

INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA

ASTRID GRACIA VON BLÜCHER

**DISPOSITIVOS PARA LIBERAÇÃO LENTA
DE CLOREXIDINA PARA PREVENÇÃO DE PERIIMPLANTITE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Mestrado em Ciência dos Materiais do Instituto Militar de Engenharia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Orientadores: Dr. Carlos Nelson Elias
Dr. Mauro Granjeiro

Rio de Janeiro
2007

INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA

ASTRID GRACIA VON BLÜCHER

**DISPOSITIVOS PARA LIBERAÇÃO LENTA
DE CLOREXIDINA PARA PREVENÇÃO DE PERIIMPLANTITE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Mestrado em Ciência dos Materiais do Instituto Militar de Engenharia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência em dos Materiais.

Orientadores: Prof. Carlos Nelson Elias -D. C.do IME
Prof. Mauro Granjeiro – DDS, MSc da UFF

Aprovada em 22 de agosto de 2007 pela seguinte Banca Examinadora:

Prof. Carlos Nelson Elias- D.C.do IME

Profa. Leila Rosa de Oliveira Cruz – D. C. do IME

Prof. Mauro Granjeiro – DDS. da UFF

Rio de Janeiro
2007

Ao Instituto Militar de Engenharia, alicerce da minha formação e aperfeiçoamento.

“O pessimista vê a oportunidade como uma dificuldade e o otimista a dificuldade como oportunidade” (Anônimo)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que me incentivaram, apoiaram e possibilitaram esta oportunidade.

Familiares, amigos, e mestres que me fizeram acreditar e superar limites.

Em especial aos meus orientadores Dr. Carlos Nelson Elias e Dr. Mauro Granjeiro, pelo convívio e o imenso aprendizado.

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	08
LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE SIGLAS.....	11
1 INTRODUÇÃO	14
1.1. Posicionamento do Trabalho.....	19
1.2. Estado da Arte	19
2 OBJETIVO	21
3 JUSTIFICATIVA	22
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	23
4.1 Placa Bacteriana.....	23
4.1.2 Composição da Placa Microbiana.....	24
4.1.3 Mecanismo de Retenção da Placa Bacteriana.....	25
4.1.4 Controle da Placa Bacteriana.....	27
4.2 Clorexidina.....	29
4.2.1 Descrição	29
4.2.2 Mecanismo de Ação.....	30
4.2.3 Propriedades.....	31
4.2.3.1 Substantividade.....	31
4.2.3.2 Eficácia.....	32
4.2.3.3 Desenvolvimento de Resistência	33
4.2.3.4 Segurança.....	34
4.2.4 Espectro de Ação.....	35
4.2.5 Indicações.....	36
4.2.6 Usos e Posologia	38
4.2.7 Absorção e Eliminação	39
4.2.8 Alta Prevalência na População	40
4.2.9 Relação com Patologias Sistêmicas	41
4.3 Doença Periimplantar.....	45
4.4 Dispositivos	47
4.5 Propriedades da Clorexidina.....	49
4.6 Mecanismo de Ação da Clorexidina e sua Segurança.....	52
4.7 Eficácia Antimicrobiana do Digluconato de Clorexidina	53

5	MATERIAIS E MÉTODOS	56
5.1	Materiais	56
5.2	Métodos	56
5.2.1	Preparo do Verniz Contendo Clorexidina	58
5.2.2	Quantificação da Clorexidina	60
5.2.3	Análise da Pureza da Clorexidina	60
5.2.4	Aplicação do Verniz nas Amostras.....	61
5.2.5	Avaliação da Cinética de Liberação da Clorexidina dos Vernizes...	61
5.2.6	Análise da Morfologia das Amostras Após Tratamento com Verniz....	65
5.2.7	Ensaio de Eficácia Antimicrobiana do Verniz com Clorexidina	65
6	RESULTADOS	68
6.1	Da Pureza da Clorexidina	68
6.2	Liberação de Clorexidina.....	70
6.3	Eficácia Antimicrobiana	73
6.4	Análise no MEV com EDS.....	74
7	ANÁLISE E DISCUSSÃO	80
7.1	Análise de Metodologia	83
7.2	Discussão dos Resultados	83
8	CONCLUSÃO	87
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIG 5.1– Embalagem escura usada na armazenagem do verniz contendo clorexidina 59
- FIG 5.2– Implantes com diferentes tratamentos de superfície(a). Implantes após o tratamento com verniz levados a tubos de Eppendorf com 3 ml de água destilada, (b).Tubos numerados de acordo com a concentração do verniz e intervalo da cinética e acomodados em grades para facilitar o estudo (c); tubos de Eppendorf vazios (d) implantes removidos da água destilada do estudo da cinética de liberação e colocados nos tubos vazios numerados de acordo com os tubos anteriores(e); centrífuga de Eppendorf com os tubos de mesmo nome acomodados para serem centrifugados(f)..... 62
- FIG 5.3 – Espectrofotômetro Cary 100 Varian, V visível(a). Vista geral do sistema usado no estudo onde o espectrofotômetro fica acoplado a monitor e um computador com impressora (b) 64
- FIG 5.4 – Coleta de placa de área de periimplantite (a) tubo de meio BHI aonde foi inoculada a placa dental (b); aparelho Vórtex para desagregação da placa ao meio (c)..... 67
- FIG 6.1 Cromatograma padrão da clorexidina (a), cromatogramas obtidos no presente trabalho com análise do verniz contendo 2% de clorexidina(b), verniz contendo 4% de clorexidina (c) e verniz contendo 10% de clorexidina (d). 68
- FIG 6.2 – Variação da liberação da clorexidina com o tempo de degradação..... 71
- FIG 6.3 – Placa inoculada com swab estéril da cultura resultante dos implantes não tratados com verniz de clorexidina (a) e placa inoculada com cultura resultante dos implantes tratados com verniz a 2% (b), após inoculação da cultura resultante dos implantes tratados. 74
- FIG 6.4 – Morfologia da superfície dos cicatrizadores com aumento de 2000X (a) camada de verniz contendo clorexidina a 2% no intervalo de 6 h; (b) a 4% no intervalo de 6 h; (c) a 10% após 6h, a camada de verniz praticamente intacta sobre a superfície do cicatrizador; (d) camada de verniz contendo clorexidina a 2% após 12 h; (e) camada de verniz contendo clorexidina a 4% no intervalo de 24 h com maior

área da camada degradada (área escura); (f) camada de verniz contendo clorexidina a 10% mais degradada, no intervalo de 72h (área escura). 75

FIG 6.5 –Morfologia das roscas do implante que recebeu cicatrizadores contendo verniz com clorexidina (a) roscas do implante que recebeu cicatrizador sem camada de verniz (b). Aumento 2000X. Nota-se que não há alteração da morfologia das roscas com o tratamento..... 76

FIG 6.6 – Roscas dos implantes com aumento de 2000X não apresentando qualquer resquício da camada de verniz (a) implante com cicatrizador tratado com verniz a 2% no intervalo de 6 h (b) idem para verniz com 4% de clorexidina no intervalo de 12h, (c) idem para 10% no intervalo de 24h; (d) idem para 10% no intervalo de 72h em roscas de implante jateado com tratamento ácido..... 77

FIG 6.7 - Espectro da microanálise com EDS dos cicatrizadores tratados com verniz de clorexidina à 2%(a), à 4%(b) e à 10%(c). 78

LISTA DE TABELAS

- TAB 6.1– Cinética de liberação da clorexidina dos vernizes de nosso estudo, com suas médias e desvio padrão.....71
- TAB 6.2 – Médias aritméticas e desvio padrão em cada concentração e média com desvio padrão para os diferentes tempos de ensaio..... 72

LISTA DE SIGLAS

DLL	Dispositivo de Liberação Lenta
U FC	Unidade Formadora de Colonia
LPS	Lipopolissacarídeo
FDA	Food Drug Administration
ADA	American Dental Association
EDS	Energy Dispersive Spectroscopy
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

RESUMO

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a liberação “*in vitro*” e eficácia de verniz odontológico com incorporação de diferentes concentrações de clorexidina. O verniz foi aplicado em cicatrizadores de implantes dentários, com a intenção de prevenir a periimplantite precoce ou tardia uma vez que o resultado dos diversos tratamentos da mesma é contestado. Na parte experimental do presente trabalho realizou-se o recobrimento de cicatrizadores com uma camada de verniz contendo 2%, 4% e 10% de clorexidina. Após a aplicação, os vernizes foram fotopolimerizados. Os cicatrizadores foram fixados aos respectivos implantes e o sistema autoclavado. Procedeu-se a imersão das amostras em água destilada para análise da cinética de liberação de clorexidina. Após os ensaios de cinética os cicatrizadores e roscas dos implantes foram analisados no MEV acoplado com EDS. Um grupo de amostras foi submetido a cultura obtida com placa dental de bolsa periodontal proveniente da área circundante dos implantes. Os resultados obtidos foram comparados com o grupo controle de implantes sem tratamento com clorexidina, em placa de Agar sangue para contagem de UFC (Unidades Formadoras de Colônias). Os resultados obtidos mostraram que a liberação inicial de clorexidina é alta e tende a estabilizar-se com o tempo. Os vernizes a 4% e 10% têm comportamentos praticamente iguais mas há vantagem de uma maior quantidade de liberação do fármaco com a concentração à 10%. Esta concentração pode ser mais eficiente *in vivo* pois a quantidade de fluxo crevicular aumenta quase 40 vezes e dilui a concentração da droga. A observação no MEV revelou que com a imersão em água destilada a camada de verniz fica restrita ao cicatrizador e a degradação desta camada aumenta com o tempo. Após o ensaio de liberação da camada as morfologias das superfícies dos implantes foram semelhantes para as diferentes concentrações de clorexidina. As análises com EDS mostraram a presença de titânio do próprio implante e componentes da clorexidina. A contagem de UFC (Unidades Formadoras de Colônias) indicou que não há crescimento bacteriano para todas as concentrações de verniz de clorexidina, mas ocorre o crescimento bacteriano nos implantes sem tratamento de verniz com clorexidina.

PALAVRAS CHAVE : Periimplantite, dispositivo de liberação lenta, clorexidina

ABSTRACT

The present study intends to evaluate the *in vitro* release and the effectiveness of the dental varnish clorexidine combined in different concentrations. The varnish was applied on healing of dental implants in order to prevent early or late periimplantitis since the result of several medical treatments has been questioned. In the experimental phase of the present study healings have been coated with a varnish layer containing, 2%, 4% and 10% of clorexidine. After the application the varnishes were photopolymerized. The healings were fixed on the respective implants and the system was autoclavated again. The samples were then immersed in distilled water for kynetic analysis of clorexidine release. After the kynetic tests the healings and the threads of implants were observed in the SEM once a coupled microanalylis with EDS was done. A group of samples was subjected to culture obtained with the dental plaque of periodontal pockets originating from the area close to the implants. The obtained results were compared to the control group of healing coated with varnish without clorexidine in blood agar plates for the counting of CFU. The obtained results showed that the initial release of clorexidine is high and tends to stabilize with time. The varnishes at 4% and 10% act practically in the same way but there is an advantage of a greater release of the pharmacon with concentration at 10%. This concentration can be more efficient *in vivo* because the amount of crevicular fluid increases almost 40 times thus diluting the clorhexidine concentration. The examination in the SEM revealed that during the immersion in distilled water the varnish layer remains restricted to the healing with an increase in the degradation of this layer as the time increases. After the test of layer release it was not observed the implant surfaces morphologies difference with different concentrations of clorhexidine. The analyses with EDS showed the presence of titanium of the own implant and components of clorexidine. The counting of CFU (colony forming units), indicated that there is no bacterial growth in all the varnish concentrations of clorexidine growth, however one finds the growth of bacteria in the implants without varnish treatment with clorexidine.

UNITERMS: Periodontal diseases, delivery systems, clorhexidine.

1 INTRODUÇÃO

Entre os vários sistemas do organismo humano, o digestivo possui a importante função de mastigação, ingestão e absorção dos alimentos, e eliminação de parte dos resíduos (ERHART, 1987).

Os dentes são órgãos acessórios do sistema digestivo e estão implantados nos arcos alveolares da maxila e mandíbula tendo por função essencial a mastigação, cortando, moendo e misturando os alimentos ingeridos (GUYTON, 1989).

A saúde bucal é muito importante para a manutenção da saúde global do organismo humano. No entanto, vários problemas, tais como neoplasias, disfunções glandulares, cáries e doença periodontal, acometem a cavidade oral.

O termo “doença periodontal” define várias doenças associadas com o periodonto (STEINBERG, FRIEDMAN, 1988). Trata-se de uma morbidade que afeta as estruturas de suporte dos dentes, nomeadamente o ligamento periodontal, cemento, osso alveolar e gengiva; assim como nos implantes e suas estruturas de suporte (SEYMOUR, HEASMAN, 1992). Afeta virtualmente a maioria da população mundial, sendo a maior fonte de perda de dente após os 25 anos de idade (Deasy et al., 1989).

