

Eficacia del gluconato de clorhexidina

Effectiveness of the chlorhexidine gluconate

Basado en la investigación: "Análisis de la eficacia in vitro del colutorio de gluconato de clorhexidina a diferentes concentraciones y su atomizador al 0,12% sobre la flora microbiana de la cavidad oral, en la Universidad Latina de Costa Rica entre enero y setiembre de 2013"

Nicole Laprade Camacho⁽¹⁾, Universidad Latina de Costa Rica, Costa Rica, nlaprade91@hotmail.com
Rodolfo Hernández Goyenaga⁽²⁾, Universidad Latina de Costa Rica, Costa Rica, rhg@clinicadental.co.cr
Maria Laura Arias Echandi⁽³⁾, Universidad de Costa Rica, Costa Rica, maria.ariasechandi@ucr.ac.cr
Ana Catalina Valverde Tinoco⁽⁴⁾, Universidad Latina de Costa Rica, Costa Rica, anacatalinav@yahoo.com

RESUMEN

El principal objetivo de la investigación fue analizar la eficacia in vitro del colutorio de gluconato de clorhexidina a diferentes concentraciones y su atomizador al 0,12% sobre la flora microbiana de la cavidad oral. Es de gran interés determinar si tienen la misma eficiencia el colutorio y atomizador del gluconato de clorhexidina al 0,12%; así como si diluir el gluconato de clorhexidina al 0,12% en $\frac{3}{4}$ partes con agua sigue teniendo la misma eficacia. Para comprobar esto se eligieron cinco microorganismos presentes en la cavidad oral, primero se realizó un conteo inicial del número de microorganismos, luego se aplicó el antiséptico mencionado previamente manipulando su concentración y presentación; y, por último, se realizó un conteo final para así comparar los resultados y demostrar su eficacia. Se mostró que tanto el colutorio puro como el diluido presentan la misma seguridad, y esta es menor que la presentada por el spray. Por lo mencionado anteriormente, se puede concluir que el colutorio y el atomizador de gluconato de clorhexidina al 0,12% no tienen la misma garantía, y esta es superada por el atomizador.

PALABRAS CLAVE

Gluconato de clorhexidina, invitro, cavidad oral, eficacia.

ABSTRACT

The main objective of the research was to analyze the in vitro effectiveness of chlorhexidine gluconate mouthwash at different concentrations and spray the same at 0.12% on the microbial flora of the oral cavity. It is of great interest to study whether is equally effective mouthwash atomizer and chlorhexidine gluconate 0.12 % as well as if dilute chlorhexidine gluconate 0,12 % in three quarters with water still has the same effectiveness. To check these five microorganisms were chosen in the oral cavity, first an initial count of the number of microorganisms, then the previously mentioned antiseptic handling and presentation concentration was applied, and finally a final count is performed in order to compare results and demonstrate its effectiveness. It was shown that both pure and diluted mouthwash having the same effectiveness, and this is lower than that presented by the spray. As mentioned above, one can conclude that the mouthwash and spray chlorhexidine gluconate 0,12 % do not have the same effectiveness, being more effective the spray.

KEYWORDS

Chlorhexidine gluconate, invitro, oral cavity, effectiveness.

Recibido: 4 octubre, 2013.

Aceptado para publicar: 22 noviembre, 2013.

A partir de 1994, la clorhexidina es de uso diario en más de noventa países, y es uno de los enjuagues de mayor interés comercial para combatir la placa bacteriana e infecciones que esta puede crear como la gingivitis. Estudios previos expresan que la clorhexidina es el agente antiplaca más eficaz, pues este no solo permite controlar las bacterias, sino también ciertas especies de levaduras como la *Cándida albicans*.

En personas adultos mayores o discapacitadas dadas su condición, el mantenimiento de la higiene oral resulta ser muy difícil y necesitan ayuda o colaboración de sus familiares o cuidadores. En este caso el uso de antimicrobianos es muy útil, y se requiere algo que sea sencillo de aplicar y cómodo, por ejemplo, el *spray* de clorhexidina como opción o complemento al cepillado dental en los pacientes. Este *spray* permite aplicar la clorhexidina de manera rápida y sencilla y parece ser tan eficaz como lo es el colutorio de dicha sustancia.

