro efeito inibe a proliferação bacteriana, atuando nas bactérias adesivas primárias (Gram-positivo: *Streptococcus*, *Actinomyces* e outros bacilos). Este impedimento é efetuado por um efeito bacteriostático, provocando uma diminuição da proliferação microbiana, a qual não irá permitir a ligação de bactérias subjacentes (Gram-negativo: *Veillonella* e

Neisseria). O segundo processo, o efeito bactericida, destruirá os microrganismos que se encontram ligados à superfície do dente. Para existir verdadeira eficácia desse método, estes efeitos teriam que ocorrer de forma constante, pois a formação do biofilme bacteriano é praticamente instantânea e recorrente. O digluconato de clorexidina insere-se nesta categoria, principalmente pelo seu efeito bacteriostático, como irá ser referido mais a frente (Lindhe, 2003).

Os **agentes de remoção de placa bacteriana** atuam mimetizando o efeito de remoção mecânica da placa bacteriana através de uma ação química. Esta solução seria ideal para utilização generalizada, uma vez que colmata as dificuldades ligadas a higienização oral mecânica e não afeta o equilíbrio da microflora oral. Alguns candidatos ainda em linha de desenvolvimento são enzimas que atuam na destruição da matriz bacteriana (dextranase e mutanase) ou nas proteases (Lindhe, 2003).

Os agentes **anti-patogênicos** referem-se a um conjunto de estratégias, químicas ou biológicas, que desativariam os mecanismos patológicos das bactérias orais sem as eliminar. A complexidade e a falta de compreensão detalhada da etiologia de placa bacteriana tornam essa possibilidade apenas uma especulação teórica (Lindhe, 2003).

Atualmente existem distintas classes de antissépticos, estando referenciadas na tabela III (Lindhe, 2003; González *et al.*, 2014).

Tabela III. Classes de antissépticos com respetiva ação (Lindhe, 2003; Marsh, 2010; González *et al.*, 2014)

Grupo	Ação	Exemplo
Antibióticos	Antimicrobiana	Penicilina Vancomicina
Enzimas	Removedor de placa	Protesase Lipase Nuclease Dextranase
	Antimicrobiana	Glucose oxidase Amiloglicosidase
Biguanidas	Antimicrobiana	Clorexidina Alexidina Octenidina
Compostos de amónia quaternário	Antimicrobiana	Cloreto de cetilpiridínio Cloreto de benzalcónio
Produtos naturais	Antimicrobiana	Sanguinarina
Fluoretos	Antimicrobiana	Fluoreto de sódio
Fenóis	Anti-inflamatório	Triclosan Fenol
Óleos essenciais	Antimicrobiana	Timol Eucalipto
Sais metálicos	Antimicrobiana	Zinco Cobre
Agentes oxidantes	Antimicrobiana	Peróxido de hidrogénio Peroxidrato de sódio
Detergentes	Antimicrobiana e removedor de placa	Laurilsulfato de sodio

Nesta revisão bibliográfica irão ser abordados dois antissépticos, a clorexidina e o triclosan. A clorexidina por ser o *gold-standard*, o antisséptico mais eficaz, e o mais utilizado. Por sua vez, o triclosan é atualmente um dos antibacterianos mais usados nos dentífricos, sendo nos últimos 30 anos o fenol mais utilizado (Schweizer, 2001; Brading e Marsh, 2003; Sandborgh-Englund *et al.*, 2006; Rautemaa *et al.*, 2007; Ankola *et al.*, 2008; Mathur *et al.*, 2011).

2.2.1. Clorexidina

A clorexidina (figura 7) é disponibilizada em 3 formas químicas: diglutamato, acetato e hidrocloreto. A forma mais comum comercialmente é de diglutamato, a qual apresenta maior atividade, devido à sua solubilidade, a qual permite combinação com álcool (Lindhe, 2003; González *et al.*, 2014).

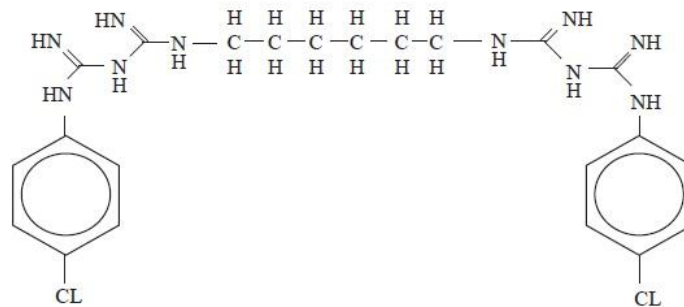


Figura 7. Estrutura química da clorexidina (Maya *et al.*, 2011).

Quimicamente, a clorexidina é uma bis-biguanida, composta por ponte de hexametileno, possuindo no fim um anel com o grupo 4-clorofenil, sendo uma molécula carregada positivamente (duas cargas positivas, uma de cada lado da ponte de hexametileno). Trata-se de uma base forte e bi-catiônica em pH acima de 3,5. A sua natureza bi-catiônica, torna a molécula muito interativa com aniões, o que influencia a sua eficácia, segurança, efeitos secundários locais e dificuldades de disponibilidade comercial (Lindhe, 2003; Ankola *et al.*, 2008; Mathur *et al.*, 2011).

A clorexidina foi desenvolvida na década de 1950 como antisséptico dérmico, para aplicação em feridas cutâneas, mas rapidamente adquiriu popularidade em outras áreas da medicina, como obstetrícia, ginecologia. Em medicina dentária foi inicialmente utilizada como elixir oral pré-cirúrgico e em endodontia (Lindhe, 2003). Atualmente a clorexidina é um dos compostos mais estudados em medicina dentária, sendo considerado o antisséptico oral padrão (Lindhe, 2003; Ankola *et al.*, 2008; Krayner *et al.*, 2010).

2.2.1.1. Mecanismo de ação

A clorexidina tem um amplo espectro de ação sobre microrganismos, incluindo bactérias Gram-positivo e Gram-negativo, aeróbicas e anaeróbicas, fungos, leveduras e vírus, como o HIV, HBV e *herpes simplex* (Lindhe, 2003; Pietruska *et al.*, 2006; Manivannan, 2008; Mathur *et al.*, 2011; Maya *et al.*, 2011). Em ensaios *in vitro*, a clorexidina demonstrou ser capaz de destruir 99% dos microrganismos típicos da microflora oral na sua forma livre. Não possui ação letal sob fungos na forma de esporos, micobactérias e algumas formas de resistência bacteriana, embora pareça ter algum efeito de limitação de crescimento (Quirynen *et al.*, 2002; Marsh, 2010).