Existe evidência esmagadora de que a doença periodontal é causada por acúmulo de componentes microbianos do biofilme dental que se acumula no interior das áreas subgengivais do periodonto (FRIEDMAN, GOLOMB, 1982; LISTGARTEN, 1986; JONES et al., 1996; MOMBELLI, 2003).

O epitélio juncional dental é um tecido que não possui a barreira de permeabilidade superficial, constituindo uma via pela qual toxinas, antígenos e enzimas derivados de biofilme bacteriano, que se formam na superfície dental, podem penetrar e atingir o tecido conjuntivo subepitelial. Isto inicia um ciclo inflamatório, com injúrias teciduais, que facilitam a entrada de irritantes pelo sulco dental e exacerbam os danos (SEYMOUR, HEASMAN, 1992). Eventualmente a

destruição tecidual envolverá as estruturas suportes dos dentes e acarretará a perda dental (MEDLICOTT et al., 1994).

A doença periodontal pode ser classificada de acordo com o grau e a extensão do tecido envolvido.

Na gengivite, estágio moderado da doença, a resposta inflamatória é restrita aos tecidos gengivais, sendo caracterizada por intumescimento, vermelhidão e sangramento da gengiva marginal (STEINBERG, FRIEDMAN, 1988; MEDLICOTT et al., 1994).

No caso de periodontite, estágio mais avançado da doença periodontal (LISTGARTEN, 1986), as alterações podem se estender a tecidos mais profundos, sendo que o número de bactérias Gram-negativas pode aumentar para 70% do total da flora (STEINBERG, FRIEDMAN, 1988), na maioria anaeróbias restritas ou facultativas (TANNER et al., 1979; SLOTS, 1979, 1982; SAGLIE et al., 1982; LOESCHE et al., 1985; KAPLAN et al., 1989; SEYMOUR, HEASMAN, 1992; BOLSTAD et al., 1996; JORGENSEN, SLOTS, 2000). Como resultado, pode ocorrer rompimento do ligamento do tecido conectivo à superfície da raiz do dente ou implante e migração apical do epitélio juncional, que podem resultar na recessão gengival e formação de bolsa, na exposição do cimento, na perda de osso alveolar e no aumento na mobilidade do dente ou implante.(SEYMOUR, HEASMAN, 1992).

A bolsa periodontal é um sulco aprofundado patologicamente (STEINBERG, FRIEDMAN, 1988) entre a gengiva e o dente, que causa retração da gengiva marginal e o desenvolvimento de um ambiente ideal para o crescimento na superfície da raiz do dente e na camada mais externa do cimento de bactérias anaeróbias e outros microrganismos responsáveis pela doença (SEYMOUR, HEASMAN, 1992; PERIOLI et al., 2004).

Em um sulco gengival normal, o espaço entre a gengiva e o dente mede entre 1 a 3 mm de profundidade. Entretanto, durante a periodontite, a profundidade da bolsa excede 5 mm, podendo chegar a 12 mm (MEDLICOTT et al., 1994). Além disso, em sítios saudáveis do periodonto ocorre a presença de pequenas quantidades de fluido crevicular gengival (0,04 μ L), com baixas taxas de fluxo (0,03 μ L/min) e concentração de proteínas similar ao fluido extracelular (HATTINGH, HO, 1980). Por outro lado, nos sítios doentes há um aumento na produção de fluido e a

composição protéica é semelhante à do soro, indicando a formação de exsudato nesses locais. O volume e a taxa de fluxo depende do grau da infecção e da inflamação em cada local. Volumes de 0,5 μL e fluxos de 0,5 $\mu\text{L}/\text{min}$ a 0,9 $\mu\text{L}/\text{min}$ têm sido freqüentemente relatados na condição de saúde bucal (HATTINGH, HO, 1980; GOODSON, 1989; STOLTZE, 1992), podendo alcançar valores de 150 $\mu\text{L}/\text{h}$ (STEINBERG, FRIEDMAN, 1988) na presença de patógenos periodontais.

Como a especificidade do biofilme dental em relação à infecção na doença periodontal é fato evidente (GABARRA, 2002), o combate às bactérias, a adequação do meio e a prevenção são fatores primordiais na restituição da saúde (LOESCHE, 1976; SLOTS, 1976; ADDY, 1986; GREENSTEIN et al., 1986; QUEE, 1989; WILLIAMS, HOWELL, 1993, MEDLICOTT et al., 1994; NEWMAN, 1995). Assim, o tratamento periodontal tem por objetivo a cura do tecido inflamado, a redução do número de bactérias patogênicas e a eliminação da bolsa (STEINBERG, FRIEDMAN, 1988).

O tempo de permanência da doença periodontal torna o tratamento progressivamente mais difícil, necessitando de procedimentos terapêuticos cada vez mais agressivos e complexos.

Estudos evidenciaram diferenças marcantes entre as metodologias e as substâncias utilizadas para o combate da moléstia periodontal (GABARRA et al., 2002).

Assim, o tratamento periodontal tradicional consiste no controle do biofilme subgingival, através de um desbridamento da bolsa e raspagem realizados pelo dentista, associado ao controle da placa supragingival, através de cuidados domiciliares por parte do paciente (HELLDÉN et al., 1979; LINDHE, NYMAN, 1984; HOLBOROW, 1986; JOYSTON-BECHAL, EMSLIE, 1987; RAMFJORD, 1987; VAN Der OUDERAA, 1991).

No entanto, muitas vezes o objetivo desse tratamento não é alcançado por problemas anatômicos e/ou técnicos, como a formação de nichos de microrganismos entre as raízes dentais ou ranhuras de implante, impossibilitando os procedimentos mecânicos de limpeza (OKUDA et al., 1992; KINANE, RAYDVAR 1999). Quando a eliminação da bolsa não é alcançada por estes métodos, a cirurgia é utilizada para remover o tecido necrótico e reduzir a profundidade da bolsa

(STEINBERG, FRIEDMAN, 1988).

Essas limitações da terapêutica permitem que bolsas refratárias ao tratamento se reativem, como ocorre no tratamento de periimplantite onde não ocorre uma real re-osteointegração, fato que tem levado cientistas a procurarem solução alternativa com o tratamento medicamentoso com repetidas administrações de agentes antimicrobianos com ação sistêmica ou local. (LOESCHE, 1976; 1979; DEASY et al., 1989; TURNBULL, 1989; FRIEDMAN, STEINBERG, 1990; AINAMO et al., 1992; GIORDANO et al., 1992; JONES et al., 1992; THOMSON et al., 1992; RETHMAN et al., 1995; KINANE, RADVAR, 1999; JORGENSEN, SLOTS, 2000).

Vários autores têm descrito o uso de antimicrobianos na doença periodontal (GENCO, 1981; JOYSTON-BEECHALI, EMSLIE, 1987; TUMBULL, 1989; SEYMOUR, HEASMAN, 1992; BAAKILINI et al., 1996; MURRAY et al., 1997; PARK et al., 1998; ELEY, 1999; GEBARA, 1999; MANARA et al., 1999; SANTOS et al., 1999; KOO et al., 2000; HIRASAWA et al., 2002; SASTRAVAHA et al., 2003), com a obtenção de efeitos clínicos e microbiológicos importantes (NORKIEWICZ et al., 2001; LOPEZ et al., 2002; PAVIA et al., 2003, 2004; RODRIGUES et al., 2004).

Os fármacos quando administrados no local ou sistemicamente, são eficazes em reduzir a patogenicidade da microbiota subgengival, melhorando a resposta clínica do tratamento periodontal (SEYMOUR, HEASMAN, 1992).

A administração de antimicrobianos de ação sistêmica demonstrou que concentrações terapêuticas são alcançadas no sítio da infecção por curtos períodos de tempo após uma dose simples (MEDLICOTT et al., 1994). No entanto, ela não pode ser utilizada por um longo período de tempo. Muitos efeitos colaterais indesejáveis podem surgir, tais como náuseas, vômito, diarreia, gastrite, úlceras, outros transtornos digestivos, alergias e desenvolvimento de resistência pelos microrganismos (FRIEDMAN, GOLOMB, 1982; ADDY, LANGEROUDI, 1984; BROOK, VAN NOORT, 1984; ADDY, 1986; JOYSTON-BECHAL, EMSLIE, 1987; FRIEDMAN, STEINBERG, 1990; GREESTEIN, 1995; TINOCO et al., 1998), diminuindo a razão risco/benefício para um ponto no qual este tipo de tratamento não pode ser aceitável (STEINBERG, FRIEDMAN, 1988; CIANCIO, 1996).

Assim, a liberação de fármaco intrabolsa periodontal, uma categoria especial de liberação local na cavidade oral (MEDLICOTT et al., 1994), é geralmente utilizada no

tratamento de doenças periodontais (SOSKOLONE, FRIEDMAN, 1996). A administração do fármaco no interior da bolsa periodontal é uma alternativa que tem o objetivo de minimizar a distribuição deste no organismo e, por conseguinte, aumentar a sua concentração no local a ser tratado e diminuir os efeitos adversos indesejáveis (STEINBERG, FRIEDMAN, 1988; PERIOLI et al., 2004).

Bochechos, irrigações e jatos pulsáteis não penetram além de 1 a 2 mm abaixo da margem gengival (ITO et al., 1980; PITCHER et al., 1980; BADERSTEN et al., 1981; FRIEDMAN, GOLOMB, 1982; YEUNG et al., 1983). O tempo de permanência de soluções de agentes antibacterianos diretamente no interior da bolsa periodontal é curto, mesmo utilizando dispositivos de irrigação adequados (GREENSTEIN, 1987), portanto, administrações freqüentes são requeridas para a manutenção das concentrações na bolsa periodontal (MEDLICOTT et al., 1994). Dessa maneira, a adesão ao tratamento por parte do paciente é um fator limitante para assegurar a eficácia clínica do tratamento e os dispositivos locais de liberação de fármaco intra bolsa periodontal representam uma opção eficaz e segura. (RANADIVE, BHAT, 1998; KINANE, 2000).

A resistência relativa dos microorganismos encontrados na periimplantite aos antibióticos comumente utilizados sugere que sua presença poderia significar uma colonização oportunista secundária à terapia antibiótica sistêmica. A periimplantite, uma vez iniciada, resultará no desencadeamento da resposta imunológica, que levará a produção de prostaglandinas, estimulação e ativação de enzimas como proteases e colagenases, e, na verdade, essa resposta não será benéfica, resultando em reabsorção óssea, retração gengival e exposição do implante.

A perda precoce de implantes pode ocorrer devido a diversos fatores entre eles a contaminação bacteriana durante o ato cirúrgico ou durante a cicatrização. A perda tardia terá como alguns de seus fatores alterações do equilíbrio hospedeiro parasita, que também acarretará colonização do implante e sua perda.

O aparecimento da bolsa periodontal com a destruição dos tecidos de suporte tende a fase irreversível. Neste caso o tratamento apenas prorroga a permanência do implante, não sendo realmente eficaz.

Atualmente estuda-se a relação da doença periodontal e doenças sistêmicas graves como AVC precoce, diabetes, osteoporose, artrite, doenças cardíacas, etc. A

possibilidade de desenvolvimento de mal de Alzheimer quadruplica. Outras doenças como osteoporose, diabetes, acidentes vasculares cerebrais incidem com maior frequência na presença das bactérias *Porphyromonas gingivalis* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Os patógenos periodontais estão ligados ainda à artrite reumatóide, partos de crianças de baixo peso e prematuros, endocardite bacteriana e abortos espontâneos. A sinalização desses processos chega ao cérebro pelo nervo trigêmeo e não apenas pela corrente sanguínea (TEDESCHI et al, 2005).

1.1 POSICIONAMENTO DO TRABALHO

A utilização de dispositivos de liberação lenta para tratamento dos patógenos periodontais visa eliminar os efeitos colaterais existentes na antibioticoterapia sistêmica e aumentar a eficácia local com menor toxicidade, evitando a evolução da doença periodontal. Em sítios com inflamação há um aumento na produção de fluido e a composição protéica é semelhante à do soro, indicando a formação de exsudato nesses locais. O volume e a taxa de fluxo depende do grau da infecção e da inflamação em cada local. (HATTINGH, Ho, 1980; GOODSON, 1989; STOLTZE, 1992), podendo alcançar valores de 150 $\mu\text{L/h}$ (STEINBERG, FRIEDMAN, 1988).

Como a especificidade do biofilme dental em relação à infecção na doença periodontal é fato evidente (GABARRA, 2002), o combate às bactérias, a adequação do meio e a prevenção são fatores primordiais na restituição da saúde (LOESCHE, 1976; SLOTS, 1976; ADDY, 1986).