Es importante recordar que este medicamento no es inocuo y que su uso indiscriminado puede traer efectos adversos. Es responsabilidad del profesional de la salud prescribirlo para los casos y situaciones necesarias, y tratar de evitar en la medida de lo posible que el paciente lo utilice sin control.

ANTECEDENTES DEL PROBLEMA

En la década de 1940 científicos de Inglaterra realizaron un estudio contra la malaria, y a consecuencia de esto surge la clorhexidina, aunque esta nunca fue utilizada para curar tal enfermedad. No fue sino hasta 1954 cuando esta se comercializa por primera vez con el fin de ser un antiséptico cutáneo. En 1969 Harold Løe demostró, en un estudio a corto plazo, que un

compuesto de la clorhexidina podía prevenir el desarrollo de la placa dental. Morante (2003)

En investigaciones de la Universidad de Chile se midió la inhibición del desarrollo *invitro* de la clorhexidina sobre el *S.mutans* y la *Cándida albicans*. Se utilizaron concentraciones al 0,12 % y 0,1% y se midió el efecto de la clorhexidina sobre la placa en 24 horas. Concluyeron que la clorhexidina al 0,1% es capaz de tener actividad antiplaca y antimicrobiana cuando es usada en colutorios, pero no fueron necesarias concentraciones más elevadas, lo que disminuye el riesgo de aparición de efectos adversos. Yévenes, Reyes, Campos, Saragoni (2002)

La Universidad Central de Venezuela realizó un estudio, en el cual se prueban cinco antisépticos, incluida la clorhexidina al 0,12% contra *Streptococcus aureus* y *Escherichiacoli*, midiendo su halo de inhibición. La clorhexidina es el segundo menos eficaz sobre dichas cepas bacterianas. Se concluyó que los antisépticos generalmente utilizados en la práctica odontológica no siempre son los que tienen un mejor efecto antibacteriano, por lo que se propone que hay que informarse y estar actualizado sobre los medicamentos que se utilizan hoy. Muñoz, Gómez, Moreno (2010)

En un estudio realizado por Stoeken, se seleccionaron aleatoriamente 3 grupos de personas: en el primero se utiliza clorhexidina en *spray* al 0,12%, el segundo *spray* al 0,2% y el tercero enjuague al 0,2%. Se llevó a cabo una profilaxis previa a la prueba, se suspendió la higiene oral por tres días y se realizó el índice de placa. Los resultados expresan que la diferencia entre enjuague y el *spray* es altamente significativa, mientras que entre ambos *spray* no difieren uno del otro. Los *spray* no fueron

tan eficaces como el enjuague en la inhibición de la placa, por lo que probablemente necesitan dosis más altas para igualar su eficacia con el enjuague. Aun así la aplicación del *spray* es tan fácil para los pacientes discapacitados que su garantía y seguridad de control de placa es alta, y donde el enjuague bucal tiene sus limitantes de uso. Stoeken (2007)

JUSTIFICACIÓN

La placa bacteriana es el principal factor causante de la inflamación gingival, por lo tanto es importante educar y motivar al paciente para realizar una correcta higiene oral y seguir las instrucciones del odontólogo, y así de esta manera se controla la cantidad de microorganismos presentes.

El control de placa bacteriana, se basa en una buena técnica de cepillado, así como otros hábitos higiénicos orales adecuados, incluyendo el uso de la seda dental. Es evidente que una gran parte de la población no consigue un adecuado control de placa, ya que este se refleja en la alta incidencia de gingivitis y periodontitis, seguida de un alto índice de caries.

El uso del colutorio a base de gluconato de clorhexidina es uno de los más empleados actualmente en la odontología y uno de los más eficaces para el control de placa e inflamación gingival. Este se presenta en varias concentraciones y presentaciones, cada una con un fin respectivo y su prescripción médica. Es importante hacerle ver al paciente que no se puede variar dicha dosis, que se debe seguir las instrucciones del odontólogo y estas las del fabricante.

Actualmente la higiene no debe ser una cuestión estética ni de buena educación, sino una necesidad, si se quiere conservar la salud de la

boca y de los dientes amenazados por la infección y, asimismo evitar el uso indiscriminado de la clorhexidina para evitar la resistencia de los microorganismos y que esto se vuelva un problema de salud pública. La salud bucal es parte primordial de nuestro cuerpo, no sólo se demuestra la cultura de la higiene personal, sino también el estado de salud general.