O efeito bactericida da clorexidina apresenta diferentes ações dependendo da sua concentração. Em altas concentrações possui efeito bactericida, enquanto em baixas concentrações o efeito é bacteriostático, dependendo a sua ação da espécie bacteriana (Quirynen *et al.*, 2002; Lindhe, 2003; Mathur *et al.*, 2011).

Em virtude das células bacterianas serem carregadas negativamente e a clorexidina positivamente, esta é atraída pelas células, acabando por se ligar aos fosfolípidos das membranas celulares, como pode ser visualizado na figura 8. Desta forma, a permeabilidade da membrana aumenta, o que desencadeia a saída de compostos de baixo peso molecular, tal como os íons de potássio, provocando forte adsorção na superfície dos dentes. Este processo bacteriostático é reversível (Lindhe, 2003; Ankola *et al.*, 2008; Mathur *et al.*, 2011).

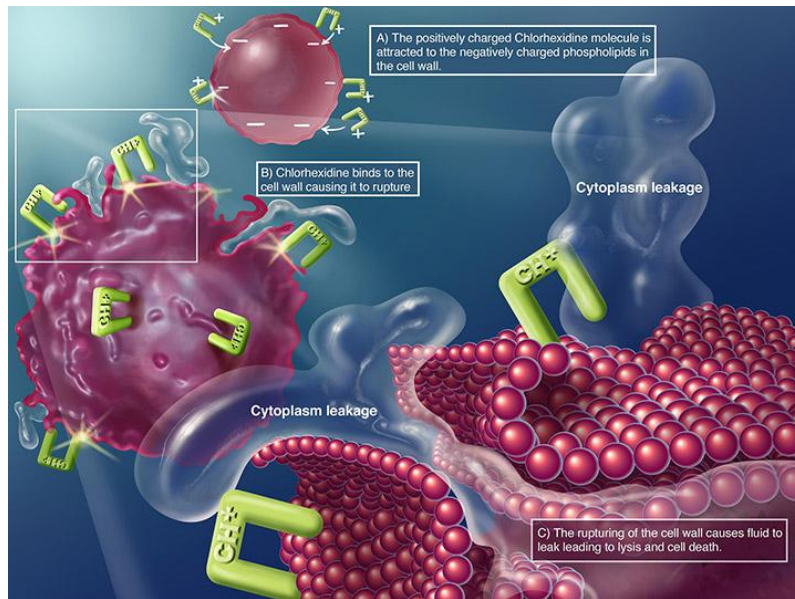


Figura 8. Representação do mecanismo de ação da clorexidina (About Chlorhexidine: Mechanism of Action. [Em linha]. Disponível em <<http://chlorhexidinefacts.com/mechanism-of-action.html>>. [Consultado em 10/05/2015].).

Em altas concentrações, provoca lise bacteriana através da precipitação do conteúdo celular bacteriano. Em concentrações não letais, a clorexidina interfere com o metabolismo bacteriano, inibindo funções membranares, como o transporte de hidratos de carbono e produção de ácido em *Streptococcus*, modificações no pH intracelular através de inibição de enzimas responsáveis por este e, por fim, inibição de proteases em algumas espécies (*Porphyromonas gingivalis*) (Ankola *et al.*, 2008; Manivannan, 2008; Marsh, 2010).

Outro mecanismo proposto atribui uma importância maior à libertação prolongada de clorexidina ao longo de várias horas a partir de um reservatório bioquímico adsorvido em vários tecidos orais que não os dentes. Essa libertação lenta e prolongada atua de 3 maneiras: diminuição da formação de película do esmalte por bloqueio dos grupos ácidos das glicoproteínas salivares, inibição da capacidade de fixação ao esmalte, diminuição da capacidade bacteriana de fixação à película de esmalte e precipitação dos fatores aglutinadores da saliva que aumenta a fixação de cálcio e diminui a sua disponibilidade para integração na placa bacteriana (Mathur *et al.*, 2011).

2.2.1.2. Efeitos farmacológicos

A clorexidina tem uma ação apenas tópica, quando aplicada corretamente, não possuindo capacidade de penetração no epitélio da mucosa oral. Quando deglutida acidentalmente apresenta uma pobre absorção a nível intestinal, sendo possível a sua absorção à superfície da mucosa intestinal. A sua excreção é feita primariamente por via fecal, sendo as pequenas porções de clorexidina absorvidas metabolizadas a nível hepático e renal, com pouca modificação da sua estrutura química. Não estão descritos riscos de toxicidade por exposição oral, nem de aumento da resistência bacteriana. Os valores LD₅₀ para o digluconato de clorexidina ingerido são de 1800mg/kg, e de aplicação intravenosa são de 22mg/kg. (Lindhe, 2003; Mathur *et al.*, 2011; González *et al.*, 2014).

A farmacocinética da clorexidina é particularmente importante no seu papel como antisséptico oral. Uma das grandes limitações no uso sistemático de muitos produtos candidatos a antissépticos orais, é a sua incapacidade de ação nos locais relevantes para a patologia oral, nomeadamente no fundo do sulco gengival. A penetração desses produtos por simples dispersão no sulco gengival é residual ou nula, devido à sua anatomia desfavorável, sendo apenas possível por irrigação ativa do produto. Mesmo nessas circunstâncias a permanência do produto é diminuta devido ao fluxo constante de fluido crevicular do sulco gengival. Uma agravante adicional é a organização das espécies bacterianas em biofilme, o que obriga a uma exposição prolongada do produto (Quirynen *et al.*, 2002). A capacidade de substantividade da clorexidina, cerca de 30%, e a forte ligação aos tecidos circundantes do sulco gengival permite que a sua ação se prolongue por mais tempo (Marsh, 2010; Mathur *et al.*, 2011).

