



D. Herrera González¹
S. Roldán Díaz²
I. Santacruz Astorqui³
A. O'Connor⁴
M. Sanz Alonso⁵

Actividad antimicrobiana en saliva de cuatro colutorios con clorhexidina*

1 Prof. Asociado Periodoncia, UCM.
Laboratorio de Investigación,
Facultad de Odontología,
Universidad Complutense de Madrid.
Master de Periodoncia

5 Prof. Titular de Periodoncia, UCM.
Laboratorio de Investigación.
Facultad de Odontología,
Universidad Complutense de Madrid.
Master de Periodoncia

*Estudio financiado por Dentaïd, S.L.

2 Master en Periodoncia e Implantes,
Facultad de Odontología,
Universidad Complutense de Madrid.

3 Master en Periodoncia,
Facultad de Odontología,
Universidad Complutense de Madrid.

4 Laboratorio de Investigación,
Facultad de Odontología,
Universidad Complutense de Madrid.

Correspondencia:
David Herrera González
Sección de Periodoncia,
Facultad de Odontología
Avda. Ramón y Cajal s/n
Ciudad Universitaria
28040 Madrid

RESUMEN

Objetivo. El objetivo del presente estudio fue valorar la eficacia microbiológica de distintos colutorios de clorhexidina (0,12%) con diferentes formulaciones, por cambios en el contenido de alcohol, o por la adición de otros componentes (fluoruro sódico, cloruro de cetilpiridinio).

Pacientes y métodos. Participaron 10 estudiantes voluntarios, con edades y salud oral similares. El investigador y el laboratorio fueron ciegos a los productos evaluados. El diseño de estudio fue cruzado, en orden aleatorizado, y con una semana de aclaramiento. Tras las valoraciones basales, y la toma de la muestra basal de 1 ml de saliva no estimulada, cada individuo se enjuagaba con 15 ml del producto durante 1 min. Se tomaron nuevas muestras a los 5 min, 1, 3, 5, y 7 h. Las muestras se enviaron al laboratorio, y se procesaron en dos series, con incubación aerobia (24 h), y anaerobia (48 h). Los productos evaluados fueron: clorhexidina al 0,12% con alcohol (CLX + ALC); clorhexidina al 0,12% y cloruro de cetilpiridinio al 0,05% sin alcohol (CLX + CPC); clorhexidina al 0,12% con fluoruro sódico sin alcohol (CLX + NaF); clorhe-

xidina al 0,12% sin alcohol (CLX); y un control de suero fisiológico. Se calcularon las unidades formadoras de colonias (UFC), que se transformaron en logaritmos. Las comparaciones estadísticas se realizaron por medio de la t de Student.

Resultados. Las reducciones en UFC aerobias fueron significativas respecto al control para todos los productos evaluados, excepto CLX + NaF. Las diferencias en los UFC anaerobios fueron significativas respecto al control para todos los productos, excepto CLX + NaF. Las comparaciones entre productos mostraron los mejores resultados para CLX + ALC y el colutorio con CLX + CPC.

Conclusiones. Los colutorios con clorhexidina al 0,12% fueron efectivos en cuanto a la reducción de la flora salival, pero mostraron importantes diferencias en su actividad según la composición. La composición completa de un colutorio influye de manera relevante en su efectividad, independientemente del producto activo.

PALABRAS CLAVE

Clorhexidina; Sustantividad; Saliva; Actividad antimicrobiana; Colutorio.

194 INTRODUCCIÓN

La prevención de las enfermedades periodontales, tanto la prevención primaria y secundaria de la gingivitis, como la prevención secundaria de la periodontitis, se ha basado fundamentalmente en un adecuado control de la placa bacteriana dental. Aunque muchos autores y estudios han demostrado que un adecuado control mecánico de placa es suficiente para mantener los tejidos periodontales en salud, esta afirmación no puede aplicarse a toda la población, ya que una gran cantidad de individuos no consiguen mantener adecuados niveles de control de placa únicamente mediante medios mecánicos. En estos individuos se ha propuesto el uso adjunto de agentes antimicrobianos químicos, fundamentalmente antisépticos, con el objeto de compensar las deficiencias en la higiene habitual y así conseguir una pauta, tanto terapéutica como preventiva, que sea eficaz en el control de la gingivitis⁽¹⁾.

La clorhexidina es, sin duda, el agente antimicrobiano más importante en el control químico de la placa bacteriana, siendo considerado como el control positivo frente al que deben compararse el resto de los agentes anti-placa investigados («gold standard»)⁽²⁾. Se trata de una bisbiguanida bicatiónica, con una amplia actividad antibacteriana, baja toxicidad sobre células de mamíferos y alta afinidad de unión a piel y membranas mucosas. Su mecanismo de acción daña la membrana interna citoplasmática, siendo bacteriostático a bajas dosis y bactericida rápido a concentraciones altas. Sus principales ventajas se basan no sólo en su actividad antimicrobiana, sino también en la unión a gran cantidad de sustratos. Esta propiedad, denominada sustantividad, permite lograr dosis antibacterianas eficaces utilizando una posología (cada 12 horas) que permite un adecuado cumplimiento por parte de la mayoría de los pacientes⁽²⁾.