1.2 ESTADO DA ARTE

Os procedimentos para evitar a periimplantite partem da utilização de um dispositivo de liberação lenta que atua por dissolução e/ou erosão da matriz junto com o fármaco que se objetiva liberar com concentrações e dispositivos diversos com diferentes fármacos para tratamento periodontal.

O percentual atual da periimplantite ainda é alto e o resultado de seus diversos tratamentos ainda é duvidoso. Nos sistemas atuais apesar da grande preocupação

em acelerar a osteointegração com tratamentos de superfície mais sofisticados ainda observamos taxas altas de periimplantite ou mucosite.

Sendo o Brasil um país com alta prevalência da doença periodontal como observa SOUZA et al, 2003, apresentando 53,82% a 66,18% da população com faixa etária de 15 a 19 anos o trabalho torna-se relevante.

2 OBJETIVO

Avaliar o verniz com clorexidina como dispositivo de liberação lenta, sua cinética de liberação, eficácia antimicrobiana e comportamento sobre as superfícies dos implantes

Encontrar alternativa que busque prevenir e controlar a doença periodontal, já que atualmente acomete maior população de menor faixa etária e em maior quantidade, principalmente no Brasil.

Reduzir os riscos de perda de implantes dentários e o incômodo da periimplantite cujo tratamento é muito duvidoso.

Evitar patologias sistêmicas ligadas aos patógenos periodontais.

Buscar alternativa de prevenção com mínimos efeitos colaterais, baixa toxicidade local e sistêmica, sem alteração da flora local ou carcinogenicidade.

Obter assim um fármaco que possa ser praticamente eliminado em sua totalidade do organismo, após sua ação farmacogênica.

3 JUSTIFICATIVA

Como a conclusão do selamento biológico do implante (período entre os 30 a 60 primeiros dias após a colocação do implante) apresenta-se como requisito para prevenção da periimplantite nosso trabalho buscou uma solução para que o mesmo ocorresse, sem efeitos colaterais indesejáveis.

Buscou-se um dispositivo de liberação lenta que ao ser liberado não alterasse a área de roscas e o contato osso/implante além de ser específico para tais patógenos com ausência de toxicidade, mutagenicidade ou alteração da flora local, prevenindo o risco de periimplantite e as doenças sistêmicas a que tal patologia se relaciona.

Com base na revisão de literatura e casos clínicos sobre o assunto formulou-se e avaliou-se a eficácia de um verniz de uso odontológico como dispositivo de liberação lenta de clorexidina prevenindo a permanência ou adesão de patógenos obtidos de bolsa periodontal.

4 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

Para salientar a importância do trabalho será feita uma revisão dos conceitos que envolvem a formação da placa bacteriana, métodos de tratamento da periimplantite e uso da clorexidina.

4.1 PLACA BACTERIANA

4.1.1 DEFINIÇÃO DE PLACA BACTERIANA

PIOCHI (1994) conceitua a placa bacteriana ou placa dental como uma massa densa não calcificada, estruturada, constituída por microrganismos envolvidos numa matriz rica em polissacarídeos extracelulares bacterianos e glicoproteínas salivares, firmemente aderida aos dentes, cálculos e outras superfícies duras da cavidade bucal.

A primeira preocupação com a placa dental data de 3000 anos a.c., com o relato dos sumérios que já usavam palitos para a limpeza dental (SINNES et al., 1997). Segundo CAUDURO (1978) e DENARDI (1994), “a placa microbiana é o principal agente etiológico da cárie e doença periodontal.”

A colonização da superfície dentária tem início na área gengival. Durante um dia normal, o número de microrganismos nestas superfícies aumenta por multiplicação e por retenção. Não havendo remoção esta placa continua a crescer e poderá, especialmente ao redor da margem gengival e nas superfícies interdentárias, atingir uma considerável espessura.

Quando a placa bacteriana é deixada acumular-se livremente sobre a superfície dos dentes desenvolve-se a gengivite e, com o retorno aos hábitos normais de higiene, como a escovação, as gengivas voltam ao seu estado de normalidade. Isto gera uma relação de causa e efeito entre ambas (LÖE, 1978).

A gengivite é caracterizada por vaso dilatação, marginação leucocitária,

migração celular e edema. Como não ocorre lesão óssea, a gengivite é reversível a partir da remoção do agente agressor, a placa bacteriana. Porém, se o agente agressor se mantiver e pela evolução do quadro, haverá um desencadeamento da resposta imunológica, resultando em produção de prostaglandinas, estimulação dos osteoclastos e ativação de enzimas como proteases e collagenases. Assim, uma resposta que presumivelmente parece ser benéfica, passa a atuar como fator de destruição acelerada das estruturas de suporte do dente, com reabsorção óssea, retração gengival e formação de pseudo bolsas entre o osso e o dente. Os dentes ficam com extrema mobilidade, sendo necessário proceder a extração ou pode ocorrer a queda dos mesmos. A partir do momento em que ocorre envolvimento do periodonto de sustentação (ligamento periodontal, osso alveolar e cemento) o processo torna-se irreversível e é chamado de periodontite.

Segundo ROSING e TOLEDO (1993) essa patologia se dá pelo desequilíbrio entre o agente agressor e a defesa do hospedeiro.

4.1.2 COMPOSIÇÃO DA PLACA

A placa bacteriana é constituída de 70 a 80% por microrganismos e 30% por elementos não microbianos, como por exemplo, polissacarídeos, mucina salivar, detritos alimentares, leucócitos, enzimas, sais minerais, proteínas e células epiteliais descamadas (CAUDURO, 1978; JORGE, 1995).

Localiza-se no sulco gengival ao redor de dentes e implantes, difere na composição a nível supra e subgengival, com características predominantemente gram positivas e gram negativas, respectivamente.

Segundo JORGE (1995), o conhecimento da microbiota bucal é dificultado pela grande variedade de condições ambientais e microrganismos. Devido a isto, a maioria dos pesquisadores estuda os microrganismos em grupos mais comumente encontrados.

Entre eles, tem-se:

1) Cocos gram positivos: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus*

epidermidis; *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*,
Streptococcus milleri, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*.

2) Cocos gram negativos: *Neisseria* e *Veillonella*.

3) Bacilos gram positivos não esporulados: *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. salivarius*, *L. casei*), *Corynebacterium* e *Actinomyces*.

4) Bacilos gram negativos retos e encurvados: Bacteróides (*B. fragilis*, *B. oris*, *B. buccae*) e *Fusobacterium*.

5) Bacilos gram negativos móveis vibrinóides: *Campylobacter*.

6) Bacilos gram negativos anaeróbios facultativos: *Haemophilus*, *Actinobacillus*.

7) Espiroquetas: *Treponema* (*T. denticola*).

8) Micoplasmas: *Mycoplasma* (*M. buccale*, *M. orale*, *M. salivarium*).

9) Fungos: *Candida albicans*.

Segundo CAUDURO (1978), a etiopatogenia da doença periodontal decorrente da placa não é por invasão dos tecidos, mas sim pela elaboração e liberação de substâncias que produzem reações inflamatórias. E, de acordo com as pesquisas realizadas, passou-se a aceitar que a responsabilidade de produção da placa aderente, difícil de remover e causal da iniciação do processo de cárie no esmalte, está intimamente relacionada com o *Streptococcus mutans*.

A associação do *Streptococcus mutans* com cáries em humanos é bem estabelecida. Em modelo animal experimental e em humanos, vários estudos longitudinais têm mostrado claramente a associação entre a presença e número deste microrganismo na saliva, a placa dental e cáries (BOWDEN, 1996).

4.1.3 MECANISMO DE RETENÇÃO DA PLACA BACTERIANA

O mecanismo de retenção dos microrganismos pode ser dividido em duas categorias: adesivo e não-adesivo (JORGE, 1995).

A. Retenção adesiva:

- 1) Glicocálice bacteriano: polissacarídeo externo à parede celular bacteriana, que em contato com a superfície dentária, gera forças atrativas como pontes de hidrogênio, formação de par iônico e interação dipolo–dipolo. Ex.: cápsulas de natureza polissacarídica.
- 2) Pili ou fímbrias: estruturas alongadas que auxiliam na formação de uma “ponte” de contato entre as bactérias e o dente.
- 3) Adesinas: moléculas das bactérias que reconhecem receptores específicos da superfície dentária, das células epiteliais ou da película adquirida; podem ser proteínas ou enzimas.
- 4) Camada de hidratação: quando imersa em saliva, a carga negativa da superfície do esmalte é neutralizada por íons de cargas opostas, formando a camada de hidratação ou de Stern. A camada de hidratação consiste principalmente em cálcio e fosfato. Os íons livres podem agir como fator de união, diminuindo o espaço entre as bactérias e o dente.
- 5) Polímeros bacterianos extracelulares: formados a partir da sacarose e outros açúcares, criando adesão entre os microrganismos e as estruturas do dente.
- 6) Polímeros salivares: constituintes salivares envolvidos na fixação inicial e no acúmulo de bactérias ao esmalte.
- 7) Aderência entre microrganismos: constituintes de superfície de um microrganismo se ligam a constituintes de outros microrganismos, de mesma espécie ou de espécies diferentes. Ex.: *S. sanguis* e *S. mutans*: adesão em superfícies duras; *S. salivarius* tem preferência por epitélio de língua e bochecha.

B. Retenção não–adesiva:

Retenção mecânica nas fossas, fissuras de dentes, lesões de cáries, sulco gengival, bolsa periodontal ou através de partículas alimentares como veículos. Ex.: lactobacilos, espiroquetas, fungos e *Prevotella melaninogenica*.

4.1.4 CONTROLE DA PLACA BACTERIANA

A partir do momento que a placa dental foi considerada o fator causal principal da cárie e doenças periodontais, é de suma importância o controle e prevenção para diminuir a incidência destas patologias bucais.

Segundo LINDHE (1992) a resposta à placa varia consideravelmente entre as pessoas e para prevenir o desenvolvimento da doença periodontal, as medidas de higiene devem visar à inibição da formação da placa ou, quando não for possível, à redução da quantidade de placa formada em concentrações tais que não se desenvolva doença inflamatória destrutiva.

O controle da placa bacteriana pode ser realizado de duas formas distintas ou combinadas: o mecânico e o químico. Dentre os meios preventivos de natureza mecânica, tem-se o uso da escova dental, fio dental e outros mais atuais, como por exemplo, a escova elétrica e os aparelhos com jatos d'água pulsátil.

Para que o controle mecânico da placa bacteriana seja bem sucedido, fatores como tempo de escovação, frequência, técnica utilizada, motivação, perícia, habilidade e perseverança são essenciais para se manter um alto padrão de limpeza. Há necessidade de conscientização por parte da população. Além disso, uma escovação eficiente possui efeito limitado nos espaços interdentais, onde existe uma alta prevalência de gengivites.

LACAZ NETTO et al. (1987) observaram uma série de estudos clínicos realizados em crianças que demonstravam que uma intensa educação e instrução em higiene bucal com supervisão diária da escovação dentária durante um período de três anos levaram a uma redução da inflamação gengival, mas foram insuficientes para criar hábitos por longos períodos de tempo.

TORRES et al. (2000) comentaram ainda que, em trabalhos desenvolvidos na década de 80, foi observado que após a remoção total da placa por profilaxia e orientação do paciente, após três meses, o índice de placa atingiu 60 a 80% do inicial, concluindo-se que, em função do tempo, as pessoas desmotivam-se em relação à limpeza dos dentes.

SEERIG, ZANON e ANZILIERO (2003) enfatizam outro fator importante a ser

considerado em relação a pacientes com necessidades especiais, como por exemplo, deficientes motores e mentais, que normalmente apresentam dificuldades psicomotoras para realizarem a higiene oral por meios mecânicos adequados, sendo que o controle químico da placa bacteriana passa a ser um valioso aliado na manutenção da saúde bucal destes pacientes.

Segundo WITT (1978) a prevenção da placa bacteriana por meios químicos já foi utilizada em 1889 por MILLER, mas não obteve sucesso por serem os anti-sépticos muito tóxicos ou apresentarem efeitos colaterais indesejáveis. Vários agentes químicos, entre eles antibióticos, enzimas e agentes tensoativos, têm sido testados e avaliados quanto à sua capacidade de inibirem a formação de placa como substitutos ou coadjuvantes dos procedimentos mecânicos.