De acordo com Mathur (Mathur *et al.*, 2011), após um bochecho de 10 ml de clorexidina a 0,2%, durante 1 minuto, ficam retidos na cavidade oral cerca de 30% da substância ativa. Para além disto, posteriormente a uma lavagem, a saliva detém atividade antibacteriana durante 5 horas, ocorrendo diminuição da contagem de bactérias existentes nas superfícies da mucosa oral no período de 12 horas. Alguns estudos realizados nos Estados Unidos da América, apontam que se utilizar clorexidina

a 0.12% conseguem-se obter resultados semelhantes à concentração de 0.2%, quando utilizados em doses semelhantes (Mathur *et al.*, 2011).

2.2.1.3. Uso clínico

A aplicabilidade da clorexidina é principalmente preventiva, sendo mais eficaz na prevenção do que como agente terapêutico. No caso de situações em que já existe uma situação patológica instalada a sua eficácia é muito limitada, principalmente quando não acompanhada de tratamento clínico profissional. Desta forma, a sua aplicação mais comum é a manutenção da ausência de placa após um processo de higienização profissional, quer para prevenção do surgimento de gengivite primária quer para recidiva em locais recentemente tratados para periodontite. Nessa altura, a superfície dentária está livre de tártaro ou matéria orgânica e o efeito da clorexidina é máximo. Na verdade, é tão eficaz que muitas vezes mascara a falta de rigor do paciente na higienização mecânica a que é instruído durante a fase ativa de tratamento periodontal, dificultando a avaliação da capacidade de higienização do paciente (Lindhe, 2003; Ankola *et al.*, 2008; Mathur *et al.*, 2011).

Outra aplicação muito frequente é no controle de infeção pós-operatória oral. A higienização mecânica está limitada nesses casos, e a suscetibilidade à formação de placa bacteriana está aumentada. Além disso, com a utilização de clorexidina existe uma redução da carga bacteriana oral global, o que diminui o risco de complicações pós-operatórias infecciosas. O regime de aplicação varia conforme o caso, baseando-se normalmente em elixires para bochecho e gel para aplicação direta sob a ferida operatória. A incidência de complicações como alveolite seca, sofrem uma redução de cerca de 60% (Ankola *et al.*, 2008).

Pacientes com necessidades especiais de higienização, quer por incapacidades físicas ou por dificuldade de coordenação motora, doença ou senilidade, limitações cognitivas/intelectuais, presença de dispositivos médicos (por exemplo, bloqueio maxilar após cirurgia maxilo-facial) beneficiam da facilidade de aplicação de spray de clorexidina 0,2% (Ankola *et al.*, 2008).

Alguns estudos apontam também uma redução no risco de cárie para indivíduos altamente suscetíveis, por diminuição da carga bacteriana de *Streptococcus mutans* (diminuição da produção de ácido). Essa aplicação demonstrou-se eficaz através da utilização diária de um elixir de concentração 0,2% num período de 12 meses e através da aplicação profissional de vernizes com concentração de 1% aplicados 3 vezes num período de 3 anos (Ankola *et al.*, 2008).

Muitas vezes é recomendado a pacientes portadores de dispositivos médicos intra orais, como aparelhos ortodônticos e próteses dentárias removíveis, que intensifiquem a utilização de antissépticos orais. Como noutros casos, a sua aplicação é menos útil quando já existe uma patologia instalada, sendo mais útil a sua utilização preventiva. Os próprios dispositivos, quando removíveis, podem ser higienizados com clorexidina, por imersão. Existe uma redução na presença de *Candida albicans* na superfície de próteses removíveis e um melhor controlo de estomatite protética. A clorexidina aplicada diariamente contribui também para uma mais rápida cicatrização de úlceras traumáticas provocadas na mucosa oral por próteses removíveis (Ankola *et al.*, 2008; Mathur *et al.*, 2011).

Como já referido anteriormente, algumas técnicas de irrigação subgingival preconizam a utilização de soluções de clorexidina, mas o seu efeito é limitado. Em endodontia, na desinfeção dos canais radiculares dentários, a clorexidina é o segundo princípio ativo mais utilizado, sendo o primeiro o hipoclorito de sódio (Ankola *et al.*, 2008).

Tipicamente, o espectro terapêutico da clorexidina pode ser dividido em utilizações de curto prazo, utilização prolongada mas limitada e de longo prazo regular (Lindhe, 2003; Mathur *et al.*, 2011).

As utilizações de curto prazo são habitualmente de indicação ou aplicação profissional, por um médico dentista. No contexto de uma consulta de medicina dentária a clorexidina pode ser utilizada como coadjuvante químico durante a higienização profissional, como método de diminuição da carga microbacteriana oral pré ou pós-cirúrgica, ou como método de prevenção de bacteriémia temporária provocada por zonas com hemorragia pós-cirúrgica (Lindhe, 2003; Mathur *et al.*, 2011).

As utilizações prolongadas diferem das utilizações de longo prazo por se situarem em intervalos temporais em que os efeitos secundários, como a coloração dentária, não são ainda evidentes, mas são maiores do que as utilizações de curto prazo. Esses regimes são úteis para pacientes que estão temporariamente impedidos de efetuar uma higienização mecânica eficaz ou apresentam fatores de risco adicionais por motivos médicos. Os pacientes com défices mentais ou físicos com dificuldades de auto-higiene oral e os pacientes imunocomprometidos são o alvo principal desses regimes. Alguns dispositivos médicos aumentam transitoriamente o risco de doença periodontal, incluindo aparelhos fixos ou removíveis ou a colocação de implantes dentários. Os períodos de utilização são determinados individualmente (Mathur *et al.*, 2011).

Os regimes de longo prazo apresentam como principal limitação a coloração dentária, situação que pode ser atenuada com a realização de profilaxia profissional a cada 6 meses. As indicações são semelhantes às de utilização prolongada, sendo que se foca em pacientes com limitações permanentes ou mais graves, como situações de patologia neoplásica, hemofilia, SIDA, patologia renal avançada, transplantados, doentes submetidos a quimioterapia e radioterapia, pacientes com limitações mentais profundas, perturbações motoras graves, pacientes geriátricos, pacientes demenciais e pacientes sujeitos a fixações intermaxilares prolongadas (Mathur *et al.*, 2011).