Debido a su demostrada eficacia, este compuesto químico ha sido formulado para su uso intra-bucal en diferentes vehículos (colutorios, geles, chicles, dentífricos, sprays, etc.), a diferentes concentraciones (0,2%, 0,1% y 0,12%) y en distintas formulaciones asociado a

otros productos químicos con un objetivo de obtener productos más estables, más eficaces, o con una menor producción de efectos cosméticos indeseables. En los últimos 25 años se han realizado una gran cantidad de ensayos clínicos⁽³⁾, en los que se ha evaluado tanto la eficacia de los distintos vehículos como las distintas concentraciones. Fruto de ellos son las distintas indicaciones clínicas en donde esta eficacia ha sido demostrada⁽⁴⁾. Sin embargo, existen gran cantidad de productos a base de clorhexidina en el mercado, en cuya formulación existen ligeras modificaciones que pudieran afectar a su efectividad. Una de las modificaciones más comunes afecta al contenido en alcohol. Por una parte, la presencia de alcohol podría suponer una serie de riesgos no demasiado contrastados, tanto por un supuesto aumento del riesgo de sufrir cáncer oral^(5, 6), como por estar contraindicado en situaciones como pacientes con mucositis, irradiados en cabeza y cuello, inmunocomprometidos, o en poblaciones de pacientes específicos (alcohólicos crónicos)⁽⁷⁾. Por otro lado, el alcohol puede ser importante para mantener la efectividad del producto, así como para evitar contaminaciones por patógenos del propio producto⁽⁸⁾.

Igualmente importante es la introducción en las formulaciones a base de clorhexidina de otros productos buscando posibles acciones terapéuticas sinérgicas o adicionales. Sin embargo, algunas de estas formulaciones no han sido adecuadamente probadas y existe la posibilidad que la adición de otros agentes químicos pueda inactivar químicamente la acción de la clorhexidina. Este hecho es especialmente relevante debido a que la molécula de clorhexidina es altamente catiónica y por lo tanto, fácilmente inactivable por cualquier compuesto químico de carga aniónica.

Para la evaluación de la eficacia de agentes antimicrobianos con acción antiplaca y antigingivitis, existen numerosos protocolos de evaluación estandarizados, tanto *in vitro*, como *in vivo*. Uno de las pruebas *in vivo* más aceptadas y empleadas^(9, 10), es la valoración del efecto antibacteriano midiendo los recuentos bacterianos en saliva tras un único uso. Este méto-

do permite evaluar la actividad antimicrobiana *in vivo*⁽¹⁾ y se usa habitualmente antes de realizar ensayos clínicos de eficacia, más relevantes y costosos. Este método se considera, además, como un predictor útil de la sustentividad de los agentes⁽¹¹⁾, así como de su actividad antiplaca⁽¹²⁾.

El objetivo del presente estudio fue valorar la eficacia microbiológica de distintos colutorios de clorhexidina (0,12%) en los que se ha variado su formulación, bien modificando el contenido de alcohol, o bien añadiendo otros componentes (fluoruro sódico, cloruro de cetilpiridinio) con el objetivo de mejorar su eficacia clínica.

PACIENTES Y MÉTODOS

Pacientes

Diez voluntarios, de edades comprendidas entre 25 y 40 años, estudiantes del Master de Periodoncia, Facultad de Odontología, Universidad Complutense de Madrid, participaron en las diferentes evaluaciones. Los individuos no ofrecían ningún dato relevante respecto a su salud bucal, y debían de cumplir dos tipos de requisitos.

Requisitos previos:

- No haber consumido antibióticos en el mes previo al inicio del estudio.
- No usar colutorios en la semana previa ni durante el desarrollo del estudio.
- No realizar procedimientos de higiene oral en las mañanas de los días de evaluación.

Requisitos durante los días de evaluación:

- No ingerir alimento ni bebida (excepto agua), durante los periodos de evaluación, pudiendo realizar el desayuno (previo al test) y la comida (entre las evaluaciones a 5 y 7 horas) de manera habitual.
- No realizar ningún procedimiento de higiene oral durante el test.

- No usar caramelos o chicles durante las horas de estudio.

Productos evaluados

Se estudiaron cuatro colutorios formulados con clorhexidina (CLX) al 0,12% y un control negativo (suero salino fisiológico):

- Clorhexidina con alcohol (CLX + ALC), CLX al 0,12% y alcohol al 5% (PerioAid®).
- Clorhexidina sin alcohol (CLX), CLX al 0,12% sin alcohol (Clorhexidina Lacer®).
- Clorhexidina sin alcohol + fluoruro sódico (CLX + NaF), CLX al 0,12%, sin alcohol + NaF (Cariax®).
- Clorhexidina al 0,12% + cloruro de cetilpiridinio al 0,12% (CLX + CPC) (PerioAid sin alcohol®, Dentaid S.L.).