MÉTODO

Esta investigación es del tipo de estudio cuantitativo y se centra en un diseño experimental, específicamente como un cuasi experimento; por lo anterior se puede deducir que el tipo de muestra será no probabilística. Los microorganismos por estudiar fueron elegidos a conveniencia del estudio, específicamente se hizo énfasis en las siguientes bacterias: *S.mutans*, *S.mitis*, *S. aureus*, *S. sanguis*, *E. coli* y el hongo *C.albicans*.

DESCRIPCIÓN DE INSTRUMENTOS

En esta investigación el instrumento de medición fue mediante la observación cuantitativa y los resultados observados se registraron en una tabla. Esta se hallaba compuesta por cinco columnas, donde se colocó el nombre del microorganismo por evaluar, las unidades formadoras de colonias (UFC) iniciales (antes de recibir el tratamiento con el gluconato de clorhexidina), y luego la cantidad de colonias presentes después de utilizar el colutorio al 0,12% puro, *spray* al 0,12% y el colutorio diluido en $\frac{3}{4}$ partes con agua. (Figura 1) En las unidades de colonias inicial, se tratará de tener 1×10^8 en todas las poblaciones de los microorganismos para contar con el mismo número de referencia y a partir de ahí comparar el resultado obtenido. Hernández, Collado, Baptista (2010)



Fig 1: Tres presentaciones de la clorhexidina



Fig 2: Cepas ATCC

METODOLOGÍA

Primero se procedió a realizar el crecimiento de bacterias, en caldo tripticase soya por separado y se incubaron a 35°C por 24 horas, de manera de que se estimule su crecimiento. (Figura 2) Una vez crecidas, se procedió a hacer un recuento total de cada una de ellas, siguiendo el siguiente procedimiento: para la preparación inicial de las diluciones, se tomó 10 mL de cada una de las suspen-

siones previamente inoculadas y se les agregó 90 mL de agua peptonada estéril (APE) al 0,1% lo cual representa la primera dilución 10^1 . A partir de esta se prepararon diluciones seriadas decimales entre 10^8 y 10^9 haciendo uso de tubos con 9 mL APE. Luego se realizó el recuento total aerobio mesófilo en el cual se tomó 1 mL de las diluciones previamente preparadas y se inocula en placas de Petri estériles rotuladas. A cada placa se le agregó Agar Estándar + 2,3,5-cloruro



Fig 3: Incorporación Desinfectante



Fig 4: 54 placas de petri incubadas

de TrifenilTetrazolium (TTC). Seguidamente se incubaron las placas a 35 °C 48 horas en atmósfera aerobia. Y, por último, se cuentan aquellas placas que tengan entre 25 y 30 UFC y se calcula el número de bacterias presentes para cada microorganismo. Se tomó como grupo de control negativo utilizando agua peptonada estéril para que no haya choque osmolar. Luego se procedió a realizar la preparación del inóculo inicial y contacto con el desinfectante; para esto se mezclaron 10 mL de cada una de los microorganismos antes citados en un *erlenmeyer* o *beaker*. Se tomó 1 mL de la anterior mezcla y se le agregó cada

agente desinfectante en este caso el gluconato de clorhexidina (1mL) como colutorio al 0,12% puro (1), en spray al 0,12% (2) y como colutorio al 0.12% diluido en ¾ partes con agua (3) por el tiempo de contacto descrito por el proveedor (1 minuto). La dilución del colutorio en agua sería una dilución uno en cuatro, por lo que a 15ml de clorhexidina al 0.12% se agregaron 45 ml de agua para obtener un volumen final de 60ml de clorhexidina al 0,03%. Luego se procedió a rayar la caja de petri con agar sangre para observar el crecimiento de las bacterias con el agente desinfectante incorporado. (Figura 3 y 4). Se realizó un segundo recuento total aerobio mesófilo para calcular el número de bacterias remanentes. Para considerar que el desinfectante ha sido eficaz, debe bajar mínimo 5 logaritmos las poblaciones bacterianas. El conteo se realiza contando placas que tengan entre 25 y 250 colonias, se declara incontable cuando a simple vista ya no se pueden contar porque son demasiadas, o el crecimiento es tanto que ya no se pueden distinguir las colonias, porque estas pegan entre sí. (Arias ML. 2013)

RESULTADOS

Se realizaron tres repeticiones con cada presentación del gluconato de clorhexidina, por lo que al final se obtuvieron nueve muestras de cada microorganismo, con un total de cincuenta y cuatro muestras. Se considera que un desinfectante es eficaz cuando al aplicarlo al microorganismo logra disminuir su crecimiento en cinco diluciones; de lo contrario, se considera que no lo fue. Para este estudio, en términos generales se obtuvo que el gluconato de clorhexidina fue eficaz en la mitad de los microorganismos estudiados. El colutorio tanto puro como diluido sirvió en una tercera parte de las muestras, mientras que en presentación

como atomizador fue positivo en la mitad de las muestras.