2.2.1.4. Efeitos adversos

Apesar das suas excelentes propriedades de inibição da placa bacteriana, a utilização prolongada da clorexidina é limitada por efeitos secundários locais, principalmente por implicações estéticas (Rautemaa *et al.*, 2007).

A absorção sistémica da clorexidina é diminuta, ocorrendo através da mucosa gastrointestinal e pele, devido à sua natureza bi-catiónica (Lindhe, 2003; González *et al.*, 2014). De facto, não existem registos de toxicidade por ingestão accidental ou mesmo injeção intramuscular accidental. Não existe efeito teratogénico em modelos animais. Existem alguns casos raros em que a sua aplicação no ouvido médio provoca surdez neurosensorial, pelo que a sua aplicação no ouvido externo deve ter em consideração a integridade do tímpano (Lindhe, 2003; González *et al.*, 2014).

Existem vários efeitos secundários importantes a nível local (Lindhe, 2003; Addy 2008; Mathur *et al.*, 2011). O mais significativo e comum é uma coloração castanha nas superfícies dentárias, dorso da língua e materiais de restauração dentária. A sua remoção é relativamente fácil com higienização profissional, contudo a sua presença diminui a motivação do paciente aderir ao tratamento prolongado com concentrações elevadas de clorexidina (Lindhe, 2003; Ankola *et al.*, 2008; Mathur *et al.*, 2011). A origem exata dessas colorações e manchas é indeterminada, mas foram propostas vários mecanismos: degradação da clorexidina em paracloranilina, reação de Maillard, desnaturação proteica com formação de sulfitos metálicos e precipitação de corantes aniônicos alimentares. Os três primeiros mecanismos, embora teoricamente possíveis, nunca foram observados diretamente ou reproduzidos experimentalmente. Além disso, manchas semelhantes ocorrem com outros antissépticos e metais iónicos, que não podem provocar essas reações. Por outro lado, a precipitação e fixação de corantes alimentares de natureza aniônica é uma explicação comum para todos os antissépticos orais e metais polivalentes (estanho, ferro, cobre), tendo já sido verificado experimentalmente. Os químicos alimentares mais frequentemente reagidos são polifenóis, abundantes no café, chá e vinho tinto, mas também presentes noutros alimentos. Esse efeito secundário é uma das principais limitações na utilização prolongada e diária da clorexidina, devido ao seu impacto estético, e é tão previsível que a sua ausência é um sinal de falta da adesão do paciente à prescrição eficaz do produto (Lindhe, 2003; Addy, 2008).

Alterações a nível do paladar são também comuns e significativas, particularmente nos sabores salgados. Esse efeito prolonga-se por várias horas após a aplicação. Para além disso, o sabor intrínseco da clorexidina é muito amargo e difícil camuflar completamente em formulações comerciais (Lindhe, 2003).

Em indivíduos suscetíveis existe um risco de erosões das mucosas de origem idiossincrática e dependente da concentração. Em formulações de 0,12% não se verificam erosões mucosas. Nas concentrações de 0,2% pode-se evitar esse efeito por diluição e utilização da totalidade do volume de elixir resultante (Lindhe, 2003).

Em casos muito raros e inexplicados, existe edema unilateral ou bilateral das glândulas parótidas. A resolução é espontânea e sem efeitos duradouros. É previsível ainda uma

formação acelerada de cálculos supragengivais, resultantes da precipitação facilitada de proteínas e sais minerais, salivares e extrínsecos, na superfície dentária coberta com clorexidina adsorvida na película de esmalte (Lindhe, 2003; Addy, 2008; Mathur *et al.*, 2011).

2.2.2 Triclosan

O triclosan (2,4,4'-triclora-2'-hidroxidifenil éter) é um composto bifenólico, não iônico, lipossolúvel, com largo espectro de ação biocida que atua como inibidor do crescimento de fungos, vírus e sobretudo bactérias, e apresenta ligeiro efeito anti-inflamatório (Schweizer, 2001; Manivanann, 2008; Food *et al.*, 2008; Marsh 2010; Riley e Lamont, 2013; Sharma *et al.*, 2012).

Este composto químico, ilustrado na figura 9, é um sólido, apresenta cor branca e leve odor a fenol. Tem uma volatilidade reduzida, baixa solubilidade em água, mas é solúvel em etanol e éter etílico por estabelecer interações do mesmo tipo, devido às semelhanças estruturais e polaridade das moléculas (Food *et al.*, 2008; Riley e Lamont, 2013).

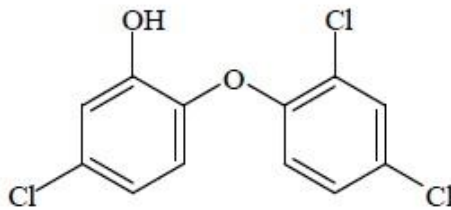


Figura 9. Estrutura química do triclosan (Food *et al.*, 2008).

2.2.2.1 Mecanismo de ação

A ação bactericida ou bacteriostática do triclosan depende da disponibilidade de concentração do mesmo, tendo capacidade bacteriostática em concentrações baixas, mas em concentrações elevadas torna-se bactericida (Food *et al.*, 2008).

Estudos demonstraram que o triclosan em concentrações bactericidas atua sobretudo ao nível da membrana celular bacteriana, embora não tenha ainda sido descrito um mecanismo específico de ação para este composto (Food *et al.*, 2008). De acordo com Jones (Jones *et al.*, 2000), o triclosan difunde-se na parede celular rompe a membrana, resultando na inibição antimicrobiana ou morte dos microrganismos (Jones *et al.*, 2000).

A partir do isolamento de células de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, demonstra-se o triclosan é absorvido pelas células, sendo a sua absorção proporcional ao teor de lípidos existentes nas membranas celulares (Schweizer, 2001).