Diseño del estudio

El estudio clínico fue doble ciego, cruzado, aleatorizado en bloques y con periodos de aclaramiento. Los productos fueron codificados por un agente externo a los investigadores, en botellas idénticas con 15 ml del producto, y ni los sujetos evaluados ni los supervisores ni el laboratorio conocían los productos evaluados ni su código. Cada sujeto recibió todos los productos analizados, con un orden que se aleatorizó en dos grupos de 5 individuos. Entre dos evaluaciones transcurría al menos un periodo de una semana, para evitar posibles efectos de acumulación.

En los días de evaluación, los sujetos aportaban la primera muestras a las 8:25 aproximadamente, realizaban enjuague supervisado con el producto durante 1 minuto, y volvían a aportar muestras a los 5 minutos, 1, 3, 5 y 7 horas.

Muestras microbiológicas

Las muestras microbiológicas se obtenían mediante la colección de 1 ml de saliva no estimulada en un tubo marcado. Las muestras se procesaban en el labo-

Tabla 1 Comparación estadística de las medias de logaritmo de UFC de recuentos salivales aerobios (t de Student para muestras no pareadas). Sólo se incluyen las comparaciones con diferencias estadísticamente significativas

	5 min	1 h	3 h	5 h	7 h
Cx + Alc vs suero	p< 0,01	p< 0,01	p< 0,001	p< 0,01	p= 0,01
Cx vs suero	p< 0,01	p< 0,01	p< 0,01	p= 0,01	n.s.
Cx + NaF vs suero	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Cx + CPC vs suero	p< 0,001	p< 0,001	p< 0,01	p< 0,01	p= 0,01
Cx + Alc vs Cx + NaF	p= 0,01	n.s.	p= 0,001	n.s.	n.s.
Cx + CPC vs Cx	p< 0,01	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Cx + CPC vs Cx + NaF	p< 0,01	p< 0,01	p< 0,01	n.s.	n.s.

ratorio en la siguiente media hora, mediante procedimientos habituales de dispersión (Vortex, 30 segundos), diluciones seriadas en PBS, e inoculación de las diluciones seleccionadas en dos series de placas de agar-sangre, enriquecidas con hemina y menadiona. Una de las series se incubaba en aire a 37°C durante 24 horas, y la otra serie en anaerobiosis durante 48 horas. Transcurrido el periodo de incubación se procedió al recuento de colonias en las placas adecuadas (con entre 30 y 300 colonias).

Análisis de los datos

Con los recuentos de colonias se procedió al cálculo de las unidades formadoras de colonias (UFC). Para obtener una distribución normal las UFC fueron transformadas en logaritmos.

Utilizando tests estadísticos paramétricos (test de la t de Student para muestras no pareadas, exigiendo un nivel de significación de $p < 0,01$ tras la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples) se realizaron las siguientes comparaciones:

- Diferencias entre cada producto y el control negativo.
- Diferencias de los distintos productos entre sí.

Se establecieron comparaciones en la reducción del número de bacterias (logaritmo de UFC).

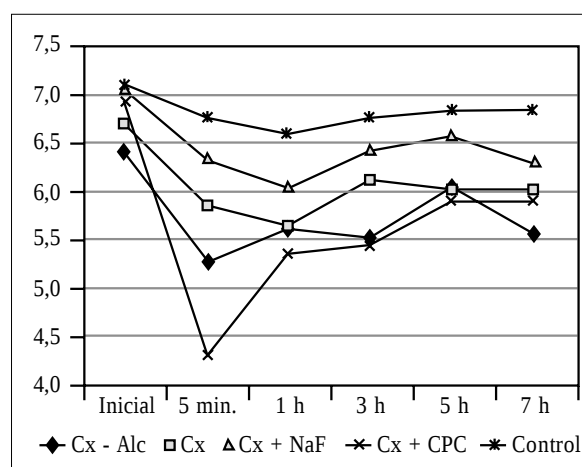


Figura 1. Medias del logaritmo de UFC de bacterias salivales aerobias.

RESULTADOS

Actividad frente a bacterias aerobias: logaritmo de UFC (Tabla 1, Fig. 1)

No se observaron diferencias significativas en los UFC iniciales entre los cinco grupos.