Algumas propriedades devem ser levadas em consideração para a seleção de um agente químico antimicrobiano, como:

- Eficácia: deve ser eficaz contra os microrganismos envolvidos na etiologia da gengivite e periodontite.
- Toxicidade: devem ser inócuos aos tecidos bucais, a interação com estes deve ser conhecida e apresentar segurança comprovada.
- Segurança: deve ser testado em animais antes do seu emprego na clínica. Efeitos colaterais devem ser investigados cuidadosamente em estudos nos seres humanos.
- Permeabilidade aos tecidos: deve ser baixa, considerando os efeitos sistêmicos das substâncias para a saúde.
- Microbiota residente: não deve provocar desequilíbrios, pois isto acarretaria outras doenças decorrentes da proliferação de microrganismos oportunistas. Não deve proporcionar o desenvolvimento de cepas de bactérias resistentes.
- Substantividade (retentividade): é a capacidade do produto permanecer retido no local de ação (superfície dental, gengiva e mucosa bucal) ativo, sendo liberado lentamente, evitando que seu efeito seja rapidamente neutralizado pelo fluxo salivar. No tratamento de infecções causadas pela placa dental, a substantividade do agente antimicrobiano é muito importante, já que os

agentes necessitam de um certo tempo de contato para inibir ou matar um microrganismo.

- Estabilidade: os agentes químicos devem ser estáveis à temperatura ambiente por tempo considerável.

A substância selecionada deverá reunir o maior número possível destas características e sua efetividade comprovada por estudos laboratoriais e clínicos. Os produtos disponíveis no mercado não preenchem a todos os requisitos citados, apresentando alguns efeitos colaterais ou pouca eficácia (SINNÉS et al., 1997).

LINDHE (1992) comenta que os agentes químicos foram classificados de acordo com sua substantividade. Certos antibióticos, compostos quaternários de amônio, compostos fenólicos, agentes oxidantes, fluoretos e alcalóides têm baixa substantividade e são referidos como antimicrobianos de primeira geração. Antimicrobianos de segunda geração possuem substantividade elevada, como por exemplo, as biguanidas, e os de terceira geração, são os que interferem com a aderência bacteriana às superfícies dentárias ou a evitam.

Existem vários veículos que podem liberar os agentes químicos na cavidade oral, como por exemplo, colutórios, dentifrícios, géis, dispositivos para liberação lenta, vernizes, gomas de mascar e pastilhas. O veículo ideal deve reunir características como a compatibilidade com o agente ativo, adequada biodisponibilidade do fármaco no local da ação, além de uma boa aceitação por parte do paciente (TORRES et al., 2000).

4.2 CLOREXIDINA

4.2.1 DESCRIÇÃO

A clorexidina é um composto químico sintetizado em laboratório desde 1954 definida como uma biguanidina catiônica que apresenta uma molécula simétrica, consistindo de dois anéis 4-clorofenil e dois grupos biguanida conectados por uma cadeia de hexametileno central (1,1' hexametilenobis [5-(p-clorofenil)biguanida]).

A clorexidina, dentre os anti-sépticos de uso oral, é um dos agentes antimicrobianos mais potentes e estudados; é altamente eficaz e em geral utilizada como padrão contra o qual é medida a potência de outros agentes (TORRES et al., 2000). Pode ser apresentado na forma de diversos sais, como o gluconato, digluconato, acetato e hidrocloreto, sendo que a digluconato é a mais indicada por ter maior solubilidade em água e em pH fisiológico dissocia-se liberando o componente catiônico.

Sua fórmula molecular é $C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} 2C_6H_{12}O_7$, com peso molecular de 897,77, densidade = 1,06 g / cm³ e ponto de ebulição = 134 °C (USP, Universidade de São Paulo, Odontologia , 2002).

4.2.2 MECANISMO DE AÇÃO

Segundo ORSINI, G. et al, 2000, VAHDATY, A.; PITT FORD, T.R.; WILSON, R.F, 1993 em baixas concentrações a clorexidina é bacteriostática e em altas concentrações, bactericida. Devido a sua carga positiva, é adsorvida sobre a hidroxiapatita do esmalte dos dentes, proteínas salivares, placa e macromoléculas ácidas das superfícies orais. Através destes locais de retenção o fármaco é gradualmente liberado por difusão e a concentração na boca é mantida em um nível suficiente para criar um meio bacteriostático por um período prolongado de tempo.

HUGO e LONGWORTH (1964) demonstraram que a molécula catiônica (positiva) da clorexidina interage com a bactéria, provavelmente em decorrência da adsorção à parede celular aniônica (negativa), alterando as estruturas da superfície e aumentando a permeabilidade da membrana bacteriana facilitando a entrada da clorexidina no citoplasma. O equilíbrio osmótico é perdido e, em conseqüência, ocorre uma precipitação dos constituintes citoplasmáticos o que impede a reparação da membrana celular, causando a morte da bactéria.

4.2.3 PROPRIEDADES

4.2.3.1 SUBSTANTIVIDADE

Pesquisas têm revelado que a clorexidina, além de possuir uma ação imediata sobre os microrganismos orais devido às suas propriedades catiônicas, une-se também à hidroxiapatita do esmalte dos dentes e à mucina salivar, formando uma película orgânica na superfície dos dentes e nas proteínas salivares, que funciona como um reservatório.

Os mecanismos de adsorção e liberação gradual foram testados *in vitro* e *in vivo* com clorexidina marcada radioativamente, sendo que moléculas de clorexidina aderidas às proteínas salivares são liberadas sob a forma ativa quando a sua concentração no meio cai, o que pode ocorrer por 8 a 12 horas após a absorção inicial e após 24 horas concentrações reduzidas podem ainda ser detectadas, prevenindo assim a colonização bacteriana e o efeito inibidor residual da formação da placa dental. A absorção pela mucosa bucal não é durável porque a contínua descamação da mucosa causa uma perda de seu efeito inibidor (LÖE, 1973; LASCALA, 1980).

A quantidade de clorexidina retida na cavidade oral aumenta quase que proporcionalmente com a concentração na forma farmacêutica. A penetração da clorexidina através da mucosa oral intacta é inexistente ou é muito limitada (BONESVOLL, LÖKKEN E RÖLLA, 1974).

SINNES et al. (1997) afirmaram que em cada bochecho feito, 3 % da clorexidina é deglutida, 67 % é expectorada e 30 % fica retida ou adsorvida à película adquirida, às proteínas salivares e à mucosa bucal. Após o bochecho, a quantidade retida na cavidade bucal é constantemente deslocada dos seus sítios de ligação pelos íons Ca^{++} presentes na saliva.

CARRANZA (1986) cita que a propriedade de retenção foi comprovada utilizando-se clorexidina marcada com carbono radioativo e que a mesma é atribuída à sua afinidade para com os grupos sulfatos livres, radicais fosfatados e ácidos, tais como aqueles encontrados na placa, lesões cariosas, película e paredes celulares

bacterianas. Afirma também que a retenção da clorexidina depende da concentração e do tempo, não sendo influenciada pela temperatura ou pH da solução.

BONESVOLL, LÖKKEN e RÖLLA (1974) mostraram em experimentos uma redução na retenção em níveis baixos de pH. Segundo os autores, isto se deve ao fato de que a molécula catiônica da clorexidina se une eletrostaticamente com grupos aniônicos na cavidade oral. Os grupamentos carboxílicos da saliva e proteínas estruturais podem estar envolvidos nesta união. A ionização dos grupos carboxílicos pode ser fortemente reduzida quando o pH do compartimento circundante está abaixo de 4.

O baixo pH por si só pode também ter efeito sobre moléculas e células da cavidade oral, por exemplo, desnaturação de proteínas, e desse modo possivelmente alterar a quantidade e a natureza dos sítios de união para a clorexidina.

HUGO e LONGWORTH (1964) também concluem que a quantidade de clorexidina adsorvida aumenta com o aumento do pH e esta mudança interfere no estado de ionização das células da superfície e da própria clorexidina, interferindo assim na quantidade adsorvida.

4.2.3.2 EFICÁCIA

A clorexidina tem se mostrado um efetivo agente antimicrobiano no tratamento de gengivite, dispersor da placa já formada e na inibidor da recolonização de placa bacteriana (BASSIOUNY e GRANT, 1975; BRINER et al., 1986; SINNES et al., 1997; CURY et al., 2000). Esta ação pode ser atribuída a uma redução do número de bactérias na saliva (LÖE et al., 1976; SCHIOTT, BRINER e LÖE, 1976; SCHIOTT et al., 1976), evitando o desencadear do quadro inflamatório da gengivite.

Os trabalhos realizados por LÖE e colaboradores, LINDHE e outros mostraram que o digluconato de clorexidina sob a forma de bochechos (0,2 %), aplicação tópica (2 %) ou em pastas dentifrícias (0,6 ou 0,8 %), em humanos ou animais, reduziu enormemente a formação de placa e conseqüentemente, a gengivite (LASCALA,

1980).

O decréscimo do índice de placa obtido nos trabalhos de BASSIOUNY e GRANT (1975) nas superfícies bucal, mesial e lingual indicam também um efeito anti-placa da clorexidina, particularmente em áreas menos acessíveis da boca.

LÖE (1973) e BRINER et al. (1986), em seus trabalhos clínicos, provaram que com o uso repetido da solução de clorexidina, o número de microrganismos aeróbicos e anaeróbicos na saliva foi reduzido em 80-90 %. Segundo tais estudos com uso prolongado, o número de microrganismos salivares (aeróbicos, anaeróbicos e estreptococos) diminuiu em 50 a 90 % e nenhum crescimento de bactérias entéricas ou leveduras foi encontrado, demonstrando que a clorexidina mostrou uma potente atividade fungicida na cavidade oral e após o uso de clorexidina, na forma de colutório, por seis meses, amostras de placa mostraram uma redução de 54 a 97 % de bactérias aeróbicas e anaeróbicas.

FARDAL e TURNBULL (1986) comentam que o gel de clorexidina tem um efeito antimicrobiano comparável a medidas mecânicas eficientes de higiene oral.

A FDA (Food and Drug Administration) e a ADA (American Dental Association) autorizaram o uso da clorexidina como agente efetivo para controle de placa, baseado em suas propriedades anti-placa e para o combate à gengivite. (ROSENBERG, 1992; CARRANZA e NEWMAN, 1997).

4.2.3.3 DESENVOLVIMENTO DE RESISTÊNCIA

Um risco potencial com o uso regular de um agente antimicrobiano local é a possibilidade dos microrganismos adquirirem resistência ou ocorrer uma pressão seletiva na microflora oral, resultante da distribuição destes que foram menos sensíveis à clorexidina.

LÖE (1973) revisou vários trabalhos com o uso prolongado da clorexidina (7 semanas, meio ano, 2 anos) mostrando que foram mínimas as alterações de suscetibilidade dos microorganismos orais.

SCHIOTT, BRINER e LÖE (1976), ao acompanharem a aplicação da clorexidina em pacientes por um período de dois anos, não detectaram mudança ou redistribuição da população microbiana salivar. O uso da clorexidina produziu redução na placa dental e gengivite sem alterar significativamente o ecossistema microbiano na saliva, levando-se em consideração os parâmetros do número de aeróbios, anaeróbios, estreptococos e microrganismos gram negativos. Esse estudo relata que após um estudo clínico de seis meses, não se evidenciou mudança significativa na resistência bacteriana, crescimento de organismos potencialmente oportunistas, ou outras mudanças no ecossistema microbiano oral durante o uso da clorexidina. Além disso, três meses após o término do estudo clínico, o número de microrganismos na placa retornou aos níveis normais.

4.2.3.4 SEGURANÇA

A clorexidina, até o momento, apresentou baixa evidência de toxicidade sistêmica em seres humanos, além de não produzir qualquer resistência apreciável dos microrganismos da boca; também não tem sido associada a quaisquer alterações teratogênicas (CARRANZA e NEWMAN, 1997).

LINDHE (1992) relata que durante um estudo com 150 estudantes de medicina, que usaram uma solução de digluconato de clorexidina a 0,2 % durante dois anos, diversos exames, como hemograma, exame de urina e velocidade de sedimentação foram realizados em intervalos regulares. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos controle experimental para qualquer um dos parâmetros avaliados. Baseado nisto, afirma que a clorexidina pode ser usada com segurança por períodos prolongados.

Segundo SINNES et al. (1997), diversos testes toxicológicos mostraram que a molécula de clorexidina é altamente estável. Quando ingerida, a quase totalidade é eliminada pelas fezes, quantidades mínimas são absorvidas pelo trato intestinal e eliminadas pelas rotas normais (rins e fígado). Não há evidência de formação de para-cloroanilina, perigosa substância cancerígena. Efeitos teratológicos e carcinogenicidade ou mutagenicidade não foram observados. Com relação à

reprodução, estudos de fertilidade não mostraram evidências de prejuízo da mesma em ratas que receberam clorexidina em doses de 100 mg/kg/dia (dose 100 vezes maior que a dose que uma pessoa recebe se ingerir 30 ml de clorexidina colutório por dia)

Estudos controlados sobre a interferência da clorexidina na gravidez não foram realizados. Entretanto em animais, nenhuma evidência de dano para fetos foi observada em ratos e coelhos que receberam doses de clorexidina de até 300 mg/kg/dia e até 40 mg/kg/dia, respectivamente (doses 300 e 40 vezes, respectivamente, maiores que a dose que uma pessoa pode receber se ingerir 30 ml de clorexidina colutório por dia) (TURNBULL, R. S, 1989; VAZ, N. M.; FARIA, A. M .C., 1994).