Contudo, alguns estudos realizados com *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* descreveram um efeito bacteriostático deste composto através da inibição da síntese de ácidos gordos, pelo bloqueio da enzima NADH dependente enoil [proteína transportadora de acil] redutase (FabI). Por sua vez, a FabI, uma enzima dependente do NADH, é um alvo atrativo para antibacterianos, como o triclosan, uma vez que a sua estrutura molecular é idêntica a um enoil intermediário no ciclo de síntese de ácidos gordos, o que lhe permite uma fácil ligação aos mesmos, afetando a proliferação e funcionamento de células bacterianas. A inibição dessa via afeta as outras vias biossintéticas dependentes desta enzima, como as de fosfolípidos, lipoproteínas e lipopolissacarídeos, que constituem a parede celular. A ligação do triclosan com a enzima FabI aumenta significativamente a afinidade da enzima pelo NAD^+ , ocorrendo a formação de um complexo ternário estável (figura 10), onde o triclosan liga-se de modo irreversível ao sítio do substrato enoil (intermediário da via biossintética de ácidos gordos), inativando a enzima, o que resulta na inibição da síntese dos mesmos. A ligação de triclosan ao sítio ativo da FabI deve-se principalmente a interações do tipo Van der Waals e ligações de hidrogénio entre o grupo fenol da molécula de triclosan e resíduos de aminoácidos do sítio ativo da enzima FabI (Schweizer, 2001; Food *et al.*, 2008; Riley e Lamont, 2013).

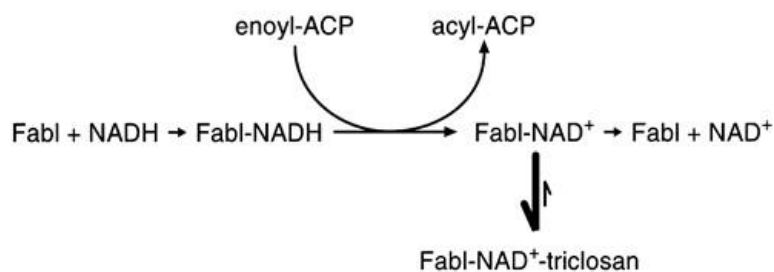


Figura 10. Formação do complexo ternário estável entre FabI-NAD⁺-Triclosan (Heath *et al.*, 2000).

Para além do efeito antimicrobiano direto, o triclosan tem efeito anti-inflamatório local, promovendo a inibição de formação de fatores mediadores de inflamação gengival, atuando sob TNF- α , interleucina-1 β e prostaglandina E₂ (Rautemaa *et al.*, 2007; Lin *et al.*, 2010).

O seu efeito de controlo anti-placa e bactericida é intensificado em combinação com copolímero (ácido polivil-metil-eter-maléico) e/ou sais metálicos, como o citrato de zinco. A substantividade do triclosan também é aumentada em formulações de combinação. O citrato de zinco tem um efeito bactericida sinérgico com o triclosan, diminuindo a presença de bactérias anaeróbicas e espécies de *Actinomyces* na placa bacteriana, e facilitando a ação anti-enzimática bacteriana (Food *et al.*, 2008; Marsh, 2010).

É ainda importante referir que alguns estudos *in vitro* descreveram também atividade antivírica e antifúngica deste composto. Estudos *in vitro* demonstram que este composto possui atividade contra um amplo espectro de bactérias Gram-negativo e Gram-positivo, possuindo melhor atividade sobre as últimas, possuindo baixa atividade, particularmente contra a *Pseudomonas aeruginosa* (Manivanna, 2008; Food *et al.*, 2008, Marsh, 2010).

2.2.2.2. Efeitos farmacológicos

O triclosan é absorvido pela pele, mucosa oral, mucosa intestinal e outras mucosas (Food *et al.*, 2008; Marsh, 2010).

Na exposição da mucosa oral por pasta dentífrica, verifica-se uma absorção que corresponde a 9-14% da observada com a ingestão da mesma. A ingestão de pasta dentífrica com triclosan provoca um aumento da sua concentração plasmática e na excreção urinária. Um estudo, partindo de um valor base de 0,4 mg/ml, verificou que a ingestão de 4mg de triclosan provoca uma concentração plasmática máxima de 218 mg/ml após 1 a 3 horas. A concentração na urina aumentou de 0,1 μ g/d de valor base para um máximo de 91 μ g/d, sendo que 24-83% dos 4 mg foram excretados em 4 dias (Sandborgh-Englund *et al.*, 2006). A exposição repetida à mesma dosagem ingerida 3 vezes por dia levou a uma concentração média de 352 ng/ml após 12-13 dias (Bagley e Lin, 2000).

Quantidades pequenas de triclosan foram detetadas no leite materno humano, num máximo de 35,8 ng/g, sendo calculado que um bebé pode ingerir um máximo de 74 µg/kg/dia por esse meio. Segundo dados obtidos por modelos animais esse valor é seguro. Mais de 90% do triclosan absorvido é metabolizado. Em animais, o triclosan é excretado maioritariamente pelas fezes. O tempo de semi-vida em animais aponta para 7-14 horas, com uma bio-distribuição de 42%. Em relação ao LD₅₀ após administração oral, em ratos obteve-se o resultado de 3.750-5000 mg/kg, em ratinhos de 4350 mg/kg, e em cães > 5000mg/kg (Food *et al.*, 2008).

2.2.2.3. Uso clínico

Apesar de não apresentar um perfil terapêutico tão atrativo quanto a clorexidina, a popularidade do triclosan enquanto antisséptico oral é alta, devido à maior facilidade de formulação do químico em pastas dentífricas e elixires, devido à sua menor interação com outros compostos, o seu sabor menos desagradável e, principalmente, a ausência de efeitos secundários locais com implicações estéticas (manchas e colorações) (Rautemaa *et al.*, 2007; Riley e Lamont, 2013).

Em soluções bucais com concentrações de 0,2% v/v, ou 20mg duas vezes por dia, o triclosan tem um efeito inibidor de formação de placa bacteriana relativamente moderado e uma ação antimicrobiana que ronda as 8-12 horas após a sua utilização, podendo ser encontrado na mucosa oral durante 3 horas (Food *et al.*, 2008; Lin *et al.*, 2010).

Para além do efeito antimicrobiano, o triclosan demonstra efeitos anti-inflamatórios na mucosa oral. De acordo com Mustafa (Mustafa *et al.*, 2005), este exerce ação por inibição da formação de prostanóides em fibroblastos gengivais humanos, provocados por interleucina-1β ou necrose tumoral (TNFα). Estudos anteriores indicam que este composto tem poder anti-inflamatório devido à redução da biossíntese da formação da PGE₂ através da inibição da expressão do mRNA (Mustafa *et al.*, 2005).