Al comparar los UFC en las otras evaluaciones, tanto

Tabla 2 Comparación estadística de las medias de logaritmo de UFC de recuentos salivales anaerobios (t de Student para muestras no pareadas). Sólo se incluyen las comparaciones con diferencias estadísticamente significativas

	5 min	1 h	3 h	5 h	7 h
Cx + Alc vs suero	p< 0,001	p< 0,001	p< 0,001	p< 0,001	n.s.
Cx vs suero	p=0,01	p< 0,001	n.s.	p< 0,01	p= 0,01
Cx + NaF vs suero	n.s.	p= 0,001	n.s.	n.s.	n.s.
Cx + CPC vs suero	p< 0,001	p< 0,001	p< 0,001	p= 0,001	p< 0,001
Cx + Alc vs Cx	n.s.	n.s.	p< 0,01	n.s.	n.s.
Cx + Alc vs Cx + NaF	p= 0,01	n.s.	p< 0,001	p< 0,01	n.s.
Cx + CPC vs Cx	p= 0,001	n.s.	p= 0,001	n.s.	n.s.
Cx + CPC vs Cx + NaF	p< 0,001	p< 0,01	p< 0,001	p< 0,01	p< 0,01

CLX + ALC como CLX + CPC mostraron valores significativamente inferiores respecto al suero en todas las evaluaciones.

Lo mismo ocurrió con CLX si exceptuamos la toma a las 7 h.

Por el contrario, las reducciones obtenidas con CLX+NaF no tuvieron significación en ninguna de las evaluaciones.

Comparando productos, CLX + CPC tenía recuentos significativamente inferiores respecto a CLX + NaF hasta las 3 h, y respecto a CLX a los 5 min.

También CLX + ALC consiguió valores significativamente más bajos de UFC que CLX + NaF a los 5 min. y 3 h.

El resto de las comparaciones entre los productos evaluados no ofrecieron diferencias estadísticamente significativas.

Actividad frente a bacterias anaerobias: logaritmo de UFC (Tabla 2, Fig. 2)

No hubo diferencias significativas en los recuentos iniciales en los diferentes grupos.

CLX + CPC, CLX + ALC, y CLX tenían UFC significativamente menores que el suero en todas las eva-

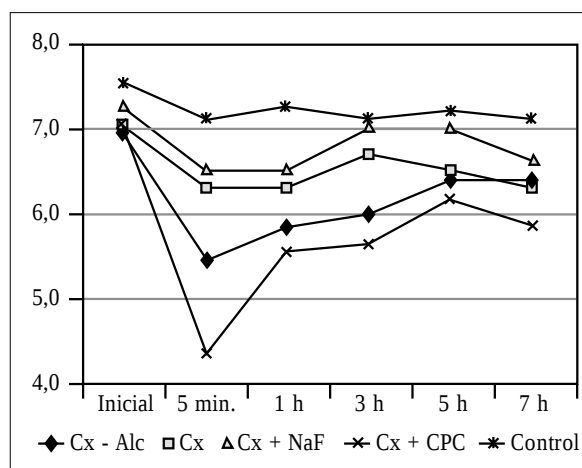


Figura 2. Medias del logaritmo de UFC de bacterias salivales anaerobias.

luaciones con dos excepciones, CLX + ALC a 7 h y CLX a 3 h.

Por el contrario, CLX + NaF sólo redujo de manera significativa los UFC respecto a suero a 1 h.

CLX + CPC tenía UFC significativamente menores que CLX + NaF en todas las evaluaciones, y respecto a CLX, a los 5 min y 3 h.

198 CLX + ALC mostró recuentos significativamente inferiores a CLX + NaF a 5 min, y 3 y 5 h; y frente a CLX a las 3 h.

Las otras comparaciones entre productos no mostraron diferencias significativas.

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio confirman la actividad antibacteriana en saliva de diferentes productos formulados con clorhexidina al 0,12%. Sin embargo, se detectaron diferencias significativas entre ellos, dependiendo de su formulación. La combinación de CLX y CPC ofreció los mejores resultados, seguida por el producto clorhexidina con alcohol. Este último fue especialmente activo frente a bacterias anaerobias. Por el contrario, la formulación de clorhexidina combinada con fluoruro sódico demostró la actividad antimicrobiana más débil, mientras que la clorhexidina sin alcohol mostró una efectividad intermedia.

En el presente estudio, las dos formulaciones sin alcohol demostraron una menor actividad antibacteriana, en comparación con el producto que contenía alcohol al 5%, lo cual era especialmente relevante en relación con las bacterias anaerobias. Estas diferencias se hicieron más patentes cuando la formulación tenía además NaF. Estos resultados pueden compararse con los obtenidos por Addy y cols.⁽¹³⁾, utilizando idéntica metodología. En su estudio, CLX al 0,12% con alcohol (Peridex®), o al 0,2% (Corsodyl®), obtuvieron un efecto muy similar al observado en el presente estudio con CLX+ALC. Por el contrario, los dos productos de CLX al 0,12% sin alcohol de nuestro estudio obtuvieron peores resultados, sobre todo a partir de la evaluación a las 3 h. En el estudio mencionado se evaluaron además dos productos con clorhexidina al 0,1% (Eludril® y Eludril® reformulado), que obtuvieron resultados muy inferiores a los productos a concentraciones superiores, y también claramente peores a todos los productos evaluados en el presente estudio. Los autores llamaban la atención