4.2.4 ESPECTRO DE AÇÃO

Microrganismos apresentam uma susceptibilidade variável para a clorexidina. Os microrganismos gram positivos apresentam alta susceptibilidade para a clorexidina os gram negativos menor suscetibilidade. (LANG NP. MOMBELLI A. TONETTI MS. BRAGGER U. HAMMERLE CH, 1997)

Em um trabalho desenvolvido por HENESSEY (1973), a concentração inibitória mínima da clorexidina foi determinada para uma variedade de cepas bacterianas gram positivas e gram negativas, utilizando a técnica convencional de diluição em ágar, estando de acordo com o conhecimento de que a clorexidina é um agente antibacteriano de largo espectro com grande atividade contra gram positivos mais do que gram negativos.

Segundo GJERMO (1978), certas espécies de estreptococos parecem reter uma quantidade adicional de clorexidina em suas cápsulas polissacarídicas extracelulares. Isto pode estar relacionado a alta sensibilidade dos estreptococos orais a clorexidina.

4.2.5 INDICAÇÕES

A clorexidina tem sido utilizada em diversas áreas da medicina, como por exemplo, a ginecologia, urologia, oftalmologia, em queimaduras e na desinfecção de coto umbilical e da pele. Na odontologia é utilizada desde a desinfecção das mãos da equipe até indicações para aplicações curtas, intermitentes e prolongadas.

Entre as aplicações curtas, têm-se as seguintes indicações:

- Redução da placa dental.
- Antes de procedimentos cirúrgicos orais ou periodontais para prevenir bacteremias pós cirúrgicas.
- Durante a fase de cicatrização após cirurgias periodontais
- Durante a fase de cicatrização após intervenções cirúrgicas orais.
- Durante a terapia de ulcerações aftosas.
- Durante a terapia de estomatite protética.
- Tratamento da gengivite ulcero necrosante aguda (GUNA).
- Tratamento de estomatites causadas por próteses totais.
- Tratamento de fraturas de mandíbula e maxilar,

Para as aplicações curtas e intermitentes, várias vezes ao ano, tem-se as seguintes indicações:

- Pacientes com deficiência física ou mental apresentando restrição ou dificuldade motora para correta higienização.
- .Prevenção da estomatite protética recorrente.
- Manutenção de cuidados periodontais a fim de prolongar os intervalos entre as consultas de manutenção, diminuindo a incidência de gengivites.
- Pacientes que apresentam alta atividade de cárie com níveis salivares de *S. mutans* acima de 250.000/ml.
- Antes e após a colocação de implantes dentais.

Para as aplicações prolongadas, têm-se as seguintes indicações:

- Deficientes físicos que apresentem limitações motoras para correta higienização.
- Deficientes mentais.
- Profilaxia e tratamento de infecções orais em pacientes com câncer que estão sendo preparados para o transplante de medula óssea.
- Controle de complicações orais em pacientes leucêmicos.
- Tratamento de pacientes que tenham resistência reduzida à placa bacteriana devido a terapias em condições especiais, inclusive Síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA).
- Portadores de aparelhos ortodônticos.
- Portadores de reconstruções protéticas fixas extensas.
- Pacientes de geriatria.

Deve-se enfatizar que as enfermidades dentais constituem sérios problemas em populações incapazes mental e fisicamente. Nestes pacientes, os procedimentos mecânicos convencionais de higiene oral devem ser freqüentemente supervisionados ou mesmo praticados por pessoal auxiliar.

A clorexidina utilizada para a prevenção de placa que indiretamente causa uma redução na gengivite e cárie é extremamente valiosa, devendo-se ter o acompanhamento do uso constante, pois há necessidade de tratamento a longo prazo (FLOTRA, 1973; GJERMO, 1978; FEIST, MICHELI e SARIAN, 1989).

RUSSEL e BAY (1978) estudaram o efeito do uso diário por três minutos de uma pasta dentifrícia com 1 % de clorexidina durante dois meses na placa dental, gengivite e hiperplasia gengival em 30 crianças epiléticas e deficientes mentais tratadas com fenitoína, em um estudo duplo cego. Os resultados foram um índice de placa e índice gengival significativamente baixos. A hiperplasia gengival, que normalmente ocorre em pacientes submetidos a tratamentos com fenitoína, não foi significativamente reduzida pelo uso da pasta dentifrícia com clorexidina.

FARDAL e TURNBULL (1986) observaram que escovando os dentes uma vez

ao dia por dois meses com pasta dentifrícia com 1 % de clorexidina resultou em um índice de placa e índice gengival significativamente baixos em crianças com deficiência mental e epilepsia que recebiam fenitoína.

4.2.6 USO E POSOLOGIA

A clorexidina em soluções contendo 0,02 a 0,05 % é usada no tratamento de feridas, queimaduras, anti-séptico urinário e das mucosas.

Soluções de 0,5 % (álcool 70 %) são usadas na anti-sepsia das mãos, da pele, na desinfecção de emergência de instrumentais previamente limpos ou para estocagem desses. É incompatível com os sabões e compostos aniônicos similares (LASCALA, 1980).

A clorexidina pode ser introduzida na cavidade oral através de várias maneiras.

A) Bochechos: as soluções de 0,12 % a 0,2 % têm sido as mais usadas por serem reconhecidas como “Padrão Internacional” e terem sido estudadas extensivamente (DENARDI, 1994).

Os bochechos devem durar 1 minuto, duas vezes ao dia, com 15 ml, o que é suficiente para prevenir a formação da placa e o desenvolvimento de gengivite superficial, mas não a periodontite estabelecida com bolsas periodontais já formadas. Não devem ser feitos antes das refeições, pois afetam temporariamente a sensação gustativa. Não é recomendado imediatamente antes ou após a escovação com dentifrícios convencionais, devido à competição pelos sítios de retenção.

B) Irrigações: Irrigadores bucais podem representar um veículo ideal para a aplicação de agentes antimicrobianos. Uma aplicação diária de uma solução de clorexidina com concentração de 0,02 % a 0,5 % por 1 minuto pode ser clinicamente benéfica em algumas situações, uma vez que alguns efeitos indesejáveis dependem da concentração. A aplicação local possibilita ainda o uso restrito em áreas que necessitem de cuidados especiais, retardando a formação de nova placa e destruindo a já estabelecida (SINNES et al, 1997).

C) Géis: gel a 0,5 % e 1 % é usual e comum, uma vez que requer aplicação com escova de dente ou através de moldeiras, atingindo assim toda a superfície dental. Segundo BORER et al 1978 in: GIOSO, M. A., 2003, é sob a forma de gel que a clorexidina apresenta menor retenção pelas superfícies da cavidade bucal. Assim, como a atividade anti-placa está relacionada com o mecanismo de retenção – liberação do medicamento, supõe-se que sob esta forma seja menos efetiva.(GIOSO, M. A., 2003)

D) Dentifício: na forma de dentifício, geralmente a 0,6 ou 0,8 %, significa uma aplicação direta nas áreas necessárias. Esta maneira de aplicar pode reduzir os indesejáveis efeitos colaterais observados pelo uso dos bochechos a longo prazo.

E) Spray: é considerado um método de fácil aplicação, porém a sua eficiência depende da habilidade do operador em atingir todos os locais, assim como a dose empregada (DENARDI, 1994).

F) Goma de mascar: sua vantagem é de que fica retido na cavidade oral por um período de tempo mais prolongado em comparação com os outros métodos, porém cuidados devem ser tomados com as concentrações da clorexidina e do edulcorante utilizado na formulação (PINHEIRO et al, 1985).

G) Dispositivos de liberação lenta (DLL): estes dispositivos empregam etilcelulose como polímero, e polietilenoglicol e etanol como solvente.

GJERMO e ROLLA (1970) usaram dentifícios com clorexidina a 0,6 e 0,8 % aplicados com moldeiras para evitar a interferência da ação mecânica da escovação e constataram uma redução do índice de placa compatível aos resultados obtidos com bochechos. LASCALA (1997) comenta também que segundo ARMANI, 1995 in: GIOSO, M. A., 2003, a utilização na forma de dentifício pode ser feita em pacientes com qualquer tipo de periodontite, seja ela inicial, moderada ou avançada, inclusive pacientes em manutenção e controle.

4.2.7 ABSORÇÃO E ELIMINAÇÃO

Estudos farmacocinéticos indicam que aproximadamente 30 % do gluconato de

clorexidina fica retido na cavidade oral após um bochecho, e posteriormente é lentamente liberado para os fluidos orais. Estudos utilizando homens e animais têm mostrado que o digluconato de clorexidina é muito pouco absorvido pelo trato gastrointestinal. (GIOSO, M. A., 2003)

Em um trabalho desenvolvido por LÖE (1973), após a aplicação de uma dose de clorexidina marcada em vários sítios da molécula, esta foi quase toda excretada pelas fezes.

A excreção urinária foi baixa para todas as espécies. Após combustão de diferentes órgãos, estes estavam isentos de radioatividade detectável. No fígado e no rim foram encontrados menos que 0,25 % da dose administrada, indicando que pequenas quantidades foram absorvidas, metabolizadas e excretadas por estas vias. Análise por cromatografia em camada delgada de material marcado excretado por humanos e animais indicou que a clorexidina sofreu uma mínima transformação metabólica. Nenhuma concentração de para-cloroanilina, uma possível subunidade carcinogênica, foi detectada.

Segundo GIOSO, M. A., 2003 após uma dose oral de 300 mg de digluconato de clorexidina, a excreção ocorreu através das fezes (aproximadamente 90 %); menos de 1 % foi excretado pela urina e 12 horas após a sua administração a clorexidina não foi detectada no plasma.

4.2.8 ALTA PREVALÊNCIA NA POPULAÇÃO

Existem casos de crianças com destruição periodontal avançada com ou sem enfermidade sistêmica e é importante lembrar que os efeitos da enfermidade periodontal nos adultos principiam em idade precoce, como observamos nos trabalhos de TOLEDO (1996), CARRANZA (1996), PAGE (1983), entre outros.

Diversos estudos alertam para doença periodontal como uma das maiores causas de perdas de elementos dentais, instalando-se na infância e evoluindo gradativamente como um estudo realizado em Belo Horizonte, obtendo como resultado uma alta prevalência de periodontite juvenil localizada ou generalizada,

como apresenta-nos GJERMO et al, 2004.

Sendo o Brasil um país de grande prevalência da doença periodontal como observa-se também na dissertação de tese de SOUZA et al, 2003, Estudo da Prevalência da Doença Periodontal em Adolescentes na Cidade de Belém Do Pará faz-se ainda mais necessário o estudo de medidas preventivas eficazes. Tal trabalho nos apresenta os últimos levantamentos de saúde bucal no Brasil demonstrando a prevalência de doença periodontal, segundo macro região e grupo etário. A Região Norte apresentou proporções mais elevadas de doença periodontal, com índice de 66,18% para a faixa etária de 15 a 19 anos quando comparada com a média nacional de 53,82% . Nesse estudo realizado no Pará foram avaliadas as condições periodontais em adolescentes do Instituto Assistencial Lar Fabiano de Cristo na cidade de Belém. Os escolares examinados apresentaram gengivite (46,67%) como a condição mais freqüente e 13,34%, periodontites.

A gengiva é o local de maior incidência de doenças de tecidos moles, sendo que as inflamatórias somam mais de 60% do total, como observa-se , entre 1967 a 1999, GUIMARÃES et al, 1999.

4.2.9 RELAÇÃO COM OUTRAS PATOLOGIAS SISTÊMICAS

Outro aspecto bastante preocupante é a relação dessas patologias com outras, sistêmicas e graves, algumas das quais são as maiores causas de óbitos atualmente como nos confirmam os dados da Organização Mundial de Saúde no ano de 2000. As doenças cardíacas são uma delas e organismos internacionais estimam como um valor médio para a população mundial cerca de 40% do total de mortes sendo causado por doenças cardiovasculares. Em países mais desenvolvidos esses valores podem ser mais elevados.

Evitar ou prevenir qualquer fator desencadeante de tais patologias sistêmicas torna-se cada vez mais necessário, conforme diversos estudos entre eles o de MORRISON et al.,1999; WILLIAMS, OFFENBACHER, 2000 que nos apresentam evidências da associação entre a periodontite severa e o maior risco de formação de

placas de aterosclerose, responsáveis pelo infarto do miocárdio e o AVC (acidente vascular cerebral) isquêmico. De acordo com tais pesquisas publicadas, essa relação poderia estar ligada a níveis altos da proteína C-Reativa (CRP) em pacientes com doença periodontal.