A atividade do triclosan é melhorada pela sua associação ao citrato de zinco ou a um copolímero ácido maleico polivinil-metil-éter. O citrato de zinco, além de compatível com

outros componentes incorporados nos dentífricos, inibe a formação de cálculos dentários e aumenta a substantividade do triclosan, o que lhe permite uma disponibilidade oral mais prolongada, permitindo ter uma ação no controlo do crescimento de flora oral associada à doença periodontal (Lindhe, 2003; Marsh, 2010).

O triclosan é essencialmente utilizado em produtos de higiene oral pessoal diários, tendo pouco significado em aplicações clínicas diretas. Contudo a sua utilização em pacientes submetidos a tratamento não cirúrgico para doença periodontal crónica revelou-se eficaz, embora menos que protocolos mais agressivos com clorexidina (Lin *et al.*, 2010).

A sua utilização regular de longo prazo é segura, não apresentando riscos de alterações da microflora oral saudável ou efeitos adversos locais ou sistémicos. Apresenta ligeiro efeito anti-inflamatório local, útil em situações de gengivite inicial e insipiente. É por isso indicado para a higiene oral em indivíduos sem doença periodontal ativa, numa perspetiva preventiva (Marsh, 2010).

2.2.2.4. Efeitos adversos

O triclosan é considerado um químico seguro possuindo baixa toxicidade (Jones *et al.*, 2000; Riley e Lamont, 2013). Vários modelos animais para medição da toxicidade aguda do triclosan apontam para valores LD₅₀ elevados, excedendo 5000mg/kg em cães. A toxicidade subcrónica do triclosan é reportada principalmente por estudos não publicados, com origem na indústria, em modelos animais. Foram encontrados sinais de toxicidade hepática e mortalidade às 13 semanas em regimes de toma oral de 150 mg/kg em coelhos, mas em babuínos um regime de 300 mg/kg durante 52 semanas resultou apenas em sintomas de diarreia (Food *et al.*, 2008).

O surgimento de espécies bacterianas resistentes ao triclosan, devido ao seu uso extenso, particularmente como desinfetante de superfície, foi motivo de preocupação por parte de investidores e entidades governamentais. Vários mecanismos de resistência foram descritos: mutações em proteínas-alvo, destruição enzimática, exclusão celular, e bombas de efluxo. Esse último mecanismo é de particular importância, porque essas

bombas de efluxo celular são capazes de proteger a bactéria de outros antimicrobianos, incluindo antibióticos. A pressão de seleção do uso excessivo de triclosan pode potencializar o surgimento de resistências cruzadas a outros princípios ativos, com importância clínica e de saúde pública. Esse efeito foi verificado *in vitro*, mas estudos em *in vivo* não foram capazes de reproduzir esses resultados, incluindo estudos de longo prazo em *Staphylococcus aureus* metilino resistentes (MRSA) e *Pseudomonas aeruginosa* (Food *et al.*, 2008). O consenso atual é que não existe um risco iminente de resistências bacterianas significativas (Rautemaa *et al.*, 2007).

O triclosan não parece ser mutagênico ou genotóxico, contudo os estudos em modelos animais relacionados com o seu potencial carcinogênico, patrocinados por empresas das indústrias que utilizam triclosan, não foram considerados conclusivos pela FDA por não seguirem critérios contemporâneos de validade científica (Food *et al.*, 2008).

O impacto ambiental do triclosan é também motivo de preocupação, devido à possibilidade de este ser degradado em dioxinas, através de fotodecomposição pela luz solar ou combustão a altas temperaturas (600°C) (Food *et al.* 2008).

III. CONCLUSÃO

Dado o crescente interesse sobre a diversidade e complexidade dos microbiomas orais, têm sido feitos desenvolvimentos técnicos e científicos, nomeadamente na sequenciação completa de microrganismos, no sentido de facilitar a existência de ferramentas de diagnóstico médico mais efetivas e, conseqüentemente, o tratamento mais específico de patologias que afetam a cavidade oral.

No entanto, novas tecnologias necessitarão certamente de ser desenvolvidas para identificar os demais organismos não cultiváveis e aqueles que se encontram agrupados em forma de biofilmes mistos na cavidade oral. A completa caracterização da diversidade presente na flora bacteriana da cavidade oral é dificultada, uma vez que as espécies são habitualmente identificadas a partir da relação global existente entre os seus genomas ou nas suas características fenotípicas, pelo que muita da informação relevante para caracterização desta biodiversidade pode estar a ser sobre-explorada.

Por outro lado, as alterações que ocorrem num dado microbioma podem também influenciar o estado de saúde/doença de um indivíduo, por exemplo a presença de diferentes proporções de bactérias Gram-positivo e Gram-negativo, a abundância de espécies particulares, as alterações nos factores de virulência produzidos pelas bactérias e a resposta imune do hospedeiro, aliada à susceptibilidade genética do hospedeiro, aos factores ambientais ou até mesmo à idade. A cárie e a gengivite são as duas desordens mais comuns devido aos desequilíbrios da microbiota oral.

De forma a melhorar a higiene oral e com as limitações dos métodos mecânicos de higienização surgiram os antissépticos. Estes, apesar de nunca serem considerados como uma substituição dos métodos tradicionais, vieram melhorar a higienização oral, de forma a minimizar a quantidade de bactérias existentes na cavidade oral. Apesar de não existir um antisséptico ideal, existem vários tipos de antissépticos, tendo todos uma função mais promissora no controlo da placa bacteriana do que na remoção da mesma.

A clorexidina, não obstante da sua antiguidade, continua a ser o *gold standard* entre os antissépticos orais. Esta possui um espectro de ação bastante completo, sendo eficaz contra bactérias Gram-positivo e Gram-negativo, fungos, leveduras e vírus. É eficaz na destruição de microrganismos da cavidade oral, possuindo uma substantividade de 30%, prolongando bastante o seu tempo de ação.

Este antisséptico apresenta maior eficácia de modo preventivo, sendo responsável pela redução de placa bacteriana e risco de cárie. Contudo, apresenta efeitos adversos, principalmente a nível estético, uma vez que o uso prolongado desta substância origina manchas castanhas nos dentes.