sobre la importancia de la formulación, y no sólo de la presencia del compuesto activo, sobre la efectividad del producto final. Un estudio recientemente publicado⁽¹⁴⁾, concluyó que un colutorio con clorhexidina al 0,1% sin alcohol fue efectivo en reducir acumulación de placa y su vitalidad con respecto a placebo. Utilizaron un modelo de 4 días como única medida de higiene y el hallazgo fue casual, puesto que el producto con clorhexidina era el control positivo para evaluar otros colutorios con triclosán, y fluoruro estañoso o de amina. Por tanto, su conclusión debe valorarse con cautela, dado que no se comparó con otras formulaciones de clorhexidina, ni el estudio estaba realmente diseñado para establecer la conclusión obtenida.

La presencia de alcohol en las formulaciones de clorhexidina parece aumentar la efectividad del producto, como se ha observado en el presente estudio, posiblemente por la estabilización de la mezcla. Además, reduce el riesgo de contaminación del producto, riesgo que ha llevado a algunos autores a concluir que las formulaciones con clorhexidina sin alcohol no deben de usarse como antisépticos⁽⁸⁾. La inclusión de alcohol en los colutorios es un tema especialmente controvertido. Se ha discutido sobre el aumento del riesgo que supone la adición de alcohol en las formulaciones, aunque autores reputados han desechado esta hipótesis^(5, 6), y además, el riesgo ocurriría en formulaciones con más de un 25% de alcohol, y con uso diario prolongado⁽¹⁵⁾. También se ha estudiado la asociación con dolor oral, y se concluyó que los productos con alcohol podrían provocarlo, pero nunca a concentraciones inferiores al 10%⁽¹⁶⁾. En todo caso, existe una serie de pacientes en los que el uso de clorhexidina con alcohol debe evitarse: pacientes con mucositis, inmunocomprometidos, irradiados en cabeza y cuello, sensibilizados y niños⁽⁷⁾.

La adición de CPC a la formulación permitió mantener e incluso mejorar la efectividad de la clorhexidina, sin añadir alcohol, evitando los problemas relacionados con su uso. CPC es un antiséptico menos activo que la clorhexidina, y con menor sustantivi-

dad; su actividad antimicrobiana en boca se mantiene entre 180 y 300 min. La influencia de la composición completa de un colutorio sobre la efectividad de CPC, parece ser menor que en los productos que llevan clorhexidina como ingrediente activo. Elworthy y cols.⁽⁹⁾ encontraron resultados parecidos con un estudio de similar diseño al presente, para formulaciones de CPC con y sin alcohol al 8%, con y sin fluoruro sódico.

Por primera vez en los años 70⁽¹²⁾ se realizaron este tipo de tests antimicrobianos en saliva con productos con clorhexidina, permitiendo dos evaluaciones fundamentales: la magnitud del efecto antimicrobiano en saliva, y la valoración de la duración del efecto, en relación con la sustantividad del producto. La metodología de este tipo de estudios está ampliamente reconocida, aunque deben vigilarse pequeñas variaciones a la hora de interpretar los resultados. Normalmente la primera evaluación post-tratamiento se realiza a los 30 minutos^(9,10,13,17-19), aunque el presente diseño eligió 5 minutos para analizar el efecto inmediato del producto. Otra variable importante es el análisis microbiológico, habiendo investigaciones que recontaron las colonias tan sólo tras 12 h⁽¹⁰⁾, y otros prolongaron ese tiempo hasta 72 h^(9, 19). Evidentemente, cuanto más tiempo de incubación haya, mayores serán los recuentos. En el presente estudio se utilizaron 48 h como periodo de incubación, al igual que Moran y cols.⁽¹⁸⁾. Además, aunque el protocolo habitual sólo considera los recuentos anaerobios^(9,10,13,17-19), en el presente y en otros estudios⁽²⁰⁾ se analizaron también los recuentos aerobios, dando una mayor información sobre el comportamiento de las diferentes formulaciones. Por otra parte, los resultados parecen seguir líneas homogéneas que se suelen alterar en la evaluación a las 7 h. Hasta las 5 h los pacientes no podían ingerir comi-

da ni beber líquidos excepto agua. Pero entre las evaluaciones a 5 h y 7 h se realizaba la comida, que pareció tener un efecto homogeneizador sobre los resultados. En otros estudios^(9,10,21), los cambios más importantes se producían entre esas dos tomas, con incrementos claros en los porcentajes de supervivencia, y es opinión de los autores del presente trabajo que los resultados de esa toma a las 7 horas deben analizarse con precaución.