STEENLAND (1992), BLAIR (1995) indicam que existe relação entre endocardites infecciosas por *Streptococcus viridans* tendo a cavidade bucal como origem e sendo o procedimento odontológico invasivo fator de risco em indivíduos suscetíveis. Mais recentemente também a aterosclerose vêm sendo apontada como uma doença de origem infecciosa.

A infecção periodontal poderia incrementar a bacteremia e leucocitose, expondo o hospedeiro aos lipopolissacarídeos (LPS), microrganismos Gram negativos como a *Porphyromonas gingivalis*, mediadores (prostaglandinas, interleucinas e fator de necrose tecidual (TNF) e citocinas que afetariam a integridade endotelial, promovendo alterações no metabolismo das lipoproteínas plasmáticas, degeneração vascular, agregação plaquetária e coagulação sangüínea (com elevados níveis de fibrinogênio), iniciando ou exacerbando a aterogênese e outros eventos tromboembólicos.

D' AIUTO, F.; READY, D.; TONETI, M. S, 2004 relatam alterações cardiovasculares e AVC (derrame) como consequência de doença periodontal. Portadores de doenças periodontais estão expostos às endotoxinas de muitas espécies de microrganismos anaeróbios associados à essas doenças e essas endotoxinas afetam a integridade do endotélio, as lipoproteínas do plasma, a coagulação sangüínea e a função plaquetária com os de STEFANO et al , 1998.

A doença periodontal é causada por microrganismos gram-negativos e, segundo alguns autores, os produtos bacterianos, em particular lipopolissacarídeos e endotoxinas, podem afetar fatores como a integridade endotelial, coagulação sangüínea e função das plaquetas. O aumento de bactérias na cavidade bucal poderia resultar na penetração de bactérias e de seus produtos no tecido gengival, provocando uma resposta imunológica com produção de mediadores inflamatórios, tais como TX A₂, TNF β e IL-1 α , que irão progredir com os eventos tromboembólicos e ateroscleróticos. Essa associação foi apresentada por LISTGARTEN,1999, ZAMBON et al, 1997, que verificaram a presença de

Actinobacillus actinomycetemcomitans e *Porphyromonas gingivalis* associados a placas ateromatosas.

Segundo HERZBER e MEYER (1998) existe relação entre bactérias específicas da placa (*Streptococcus sanguis*) e a agregação plaquetária que estas bactérias induzem. Por esta agregação plaquetária, esta bactéria, bem como a *Porphyromona gingivalis*, tem um papel trombogênico e explica a associação entre as doenças periodontal e cardiovascular.

Portanto, uma vez que a clorexidina altera o metabolismo da *Porphyromona gingivalis* impedindo sua atividade estaríamos objetivamente prevenindo problemas cardiovasculares por razões periodontais.

A relação entre doença periodontal e diabetes é recíproca. Os pacientes portadores de diabetes apresentam maior risco em desenvolver doença periodontal e, esta por sua vez dificulta a manutenção da normoglicemia.

Observou-se também que a doença periodontal funcionaria como uma possível reserva de microrganismos na cavidade bucal e orofaringe, sendo a aspiração, a principal via de contaminação, não excluindo, entretanto, a disseminação hematogênica, por contigüidade e inoculação direta (trauma ou cirurgia), GIANNINI et al, 2004.

Outras patologias pulmonares também foram relacionadas como a doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), enfisema pulmonar, embolismo pulmonar séptico, empiemas ou abscessos pulmonares e fibrose cística. A rinite e a sinusite também foram relacionadas, sendo a doença periodontal um fator de risco importante, pela contigüidade dos tecidos, como observou-se com os estudos de HERZBERG e MEYER (1998), KAHN et al. (2000), COUTINHO et al. (2000).

Além da capacidade de invasão tecidual de certos periodontopatógenos, a perda da integridade dos epitélios sulcular e juncional favorece o deslocamento bacteriano para o tecido conjuntivo adjacente, com o conseqüente aumento da concentração de anticorpos específicos para esses microrganismos. (IgM, IgG, IgA) representando um desafio sistêmico constante, ou a ocorrência de bacteriemias transitórias. Quanto mais grave a infecção periodontal, maior quantidade de microrganismos encontrados na corrente sanguínea, mesmo em procedimentos aparentemente

inócuos, como a higiene bucal.

A alta prevalência das distintas formas de doença periodontal evidencia a necessidade de desenvolver estratégias preventivas como nossa proposição no presente trabalho, levando-se em consideração o alto potencial de risco e óbito de doenças sistêmicas graves relacionadas aos patógenos periodontais.

Como COSTERTON et al, 1999 consideram que o biofilme dental é uma “matriz contendo populações microbianas aderidas entre si ou em outras superfícies”. A estrutura organizada propiciaria a interação quase simbiótica entre os diversos microorganismos, permitindo que bactérias anaeróbicas fiquem “protegidas” no interior de microcolônias com formações em “cogumelo”. A matriz extracelular de polissacarídeos que envolve o biofilme permite circulação dos nutrientes e metabólitos. Esta estrutura tem características tão sofisticadas que pode ser comparada a uma verdadeira “sociedade bacteriana”. Assim ao impedirmos a colonização adesão não haverá microcolônias que possam proteger as bactérias anaeróbicas que são bastante severas e nutrientes não serão passados, o que resultará em efeito bacteriostático e bactericida.

Na medida em que a clorexidina interferirá com a reabsorção óssea, bolsas mais profundas que ofereceriam um microambiente mais propício ao crescimento microbiano anaeróbico não ocorrerão como confirmamos em ALLENSPACH, PERZILKA E GUGGENHEIM , 1983.

O *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa) produz uma leucotoxina com capacidade de lise de neutrófilos e monócitos, o que impede a função fagocitária dos mesmos (Asikainen, 1986). Sua capacidade de invadir tecidos também pode provocar formação de antígeno específico anti-Aa em níveis sérios elevados (similares aos presentes em infecções sistêmicas disseminadas, como na sífilis terciária). Já o *Porphyromonas gingivalis* possui enzimas que degradam imunoglobulinas, componentes de complemento e da matriz extracelular. (BALLIEUX, 1991; BECK, 1996; CLARK & HIRCH, 1995, RIVERA-HIDALGO, 1986; STOLTENBERG, 1993; ZAMBOM, 1996).

4.3 DOENÇA PERIIMPLANTAR

Com base em estudos prévios de BAUMAN et al, 1992 a perda de implantes tem relação com a presença de placa dental ao redor dos mesmos e contaminação bacteriana. É causada por acúmulo de componentes microbianos do biofilme dental que se acumulam no interior das áreas subgingivais do periodonto (FRIEDMAN, GOLOMB, 1982; LISTGARTEN, 1986; JONES et al., 1996; MOMBELLI, 2003, CAUDURO, 1978 e DENARDI, 1994; WITT, 1978). Esse processo levará a uma reação inflamatória dos tecidos moles, a mucosite que caso não seja tratada evoluirá para uma periimplantite que envolve além dos tecidos moles perda óssea.

Os trabalhos de GABARRA et al., 2002, ERICSSON et al, 1997, GRUNDER et al, 1993, GÜNAY, 2000, e SINGH et al, 2000 mostram que o tempo, após o surgimento da doença, torna o tratamento progressivamente mais difícil, necessitando de procedimentos terapêuticos complexos, como vimos na revisão, e que protela a permanência do implante que acabará sendo perdido.

Ainda com base em BEHNEKE et al (2000) a microbiota associada a implantes doentes retrata uma periodontite crônica o que significa que a tentativa de tratamento prolonga a permanência do implante, havendo uma modificação da microbiota inicial. (ERICSSON et al, 1997, GRUNDER et al, 1993, GÜNAY, 1991, e SINGH et al, 2000), indicam que a terapia regenerativa não atinge uma “re-osseointegração” para a área do implante previamente exposta.

KELLER et al (1990) apresentam como pré-requisito para o sucesso de um implante dentário endósseo a obtenção de vedação permucosa do tecido mole, até a superfície do implante.

Isso seria bem facilitado ao impedirmos proliferação ou adesão bacteriana local através do tratamento de cicatrizadores localizados na área em deveremos ter o selamento biológico, pois quando não se consegue ou não se mantém esta vedação, isto pode resultar em migração apical do epitélio da interface osso/implante e a perda do mesmo.

DONLEY, GILLETTE, 1991 complementam ainda que como não há cimento ou inserção de fibras nos intermediários dos implantes, uma destruição no selamento biológico levaria a extensão de uma bolsa patológica até estruturas ósseas e

destruição do tecido por bactérias periodontais.

MC KINNEY, 1987 enfatizam que a formação do selamento biológico pelo epitélio previne a entrada de placa, toxinas e resíduos, porém a violação deste selamento leva a injúria do tecido conjuntivo. A produção de laminina pelo epitélio (agente de adesão molecular) é responsável pela aderência firme do epitélio ao implante, o que impediria a penetração bacteriana ao redor do implante e a periimplantite.

Evitando placa dental ou biofilme e utilizando quimioterápicos com ação desagregante da placa estaremos prevenindo o quadro de periimplantite que leva à produção de prostaglandinas, estimulação e ativação de enzimas como proteases e colagenases, resultando em reabsorção óssea, retração gengival e exposição do implante.

Na leitura dos trabalhos de KAO et al, 1995; optamos pela clorexidina uma vez que um dos principais patógenos periodontais, a *Porphyromonas gingivalis* é um microorganismo que influencia a remodelação óssea negativamente por produzir colagenase, fatores proteolíticos, toxinas celulares, e o mais importante de todos, lipopolissacarídeos, que podem estimular células mononucleares periféricas a produzir interleucina-1, que subsequente resulta em perda óssea.

A opção de tratar os cicatrizadores foi baseada também em diversos trabalhos entre eles o de LEONHARDT et al (1992) que detectaram periodontopatógenos no ambiente subgengival peri-implantar principalmente no primeiro mês após a colocação do implante, reduzindo essa colonização a medida que a placa supra gengival “selava” a região transmucosa.

Assim ao ocorrer o selamento biológico ao redor do implantes essa contaminação subgengival periimplantar tenderá a reduzir e praticamente não chegará a ocorrer. Essa é a intenção do presente trabalho liberando clorexidina até que o selamento biológico se complete.

4.4 DISPOSITIVOS

A opção por um dispositivo de liberação lenta foi baseada nos trabalhos de MEDLICOTT et al., 1994 onde a administração de antimicrobianos de ação sistêmica alcança concentrações terapêuticas no sítio da infecção por curtos períodos de tempo após uma dose simples e ainda como enfatizam diversos autores como FRIEDMAN, GOLOMB, 1982; ADDY, LANGEROUDI, 1984; BROOK, VAN NOORT, 1984; ADDY, 1986; JOYSTON-BEECHAL, EMSLIE, 1987; FRIEDMAN, STEINBERG, 1990; GREENSTEIN, 1995; TINOCO et al., 1998 ela não pode ser utilizada por um longo período porque acarretaria náuseas, vômito, diarreia, gastrite, úlceras, outros transtornos digestivos, alergias e desenvolvimento de resistência pelos microrganismos .

GENCO, 1981 cita que é necessário atingir o sítio de ação na concentração adequada e manter-se no sítio de ação por tempo suficiente para atuar o quadro patológico mesmo com o efeito de lavagem do fluido gengival, estabelecendo, conforme complementam FRIEDMAN et al, 1988; SOSKOLONE, FRIEDMAN, 1996 um reservatório de medicamento na bolsa periodontal capaz de manter concentrações efetivas e até 100 vezes maiores que as conseguidas com o uso sistêmico, portanto altas quando comparadas aos níveis plasmáticos após a administração oral e que não seja absorvido no sistema gastrintestinal como ocorre com a clorexidina.

Quanto a avaliação de outras formas de aplicação de antibióticos, os bochechos, irrigações e jatos pulsáteis não penetram além de 1 a 2 mm abaixo da margem gengival e não atingem tempo e concentração adequados de ITO et al., 1980; PITCHER et al., 1980; BADERSTEN et al., 1981; FRIEDMAN, GOLOMB, 1982; YEUNG et al., 1983, GREENSTEIN, 1987 e MEDLICOTT et al., 1994.

A escolha do verniz reportou-se a diversos estudos como os de ANSEL, 2000, MEDLICOTT et al., 1994, os quais especificam que em um sistema de liberação matricial o fármaco é distribuído através do polímero ou mistura de polímeros, de natureza química e propriedades variáveis, sendo que a liberação ocorre através da difusão e/ou dissolução ou erosão da matriz quando tais dispositivos são compostos

por polímeros hidrossolúveis ou biodegradáveis.