O triclosan, antisséptico mais utilizado nos dentífricos, detém um mecanismo de ação contra fungos, vírus e bactérias, principalmente bactérias Gram-positivo e apresenta um ligeiro poder anti-inflamatório. O seu efeito anti-bacteriano é fortalecido em combinação com o co-polímero (ácido polivil-metil-eter-maléico) ou com sais metálicos, como o citrato de zinco.

Apesar deste composto não possuir uma substantividade tão elevada como a clorexidina, nem um espectro de ação tão eficaz, é mais popular aquando das formulações de pastas dentífricas, uma vez que ele apresenta menor interação com outros constituintes e também não apresenta efeitos indesejáveis a nível estético (manchas e coloração castanha).

De referir, que existem mais antissépticos orais que se encontram no mercado e podem ser utilizados sendo que, certamente, muitos vão surgir nos próximos anos, tanto para combater eficazmente as bactérias, como também para minimizar os efeitos secundários.

IV. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- About Chlorhexidine: Mechanism of Action. [Em linha]. Disponível em <<http://chlorhexidinefacts.com/mechanism-of-action.html>>. [Consultado em 10/05/2015].).
- Addy, M. (2003). The Use of Antiseptics in Periodontal Therapy. *In: Lindhe, J. Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. 4ªEd. Munksgaard, pp.
- Addy, M. (2008). Oral hygiene products: Potential for harm to oral and systemic health? *Periodontology 2000* 48(1): pp.54–65.
- Ankola, A. V., Hebbal, M., & Mocherla, M. (2008). A Review of Efficacy of Various Modes of Chlorhexidine Delivery. *Journal of Oral Biosciences* 50(4): pp.239–242.
- Association, A.D. 2008. Chemotherapeutic Products for Control of Gingivitis. (July).
- Avila, M., *et al.* (2009). The oral microbiota: living with a permanent guest. *DNA and cell biology* 28(8): pp.405–411.
- Bagley, D.M., e Lin, Y.J. (2000). Clinical evidence for the lack of triclosan accumulation from daily use in dentifrices. 13(3): pp.148-152.
- Bahrani-Mougeot, F.K. *et al.* (2008). Diverse and novel oral bacterial species in blood following dental procedures. *Journal of Clinical Microbiology* 46(6): pp.2129–2132.
- Barnett, M.L. (2003). The role of therapeutic antimicrobial mouthrinses in clinical practice: control of supragingival plaque and gingivitis. *Journal of the American Dental Association (1939)* 134(6): p.699–704.
- Brading, M.G., e Marsh, P.D. (2003). The oral environment: the challenge for antimicrobials in oral care products. *International dental journal* 53(6 Suppl 1): pp.353–362.

- Bullock, S., e Manias, E., (2014). Antiseptics and Disinfectants. *In: Bullock, S., e Manias, E., (Ed.). Fundamentals of Pharmacology 7ªEd.* Australia, Pearson Australia, pp:960-968.
- Chen, T. *et al.* (2010). The Human Oral Microbiome Database: a web accessible resource for investigating oral microbe taxonomic and genomic information. *Database : the journal of biological databases and curation*
- Cramton S.E., e Gotz, F. (2004). Biofilm development in Staphylococcus. *Microbial Biofilms.*, pp. 64–84.
- Dewhirst, F.E. *et al.* (2010). The human oral microbiome. *Journal of Bacteriology* 192(19): pp.5002–5017.
- Rojas, F.J., e Santos-Aleman, A. (2005). Colutorios para el control de placa y gingivitis basados en la evidencia científica. *Rcoe* 10(4): pp.445–452.
- Faran Ali, S.M., e Tanwir, F. (2012). Oral microbial habitat a dynamic entity. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research* 2(3): pp.181-187.
- Fardin, R.F., *et al.* (2011). Concentração inibitória mínima de antissépticos bucais em micro- organismos da cavidade oral. 13(3): pp.10–16.
- Food, *et al.* (2008). Nomination Profile Triclosan Supporting Information for Toxicological Evaluation by the National Toxicology Program July 2008 OH Cl Cl Cl. *Exposure* (July).
- Gendron, R., *et al.* (2000). The oral cavity as a reservoir of bacterial pathogens for focal infections. *Microbes and Infection* 2(8): p.897–906.
- González, L.L. *et al.* (2014). Introducción a los antisépticos. *Atención Primaria* 46: pp.1–9.

- Gunsolley, J.C. (2010). Clinical efficacy of antimicrobial mouthrinses. *Journal of Dentistry* 38(SUPPL. 1): pp.6–10.
- Haas, A.N. *et al.* (2014). Mouthwashes for the control of supragingival biofilm and gingivitis in orthodontic patients: evidence-based recommendations for clinicians. *Brazilian oral research* 28: pp.1–8.
- He, X., e Shi, W. (2009). Oral Microbiology : Past , Present and Future. *International journal of oral science* 1(2): pp.47–58.
- Heath, R.J., *et al.* (2000). The enoyl-[acyl-carrier-protein] reductases FabI and FabL from *Bacillus subtilis*. *Journal of Biological Chemistry* 275(51): pp.40128–40133.
- Human Oral Microbiome Database. [Em linha]. Disponível em <<http://www.homd.org/modules.php?op=modload&name=HOMD&file=index>>. [Consultado em 08/02/2015].).
- Jain, N. *et al.* (2008). Recent approaches for the treatment of periodontitis. *Drug Discovery Today* 13(21-22): pp.932–943.
- Jenkinson, H.F., e Lamont, R.J. (2005). Oral microbial communities in sickness and in health. *Trends in microbiology* 13(12): pp.589–95.
- Jones, R.D., *et al.* (2000). Triclosan: a review of effectiveness and safety in health care settings. *American journal of infection control* 28(2): pp.184–196.
- Jorge, A.O. (1998). Ecologia Bucal. *In: Jorge, A.O. Microbiologia Bucal*. São Paulo, Santos Livraria Editora pp.1-19.
- Jorge, A.O. (1998). Regulação e Controle da Microbiota Bucal. *In: Jorge, A.O. Microbiologia Bucal*. São Paulo, Santos Livraria Editora pp.21-30.
- Jorge, A.O. (1998). Ecologia da Flora Oral. *In: Jorge, A.O. Microbiologia Bucal*. São Paulo, Santos Livraria Editora pp.264-274.

- Kim, J.H. (2012). A review of mechanical dental plaque control. [Em linha]. Disponível em <<http://www.perioimplantadvisory.com/articles/2012/12/a-review-of-mechanical-dental-plaque-control.html>> [Consultado em 15/04/2015].
- Krayer, J.W., *et al.* (2010). Non-Surgical Chemotherapeutic Treatment Strategies for the Management of Periodontal Diseases. *Dental Clinics of North America* 54(1): pp.13–33.
- Kumar, P.S. (2013). Oral microbiota and systemic disease. *Anaerobe* 24: pp.90–93.
- Leszczyńska, *et al.* (2011). Periodontal pharmacotherapy - an updated review. *Advances in Medical Sciences* 56(2): pp.123–131.
- Lin, J. Te, *et al.* (2010). Clinical efficacy of phase I therapy combined with a triclosan/copolymer dentifrice on generalized chronic periodontitis. *Journal of Dental Sciences* 5(4): pp.216–220.
- Macias, *et al.* (2015). Substantive effect of chlorhexidine. *Journal of Hospital Infection* 90(1): pp.82–83.
- Manivannan, G. (2008). Antiseptic Agents. In: Manivannan, G. (Ed.). *Disinfection and Decontamination. Principles, Applications and Related Issues*. United States of America, CRC Press, pp.136-141.
- Marinho, B.S. e Araújo, A.C.S. (2007). O uso dos enxaguatórios bucais sobre a gengivite e o biofilme dental. *International Journal of Dentistry*, 6(4): pp.124-131.
- Marcotte, H., e Lavoie, M.C. (1998). Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A. *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR* 62(1): pp.71–109.
- Marsh, P.D. (2010). Controlling the oral biofilm with antimicrobials. *Journal of Dentistry* 38(SUPPL. 1): pp.S11–S15.
- Mathur, S., *et al.* (2011). Chlorhexidine: The gold standard in chemical plaque control. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology* 1(2): pp.45–50.

- Maya, J., *et al.* (2011). Papel de la clorhexidina en la prevención de las infecciones asociadas a la atención en salud. *Infectio* 15(2): pp.98–107.
- McLean, J.S. (2014). Advancements toward a systems level understanding of the human oral microbiome. *Frontiers in cellular and infection microbiology* 4(July): pp.98.
- Munro, Cindy L. e Grap, M.J. (2004). Oral Health and Care in the Intensive Care Unit: State of the Science. *American Journal of Critical Care* 13: pp.25–33.
- Mustafa, M. *et al.* (2005). Triclosan reduces microsomal prostaglandin E synthase-1 expression in human gingival fibroblasts. *Journal of Clinical Periodontology* 32(1): pp.6–11.
- Parahitiyawa, N.B. *et al.* (2010). Exploring the oral bacterial flora: Current status and future directions. *Oral Diseases* 16(2): pp.136–145.
- Parahitiyawa, N.B. *et al.* 2010. Exploring the oral bacterial flora: current status and future directions. *Oral diseases* 16(2): p.136–45. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19627515> [Accessed November 4, 2014].
- Pedrazzi, V. *et al.* (2009). MÉTODOS MECÂNICOS PARA O CONTROLE DO. *Revista Periodontia*. 19(3): pp.26-33.
- Pietruska, M., *et al.* (2006). Efficacy of local treatment with chlorhexidine gluconate drugs on the clinical status of periodontium in chronic periodontitis patients. *Advances in medical sciences* 51: pp.162–165.
- Pignatelli, M., *et al.* (2012). Identifying a healthy oral microbiome through metagenomics. *Clinical Microbiology and Infection*. 18(4): pp.54-57.
- Quirynen, M., *et al.* (2002). Topical antiseptics and antibiotics in the initial therapy of chronic adult periodontitis: microbiological aspects. *Periodontology 2000* 28: pp.72–90.
- Rautemaa, R., *et al.* (2007). Oral infections and systemic disease - An emerging problem in medicine. *Clinical Microbiology and Infection* 13(11): pp.1041–1047.

- Riley, P., e Lamont, T. (2013). Triclosan / copolymer containing toothpastes for oral health (Review) SUMMARY OF FINDINGS FOR THE MAIN COMPARISON. (12).
- Ruby, J., e Barbeau, J. (2002). The buccale puzzle: The symbiotic nature of endogenous infections of the oral cavity. *The Canadian journal of infectious diseases = Journal canadien des maladies infectieuses* 13(1): pp.34–41.
- Sandborgh-Englund, G., *et al.* (2006). Pharmacokinetics of triclosan following oral ingestion in humans. *Journal of toxicology and environmental health. Part A* 69(20): pp.1861–1873.
- Scannapieco, F.A. (2013). The oral microbiome: Its role in health and in oral and systemic infections. *Clinical Microbiology Newsletter* 35(20): pp.163–169.
- Schweizer, H.P. (2001). Triclosan: A widely used biocide and its link to antibiotics. *FEMS Microbiology Letters* 202(1): pp.1–7.
- Sharma, D.K. (2012). Triclosan resistance in bacteria and antibiotics cross-resistance. 4(4): pp.88-90.
- Urenã, J.L., (2002). Composición y ecología de la microbiota oral. *In:Ureña, J.L. (Ed.) Microbiología Oral 2ªEd.* Madrid, Mc Graw Hill, pp. 515-525.
- Urenã, J.L., (2002). Determinantes ecológicos orales. *In:Ureña, J.L. (Ed.) Microbiología Oral 2ªEd.* Madrid, Mc Graw Hill, pp. 527-540.
- Triratana, T. *et al.* (2002). Clinical effect of a new liquid dentifrice containing triclosan/copolymer on existing plaque and gingivitis. *Journal of the American Dental Association (1939)* 133(2): pp.219–225.
- Wade, W.G. (2013). The oral microbiome in health and disease. *Pharmacological Research* 69(1): pp.137–143.
- Wilson, M. (2005). *Microbial Inhabitants of Humans: Their Ecology and Role in Health and Disease.* United States of America, Cambridge University Press; Cambridge.

Zarco, M.F., *et al.* (2012). The oral microbiome in health and disease and the potential impact on personalized dental medicine. *Oral Diseases* 18(2): p.109–120.