La presencia de un componente activo en una formulación, como la clorhexidina, no asegura que ese producto sea efectivo. En estudios comparando diferentes formulaciones de clorhexidina en el Reino Unido⁽¹³⁾ y en Francia⁽¹⁹⁾, se detectó con sorpresa que una de las formulaciones era apenas más eficaz que el suero salino empleado como control, y sólo reformulando el producto se consiguió que fuera activo⁽¹³⁾. La conclusión de los autores fue clara, «la eficacia de un producto no puede asumirse meramente porque contenga un inhibidor activo de placa conocido. Investigaciones clínicas, del tipo de ésta, deben ser un requisito mínimo antes de reclamar una eficacia comparable a formulaciones establecidas»⁽¹⁹⁾.

La conclusiones de este trabajo son varias:

- Los colutorios con clorhexidina al 0,12% fueron efectivos en cuanto a la reducción de la flora salival, y su actividad duraba hasta las 7 h, siempre en relación con suero.
- Las diferentes formulaciones tuvieron diferencias significativas en su efecto, siendo las más efectivas CLX + CPC, y CLX + ALC, mientras que la que obtuvo un efecto de menor magnitud fue CLX + NaF.
- La composición completa de un colutorio influye de manera relevante en su efectividad, independientemente del producto activo, lo que debe de valorarse a la hora de prescribirlo.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF FOUR CHLORHEXIDINE MOUTHWASHES IN SALIVA

ABSTRACT

Aim. The aim of the present study was to assess the microbiological efficacy of different 0.12% chlorhexidine mouthwashes with different formulations, being changes in the presence of alcohol, or the addition of other active ingredients (sodium fluoride, cetylpyridinium chloride).

Patients and Methods. Ten students joined the study, with similar age and health conditions. The researchers and the laboratory were blinded for the evaluated products. The design was crossed, in randomised order, and with one week of washing-out. After the baseline sampling of 1 ml of non-stimulated saliva, each subject rinsed for 1 minute with 15 ml of the assigned product. New samples were taken after 5 min, 1, 3, 5 and 7 h. Samples were sent to the laboratory, and processed in two series, for aerobic (24 h) and anaerobic (48 h) incubation. The evaluated products were: 0.12% chlorhexidine with alcohol (CLX + ALC); 0.12% chlorhexidine and 0.05% cetylpyridinium-chloride without alcohol (CLX + CPC); 0.12% chlorhexidine with sodium fluoride without alcohol (CLX + NaF); 0.12% chlorhexidine without alcohol (CLX); and saline as control. Colony forming units (CFU) were calculated, and log transformed. Statistical comparisons were performed by means of Student t test.

Results. Reductions in aerobic CFU were significant for all products, except CLX + NaF, as compared with the control. Differences in anaerobic CFU were significant, as compared with the control, for all products but CLX + NaF. Comparisons among products showed better results for CLX + ALC and the formulation with CLX + CPC.

Conclusions. The tested 0.12% chlorhexidine mouthwashes were effective in terms of salivary bacterial load reduction, but showing important differences in their activity depending on the composition. The whole composition of a mouthwash affects in a relevant way its effectivity, regardless of the presence of the active ingredient.

KEY WORDS

Chlorhexidine; Saliva; Mouthwash; Antimicrobial activity; Sustainivity.

ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE DANS LA SALIVE DE QUATRE BAINS DE BOUCHE AVEC CHLORHEXIDINE

RESUMÉ

Objectif. L'objectif de cette étude a été la valoration de l'efficacité antimicrobienne de plusieurs bains de bouche avec chlorhexidine (0,12%) avec différentes formules magistrales, à cause de changements dans le contenu d'alcool, ou par l'utilisation d'autres produits (fluorure de sodium, CPC)

Patients et méthode. 10 étudiants volontaires, avec âge et santé buccale similaire, ont participé dans cette étude. Le chercheur et le laboratoire travaillaient à l'aveugle. C'est une étude croisée, avec un ordre aléatoire et une semaine de repos. Après la prise de données initiales, et un prélèvement de 1 ml de salive non stimulée, chaque individu utilisait 15 ml de produit pendant 1 min. D'autres prélèvements ont été faits à 5 min, 1, 3, 5, et 7h. Les prélèvements ont été envoyés au laboratoire et analysés en deux groupes, aérobie (24h) et anaérobie (48h). Les produits évalués étaient: chlorhexidine 0.12% avec alcool (CLX+ALC); chlorhexidine 0.12% et chlorure de cetylpyridinium 0.05% sans alcool (CLX+CPC); chlorhexidine 0.12% avec fluorure de sodium sans alcool (CLX+NaF); chlorhexidine 0.12% sans alcool; et un contrôle de serum physiologique. Les unités de formation des colonies (UFC) ont été calculées, et transformées en logarithmes. Les comparaisons statistiques ont été réalisées avec le test t de Student.

Results. La diminution des UFC aérobie étaient significatives par rapport au contrôle pour tous les produits, sauf CLX+NaF. Les différences des UFC anaérobies étaient significatives par rapport au contrôle pour tous les produits, sauf CLX+NaF. Les comparaisons entre les produits ont montré les meilleurs résultats pour CLX+ALC et le bain de bouche avec CLX+CPC.