Quanto ao tempo de permanência da liberação da clorexidina e concentrações necessárias para cobrirem o período aproximado do selamento biológico que gira entre 30 a 60 dias nos baseamos em FRIEDMAN e GOLOMB (1982) que avaliaram os dispositivos contendo 5, 10 e 20% de clorexidina os quais liberaram, 20, 30 e 60% da carga, respectivamente em 205 dias, logo, nessas concentrações teríamos uma cobertura segura para total conclusão do selamento biológico. Analisando esse resultado teríamos a liberação de 20% da clorexidina a 5% o que seria 1% de clorexidina; 30% da carga da clorexidina à 10%, o que seria 3% de clorexidina; e 60% de carga da clorexidina à 20% que então seria 12% de clorexidina. Isso ocorreria em 205 dias no caso desse estudo. Procuramos com base nesse estudo analisar concentrações próximas das apontadas que já haviam apresentado eficácia com segurança.

Segundo JONES et al., 2000 uma boa opção de dispositivo para nosso estudo sistemas bioadesivos que interagem com a mucina que reveste o epitélio ou a superfície dos dentes pelos princípios da bio/mucoadesão, prolongando o tempo de retenção da formulação dentro da bolsa. Promovem íntimo contato entre a forma farmacêutica e o tecido de absorção, segundo GUO, COOKLOCK, 1996; AHUJA, KHAR, ALI, 1997, o qual resulta em alta concentração em uma área localizada e também, um alto fluxo de fármaco.

A utilização de polímeros não biodegradáveis implica a necessidade de remoção ao final da terapia daí a opção por um dispositivo biodegradável como observamos nos estudos de FRIEDMAN, GOLOMB, 1982; MINABE et al., 1989; STEINBERG et al., 1990; JONES; MEDLICOTT, 1995; MATSUDA et al., 1999; PEH; WONG, 1999).

Esses dispositivos, como observou-se no verniz formulado neste estudo, devem permitir a fácil incorporação do fármaco e não oferecer impedimento à sua liberação como enfatizam WONG, 1999 e BOUCKAERT, 1993 em seus trabalhos. Tal sistema deve ser estável durante o seu tempo de estocagem em sua forma farmacêutica. Tal fato foi observado, igualmente, no presente estudo.

O verniz não deve ser irritante ou causar inflamação, deve ser biocompatível, bactericida, não causar irritação, e ainda possuir especificidade local.

LEHR, 1996 acrescentou que muitos polímeros mucoadesivos são capazes de inibir enzimas proetólíticas e/ou modular a permeabilidade tecidual, podendo ser úteis no desenvolvimento de novos dispositivos de liberação lenta..

Nos estudos de LINDSKOG et al. (1998) com a clorexidina a 10% mais um dado foi novamente reforçado: a atividade da clorexidina gel a 10% foi mantida por quatro semanas, e com vernizes em tais concentrações, alcançou-se aproximadamente 8 semanas. Esse foi um dado relevante para a escolha de uma das concentrações dos vernizes, a de 10%, no presente estudo, uma vez que o selamento biológico concluiu-se em aproximadamente 8 semanas.

Quanto a eficácia antimicrobiana FONSECA et al. (1999) em seus trabalhos confirmam nossos dados de que o do digluconato de clorexidina em diferentes formas farmacêuticas (solução e gel) e concentrações é eficaz para todos os microorganismos, independentemente da concentração, 1%, 2% e 5%. Observou-se efetiva ação antimicrobiana da clorexidina sobre todos microrganismos indicadores, em todos períodos de observação (5, 10, 15, 20 e 30 minutos).

Ainda outra característica da clorexidina incorporada a um verniz ou primer é complementada com a leitura do estudo de FERRAZ, em 1999, JEANSONNE & WHITE, 1994, PERDIGÃO et al., 1996 onde a além da ação desinfetante, atuará como umectante de superfície, melhorando assim o desempenho dos primers hidrofílicos que necessitam da presença de umidade relativa.

PRISTA et al, 1996 acrescenta que a clorexidina mistura-se bem com resina na forma verniz, não sendo possível perceber diferenças de fases e aumenta a característica adesiva sobre a superfície que for colocada, assim como a característica hidrofílica e a resistência quando interage com outras resinas.

4.5 PROPRIEDADES DA CLOREXIDINA

Ainda quanto ao efeito antiplaca da clorexidina inúmeros trabalhos reforçaram essa informação como os de BASSIOUNY e GRANT, 1975; BRINER et al., 1986; SINNES et al,1997; CURY et al., 2000 que relatam que a a clorexidina tem mostrado um efetivo agente antimicrobiano no tratamento de gengivite, da

dispersão da placa já formada e na inibição da recolonização da placa bacteriana. Os trabalhos de LÖE et al., 1976; SCHIOTT, BRINER e LÖE, 1976; SCHIOTT et al., 1976) nos revelam que esse fato deve-se à uma redução do número de bactérias na saliva, o que também é um aspecto desejável não só quanto ao efeito local da clorexidina do verniz do presente estudo mas também quanto ao efeito geral do ambiente bucal dos pacientes.

Dados da literatura indicam que aproximadamente 30 % do gluconato de clorexidina fica retido na cavidade oral após um bochecho, e posteriormente é liberado para os fluidos orais. Após uma dose oral de 300 mg de digluconato de clorexidina, a excreção foi primariamente através das fezes (aproximadamente 90 %); menos de 1 % foi excretado pela urina e 12 horas após a sua administração, a clorexidina não foi detectada no plasma.

Segundo SINNES et al. (1997) a para-cloroanilina, uma possível subunidade carcinogênica, não foi detectada e efeitos teratológicos também não foram observados, mesmo com uma dose pelo menos quinhentas vezes maior daquela que poderia ser ingerida pelo homem na dose diária de clorexidina colutório.

A mutagenicidade não foi observada nesses estudos *in vivo*.

A clorexidina enquadrou-se, então, dentro dos seguintes requisitos de um antibiótico intraoral, como citam CALFIELD e NAVIA (1984):

- segurança: qualquer agente quimioterápico para uso tópico intraoral não deve ser absorvido pela mucosa;
- se deglutido acidentalmente, não deve manifestar toxicidade sistêmica;
- não deve induzir reações de hipersensibilidade e
- não provocar irritação tecidual;
- ação rápida de modo que não ocorra a seleção de bactérias resistentes;
- ação seletiva, não perturbando o equilíbrio natural entre a flora saprófita e o hospedeiro;
- capaz de penetrar na placa bacteriana e conservar-se no ambiente oral por tempo prolongado;

- estável em solução,
- biodegradável,
- ativo em amplo espectro de pH e em concentrações variadas;

O uso do verniz por um período mais longo, como 60 dias para conclusão do selamento biológico apresenta boa margem de segurança como confirmado por LÖE (1973) e BRINER et al. (1986) os quais demonstraram que com o uso prolongado, o número de microrganismos salivares (aeróbicos, anaeróbicos e estreptococos) diminuiu em 50 a 90 % e nenhum crescimento de bactérias entéricas ou leveduras foi encontrado, demonstrando que a clorexidina mostrou uma potente atividade fungicida na cavidade oral.

O fato da clorexidina não alterar o ecossistema local como vimos nos trabalhos de SCHIOTT, BRINER e LÖE (1976), ao acompanharem a aplicação da clorexidina em pacientes por um período de dois anos, também nos deixa bem confortáveis com essa escolha. O uso da clorexidina produziu redução na placa dental e gengivite sem alterar significativamente o ecossistema microbiano na saliva, levando-se em consideração os parâmetros do número de aeróbios, anaeróbios, estreptococos e microrganismos Gram negativos.

CARRANZA e NEWMAN, 1997, STEINBERG, FRIEDMAN, 1988 revelam que a clorexidina não produz qualquer resistência apreciável dos microrganismos da boca. Para isso é necessário que a dose do agente ativo contida no dispositivo seja altamente efetiva, e que este seja altamente específico, evitando, por exemplo, recidivas e o aparecimento de cepas resistentes. Nos trabalhos acima observamos que um fármaco embora adsorvendo à mucosa, terá baixa capacidade de penetração através dos tecidos da mucosa podendo alcançar altas concentrações e prolongar esses níveis elevados no interior da bolsa.

Como observamos nos trabalhos de BONESVOLL, LÖKKEN E RÖLLA, 1974 a ação da clorexidina, além de possuir uma ação imediata sobre os microrganismos orais devido às suas propriedades catiônicas, une-se também à hidroxiapatita do esmalte dos dentes e à mucina salivar, formando uma película orgânica na superfície dos dentes e nas proteínas salivares, que funciona como um reservatório.

As mucosas adsorvem clorexidina por conterem glicoproteínas sulfatadas com

potencial aniônico e a renovação das secreções será o mecanismo desta liberação lenta.

Assim todo ambiente bucal terá benefícios com o tratamento com clorexidina, como dissemos anteriormente, e que foi mais um fator favorável na opção pela mesma em nosso estudo.

Quanto a excelente substantividade da clorexidina obtivemos esclarecimento melhor com os trabalhos de ROLLA, MELSEN (1975). Nesses trabalhos os autores relatam a ligação da clorexidina com diversos componentes orgânicos e inorgânicos presentes na saliva, tais como grupos carboxílicos, sulfatos, fosfatos e extratos proteicos das glândulas salivares maiores. Sabendo-se que, cátions bivalentes podem desalojar a clorexidina de grupos fosfatos e grupos carboxílicos, os autores sugerem que a substantividade da clorexidina seja explicada pela liberação da mesma droga advinda dos vários sítios de ligação, por ação do cálcio salivar. Outros mecanismos inibidores de placa são citados como o da redução dos microrganismos disponíveis na saliva e ligações subletais da clorexidina com grupos fosfatos da superfície bacteriana que reduzem a adsorção de bactérias ao dente.

4.6 MECANISMO DE AÇÃO DA CLOREXIDINA E SUA SEGURANÇA

Ainda conforme VINHOLIS et al., 1996, a ação da clorexidina pode ocorrer por diferentes formas: ela pode se ligar através de forças eletrostáticas aos grupos de proteínas ácidas como fosfato, sulfatos e íons carboxílicos, encontrados nos tecidos bucais e saliva, evitando que haja a formação de película adquirida; pode ser adsorvida à cápsula de polissacarídeos extracelulares ou glicocálice; a clorexidina pode competir com os íons cálcio, prevenindo a formação de pontes de cálcio entre a bactéria e as superfícies, bem como das bactérias entre si; pode interferir no metabolismo das bactérias por vários mecanismos, inibição da produção de ácido e inibição da proteólise.

A adsorção à cápsula de polissacarídeos ou glicocálice faz da clorexidina potente agente antiplaca impedindo a adsorção de novas bactérias às anteriores ou

a superfície dental, competindo com os íons cálcio não permitindo as pontes entre superfícies e bactérias.

O fato de inibir a proteólise e alterar o metabolismo bacteriano faz da clorexidina o agente mais eficaz com grande margem de segurança.

Ela interage com os fosfolípídeos produzidos pelos patógenos periodontais que ativam a osteoclastogênese acima dos níveis da osteoblastogênese, e evita, assim, a reabsorção óssea acelerada e perda do implante.

Já em concentrações mais altas ocorre a coagulação e precipitação do citoplasma, pela formação de compostos fosfatados, tendo assim efeito bactericida e irreversível.

Segundo BESIMO et al, 1999 a clorexidina a 2% (verniz Cervitec) permanece ativa e eficaz por cerca de 11 semanas, ou seja, aproximadamente 3 meses em próteses sobre implantes e na área do selamento marginal. Também por essa razão a concentração de 2% foi uma de nossas opções no presente estudo, uma vez que 11 semanas também cobriria a fase de selamento biológico.

O emprego do verniz contendo 10% de clorexidina pareceu oferecer maior margem de segurança, pois a clorexidina atuará nos primeiros 30 a 60 dias com halos de inibição em torno de 12 a 20 mm ao redor do implante conforme RACHED et al, 2005 . Na concentração de 1% incorporada ao verniz, ocorreu atividade antimicrobiana em apenas 1/3 dos espécimes após períodos de 60 dias com halos de inibição de 14 a 15 mm de diâmetro, alcançando sua finalidade plena apenas nos primeiros 20 a 30 dias.(RACHED et al, 2005). Por isso não chegamos a incluir tal concentração em nosso estudo.

4.7 EFICÁCIA ANTIMICROBIANA DO DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA

Foram encontrados halos de inibição da clorexidina 1% até 40%, para *Prevotella melaninogenica* variando de 10,5mm a 23,5mm e halos de 15mm a 25,5 mm para *Porphyromonas gingivales* (SEABRA et al., 2005). A clorexidina apresentou

melhores resultados, sendo a máxima diluição encontrada para *Porphyromonas gingivales* de 3,125% e para *Prevotella melaninogenica* de 0,78%.

Utilizando o método da diluição em agar, AMORIM et al. (2004) testaram a sensibilidade de *Porphyromonas gingivales* (ATCC 33277) e *Prevotella melaninogenica* (ATCC 33563) frente a clorexidina (20%) e observaram a concentração inibitória mínima de 3,40 µg/mL .