El colutorio de gluconato de clorhexidina al 0,12% fue eficaz para *C.albicans* y *S. aureus*; el *spray* para *C. albicans*, *S. sanguis* y *S. mitis*; por último el colutorio diluido en ¾ partes con agua sirvió para *C. albicans* y *S. sanguis*.

Hay bacterias como el *S. aureus* y la *E.coli*, en las que ya se han demostrado que la clorhexidina no es eficaz, se hace énfasis en que la presión selectiva ambiental realizada por antisépticos y desinfectantes ha generado una respuesta de tolerancia en los microorganismos, y así evadir con eficacia la acción bactericida de algunos de estos agentes químicos. Hay que recordar que las bacterias son seres vivos en constante evolución para lograr su supervivencia, lo que las obliga a generar nuevos mecanismos de resistencia, por lo que un producto que anteriormente mostró eficacia en su control, puede variar con el tiempo. (Figura 5)

Así también hay estudios que demuestran comparaciones entre la aplicación en *spray* y colutorio de clorhexidina al 0,12% bajo las mis-



Fig 5: Colonias *E. coli*

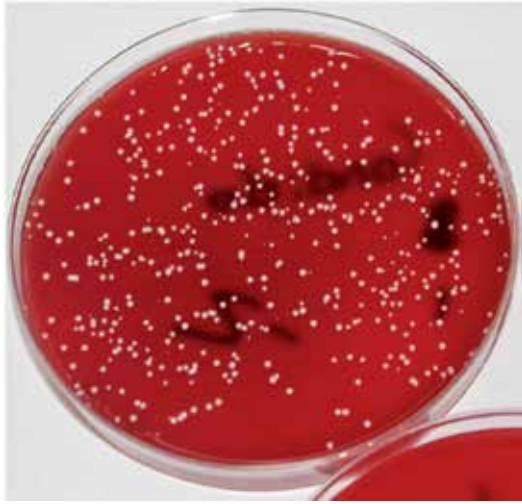


Fig 6: UFC inicial *C.albicans*



Fig 7: UFC remanentes *C. albicans*

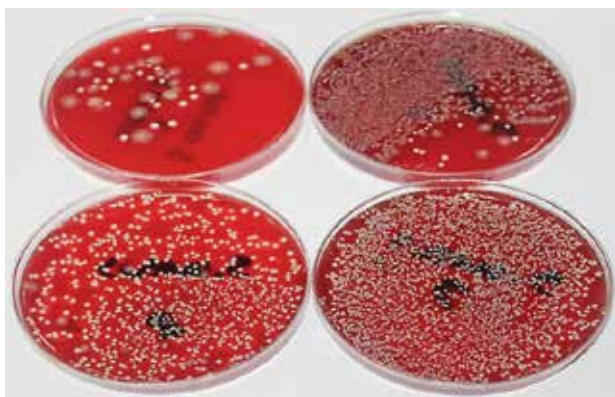


Fig 8: *S. mutans*:

- (1) UFC iniciales, UFC remanentes
- (2) colutorio puro 0,12%,
- (3) spray 0.12%,
- (4) colutorio diluido ¾ partes agua

mas condiciones y se ha demostrado que no existe una diferencia significativa entre ambos, cuando se rocía bajo condiciones óptimas, por lo que el *spray* es eficaz, ya que se puede conseguir igual inhibición de placa con un volumen menor, y así se disminuyen sus efectos adversos.

Específicamente para la bacteria *S. mutans* se obtuvo en este experimento que el gluconato de clorhexidina no fue eficaz para ninguna de las presentaciones. Estos resultados difieren con otros estudios, aunque diferentes factores que pudieron haber interferido en los resultados del estudio. Es importante tener en cuenta que no es lo mismo realizar un estudio *in vitro* que *in vivo*, ya que no se pueden reproducir las mismas condiciones que hay en la boca. La fuerza mecánica realizada por el paciente al hacer los enjuagues es de importancia y esta no se puede reproducir en un estudio *in vitro*, así como hay que tener en cuenta que generalmente los pacientes lo usan dos veces al día; cada doce horas y por varios días, y esto tampoco se reprodujo en el estudio. La presión que ejerce el operador al aplicar el *spray* es diferente en todas las personas, algo que es incontrolable así como la distancia a la que se realizó la atomización. Es importante mencionar también que el tiempo de contacto utilizado fue corto, y de ahí la importancia de ser repetitivo. Y otro factor importante es que se utilizaron cargas bacterianas muy altas, más de lo que podemos encontrar en la boca bajo unas condiciones normales. También se debe destacar la posibilidad de que el efecto de los antisépticos se puede afectar por la absorción de las proteínas presentes en el medio de cultivo, ya que la presencia de material orgánico puede reducir el efecto de los antisépticos en general. (Figura 8)

Un ejemplo de lo contrario a lo sucedido con el *S. mutans* es lo ocurrido con la *Cándida albicans*, ya que no hubo crecimiento bacteriano en ninguna de las muestras; lo cual coincide con la mayoría de estudios realizados por diferentes autores. Incluso en un estudio se demostró que la clorhexidina al 0,1% es capaz de tener actividad antiplaca y antimicrobiana cuando es usada en colutorios, pero no son necesarias concentraciones más elevadas, lo que disminuye el riesgo de aparición de efectos adversos. Esto justifica su eficacia con el spray y la presentación diluida de la clorhexidina, lo cual es importante de tomar en cuenta dependiendo de la patología que se desea controlar. (Figura 6 y 7)

RECOMENDACIONES Y CONCLUSIONES

Se puede concluir en forma general, que el gluconato de clorhexidina al 0,12% *in vitro*, manipulado su concentración y presentación fue eficaz en la mitad de los microorganismos estudiados presentes en cavidad oral.

De las tres concentraciones utilizadas del gluconato de clorhexidina, ambos colutorios, tanto el puro como el diluido, tuvieron la misma eficacia, pero esta fue superada por el *spray*, el cual demostró ser la más eficaz. Por lo descrito anteriormente el colutorio y el atomizador del gluconato de clorhexidina al 0,12% no tienen la misma eficacia.

Es importante instruir a estudiantes y odontólogos sobre la importancia de tener una constante información y actualización de los diferentes medicamentos que se ofrecen en el mercado, para reducir los niveles de microorganismos presentes hoy en la cavidad oral.

Según los resultados de este estudio específicamente, si se desea controlar una patología como *candidiasis*; se le pueden recomendar al paciente diluir hasta $\frac{3}{4}$ partes la clorhexidina para aplicarla en la prótesis, ya que a esta concentración continúa siendo eficaz. De igual manera si esta se desea utilizar como desinfectante de prótesis.

Hay que recordar que el gluconato de clorhexidina es un coayudante en el control de la placa bacteriana, y no sustituye la revisión periódica realizada por el odontólogo en el consultorio dental.

En pacientes que sufren alguna limitación física o mental, de difícil manejo o adultos mayores y no puedan realizar los enjuagues con el gluconato de clorhexidina, existe la opción de aplicar el medicamento sin alterar su composición con la presentación del *spray* y de esta manera ayudarlos a controlar la flora bacteriana. Si se va utilizar el gluconato de clorhexidina al 0,12% en *spray*, es importante tener en cuenta de tratar de realizar un número de atomizaciones de tal manera que se obtenga la misma cantidad atomizada de mililitros como en el enjuague, que es la dosis que recomienda el fabricante para obtener su eficacia.

Y por último se debe recordar que no es lo mismo un estudio *in vitro* que *in vivo*, debido a la imposibilidad de reproducir en el laboratorio todas las condiciones ambientales de la cavidad oral. ■■■

1 Nicole Laprade Camacho
Cirujana dentista, Universidad Latina de Costa Rica
2 Rodolfo Hernández Goyenaga
Cirujano Dentista, Universidad de Costa Rica
Estudios de postgrado en Periodoncia, Universidad Complutense de Madrid
Especialista en Implanto-Prótesis, Universidad Complutense de Madrid
Profesor de Periodoncia, Universidad Latina de Costa Rica
3 María Laura Arias Echandi
Microbióloga química Clínica, Universidad de Costa Rica
Especialista Microbiología Médica, Karolinska University
Directora laboratorio de alimentos, Universidad de Costa Rica
4 Ana Catalina Valverde Tinoco
Cirujana dentista, Universidad de Costa Rica
Máster Science en Periodoncia, Ohio State University
Profesora de Periodoncia, Universidad Latina de Costa Rica

BIBLIOGRAFÍA

Aguilera M., Romano E., Ramos N. Rojas L. (2011). Sensibilidad del *Streptococcus mutans* a tres enjuagues bucales comerciales (Estudio *in vitro*). *Odus científica*. Está indicado en: volumen 12, número 1, de la página 7 a la 13.

Bascones A., Morante S. (2006). Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual. *Avances periodoncia e implantología*. Está indicado en: volumen 8, número 1, de la página 31 a la 59.

Bojorquez Y. (2008). Efectos del spray de clorhexidina al 0.12% en pacientes con periodontitis crónica durante la etapa de mantenimiento. Tesis doctoral no publicada. Universidad de Granada, Nicaragua.

Calsina G. y Serrano J. (2005). ¿Existen realmente diferencias clínicas entre las distintas concentraciones de clorhexidina? Comparación de colutorios. *RCOE*. Está indicado en: volumen 10, número 4, de la página 457 a la 464.

Clavero J., Baca P., Junco P, González M. (2003). Effects of 0.2% chlorhexidine spray applied once or twice daily on plaque accumulation and gingival inflammation in a geriatric population. *Journal of clinical periodontology*. Está indicado en: volumen 30, número 9, de la página 773 a la 777.

Hernández R., Fernández C., Baptista P. (2010). *Metodología de la investigación*. (5ª ed.). México: McGraw-Hill Interamericana.

Laprade, N. (2012, noviembre). Entrevista con María Laura Arias Echandi, directora del laboratorio de alimentos y aguas de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica.

Liébana J. (2002). *Microbiología oral*. (2 Ed). México: McGraw-Hill Interamericana.

Llovera JM., (2008). Clorhexidina: Un antiséptico de nuestros tiempos. Consideraciones útiles para nuestra práctica clínica. *Revisiones SEMG*. Está indicado en: 104, pp. 95-103

Marsh PD. Martin M., (2012). *Microbiología oral*. (5 Ed). Ed: Amolca Colombia.

Montiel J., Almerich J. (2002). Estudio de la eficacia de dos tratamientos anti placa y antigingivitis en un grupo de discapacitados psíquicos. *Medicina oral*. Está indicado en: volumen 7, número 2, pp.136-143

Morante S. (2003). Valoración cruzada y a doble ciego, mediante el modelo de gingivitis experimental, de la eficacia de tres colutorios de clorhexidina sin alcohol frente la prevención de gingivitis y a la neo formación de placa supra gingival. Tesis doctoral no publicada, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.

Muñoz J., Gómez P, Moreno A. (2010). Efecto antibacteriano en cinco antisépticos de uso en cavidad bucal. *Acta odontológica venezolana*. Está indicado en: volumen 49, número 1, pp.1-15.

Newman M., Takei H., Klokkevold P, Carranza F (2010). *Carranza Periodontología clínica*. (10ª Ed.). México: McGraw-Hill Interamericana.

Stiefel DJ. (2002). Dental care considerations for disable adults. *Speccare dentist*. Está indicado en: volumen 22, número 3, pp. 26-32.

Stoeken J, Versteeg P, Rosema N., Timmerman M., Van der Velden U., Van der Weijden G. (2007). Inhibition of "De Novo" Plaque Formation With 0.12% Chlorhexidine Spray Compared to 0.2% Spray and 0.2% Chlorhexidine Mouthwash. *Journal of clinical periodontology*. Está indicado en: volumen 78, número 5, pp. 899-904.

Ucar A., Rojas G, Ballester A. (2007). Acción de agentes químicos en la eliminación de Cándida albicans sobre prótesis dentales. Acta odontológica venezolana. Está indicado en: volumen 45, número 2, de la página 1 a la 9

Yevenes I., Reyes J., Campos N., Saragoni V. (2002). Efecto inhibitorio en placa microbiana y propiedades antibacterianas de enjuagatorios de clorhexidina. Avances en periodoncia e implantología. Está indicado en: volumen 15, número 1, pp.19-24.