Conclusions. Les bains de bouche avec chlorhexidine 0.12% ont été efficaces pour la diminution de la flore bactérienne de la salive, mais ont montré d'importantes différences dans leur activité selon la formulation. La formule complète d'un bain de bouche est importante pour son efficacité, indépendamment du produit actif.

MOTS CLÉS

Chlorhexidine; Sustainivité; Salive; Activité antimicrobienne; Bain de bouche.

ATTIVITA' ANTIMICROBICA NELLA SALIVA DI QUATTRO COLLUTORI CON CLOREXIDINA

RIASSUNTO

Obiettivo. L'obiettivo di questo studio è valutare l'efficacia microbiologica di differenti collutori di clorexidina (0,12%) con diverse formulazioni, cambiando il contenuto di alcool, o aggiungendo altri componenti (fluoruro di sodio, cloruro di cetilpiridinio).

Pazienti e metodi. Parteciparono 10 studenti volontari, simili in età e salute orale. L'investigatore e il laboratorio erano ciechi ai prodotti valutati. Il disegno dello studio era crociato e con ordine casuale. Dopo le valutazioni basiche, e la raccolta di un campione basico di 1 ml di saliva non stimolata, ogni individuo si sciacquava con 15 ml di prodotto durante 1 minuto. Si raccolsero altri campioni ai 5 min, 1, 3, 5, y 7 ore. I campioni si inviarono al laboratorio e si processarono in due serie, con incubazione aerobia (24 h), e anaerobia (48 h). I prodotti valutati furono: clorexidina allo 0,12% con alcool (CLX+ALC); clorexidina allo 0,12 % e cloruro di cetilpiridinio allo 0,05% senza alcool (CLX+CPC); clorexidina allo 0,12% con fluoruro sodico senza alcool (CLX+NaF); clorexidina allo 0,12% senza alcool (CLX); un controllo di soluzione fisiologica. Vennero calcolate le unità formatrici di colonie (UFC), che vennero trasformate in logaritmi. Le comparazioni statistiche si realizzarono mediante il test T di Student.

Risultati. Le riduzioni in UFC aerobie furono significative rispetto al controllo in tutti i prodotti esaminati, eccetto in CLX +NaF. Le differenze nelle UFC anaerobie furono significative rispetto al controllo in tutti i prodotti, eccetto in CLX +NaF. Le comparazioni tra prodotti mostrarono migliori risultati per CLX +ALC e per il collutorio con CLX+CPC.

Conclusioni. I collutori con clorexidina allo 0,12 % furono efficaci nel ridurre la flora salivaria, però mostrarono importanti differenze nella loro attività a seconda della composizione. La composizione completa di un collutorio influisce di forma rilevante sulla sua efficacia, indipendentemente dal prodotto attivo.

PAROLE CHIAVI

Clorexidina; Sostantività; Saliva; Attività antimicrobica; Collutorio.

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA SALIVAR DE QUATRO COLUTÓRIOS COM CLORHEXIDINA

RESUMO

Objetivo. O objectivo deste estudo foi avaliar a eficácia microbiológica de diferentes colutórios de clorhexidina (0,12%) com diferentes formulações, com alterações no conteúdo de álcool ou adição de outros componentes (fluoreto sódico, cloreto de cetilpiridinio).

Pacientes e métodos. Participaram 10 estudantes voluntários com idade e saúde oral idênticas. O investigador e o laboratório eram cegos relativamente aos produtos avaliados. O desenho do estudo era cruzado, de ordem aleatória e com uma semana de lavagem. Após as avaliações basais e recolha de amostra basal de 1ml de saliva não estimulada, cada indivíduo bochechava com 15ml de producto durante 1 minuto. Recolheram-se novas amostras aos 5 minutos, 1, 3, 5, e 7 horas. As amostras foram enviadas ao laboratório e processadas em duas séries, com incubação aeróbia (24h) e anaeróbia (48h). Os produtos avaliados foram: clorhexidina a 0,12% com álcool (CLX+ALC); clorhexidina 0,12% e cloreto de cetilpiridinio a 0,05% sem álcool (CLX+CPC); clorhexidina a 0,12% com fluoreto de sódio sem álcool (CLX+NaF); clorhexidina a 0,12% sem álcool (CLX); e um control de soro fisiológico. Foram calculadas as unidades formadoras de colónias (UFC) transformadas em logaritmos. As comparações estatísticas foram realizadas através do teste t de Student.

Resultados. As reduções das UFC aeróbias foram significativas relativamente ao control para todos os productos avaliados, excepto para a CLX+NaF. As diferenças nas UFC anaeróbias foram significativas relativamente ao control para todos os productos estudados excepto para a CLX+NaF. As comparações entre productos mostraram melhores resultados para a CLX+ALC e CLX+CPC.

Conclusões. Os colutórios com clorhexidina a 0,12% foram eficazes relativamente à diminuição da flora salivar, mas mostraram diferenças importantes na sua actividade segundo a sua composição. A composição completa de um colutório influi de um modo relevante na sua eficácia, independentemente do princípio activo.

PALAVRAS-CHAVE

Clorhexidina; Substantividade; Saliva; Actividade antimicrobiana; Colutório.

BIBLIOGRAFÍA

1. Addy M, Moran J. Evaluation of oral hygiene products: science is true; don't be misled by the facts. *Periodontology* 2000 1997;**15**:40-51.
2. Jones CG. Chlorhexidine: is it still the gold standard? *Periodontology* 2000 1997;**15**:55-62.
3. Addy M, Renton-Harper P. The role of antiseptic in secondary prevention. In: Lang NP, Karring T, Lindhe J (eds). *Proceedings of the 2nd European Workshop on Periodontology*. Chemicals in Periodontics., pp 152-73. Berlin: Quintessence Books, 1997.
4. Addy M, Moran J. Clinical indications for the use of chemical adjuncts to plaque control: chlorhexidine formulations. *Periodontology* 2000 1997;**15**:52-4.
5. Shapiro S, Castellana JV, Sprafka JM. Alcohol-containing mouthwashes and oropharyngeal cancer: a spurious association due to underascertainment of confounders? *Am J Epidemiol* 1996;**144**: 1091-5.
6. Elmore JG, Horwitz RI. Oral cancer and mouthwash use: evaluation of the epidemiologic evidence. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1995;**113**:253-61.
7. Eldridge KR, Finnie SF, Stephens JA, y cols. Efficacy of an alcohol-free chlorhexidine mouthrinse as an antimicrobial agent. *J Prosthet Dent* 1998;**80**:685-90.
8. Vigeant P, Loo VG, Bertrand C, y cols. An outbreak of *Serratia marcescens* infections related to contaminated chlorhexidine. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1998;**19**:791-4.
9. Elworthy A, Greenman J, Doherty FM, Newcombe RG, Addy M. The substantivity of a number of oral hygiene products determined by the duration of effects on salivary bacteria. *J Periodontol* 1996;**67**:572-6.
10. Addy M, Greenman J, Renton-Harper P, Newcombe R, Doherty FM. Studies on stannous fluoride toothpaste and gel. (2). Effects on salivary bacterial counts and plaque regrowth in vivo. *J Clin Periodontol* 1997;**24**:86-91.
11. Roberts WR, Addy M. Comparison of in vitro and in vivo antibacterial properties of antiseptic mouth rinses containing chlorhexidine, alexidine, CPC and hexetidine. Relevance to mode of action. *J Clin Periodontol* 1981;**8**:295-310.
12. Schiött C, Löe H, Jensen SB, Kilian M, Davies KM, Glavind K. The effect of chlorhexidine mouthrinse on the human oral flora. *J Perio Res* 1970;**5**:84-9.
13. Addy M, Jenkins S, Newcombe R. The effect of some chlorhexidine-containing mouthrinses on salivary bacterial counts. *J Clin Periodontol* 1991;**18**:90-3.
14. Arweiler NB, Netuschil L, Reich E. Alcohol-free mouthrinse solutions to reduce supragingival plaque regrowth and vitality. A controlled clinical study. *J Clin Periodontol* 2001; **28**:168-74.
15. Winn DM, Blot WJ, McLaughlin JK, y col. Mouthwash use and oral conditions in the risk of oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res* 1991;**51**:3044-7.
16. Bolanowski SJ, Gescheider GA, Sutton SV. Relationship between oral pain and ethanol concentration in mouthrinses. *J Perio Res* 1995;**30**:192-7.
17. Jenkins S, Addy M, Newcombe R. Triclosan and sodium lauryl sulphate mouthwashes (I). Effects on salivary bacterial counts. *J Clin Periodontol* 1991;**18**:140-4.
18. Moran J, Addy M, Wade W, Milson S, McAndrew R, Newcombe RG. The effect of oxidising mouthrinses compared with chlorhexidine on salivary bacterial counts and plaque regrowth. *J Clin Periodontol* 1995;**22**:750-5.
19. Harper PR, Milsom S, Wade W, Addy M, Moran J, Newcombe RG. An approach to efficacy screening of mouthrinses: studies on a group of French products (II). Inhibition of salivary bacteria and plaque in vivo. *J Clin Periodontol* 1995;**22**:723-7.
20. Moran J, Addy M, Newcombe R. The antibacterial effect of toothpastes on the salivary flora. *J Clin Periodontol* 1988;**15**:193-9.
21. Jenkins S, Addy M, Newcombe R. The effect of triclosan, stannous fluoride and chlorhexidine products on: (II) Salivary bacterial counts. *J Clin Periodontol* 1990;**17**:698-701.