A grande vantagem do gel de clorexidina é que a base gel utilizada, o Natrosol, tem pH entre 6,0-9,0 e é solúvel em água ou álcool (FERRAZ et al., 2001).

FERRAZ, em 1999, realizou estudo, *in vitro*, com as seguintes soluções: clorexidina a 2%, clorexidina, gel 2%. Os resultados demonstraram que a clorexidina gel apresentou maiores halos de inibição contra os microrganismos testados em difusão em agar (JEANSONNE & WHITE, 1994). A clorexidina permite ainda aumento na resistência de união e melhoria no desempenho dos primers, que são adesivos dentinários.

PERDIGÃO et al., 1997, indicam a aplicação de clorexidina, pois estas substâncias além de exercerem ação desinfetante, atuarão como umectante de superfície, melhorando assim o desempenho dos primers hidrofílicos que necessitam da presença de umidade relativa.

RABELLO & COELHO, em 1998, concluíram que a utilização da clorexidina 2% não compromete a resistência ao cisalhamento de um sistema adesivo.

Avaliou-se “*in vitro*” a capacidade antimicrobiana de substâncias como o digluconato de clorexidina a 2% sobre bactérias anaeróbias. A clorexidina foi a droga que demonstrou melhor eficiência, com as menores CIMs, ou Concentração Inibitória Mínima (FERREIRA et al, 2003).

A eficácia de soluções aquosas de clorexidina nas concentrações de 0,5%, 1%, 2%, 3% e 4% para desinfecção de superfícies foi testada e comparada com álcool 70% gel e líquido, concluindo que soluções aquosas de clorexidina a partir de 1%, foram eficazes na desinfecção de todas as superfícies para todos os microrganismos testados.(BAMBACE, A. M. J.*, BARROS, E. J. A., JORGE, A. O.,C., 2003).

OKINO et al, (2004) verificaram a capacidade de dissolução tecidual pulpar do digluconato de clorexidina a 2% em forma de solução e de gel. Os resultados

mostraram que as duas formas de clorexidina (solução e gel) e a água destilada não foram capazes de dissolver o tecido.

Estudos reforçam que a clorexidina mistura-se bem com resina na forma verniz, não sendo possível perceber diferenças de fases, aumenta a característica adesiva sobre a superfície que for colocada, assim como a característica hidrofílica e a resistência quando interage com outras resinas. (PRISTA et al, 1996).

A clorexidina tem se mostrado um efetivo agente antimicrobiano no tratamento de gengivite, dispersão da placa já formada e na inibição da recolonização da placa bacteriana (BASSIOUNY e GRANT, 1975; BRINER et al., 1986; SINNES et al,1997; CURY et al., 2000). Esta ação pode ser atribuída à uma redução do número de bactérias na saliva (LÖE et al., 1976; SCHIOTT, BRINER e LÖE, 1976; SCHIOTT et al., 1976).

Tem efeito bactericida antimicrobiano tão bom quanto o hipoclorito de sódio, ativo contra Gram positivos, Gram negativos, levedura, fungos, inclusive *Candida Albicans* e alguns vírus lipofílicos (como HIV, HVB, Herpes, *Influenza*, *Citomegalovírus*) anaeróbicos facultativos e aeróbicos ,mesmo na presença de sangue edemais fluídos corporais. (LASCALA, 1980). O decréscimo do índice de placa foi obtido nos trabalhos de BASSIOUNY e GRANT (1975).

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 MATERIAIS

A substância química de referência utilizada foi o digluconato de clorexidina, a qual é solúvel em meio aquosa. A clorexidina foi incorporada ao verniz, que é um éster do ácido metacrílico. A incorporação foi feita por meio de uma solução alcoólica de clorexidina. A presença, quantificação e qualidade do verniz de clorexidina foram certificados pelo cromatograma e espectrofotômetro. Inicialmente fez-se a coleta de bolsas periodontais ao redor de implantes as quais foram levadas a meio BHI (Brain Heart Infusion). Implantes de titânio com cicatrizadores recobertos com verniz de clorexidina nas concentrações de 2%, 4% e 10%, em volume, foram levados a tubos de Eppendorf com água destilada para avaliação da cinética de liberação da clorexidina. Após a remoção dos implantes dos respectivos tubos, os mesmos foram levados a novos tubos vazios e após secagem do resíduo da água foram analisados ao MEV (Microscópio Eletrônico de Varredura) acoplado com EDS. Os implantes tratados e os não tratados com verniz de clorexidina foram levados à cultura bacteriana e através de swab à placa de Agar sangue para verificação de eficácia antimicrobiana, o que foi confirmado para todas as concentrações de verniz.

5.2 MÉTODOS

A organização do trabalho seguiu as etapas abaixo relacionadas;

Aplicou-se aos implantes uma camada de verniz contendo diferentes concentrações de clorexidina. Após a aplicação do verniz e fotopolimerização, as amostras foram novamente autoclavadas durante 10 minutos, uma vez que a clorexidina não se altera a 121°C (MILLER et al, 1992). Vale ressaltar que a presente fase foi realizada em triplicata e os implantes são autoclavados antes e após a aplicação do verniz.

Os implantes tratados com clorexidina foram levados a tubos de Eppendorf com água destilada para avaliação da cinética de liberação nos intervalos de 6, 12, 24, 48, 72 e 120 h.

Os implantes foram transferidos para novos tubos de Eppendorf vazios. Procedeu-se a avaliação no MEV, acoplado com EDS, já com implantes secos evitando alteração da análise ao MEV, o qual funciona a vácuo.

Os tubos com água destilada, de onde foram removidos os implantes, foram centrifugados para que a camada de verniz se acomodasse no fundo dos mesmos. Após algumas diluições, conseguiu-se a leitura no espectrofotômetro para análise da cinética da clorexidina.

Colheu-se placa dental de bolsa periodontal ao redor dos implantes, sob chama de Bico de Bunsen, e levou-se ao meio BHI para obtenção da cultura donde seriam obtidos os repiques necessários.

Os cinco implantes tratados com clorexidina à 2%, cinco à 4%, cinco à 10% e cinco sem tratamento do verniz de clorexidina foram levados a suspensão da cultura de placa em placa Agar sangue.

Após a coleta dos dados experimentais, *in vitro*, fez-se a análise e discussão dos resultados.

Dentre os dispositivos de liberação lenta o verniz do tipo éster do ácido metacrílico diluiu-se, liberando o fármaco, é biodegradável, biocompatível, bactericida, com propriedade de biomucoadesão e características de degradação e erosão durante a liberação do fármaco. Entre as fórmulas de vernizes comerciais disponíveis destaca-se a do Cervitec que fora testado anteriormente por BESIMO et al., 1999 que contém clorexidina a 2% apresentando eficácia por 11 semanas e que nos serviu de base na formulação, No entanto, em virtude do aumento de fluido crevicular *in vivo* e conseqüente redução de concentração, procuramos testar concentrações maiores, que oferecessem eficácia e segurança para viabilizar a utilização *in vivo*.

Utilizou-se os implantes fornecidos pela Empresa Conexão Sistemas e Próteses (São Paulo, SP):

- superfície anodizada semelhante ao implante comercial Master Vulcano

Actives, da Empresa Conexão Sistemas e Próteses

- superfície tratada com ácido semelhante ao implante comercial Master Porous, da Empresa Conexão
- superfície jateada com partículas de óxido de titânio. Este tipo de tratamento não é comercializado pela Empresa Conexão.

5.2.1 PREPARO DO VERNIZ CONTENDO CLOREXIDINA

O verniz do tipo éster do ácido metacrílico é absolutamente insolúvel em água e solúvel em álcool. No entanto, como a clorexidina necessita ser diluída em água fez-se o uso do digluconato de clorexidina. Inicialmente, fez-se a preparação de uma solução alcoólica de clorexidina, para que não ficassem duas fases separadas, uma de verniz e outra de clorexidina. Essa solução alcoólica de clorexidina, com a concentração desejada, foi incorporada ao verniz. Este procedimento permitiu a obtenção de vernizes contendo clorexidina, com característica de solubilidade em água, uma vez que a solução de clorexidina é uma solução alcoólica que então permite a solução do verniz, solúvel em álcool.

A formulação do verniz contendo clorexidina foi feita da seguinte maneira: para cada 100 ml de verniz contendo clorexidina, 95 ml eram de solução alcoólica de clorexidina a 2%, 4% ou 10% e 5 ml de verniz.

É importante ressaltar que o verniz após formulado nas diferentes concentrações de clorexidina foi embalado em frascos escuros para evitar alteração do produto, uma vez que é fotopolimerizável. Mostra-se na FIG 5.1 a embalagem usada para armazenar o verniz contendo clorexidina.

A preparação do verniz contendo clorexidina foi realizada em três etapas:

1)Preparação da Clorexidina



FIG 5.1– Embalagem escura usada na armazenagem do verniz contendo clorexidina

Para as várias concentrações incorporadas ao verniz, foi feita uma base de digluconato de clorexidina 20% BP/EP, adquirida da "Deg Importação de Produtos Químicos LTDA". O produto foi cedido pelo Laboratório da PMERJ (Polícia Militar do Estado do Rio de Janeiro). O fornecimento ocorre em frascos de 1 litro.

A solução de clorexidine é definida pela concentração do digluconato, conforme a fórmula a seguir;

Digluconato de Clorexidina.....	0,1% a 4,0%
Água Destilada qsp.....	100 a 1.000ml
Etanol 70% qsp.....	100 a 1.000ml

2) Álcool

Para diluir e preparar a solução alcoólica contendo clorexidina empregou-se o álcool hidratado industrial (metanol) e comercializado pela Empresa Rezende S.A. Álcool e Açúcar.

O produto é fornecido em barricas de 50L, no entanto, como a quantidade utilizada foi pequena, só para formar soluções de clorexidina, foi utilizado o álcool retirado de frações destas barricas.

3) A metodologia da incorporação da solução de clorexidina ao verniz foi a seguinte:

As soluções alcoólicas de clorexidina nas várias concentrações foram vertidas em frações do verniz, sem muita agitação. A homogeneização lenta permitiu obter um produto final sem precipitado ou com separação de fases.

5.2.2 QUANTIFICAÇÃO DA CLOREXIDINA

A identificação qualitativa e a determinação quantitativa da clorexidina incorporada ao verniz foram efetuadas por cromatografia líquida de alta resolução de emparelhamento de íons em fase invertida, seguida de detecção por espectrofotometria UV, com identificação pelos tempos de retenção na coluna cromatográfica. Para esta análise foi usado o cromatógrafo em fase líquida de alta resolução com detector de UV de comprimentos de ondas variáveis.

Para determinar a pureza da clorexidina empregou-se o cromatógrafo Varian, V visível, com detector tipo 9050, modelo de bomba 9012, comprimento de onda de 260 nm, e colorímetro ajustado entre 540 a 561nm.

Os picos de retenção foram comparados com os de referência para nos posicionar quanto a um certo padrão de gráfico.

Após a análise dos gráficos observou-se pequenas diferenças de comprimento de onda, obtendo-se grande número de gráficos e tabelas similares. Por conseguinte, nesta parte dos resultados foram selecionados gráficos e tabelas de maior expressão e representativos dos ensaios.

Com este experimento observou-se o percentual de metanol e água contido na solução de clorexidina.

5.2.3 ANÁLISE DA PUREZA DA CLOREXIDINA

O dispositivo do cromatógrafo foi acoplado ao monitor e impressora para obtenção dos gráficos e tabelas. Com os dados obtidos fez-se a comparação com os existentes na literatura e obteve-se a certificação dos resultados.

Para análise do verniz contendo clorexidina empregou-se as amostras com vernizes diluídos em água destilada, durante 6 h. Para evitar uma possível polimerização do verniz durante o processo da análise, com prejuízo na leitura ou

dano ao aparelho, foi realizada a diluição do verniz em água destilada. O objetivo desta análise foi avaliar a presença, pureza e dose da clorexidina incorporada no verniz.

5.2.4 APLICAÇÃO DO VERNIZ NAS AMOSTRAS

Os vernizes com diferentes concentrações de clorexidina foram pincelados em uma única camada, na face superior de cicatrizadores presos aos implantes, fotopolimerizados e autoclavados.

5.2.5 AVALIAÇÃO DA CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DA CLOREXIDINA DOS VERNIZES

Para a análise da degradação, os cicatrizadores tratados com verniz de clorexidina foram fixados aos implantes submetidos a diferentes tratamentos de superfície.

Os cicatrizadores conectados nos implantes após o tratamento com verniz (FIG 5.2 a) e autoclavados foram colocados em tubos de Eppendorf contendo 3 ml de água destilada (FIG 5.2.b). Os tubos foram numerados de acordo com a concentração do verniz e intervalo de tempo de liberação, e acomodados em grades para facilitar o estudo. (FIG 5.2 c).



ERROR: ioerror
OFFENDING COMMAND: image

STACK: