

GUILHERME HENRIQUE ROSA MARTINS

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA CLOREXIDINA
EMPREGADA COMO AGENTE IRRIGANTE E MEDICAMENTOSO EM
ENDODONTIA: ESTUDO CRÍTICO DOS MODELOS
METODOLÓGICOS**

São Paulo

2008

Guilherme Henrique Rosa Martins

**Avaliação Microbiológica da Clorexidina empregada como
agente irrigante e medicamentoso em Endodontia: Estudo crítico
dos modelos metodológicos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas.

Área de Concentração: Endodontia

Orientador: Prof. Dr. Manoel E. de L. Machado

São Paulo

2008

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Martins, Guilherme Henrique Rosa

Avaliação microbiológica da clorexidina empregada como agente irrigante e medicamentoso em endodontia. Estudo crítico dos modelos metodológicos / Guilherme Henrique Rosa Martins; orientador Manoel E. de L. Machado. -- São Paulo, 2008.

78p.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas. Área de Concentração: Endodontia) -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

1. Antiinfeciosos – Irrigantes do canal radicular 2. Endodontia

CDD 617.6342
BLACK D242

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE E COMUNICADA AO AUTOR A REFERÊNCIA DA CITAÇÃO.

São Paulo, ____/____/____

Assinatura:

E-mail:

FOLHA DE APROVAÇÃO

Martins GHR. Avaliação Microbiológica da Clorexidina empregada como agente irrigante e medicamentoso em Endodontia. Estudo crítico dos modelos metodológicos [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

São Paulo, / / .

Banca Examinadora

1)Prof(a). Dr(a)._____

Titulação:_____

Julgamento:_____Assinatura:_____

2)Prof(a). Dr(a)._____

Titulação:_____

Julgamento:_____Assinatura:_____

3)Prof(a). Dr(a)._____

Titulação:_____

Julgamento:_____Assinatura:_____

DEDICATÓRIA

Ao meu Orientador Prof. Dr. Manoel Eduardo de Lima Machado, pela sua sapiência, ética, postura e conduta, que foram fundamentais na minha formação. Compartilhar momentos de amizade e profissional resultou numa busca incansável e determinada no aperfeiçoamento de nossa relação como Mestre e discípulo. Mais uma vez, muito obrigado por tudo!

Aos Professores da Disciplina de Endodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pelo ensinamento e convivência científica compartilhada.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação em Endodontia, pela amizade e companheirismo em todos os momentos, principalmente aos amigos Luiz Antonio Bichels Sapia e Márcia Regina Ramalho da Silva Bardauil.

Aos meus familiares, amigos, turma do consultório, equipe de Endodontia e diretoria da ACDBS.

“Nenhum homem realmente produtivo pensa como se estivesse escrevendo uma dissertação”.

Albert Einstein

Martins GHR. Avaliação Microbiológica da Clorexidina empregada como agente irrigante e medicamentoso em Endodontia. Estudo crítico dos modelos metodológicos [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

RESUMO

Neste trabalho, foi realizado um estudo crítico dos modelos metodológicos *in vivo* e *in vitro* sobre a avaliação microbiológica da clorexidina empregada como agente irrigante e medicação intracanal na terapia endodôntica. Para tanto, foi realizada uma busca sistemática nas bases de dados: Medline, Lilacs e BBO nos últimos dez anos sobre o assunto em questão. Foram selecionados os trabalhos que avaliaram a clorexidina de uma maneira não combinada com outras substâncias ou fármacos, abordando sua utilização tanto como irrigante endodôntico, e como medicação intracanal. Para uma melhor análise, os trabalhos foram agrupados de acordo com a forma de uso e metodologia com seus dados tabulados, respectivamente: Clorexidina como irrigante *in vitro*, Clorexidina como irrigante *in vivo*, Clorexidina como medicação intracanal *in vitro* e Clorexidina como medicação intracanal *in vivo*. Na análise, pode-se observar a efetividade antimicrobiana da clorexidina como irrigante nos ensaios laboratoriais e clínicos, sendo nas formas de gel e líquida com variação na concentração de 0.2 a 2%. Quanto o uso da clorexidina como medicação intracanal, pode ser constatada sua atividade antimicrobiana em ambos ambientes experimentais, embora com poucos trabalhos *in vivo*, seu desempenho foi observado apresentando largo espectro de ação quando utilizada a 2% em gel por um período de sete dias.

Palavras-Chave: Clorexidina, Irrigantes do canal radicular, Antiinfeciosos locais, Tratamento do canal radicular, Periodontite periapical, Metodologia

Martins GHR. Microbiological assessment of the Chlorhexidine applied as root canal irrigant and dressing in Endodontics. A Critical study of methodological models [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

ABSTRACT

In this essay, it was realized a critical study of the methodological models, *in vivo* and *in vitro*, about the microbiological assessment of the chlorhexidine employed as root canal irrigants and dressing in the Endodontics. A systematic search was carried out on the databases: Medline, Lilacs and BBO from the last ten years concerning the respective subject. There were selected the papers which evaluated the chlorhexidine as an individual group, without joined to another substances or drugs, broaching its application as root canal irrigants as much as dressing. For improved analyzed, the investigations were divided according its way of use and methodology, with its data tabulated in the respective way: Chlorhexidine as irrigant *in vitro*, Chlorhexidine as irrigant *in vivo*, Chlorhexidine as intracanal dressing *in vitro* and Chlorhexidine as intracanal dressing *in vivo*. At the analysis, it can be observed the antimicrobial effectiveness of the chlorhexidine as irrigant in the clinical and laboratories tests, being the gel and liquid form with concentration changed from 0.2 to 2%. About the chlorhexidine as root canal dressing, it can be evidenced its antimicrobial activity in both experimental methods, although a few trials *in vivo*, its performance was observed showing a large spectral action when used in 2% gel for a period of seven days.

Keywords: Chlorhexidine, Root canal irrigants, Local anti-infective agents, Root canal treatment, Periapical Periodontitis, Methodology

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 – Clorexidina como irrigante, <i>in vitro</i>	50
Tabela 5.2 – Clorexidina como irrigante, <i>in vivo</i>	55
Tabela 5.3 – Clorexidina como medicação intracanal, <i>in vitro</i>	57
Tabela 5.4 – Clorexidina como medicação intracanal, <i>in vivo</i>	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CHX	Clorexidina
Ca(OH) ₂	Hidróxido de Cálcio
NaOCl	Hipoclorito de Sódio
PBS	Solução Tampão Salina
UFC	Unidade Formadora de Colônia
BSA	Albumina bovina sérica
MTAD	Solução irrigante endodôntica a base de isômero de Tetraciclina, ácido cítrico e detergente (Tween)
BHI	Brain Heart Infusion
ATCC	American Type Culture Collection
RCM	Reinforced Clostridium Medium
CIM	Concentração inibitória mínima
CBM	Concentração bactericida mínima
SDS-Page	Eletroforese do Gel de poliacrilamida do Dodecil sulfato de sódio
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
LPS	Lipopolissacarídeos

mg mL ⁻¹	miligramas por mililitros
mL	mililitros
μm	micrometros
μL	microlitros
UE/mL	unidades endotóxicas por volume de diluente.

LISTA DE SÍMBOLOS

h	horas
min	minutos
s	segundos
°C	graus Celsius
%	Porcentagem
β	Beta

SUMÁRIO

p.

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	14
2.1 Clorexidina como irrigante, estudos <i>in vitro</i>	15
2.2 Clorexidina como irrigante, estudos <i>in vivo</i>	28
2.3 Clorexidina como medicação intracanal, estudos <i>in vitro</i>	32
2.4 Clorexidina como medicação intracanal, estudos <i>in vivo</i>	44
3 PROPOSIÇÃO.....	47
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	48
5 RESULTADOS.....	49
6 DISCUSSÃO.....	63
7 CONCLUSÕES.....	73
REFERÊNCIAS.....	74

1 INTRODUÇÃO

A infecção endodôntica no sistema de canais radiculares é reduzida através da instrumentação, do uso de substâncias químicas e do emprego das medicações intracanal. Com a evolução tecnológica das técnicas e dos instrumentais endodônticos, tais como os instrumentos rotatórios, observamos uma redução do tempo despendido na terapia endodôntica. Neste particular uma preocupação passa a ser observada e vinculada a algum tipo de comprometimento na ação das substâncias químicas utilizadas a este fim. Deste modo, é imperativo que novos estudos sejam realizados com a proposta de se obter fármacos com alta performance em tempo reduzido.

Uma das substâncias que atualmente desperta um grande interesse nas novas investigações é a clorexidina. Tal característica se deve a sua ação eficaz no combate à infecção, além de apresentar ação residual por tempo prolongado. Sua indicação não se limita ao papel de irrigante, mas também atua como medicação intracanal.

Do ponto de vista metodológico, a clorexidina vem sendo estudada com ênfase a sua ação antimicrobiana. Neste caso, os ensaios são realizados sob vários enfoques e métodos no sentido de compreender seu mecanismo de ação e as conseqüências biológicas de sua utilização.

Todavia, fatos como: ação restrita a um determinado grupo de bactérias, veículos ou diferentes formas de uso (gel ou líquido), concentrações variáveis, se inativada por matéria orgânica ou outras substâncias químicas utilizadas na terapia endodôntica, justificam a execução de diferentes investigações.

Neste sentido, observando as publicações científicas, detectamos que as pesquisas laboratoriais apresentam obviamente situações muito diferentes entre a realidade clínica e biológica. Tais condições estão vinculadas ao próprio ecossistema presente no modelo experimental e dentre as inúmeras interferências podemos realçar: as interações entre fármacos, fluídos ou tecidos periapicais. Assim sendo, a pesquisa bibliográfica tem como proposta perfilar estes ensaios na busca de um desenvolvimento crítico e analítico obtido pela leitura e reflexão, visando unir estas informações no sentido de elaborar opinião sobre o emprego da clorexidina na Endodontia.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Neste capítulo, inicialmente foram abordadas duas revisões literárias sobre o assunto. Seguidamente, para um melhor entendimento e seqüência lógica do tema estudado, a divisão foi realizada de acordo com o emprego da Clorexidina no tratamento endodôntico e quanto à metodologia empregada, com trabalhos *in vitro* e *in vivo*. Sendo assim:

Stuart et al. (2006) em uma revisão da literatura sobre o papel do *E.faecalis* no insucesso do tratamento endodôntico e dos conceitos atuais no retratamento, preconizaram a irrigação final com a solução de clorexidina a 2% devido a seu grande poder antimicrobiano e substantividade. Quanto à medicação intracanal, esta deve ser em forma de gel a 2% por sete dias, período suficiente para erradicar o *E.faecalis* do canal radicular e dos túbulos dentinários. Ademais, uma pasta a base de gel de CHX a 2% mais hidróxido de cálcio pode ser utilizada como medicação intracanal, para a complementação do processo de desinfecção do sistema de canais radiculares. Os autores concluíram que desse modo, consegue-se uma boa desinfecção do canal radicular nos casos de retratamento.

Zehnder (2006) num artigo de revisão relatou os requisitos das soluções irrigantes e desinfetantes do sistema de canais radiculares e de que maneira devem ser empregadas, para se obter um bom resultado. As soluções de hipoclorito de sódio são recomendadas como as soluções irrigantes principais, por causa do seu largo espectro de ação antimicrobiano e de sua capacidade de dissolver tecido necrótico remanescente, apesar da discussão em torno de suas propriedades químicas e toxicológicas. Ademais, recomenda o emprego de substâncias quelantes

para a remoção do smear layer antes da obturação do sistema de canais radiculares. Baseado nestes aspectos, o autor propôs um protocolo de irrigação em que discute alguns aspectos técnicos e das tendências, como o uso de solução de clorexidina a 2%.

2.1 Clorexidina como irrigante, estudos *in vitro*

Os trabalhos apresentados a seguir se referem a clorexidina, empregada como agente irrigante:

Sen, Safavi e Spångberg (1999) avaliaram *in vitro* a atividade antifúngica da CHX a 0.12%, do NaOCl a 1% e 5% em 266 secções radiculares inoculadas por *C.albicans* com metade da amostra sem o smear layer. O grupo com a remoção do smear layer teve contato com as substâncias testadas por 1, 5, 30 min e 1h, em seguida as amostras foram mantidas em meio de cultura por 24h para análise de turbidez. Com o smear layer, as substâncias mostraram atividade antifúngica apenas no grupo de 1h para todas as soluções. Entretanto, para o grupo sem smear layer, o NaOCl a 5% mostrou ação antifúngica depois de 30 min. Os autores concluíram que a efetividade antimicrobiana das soluções irrigantes deve ser reavaliada, principalmente em pacientes com predisposição a candidíase oral.

Ferraz et al. (2001) investigaram a capacidade do gel de gluconato de clorexidina a 2% na desinfecção dos canais radiculares contaminados por *E.faecalis*. Para isto, foram utilizados 95 dentes humanos unirradiculares extraídos e divididos em cinco grupos, empregando o gel e a solução de gluconato de clorexidina a 2%, o hipoclorito de sódio a 5.25% e como controle negativo, água destilada e natrosol em

gel. Para análise antimicrobiana, amostras foram retiradas de dentro do canal por cones de papéis esterilizados e colocados em meio de cultura por 48h, seguidamente da leitura da turbidez do meio de cultura. Para análise de limpeza das paredes, as amostras foram examinadas pela microscopia eletrônica de varredura avaliando a quantidade de debris e obliteração dos túbulos. Os resultados indicaram que o gel de clorexidina promoveu a limpeza da parede dentinária, e teve capacidade antibacteriana comparável com o que às outras soluções obtiveram. O gel de gluconato de clorexidina a 2% tem indicação como irrigante endodôntico.

Spratt et al. (2001) verificaram o efeito antibacteriano das soluções de 5 ppm de prata coloidal, hipoclorito de sódio a 2.25%, clorexidina a 0.2%, 10% de iodopovidona e PBS como controle em biofilmes de única espécie oriundos de isolados do canal radicular. Os biofilmes foram cultivados sobre filtros de disco de membrana e sujeitos as soluções testadas por um período de 15 min e 1h. As células bacterianas foram removidas dos discos e incubadas anaerobicamente para a contagem de UFC. A iodopovidona e o hipoclorito de sódio foram as soluções mais efetivas que a CHX exceto contra o *P.micrus* e *P.intermedia* em que foram 100% efetivos. Após 1h de incubação eles eliminaram em 100% todos os microorganismos testados. Entretanto, após 15 min, essas soluções demonstraram efeitos bactericidas que dependiam da cepa. Quanto ao *F.nucleatum*, nenhuma solução eliminou a cepa em 15 min de contato, mas o hipoclorito de sódio, a iodopovidona e a CHX foram efetivas após 1h. A prata coloidal foi inefetiva contra todas as cepas testadas. O hipoclorito de sódio foi a solução mais eficiente testada seguida da iodopovidona.

Leonardo et al. (2001) avaliaram *in vitro* a atividade antimicrobiana das soluções irrigantes - Endoquil (detergente do óleo de rícino), solução de gluconato

de clorexidina e solução de NaOCl a 0.5% e 2%, contra cepas de *cocci* gram-positivos (*Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, e *Streptococcus sobrinus*), *rods* gram- negativos (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*), e ao fungo *Candida albicans*. A atividade foi avaliada através do método da técnica de duas camadas de difusão em ágar, mantendo as placas 2h para a pré-difusão das soluções e incubação por 24h em jarro de anaerobiose. Os testes foram executados em duplicata e as medições dos halos de inibição foram realizadas. Todas as cepas bacterianas foram inibidas pelo gluconato de clorexidina a 2%. Endoquil foi efetivo contra os microorganismos gram-positivos e o NaOCl a 0.5% foi efetivo contra o *S. aureus*.

Estrela et al. (2003) analisaram o efeito antimicrobiano do NaOCl a 2% e da CHX a 2% pelo teste de difusão em ágar e de exposição direta contra cinco cepas de microorganismos e a mistura deles (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* e *Candida albicans*). A melhor efetividade antimicrobiana ao teste da exposição direta foi do grupo do hipoclorito de sódio, e a clorexidina para o teste de difusão em ágar. O efeito antimicrobiano foi influenciado pelos métodos experimentais, indicadores biológicos e tempo de exposição.

Sassone et al. (2003a) analisaram *in vitro* a atividade antimicrobiana do NaOCl (1% e 5%) e da CHX (0.12%, 0.5% e 1%) em teste de contato, contra cepas de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Porphyromonas gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum*, nos seguintes intervalos: imediatamente, 5 min, 15 min e 30 min após contato e repetido por 10 vezes. Os resultados mostraram que a CHX a 0.12% não eliminou o *E.faecalis* em nenhum tempo

experimental, enquanto que a CHX a 0.5 e 1% e o NaOCl a 1 e 5% eliminaram. Baseado nos resultados, os autores concluíram que para se obter uma melhor atividade antimicrobiana, a CHX deve ser numa concentração superior a 0.12%.

Weber et al. (2003) pesquisaram o efeito da ativação ultrassônica passiva sobre a atividade antimicrobiana residual em canais radiculares das soluções irrigantes de clorexidina a 2% e hipoclorito de sódio a 5.25% em 94 raízes com único canal radicular. Os espécimes foram divididos em dois grupos de 42, sendo que a metade (21) recebeu ativação ultrassônica passiva por 1 min e a outra, somente a irrigação com as substâncias testadas, e 10 espécimes com PBS para grupo controle. Após, os canais foram alargados com uma broca Parapost® tendo sua porção apical (3-5 mm) coberta por esmalte de unha. Os canais foram irrigados com PBS, secados, preenchidos com PBS e armazenados. Após 6h, 20µL do fluido foi retirado e pipetado em placa de ágar com *Streptococcus sanguinis*, sendo incubadas, e tendo suas zonas de inibição de crescimento bacteriano medidas. Amostras foram retiradas em 24, 48, 72, 96, 120, 144, e 168h. A atividade antimicrobiana residual da CHX foi significativamente superior ao NaOCl a 5.25% somente com irrigação e com ativação ultrassônica passiva ($p < 0.001$). O grupo experimental de clorexidina demonstrou atividade antimicrobiana residual por até 168h.

Sassone et al. (2003b) avaliaram o crescimento bacteriano após contato do hipoclorito de sódio (1 e 5%) e da clorexidina (0.12, 0.5 e 1%) com ou sem adição de albumina bovina sérica (BSA) contra algumas cepas bacterianas (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Porphyromonas gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum*) nos intervalos: imediato, 5 min, 15 min e 30 min. O teste foi repetido por 10 vezes, sendo que a metade recebeu 0.5% de BSA para simular o

tecido orgânico presente no canal radicular. As amostras foram retiradas após o tempo de contato e incubadas por 48h para verificação de formação de colônia bacteriana e comparação com os outros grupos. A solução de clorexidina a 0.12% não eliminou *E.faecalis* em todos os tempos experimentais testados, a 1% eliminou todas as cepas, assim como ambas as concentrações de NaOCl. O BSA não interferiu na atividade antimicrobiana das soluções irrigantes. De acordo com a metodologia empregada, concluiu-se que a Clorexidina a 0.12% foi incapaz de eliminar o *E.faecalis*.

Vianna et al. (2004) pesquisaram *in vitro* a atividade antimicrobiana da clorexidina em gel e líquido (0.2, 1 e 2%) e do hipoclorito de sódio (0.5, 1, 2.5, 4 e 5.25%) contra microorganismos patogênicos do canal radicular. Para tanto, foi realizado um teste de diluição em caldo e marcação do tempo da eliminação bacteriana, sendo analisado estatisticamente. A clorexidina a 2% em gel e solução eliminou o *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* em 15s, e sua formulação em gel eliminou o *E.faecalis* em 1 min. Todos os irrigantes testados eliminaram os três anaeróbicos estritos em 15s. O tempo necessário para a clorexidina líquida a 1 e 2% eliminar todos os microorganismos foi o mesmo registrado pelo hipoclorito de sódio a 5.25%. A ação antimicrobiana está relacionada ao tipo, a concentração, a forma de apresentação dos irrigantes assim como da susceptibilidade microbiana.

Evanov et al. (2004) pesquisaram a capacidade de duas soluções irrigantes endodônticas na eliminação de *E.faecalis* dos túbulos dentinários, e se sua ação antimicrobiana melhorasse com o aquecimento. Discos dentinários bovinos tiveram seu lúmen infectado por *E.faecalis* e incubados por 72h. As amostras foram preenchidas com solução salina, de hidróxido de cálcio a 10% e por gluconato de clorexidina a 0.12% em 24°C ou 46°C e incubados em 37°C ou 46°C. Alíquotas

foram retiradas das amostras e plaqueadas para a quantificação de bactérias viáveis. Não houve diferença estatística para o crescimento bacteriano entre os dois grupos com solução salina e entre as medicações testadas ($p > 0.05\%$) nas temperaturas aplicadas. As soluções de CHX e Ca(OH)_2 em cada temperatura produziram menos crescimento bacteriano que cada grupo controle, e as mesmas soluções testadas a 46°C apresentaram menor crescimento bacteriano que cada grupo a 37°C . O aumento da Temperatura melhora a ação antimicrobiana de ambas as soluções irrigantes contra o *E.faecalis*, mas o aquecimento da solução salina não produziu aumento no efeito antimicrobiano.

Vivacqua-Gomes et al. (2005) verificaram a persistência do *E.faecalis* após o tratamento do canal radicular realizado em sessão única e em múltiplas sessões. Foram utilizados 45 dentes pré-molares infectados com *E.faecalis* por 60 dias, sendo divididos em cinco grupos: Grupo 1 (irrigação com clorexidina e obturação numa única sessão), Grupo 2 (irrigação com clorexidina, medicação intracanal de hidróxido de cálcio por 14 dias e obturação), Grupo 3 (irrigação com clorexidina e obturação após sete dias), Grupo 4 (irrigação com soro fisiológico e obturação após sete dias) e Grupo 5 (irrigação com soro fisiológico e obturação imediata sem cimento). Os dentes foram incubados por 60 dias a 37°C , tendo 5 mm da sua porção radicular (entre o terço médio e apical) seccionados para a remoção das amostras de dentina através de brocas, para análise microbiológica e contagem de colônias formadas. *E.faecalis* sobreviveu em 20% no Grupo 1, 25% no Grupo 2, 40% no Grupo 3, 60% no Grupo 4 e 100% no Grupo 5. Os autores concluíram que o *E.faecalis* não foi eliminado nos tratamentos de sessão única e nem em múltiplas sessões quando utilizada a clorexidina como agente irrigante.

Dametto et al (2005) avaliaram a atividade antimicrobiana *in vitro* do gel de clorexidina a 2% comparando com as soluções irrigantes de clorexidina a 2% e NaOCl a 5.25% em 80 raízes de pré-molares inferiores humanos contaminadas por *E.faecalis* por sete dias. Amostras foram coletadas antes do preparo, após a instrumentação do canal e final (cujo canal foi preenchido com BHI e o dente selado por sete dias) sendo submetidas ao plaqueamento e realizadas a contagem de UFC. As substâncias de CHX a 2% em gel e solução reduziram a quantidade de UFC após a instrumentação do canal e após sete dias, enquanto que o NaOCl a 5.25% reduziu apenas após a instrumentação do canal. A clorexidina, em gel e solução a 2%, reduziu significativamente a UFC de *E.faecalis* após a instrumentação do canal mantendo seus valores baixos após sete dias da instrumentação do canal.

Carson, Goodell e McClanahan (2005) compararam a atividade antimicrobiana das soluções irrigantes (NaOCl a 3% e 6%, CHX a 0.12 % e 2%, Doxiciclina a 0.01% e 0.005%) em quatro microorganismos presentes na infecção endodôntica primária. Utilizou-se o teste de ágar difusão para a verificação da atividade antimicrobiana destes agentes contra *Peptostreptococcus micros*, *Prevotella intermedia*, *Streptococcus sanguis*, e *Lactobacillus acidophilus*. A concentração mínima inibitória foi realizada empregando método de macrodiluição. A ordem geral de efetividade antimicrobiana em três dos quatro microorganismos foi: Doxiciclina a 0.01% > Doxiciclina a 0.005% > NaOCl a 6% > NaOCl a 3% > CHX a 2% > CHX a 0.12%. Para *L. acidophilus*, a ordem de efetividade foi: NaOCl a 6% > NaOCl a 3% > CHX a 2% > Doxiciclina a 0.01% > Doxiciclina a 0.005% > CHX a 0.12%. O NaOCl a 6% resultou em zonas de inibição maiores que o NaOCl a 3% para todos os microorganismos testados.

Portenier et al. (2005) compararam a susceptibilidade das células de *E. faecalis* (cepas VP3-80 e A197A) durante as fases de crescimento, estacionárias e declínio a três medicamentos endodônticos (solução saturada de Hidróxido de Cálcio, Digluconato de Clorexidina a 0,05% e Hipoclorito de Sódio a 0,00001%). Os autores realizaram testes antimicrobianos, SDS-Page e análise morfológica valendo-se da microscopia eletrônica de varredura e transmissão. Células na fase exponencial de crescimento mostraram ser mais sensível, sendo eliminadas entre 3s a 10 min. Na fase estacionária, foram mais resistentes apresentando viabilidade celular após 10 min. Entretanto, na fase de declínio, foram as mais resistentes não sendo totalmente eliminadas durante o tempo de exposição de 10 min ao medicamento, aumentando o número de células sobreviventes em culturas bacterianas.

Portenier et al. (2006) pesquisaram a atividade antibacteriana do MTAD (uma mistura de isômero de tetraciclina, ácido e detergente) a 10 e 100%, da clorexidina a 0.2, 0.02 e 0.01%, e da clorexidina combinada a cetrimida (ambas a 0.1 e 0.01%) em duas cepas de *E. faecalis* e dos efeitos inibitórios da dentina e do BSA na atividade antibacteriana. O experimento foi realizado através de um teste de micro diluição seriada com contagem de unidades formadoras de colônias para observar as bactérias viáveis às medicações testadas na presença e falta dos inibidores. Concentrações de MTAD a 100% e 0,2% de clorexidina eliminaram rapidamente ambas as cepas testadas. A combinação de clorexidina com cetrimida reduziu o tempo para a eliminação das bactérias. A presença da dentina ou do BSA causou uma queda da ação antibacteriana em ambas as medicações. As duas cepas de *E. faecalis* testadas mostraram uma diferença menor na sua susceptibilidade aos desinfetantes.

Clegg et al. (2006) avaliaram a efetividade das diferentes concentrações do hipoclorito de sódio 1, 3 e 6%, clorexidina a 2% e BioPure® MTAD (Dentsply, Tulsa, OK, USA). Microorganismos foram coletados de 10 pacientes com inflamação periapical crônica. Biofilmes poli microbianos foram cultivados em hemi secções de ápices radiculares sendo, separadamente, imersos em solução de NaOCl a 6%, 3%, 1%, CHX a 2%, e NaOCl a 1% seguido de BioPure MTAD, e solução de PBS como controle. À análise a Microscopia Eletrônica de Varredura revelou que o NaOCl a 6% e NaOCl a 3% foram capazes de desorganizar e remover o biofilme; NaOCl a 1% e NaOCl a 1% seguido pelo MTAD foram capazes de desorganizar o biofilme, mas não eliminaram as bactérias; CHX a 2% não foi capaz de desorganizar o biofilme permanecendo intacto. Bactérias viáveis não puderam ser cultivadas nas amostras imersas em NaOCl a 6%, CHX a 2 %, ou NaOCl a 1% seguido por BioPure MTAD. O hipoclorito de sódio a 6% foi o único irrigante capaz de eliminar as bactérias viáveis e remover fisicamente o biofilme da dentina radicular.

Khademi, Mohammadi e Havaee (2006) realizaram *in vitro* a comparação da substantividade antimicrobiana das soluções de CHX a 2%, 100 mg mL⁻¹ de doxiciclina e NaOCl a 2.6% em 80 tubos dentinários bovinos infectados por *E.faecalis* por 14 dias. Amostras foram coletadas da dentina por brocas no início do experimento, sete, quatorze, vinte e um e vinte e oito dias, e colocadas em caldo de cultura para a contagem de UFC. No resultado inicial a quantidade de UFC foi mínima para todos os irrigantes testados e se apresentou diferente de cada grupo em qualquer período experimental. (P > 0.05). Na primeira cultura, o grupo do hipoclorito de sódio e da doxiciclina mostraram-se o mais baixo e o mais alto quanto à quantidade de UFC. Em cada grupo, o número de UFC aumentou

significativamente pelo passar do tempo ($P < 0.05$). A substantividade da clorexidina foi maior que das outras substâncias testadas.

Ruff, McClanahan e Babel (2006) compararam *in vitro* a eficácia antifúngica do hipoclorito de sódio a 6%, gluconato de clorexidina a 2%, EDTA a 17% e do BioPure MTAD como irrigante final sobre a *Candida albicans* 48 dentes foram inoculados com a ATCC 60193 e incubados por 72h, em que foram divididos aleatoriamente em quatro grupos cuja irrigação final foi a seguinte: 1mL de NaOCl a 6%, 0.2 mL de CHX a 2%, 1 mL de EDTA a 17% e 5 mL de BioPure MTAD. Alíquotas das amostras foram plaqueadas e para a contagem das UFC. O NaOCl a 6% e a CHX a 2% foram efetivas e significativamente superiores ao BioPure MTAD e a EDTA a 17% ($p < 0.05$) na atividade antifúngica.

Sena et al. (2006) verificaram a atividade antimicrobiana das substâncias irrigantes endodôntica (hipoclorito de sódio a 2.5 e 5.25%, e da clorexidina a 2% em forma de gel e líquida) nos biofilmes bacterianos de espécie única (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis* e *Fusobacterium nucleatum*). Os biofilmes foram imersos nas substâncias testadas por 30s, 5, 10, 15, 30 e 60 min, com e sem agitação mecânica. Solução salina foi utilizada como grupo controle. Os filtros das membranas foram coletados e imersos em 2 mL de caldo de cultura para o plaqueamento e a contagem de UFC. Todas as substâncias testadas e agitadas mecanicamente eliminaram os microorganismos num tempo menor com exceção do *S.aureus* com o NaOCl a 2.5%, em relação ao grupo controle ($p < 0.05$). As substâncias antimicrobianas em forma líquida, especialmente o NaOCl a 5.25% e a clorexidina a 2%, eliminaram os microorganismos testados mais rapidamente. *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis* e *F. nucleatum* foram eliminados em 30 s

por todos os agentes testados, com ou sem agitação mecânica, com exceção das cepas facultativas e aeróbicas. A agitação mecânica melhorou as propriedades antimicrobianas das substâncias químicas testadas empregadas em biofilmes, sendo que os agentes em forma líquida como o NaOCl a 5.25% e a CHX a 2% foram os mais favorecidos.

Estrela et al. (2007) verificaram a eficácia antimicrobiana das soluções irrigantes a base de água ozonizada, ozônio gasoso, do hipoclorito de sódio a 2.5% e da clorexidina a 2% em 30 dentes ântero-superiores de humanos infectados por *E.faecalis* por 60 dias. Os espécimes foram montados num dispositivo que irrigava por meio de uma bomba peristáltica e circulava a 50 mL min⁻¹ durante 20 min. Amostras foram coletas e incubadas para verificação de crescimento bacteriano por um turbidímetro, sendo realizada em triplicata. Nenhuma solução irrigante testada demonstrou efetividade antibacteriana contra o *E.faecalis*. As soluções irrigantes empregadas por 20 min não foram eficientes na eliminação do *E.faecalis*.

Ferraz et al. (2007) avaliaram *in vitro* a atividade antimicrobiana das seguintes substâncias como irrigante endodôntico: gluconato de clorexidina em gel e líquido nas concentrações de 0.2,1 e 2%, e do hipoclorito de sódio (NaOCl) a 0.5,1,2.5, 4 e 5.25%, em teste de difusão em agar com 5 espécies de bactérias anaeróbias facultativas e 4 de anaeróbios estritos, Gram-negativos e produtores de pigmento negro. As maiores zonas de inibição produzidas nas bactérias testadas foram com a clorexidina em gel a 2% (11,79 mm), apresentando diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) quando comparados às zonas de inibição produzidas por todas as concentrações avaliadas de NaOCl, incluindo 5,25% (9,54 mm). Quando comparado às zonas produzidas por concentrações equivalentes de clorexidina em forma de líquida ou gel, não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

Baseado nos resultados, os autores concluíram que a clorexidina em gel tem grande potencial antimicrobiano para ser usada como substância química auxiliar.

Oliveira et al. (2007a) avaliaram *in vitro* os efeitos das soluções irrigantes nas endotoxinas dos canais radiculares. Foram utilizados 98 dentes unirradiculares humanos, sendo que 84 foram inoculados com a endotoxina do *Escherichia coli*. Os canais foram instrumentados e agrupados de acordo com as soluções irrigantes: G1- NaOCl a 2.5%; G2- 5.25%; G3- CHX a 2%; G4 - 0.14% de Ca(OH)₂ ; G5 – polimixina β; G6 – controle positivo com solução salina e G7 – controle negativo (sem endotoxina). Duas amostras dos canais radiculares foram tiradas: imediatas e após sete dias, avaliadas pelos métodos do teste do *Limulus* e produção de anticorpos na cultura do linfócito β. Nas amostras imediatas e de sete dias, os grupos G4, G5 e G7 apresentaram os melhores resultados com diferença significativa dos grupos G1, G2, G3, e G6 ($P < .05$). As soluções de hidróxido de cálcio e polimixina β detoxicaram a endotoxina nos canais radiculares e alteraram as propriedades do LPS para estimular a produção de anticorpos pelos linfócitos β. As soluções de clorexidina e hipoclorito de sódio não detoxicaram as endotoxinas.

Oliveira et al. (2007b) compararam a atividade antimicrobiana *in vitro* do gel de clorexidina a 2% e do NaOCl nas concentrações de 1.5 e 5.25%, em 80 pré-molares humanos preparados e inoculados com *E. faecalis* por sete dias. Para avaliar a ação antimicrobiana foram retiradas três amostras: antes da instrumentação dos canais, após a instrumentação (colocação de BHI no canal para última coleta da amostra) e final, após sete dias do preparo. Alíquotas de cada amostra foram retiradas e plaqueadas para a contagem de UFC. O gel de clorexidina a 2% e o NaOCl a 5.25% reduziu a quantidade de UFC de *E. faecalis* nas amostras, seguida a instrumentação do canal e sete dias após. O NaOCl a 1.5% reduziu quantidade de

UFC de *E.faecalis* imediatamente após a instrumentação, embora a quantidade de UFC aumentou após sete dias da instrumentação do canal, não havendo diferença estatística significativa com o grupo controle. O gel de gluconato de clorexidina a 2% e o NaOCl a 5.25% foram efetivos na redução de *E.faecalis* por 7 dias; além disso quanto maior for a concentração do NaOCl melhor será sua ação antimicrobiana.

Sassone et al. (2008) avaliaram a capacidade antimicrobiana do hipoclorito de sódio (1 e 5%) e da clorexidina (0.12, 0.5 e 1%) com ou sem adição de material orgânico bovino (BSA) contra algumas cepas bacterianas (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Porphyromonas gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum*) usando dois testes de atividade (contato e difusão em ágar). No teste de contato, 0.12% de clorexidina não eliminou *E.faecalis* nos tempos experimentais testados, a 0.5% eliminou todas as cepas exceto o *E.faecalis* após contato imediato. Todas as amostras foram eliminadas pelas substâncias restantes. O BSA não interferiu na atividade antimicrobiana das soluções irrigantes. No teste de difusão em ágar, todas as soluções exibiram zonas de atividade antimicrobiana; entretanto o BSA interferiu com a atividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio e clorexidina. Sob a metodologia empregada, concluiu-se que a clorexidina a 0.12% foi incapaz de eliminar o *E.faecalis*, enquanto que a 0.5 e 1% de clorexidina e hipoclorito de sódio a 1 e 5% mostraram efetividade antibacteriana contra todas as cepas bacterianas. A adição de material orgânico interferiu com a precisão do teste de difusão em ágar.

2.2 Clorexidina como irrigante, estudos *in vivo*

Os trabalhos a seguir, avaliaram o papel da clorexidina como irrigante na terapia endodôntica, independentemente da sua concentração e forma:

Leonardo et al. (1999) avaliaram *in vivo* a atividade antimicrobiana do gluconato de clorexidina a 2% usado em vinte e dois canais com polpa necrótica de incisivos e molares em doze pacientes, como solução irrigante na instrumentação do canal radicular. Para a avaliação, foram utilizados os métodos de cultura microbiológica e o teste de difusão em ágar com *Micrococcus luteus* (ATCC 9341). Amostras foram coletadas por cones de papéis esterilizados antes da instrumentação do canal, após a irrigação final, e de um período de 48h com o canal radicular vazio, coletando nesta última, três amostras (duas para análise microbiológica e uma para avaliar efeito residual em placa de ágar cultivada). No momento inicial, foi detectado *Streptococci mutans* em dez canais, sendo reduzido a 100% no segundo momento. Houve uma redução de microorganismos anaeróbios em 77.78% com o tratamento e a utilização de CHX a 2% como irrigante. Este trabalho *in vivo* demonstrou que a clorexidina previne atividade microbiológica pelo seu efeito residual por até 48h.

Zamany, Safavi e Spångberg (2003) avaliaram *in vivo* se a irrigação final com uma solução de clorexidina a 2% melhoraria o protocolo de tratamento endodôntico convencional quanto à desinfecção do sistema de canais radiculares. Foram selecionados 24 pacientes com dentes unirradiculares portadores de necrose pulpar e lesão periapical crônica, sendo que a metade recebeu irrigação final com solução de clorexidina a 2%. Amostras foram coletadas antes, após a instrumentação do

canal e após a irrigação final em que foram incubadas no meio de cultura e analisadas por quatro semanas. O grupo testado demonstrou formação de uma cultura das doze amostras testadas, contra sete culturas formadas das doze do grupo controle ($p < 0.05$). Os autores concluíram que os resultados do estudo foram clinicamente importantes, apesar do número pequeno da amostra.

Tanomaru Filho et al. (2006) avaliaram *in vivo* o efeito antimicrobiano após a instrumentação do canal utilizando vários irrigantes endodônticos. Foram utilizados 78 canais radiculares de pré-molares de 4 cães que após terem lesões periapicais induzidas, foram instrumentados com as seguintes soluções irrigadoras: NaOCl a 2.5%, CHX a 2%, soro fisiológico e um grupo sem realização de instrumentação dos canais. Amostras foram colhidas antes e trinta dias após a instrumentação do canal para análise quantitativa de UFC. Os resultados demonstraram que houve redução de microorganismos nos grupos do NaOCl e CHX ($p < 0.05$), com maior efetividade para a CHX. Os grupos que utilizaram soro fisiológico e controle apresentaram aumento do número de microorganismos. O uso de soluções irrigadoras durante a instrumentação dos canais radiculares promoveu a redução de microorganismos.

Vianna et al. (2006) determinaram a redução antimicrobiana após a instrumentação do canal de 32 dentes unirradulares com polpa necrótica em que usaram dois diferentes irrigantes (16 dentes para cada grupo): NaOCl a 2.5% e o gel de CHX a 2%. Amostras bacterianas foram retiradas antes e após a irrigação final e foram analisadas pelo método quantitativo de tempo real do PCR direto contra a unidade ribossômica do ADN usando a forma SYBRGreen e TaqMan, sendo também utilizado a técnica de cultura tradicional. A quantidade bacteriana foi reduzida em ambos os grupos (acima de 96%). Entretanto, pelo método de PCR direto os valores das amostras iniciais e após a instrumentação do canal foram

superiores em relação à técnica tradicional. Pela avaliação dos métodos SYBRGreen e TaqMan, o grupo do NaOCl a 2.5% (SYBRGreen 99.99%; TaqMan: 99.63%) foi significativamente maior ($p < 0.01$) que o grupo da CHX (SYBRGreen 96.62%; TaqMan: 96.60%). Pelo método tradicional de cultura, no grupo do NaOCl 75% dos canais estavam livres de bactéria, enquanto que no grupo da CHX apenas em 50% dos canais. Os autores concluíram que o hipoclorito de sódio a 2.5% possui uma alta capacidade de eliminar os microorganismos como também de remover células de dentro do canal radicular.

Wang et al. (2007) avaliaram a eficiência do gel de clorexidina a 2% sobre a redução bacteriana intracanal durante a instrumentação do canal radicular, e o efeito antibacteriano da pasta de hidróxido de cálcio misturado com o gel de clorexidina a 2%. Foram recrutados 43 pacientes sendo que: 39 tinham inflamação periapical e 4 com pulpite irreversível, incluídos como controle negativo. Os canais foram preparados com instrumentos rotatórios e gel de clorexidina a 2% como desinfetante. As amostras foram colhidas após o acesso aos canais (1), preparo dos canais (2) e passado o período de medicação intracanal por duas semanas (3), sendo cultivadas em cultura anaeróbica. Quatro amostras iniciais foram descartadas por não apresentarem crescimento bacteriano. Todas as amostras do momento inicial foram positivas, 10.3% (4/39) e 8.3% (4/36) foram positivas, respectivamente do segundo e terceiro momento. Diferença significativa entre os momentos 1 e 2 ($p < 0.001$) e sem diferença entre o 2 e 3 ($p=0.692$). Puderam concluir que o gel de clorexidina a 2% foi eficaz na desinfecção do canal radicular e que a pasta de hidróxido de cálcio mais o gel de clorexidina a 2% não contribuiu para a redução bacteriana dos canais radiculares.

Siqueira, Paiva e Rôças (2007) realizaram um estudo *in vivo* em que avaliaram a redução bacteriana após a instrumentação do canal sendo utilizado como irrigante uma solução de digluconato de clorexidina a 0.12% e como efeito antibacteriano de medicação intracanal uma pasta de hidróxido de cálcio com gel de digluconato de clorexidina a 0.12%. Foram selecionados 13 dentes com infecções primárias intra-radulares e inflamação periapical crônica, dos quais se retiraram amostras antes da instrumentação do canal (S1), após a instrumentação (S2) e sete dias com a medicação intracanal (S3). As amostras foram cultivadas e analisadas quantitativamente e qualitativamente, através da contagem e identificação pela análise seqüencial do ARN do gene ribossômico 16S. Na amostra S1, todos os canais apresentaram bactérias com uma média de 3.5 por canal (variando de 2-9). Em S2, 53.8% dos canais com uma taxa média de 1.7 por canal (variando de 1-4) e em S3, apenas 7.7% dos canais apresentaram positivos para a presença de bactéria. Pôde-se observar uma alta redução bacteriana de S1 para S2 e S1 para S3 ($p < 0.001$). Em relação a S2 e S3, houve uma redução quantitativa bacteriana ($p = 0.014$) e culturas negativas ($p = 0.01$). Foi concluído que a irrigação com solução de digluconato de clorexidina a 0.12% foi eficaz reduzindo a quantidade bacteriana em mais da metade dos casos, e após sete dias com a medicação houve uma eliminação de bactérias favorecendo o aumento de cultura negativa.

Siqueira et al. (2007) realizaram um estudo *in vivo* com o objetivo de comparar o hipoclorito de sódio a 2.5% e o digluconato de clorexidina a 0.12% como irrigantes na redução dos microorganismos de canais infectados dos 16 dentes com inflamação periapical crônica. Amostras bacterianas foram retiradas (S1) antes do preparo do canal, após a instrumentação (S2) utilizando como irrigantes final o NaOCl a 2.5% ($n = 16$) ou a CHX a 0.12% ($n = 16$), e num segundo estágio para a

contagem de formação de bactérias recorrentes. Os microorganismos foram identificados pela análise seqüencial do ARN do gen ribossômico 16S. Todos os canais apresentaram microorganismos na amostra inicial (S1) com um valor médio de 7.32×10^5 para o grupo do NaOCl e 8.5×10^5 para o grupo da CHX. Após a instrumentação do canal (S2) e irrigados com NaOCl e CHX, os valores médios encontrados foram respectivamente 2.35×10^3 e 2×10^2 . No grupo do NaOCl, seis dos 16 canais (37.5%) e oito dos 16 (50%) do grupo da CHX, apresentaram culturas negativas, não havendo diferença estatística entre os grupos testados ($P=0.72$) e para a redução da quantidade de bactéria ($P=0.609$), com uma média de 1.3 e 1.9 de espécies bacterianas por canal. O grande número de microorganismos isolados no momento S2 foram as bactérias gram positivas, prevalecendo os *streptococci*. As duas soluções durante a instrumentação do canal, diminuíram o número de microorganismos do canal radicular, não havendo diferença entre elas quanto ao efeito antibacteriano.

2.3 Clorexidina como medicação intracanal, estudos *in vitro*

A clorexidina pelo seu potencial antimicrobiano e substantividade, passou a ser empregada como mediação intracanal, dentre os trabalhos encontrados nas bases de dados, cita-se:

Komorowski et al. (2000) avaliaram a substantividade antimicrobiana da dentina radicular bovina tratada por clorexidina a 0.2% por um período de até 21 dias. Foram utilizados 60 cilindros padronizados de dentina radicular bovina que foram divididos em três grupos (solução salina, hipoclorito de sódio a 2.5% e

clorexidina a 0.2%) e subdivididos em dois subgrupos cada (dez cilindros imersos por cinco minutos nas soluções e o restante por sete dias). Após estes períodos, as amostras foram retiradas e mantidas em meio de cultura (BHI) a 37°C por 21 dias sendo acrescentado diariamente inóculo fresco de *E.faecalis* (ATCC 29212) até o vigésimo primeiro dia. Dentina radicular foi retirada com brocas esféricas esterilizadas nos tamanhos ISO 035, 037, 040 e 042, correspondendo a uma profundidade de 0.1 a 0.45 mm sendo imersas em meio de cultura (BHI) por 24h a 37°C. Após este período, foi realizada a leitura da densidade óptica por um espectrofotômetro a 540 nm para a confirmação do crescimento bacteriano e a presença do *E.faecalis*. Os cilindros dentinários tratados com CHX por sete dias demonstraram significativamente menos dentina infectada que os demais grupos. Isto demonstra que a CHX tem um potencial como medicamento intracanal, se aplicado por um período superior a sete dias.

Lenet et al. (2000) avaliaram a eficiência de substantividade antimicrobiana de dois veículos liberadores de CHX, do hidróxido de cálcio e de um gel a 2% em dentina radicular bovina. 60 cilindros padronizados de dentina radicular bovina (10 mm X 3.3mm) e isolados externamente com esmalte de unha foram divididos em quatro grupos (experimental com CHX a 25%, gel de CHX a 2%, pasta de hidróxido de cálcio, controle) e medicados por sete dias. Após estes períodos, as amostras foram retiradas e mantidas em meio de cultura (BHI) a 37°C por 21 dias sendo acrescentado diariamente inóculo fresco de *E.faecalis* (ATCC 29212) até o vigésimo primeiro dia. Amostras da dentina radicular de cada espécime foram retiradas com brocas esféricas esterilizadas correspondendo a uma profundidade de 0.1 a 0.45 mm sendo imersas em meio de cultura (BHI) por 24h. Após este período, foi realizada a leitura da densidade óptica por um espectrofotômetro a 540 nm. O grupo

controle mostrou valores mais altos significantes em relação aos demais grupos ($p < 0.001$), enquanto que grupo experimental liberador de CHX mostrou valores médios de OD mais baixos que o grupo de hidróxido de cálcio, apenas em profundidade dentinária de até 0.2mm. Entretanto, o grupo medicado com o gel de clorexidina a 2% foi o que apresentou valores médios de OD mais baixos que os demais grupos. Este resultado sugere que a dentina bovina medicada com o gel de CHX a 2% por sete dias possui atividade antimicrobiana pelo menos por até 21 dias.

Lima, Fava e Siqueira (2001) avaliaram a efetividade das medicações a base de antibióticos e da clorexidina na eliminação de biofilmes de *E. faecalis*. A formação dos biofilmes foram induzidas sobre filtros membranosos de nitrato de celulose, por um e três dias, em que foram cobertos por um mL das medicações testadas e incubados por 24h. Os biofilmes foram neutralizados, seguidos de uma diluição seriada, cultivados em placas com ágar de mitis salivaris, incubados por 48h e realizada a UFC. A associação de clindomicina com metronidazol reduziu significativamente o número de células em biofilmes formados em 1 dia. Dentre todas as medicações testadas, apenas as medicações a base de clorexidina a 2% foram capazes de eliminar os biofilmes formados por um e três dias.

Rosa et al. (2002) determinaram a susceptibilidade bacteriana das medicações intracanáis (hidróxido de cálcio, digluconato de clorexidina, paramonoclorofenol canforado e formocresol) sobre bactérias anaeróbias estritas através do método de diluição em caldo, feito em micro placas (micro diluição) e em tubo (macro diluição) com resultados em Concentrações Inibitória e Bactericida Mínimas (CIM e CBM). As medicações testadas foram diluídas a diferentes concentrações em caldo de Reinforced Clostridium Medium (RCM) e Brucella

suplementado que estavam inoculados com os anaeróbios *Prevotella nigrescens* (ATCC 33563), *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 25586) e *Clostridium perfringens* (ATCC 13124). As amostras foram incubadas em jarras de anaerobiose a 37°C por 48h ou 96h. Para a avaliação, utilizou-se a espectrofotometria, determinação da CIM e CBM com a semeadura de alíquotas em ágar RCM - sangue. As CIMs e CBMs foram compatíveis com seu conhecido desempenho clínico, variando com as bactérias e meios de cultura empregados. O caldo RCM foi o mais efetivo e o *C. perfringens*, o microrganismo mais resistente.

Basrani et al. (2002) investigaram a substantividade da atividade antimicrobiana das medicações de gel de CHX a 2%, gel de CHX a 0.2%, solução de CHX a 2%, Ca(OH)_2 , Ca(OH)_2 mais gel de CHX a 0.2%, solução de CHX a 2% mais CHX a 25% liberada de um modelo controle, solução salina e de um veículo em gel. Foram utilizados 98 canais radiculares humanos, inoculados com *E.faecalis* por 21 dias, tendo suas amostras retiradas com brocas de Gates-Glidden e analisadas pela densidade óptica por um espectrofotômetro após 72 h. Os grupos com CHX a 2% apresentaram densidade óptica mais baixa quando comparados com os controles ($p < .05$) e os demais não apresentaram diferença significativa em relação aos controles. Os canais radiculares medicados por CHX a 2% por uma semana demonstraram atividade antimicrobiana residual contra o *E.faecalis*.

Barthel et al. (2002) determinaram a efetividade antibacteriana do gel de CHX a 5%, da pasta de Ca(OH)_2 com soro fisiológico e destas integradas em cones de guta-percha, em 15 dispositivos protéticos portadores de cinco secções cilíndricas de dentina. Estes dispositivos permaneceram na boca de dois voluntários por uma semana que seguidamente foram divididos, com suas amostras iniciais retiradas (S1) e receberam as medicações e cones por uma semana em cultura

microbiológica. Após, amostras (S2) foram retiradas para a UFC e as raízes foram mantidas em meio de cultura sem produtos testados por uma semana para observar a viabilidade microbiológica (S3). Houve diferença significativa dos grupos testados com os controles após uma semana no canal radicular. Entretanto, apenas o gel de CHX a 5% e a pasta de Ca(OH)_2 , promoveram desinfecção em quase todas as amostras após uma e duas semanas no interior do canal radicular.

Ferreira et al. (2002) avaliaram *in vitro* a atividade antimicrobiana de substâncias utilizadas como agentes antibacteriano (solução de 10% de hidróxido de cálcio, paramonoclorofenol canforado – PMCC, digluconato de clorexidina a 2% e solução a 10% de detergente de óleo da planta de rícino). Sobre bactérias anaeróbias (*Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Prevotella nigrescens* ATCC 33563, *Clostridium perfringens* ATCC 13124 e *Bacterioides fragilis* ATCC 25285), utilizando a técnica de diluição em caldo. Para a determinação da concentração mínima inibitória (MIC) e mínima bactericida (MBC), realizou-se em dois caldos de cultura diferentes (RCM e Brucella), com inóculos e diluições seriadas padronizadas. Todos os agentes antibacteriano apresentaram atividade antimicrobiana que variaram de acordo com o tipo de bactéria. Quanto aos meios de cultura testados, não houve diferença estatística significativa. O digluconato de clorexidina foi o mais efetivo com a MIC mais baixa, seguido pelo detergente de óleo de rícino, PMCC e hidróxido de cálcio. *C.perfringes* e *B.fragilis* foram as bactérias mais resistentes a todos os agentes testados.

Gomes et al. (2003) avaliaram a atividade antimicrobiana do gel de clorexidina a 2%, do hidróxido de cálcio e hidróxido de cálcio mais o gel de clorexidina a 2% contra o *E.faecalis* nos seguintes tempos experimentais: 1, 2, 7, 15 e 30 dias, utilizando dentes bovinos em meio de cultura. Para a avaliação, os autores

realizaram a leitura da turbidez do meio de cultura, sendo verificado que: a clorexidina foi efetiva até 15º dia, o hidróxido de cálcio permitiu crescimento bacteriano em todos os tempos e o hidróxido de cálcio mais o gel de clorexidina a 2% foram efetivos nos dois primeiros dias, diminuindo a atividade bacteriana após 7 e 15 dias. Concluíram que o gel de clorexidina a 2% é mais eficaz contra o *E.faecalis* que o hidróxido de cálcio e que a atividade bacteriana depende do tempo de permanência da medicação dentro do canal radicular.

Lynne et al. (2003) avaliaram a atividade antimicrobiana das medicações (pasta de hidróxido de cálcio com soro fisiológico, pasta de hidróxido de cálcio com solução de gluconato de clorexidina a 0.12% - Peridex®, e solução de Peridex®) em cilindros de dentina bovina inoculados com *E.faecalis*, quando em contato por 24h. Amostras dentinárias foram retiradas através de brocas (ISO 029, 035 e 042) para análise microbiológica quantitativa. Todos os três grupos experimentais testados mostraram maior atividade antimicrobiana que os controles ($p < 0.001$). O grupo da pasta de hidróxido de cálcio com soro fisiológico foi o mais efetivo que os outros para todas as profundidades dentinárias ($p < 0.05$). De acordo com a metodologia aplicada, a pasta de hidróxido de cálcio mais soro fisiológico foi a medicação mais efetiva contra o *E.faecalis* nos túbulos dentinários.

Lin et al. (2003) testaram a eficácia antibacteriana de um dispositivo que promove liberação lenta de clorexidina a 5% (Activ Point®), da irrigação com 10 mL de clorexidina a 0.2% em túbulos de dentina bovina infectados por *E.faecalis* num período de 7 dias. Amostras foram retiradas através de brocas carbide ISO 025 a 033 para a verificação de bactérias vitais em plaqueamento e unidades formadoras de colônias. Foi observada uma maior infecção bacteriana próxima à luz do canal decaindo em direção as camadas dentinárias mais profundas (400-500µm) que

continham centenas de unidades formadoras de colônias. Bactérias viáveis nas camadas dentinárias foram reduzidas significativamente, quando irrigadas com solução de clorexidina a 0.2% ($p < .01$) e foram completamente eliminadas com o dispositivo testado ($p < .01$).

Basrani et al. (2003) avaliaram a eficácia das medicações (CHX a 0.2% e 2% em gel e solução, e do Ca(OH)_2 sem e com o gel de CHX a 0.2%), através do teste de difusão em ágar e do método de inoculação em raiz humana *in vitro*. Para a análise do experimento, foi medida a zona de inibição ou de crescimento bacteriano através da análise de densidade óptica. Amostras foram retiradas das raízes após sete dias de medicação e cultivadas por 24h em BHI para a detecção de bactérias viáveis. Ao teste de difusão em ágar, a CHX foi eficaz contra o *E.faecalis* dependendo da sua concentração, mas o Ca(OH)_2 sozinho não foi eficiente. Em raízes humanas infectadas, a CHX foi mais eficiente que o Ca(OH)_2 ($P < .05$), mas não houve diferença entre as formas de medicações testadas e concentrações de CHX. A CHX possui *in vitro* efetividade contra o *E.faecalis*.

Lin, Mickel e Chogle (2003) verificaram a atividade antibacteriana das medicações a base de hidróxido de cálcio e solução de gluconato de clorexidina a 0.12% mais as suas associações em teste de difusão em ágar por 72h. O peridex® demonstrou zonas de inibição maiores (4.95mm) comparado com o hidróxido de cálcio (1 mm). Não houve diferença estatística entre os grupos do peridex® e associado com o hidróxido de cálcio.

Menezes et al. (2004) avaliaram *in vitro* a efetividade de irrigantes e medicamentos intracanal (hidróxido de cálcio, paramonoclorofenol canforado, tricresol formalina, pasta de hidróxido de cálcio com paramonoclorofenol canforado, paramonoclorofenol mais furacin, hipoclorito de sódio a 2,5% e clorexidina a 2%)

contra o *E.faecalis* e a *Candida albicans*. Os espécimes foram incubados por sete dias de onde se retiraram amostras antes da colocação dos agentes antimicrobianos e após este período para a contagem de formação de colônias. Concluíram que a pasta de hidróxido de cálcio mais paramonoclorofenol canforado foi o mais efetivo contra os dois microorganismos e que a solução de clorexidina a 2% foi mais efetiva que o hipoclorito de sódio a 2,5% contra o *E.faecalis*.

Rosenthal, Spångberg e Safavi (2004) pesquisaram *in vitro* o período de tempo de substantividade da CHX remanescente na dentina após a obturação do canal. Foram utilizados sessenta cilindros dentinários bovinos inoculados pelo *E.faecalis* que receberam como medicação intracanal o gel de CHX a 2% por dez minutos antes da obturação. Os espécimes foram divididos em quatro grupos controle e armazenados em solução salina por um dia, três semanas, seis semanas e doze semanas. O grupo experimental também passou pela mesma divisão e procedimento. Após o período de armazenamento, amostras foram colhidas através de brocas de Peeso e analisadas por um espectrofotômetro UV a 253nm para avaliação quantitativa e qualitativa através da redução bacteriana por UFC. Após um dia de armazenamento, a dentina extraída continha aproximadamente 0.0048% de CHX e após três, seis e doze semanas respectivamente, 0.0023%, 0.0016% e 0.0010%. O material extraído do grupo experimental demonstrou-se altamente antimicrobiano, correspondendo à concentração de CHX. Pela análise dos resultados, a quantidade de CHX remanescente na dentina mostrou atividade antibacteriana por até doze semanas.

Abdullah et al. (2005) investigaram e compararam a eficiência dos irrigantes empregados em endodontia e das medicações intracanaís em cepas de *E.faecalis* isolados clinicamente e crescidos como biofilme, sobre fenótipos em suspensão

planctônica e num condensado de células bacterianas oriundas da suspensão planctônica. Cada amostra bacteriana foi exposta as medicações de hidróxido de cálcio (pH 12.3), gluconato de clorexidina a 0.2%, ácido etilenodiaminotetracético a 17%, povidine iodado a 10% e hipoclorito de sódio a 3% por uma variedade de tempo (1,2,4,8,15,30 e 60 min). A redução bacteriana foi significativa entre os espécimes bacterianos testados ($p < 0.05$) dependendo até do agente antibacteriano testado como o hidróxido de cálcio e do hipoclorito de sódio em que não houve diferença estatística. O hipoclorito de sódio a 3 % foi a substância mais efetiva eliminando o *E.faecalis* sob todas as formas apresentadas após um período de contato de 2 min.

Schäfer e Bössmann (2005) estudaram a mistura de hidróxido de cálcio com a clorexidina a 2% e ambos puros também, utilizando dentes humanos unirradulares que após o preparo do canal, inocularam-no com *E.faecalis* incubando-os por nove dias. Na seqüência, os canais foram preenchidos com as medicações e incubados por três dias. Os canais foram instrumentados novamente com limas de número 45, 50, 55 e 60 de onde se removeu a dentina para a análise microbiológica das amostras. A clorexidina foi significativamente mais eficaz contra o *E.faecalis* que o hidróxido de cálcio e a mistura da pasta e não houve um aumento na eficácia da mistura da pasta de hidróxido de cálcio com a clorexidina a 2%. Concluíram que a clorexidina foi eficiente na eliminação de *E.faecalis* dos túbulos dentinários, num período de três dias sob as condições deste estudo.

Observando *in vitro* a ação da pasta de hidróxido de cálcio, de hidróxido de cálcio com o gel de clorexidina a 2% e do gel de clorexidina a 2% em dentes inoculados com diversos microorganismos, por 15s. à 24h pelo método de ágar difusão e contato direto, Gomes et al. (2006) observaram que o grupo da pasta de

hidróxido de cálcio mais o gel de clorexidina a 2% produziu zonas de inibição variando de 2.84 a 6.5 mm, num tempo de 30 seg. a 6 h para eliminar os microorganismos testados. Entretanto, o gel de clorexidina a 2% resultou em maiores zonas de inibição variando de 4.33 a 21.67 mm, num tempo inferior a 1 min para eliminar todos os agentes microbianos testados. A pasta de hidróxido de cálcio mais água destilada eliminou somente os microorganismos em contato direto num período de 30 seg. a 24h. Concluíram que a pasta de hidróxido de cálcio mais o gel de clorexidina a 2% eliminou mais microorganismos que a pasta de hidróxido de cálcio com água destilada.

Ércan, Dalli e Dülgergil (2006) compararam *in vitro* a efetividade de vários medicamentos (hidróxido de cálcio com o gel de clorexidina a 2%, gel de clorexidina a 2% e hidróxido de cálcio) contra *E.faecalis* e *C.albicans* em dentes humanos unirradiculares. Amostras foram retiradas nos tempos experimentais de 7,15 e 30 dias em que foram plaqueadas para a contagem de unidades formadoras de colônias por miligrama de dentina. Os resultados mostraram que o gel de clorexidina a 2% foi significativamente mais efetivo que o hidróxido de cálcio com gel de clorexidina a 2%, hidróxido de cálcio e solução salina controle ($p < .05$). Os autores concluíram que o gel de clorexidina a 2% é efetivo na eliminação do *E.faecalis* e *C.albicans* do sistema de canal radiculares.

Ballal et al. (2007) pesquisaram *in vitro* a eficiência antimicrobiana da pasta de hidróxido de cálcio, gel de clorexidina a 2% e sua combinação contra *E.faecalis* e *C.albicans* pelo teste microbiológico de difusão em Agar examinado após 24 e 72h. Os resultados sugeriram que o gel de clorexidina a 2% é mais efetivo em 72h que a pasta de hidróxido de cálcio ou em combinação com o gel de clorexidina a 2% contra ambos os microorganismos, e ainda que o hidróxido de cálcio mostrou melhor

eficácia antifúngica contra o *C.albicans* em 24h. Concluíram que em tratamento de canais radiculares com insucessos, o gel de clorexidina a 2% pode ser o medicamento intracanal mais efetivo que a pasta de hidróxido de cálcio ou suas combinações contra os microorganismos testados.

Cook, Nandakumar e Fouad (2007) avaliaram o efeito antibacteriano do hidróxido de cálcio e da clorexidina, em dentes infectados por *E.faecalis* ou seu DNA nos túbulos dentinários dos grupos: sem medicação e obturação direta (Grupo 1), com a medicação de hidróxido de cálcio (Grupo 2) e clorexidina a 2% (Grupo 3) permanecendo por sete dias e em seguida obturados. As amostras foram incubadas por três semanas e que após a remoção do material obturador, tiveram amostras de dentina coletadas para cultura e análise pelo PCR. Não houve crescimento em nenhuma cultura. Pelo método PCR, o *E.faecalis* foi detectado em poucas raízes do Grupo 3 que no Grupo 1 ou 2 ($p=0.05$). Foi concluído que a utilização da clorexidina a 2% como medicação intracanal seguida da obturação foi mais efetiva na remoção do *E.faecalis* e do seu DNA que quando utilizou hidróxido de cálcio ou sem medicação e obturação direta.

Delgado (2007) avaliou a viabilidade de *E. faecalis* e *C. albicans* em 120 raízes de dentes humanos após a aplicação de hidróxido de cálcio, gel de clorexidina a 2%, hidróxido de cálcio associado ao gel de clorexidina a 2% e soro fisiológico, através da análise por cultura microbiológica e microscopia de fluorescência. Amostras foram coletadas e submetidas à cultura microbiológica através do plaqueamento em meios de cultura para avaliação das UFC e para análise em microscopia de fluorescência com auxílio de marcadores fluorescentes específicos. As medicações intracanaís testadas resultaram em redução significativa da viabilidade dos microorganismos quando comparado ao grupo controle e em

ambas as porções da dentina radicular avaliadas. O gel de clorexidina a 2 % e a associação de hidróxido de cálcio e clorexidina gel 2% desempenharam melhor o papel antimicrobiano em relação aos demais grupos, justificando desta maneira seu uso em endodontia como medicação intracanal.

Krithikadatta, Indira e Dorothykalyani (2007) verificaram a eficiência antibacteriana de quatro medicamentos (gel de clorexidina a 2%, gel de metronidazol a 2%, vidro bioativo – S53P4 em comparação com o hidróxido de cálcio) contra o *E.faecalis* em blocos dentinários de pré-molares extraídos nas profundidades de 200 e 400µm, avaliados em um, três e cinco dias. O gel de clorexidina a 2% teve 100% de inibição em todos os tempos experimentais. A inibição de crescimento foi moderada para o gel de metronidazol a 2% (86.5%), seguido do vidro bioativo (62.8%) e hidróxido de cálcio (58.5%). Foi concluído que o gel de clorexidina a 2% foi o mais efetivo dos medicamentos contra o *E.faecalis*.

Souza-Filho et al. (2008) avaliaram o efeito antimicrobiano e o pH do gel de clorexidina a 2% e do hidróxido de cálcio sozinhos e associados com o óxido de zinco e o iodofórmio, através do teste de difusão em ágar com sete espécies bacterianas e da medição da mudança do pH causado por essas medicações. O pH foi medido após o preparo, 24h e sete dias. As zonas de inibição de crescimento bacteriano foram na seguinte ordem decrescente: gel de CHX a 2%, gel de CHX a 2% com hidróxido de cálcio e iodofórmio, hidróxido de cálcio e gel de CHX a 2%, gel de CHX a 2% com hidróxido de cálcio mais óxido de zinco e hidróxido de cálcio mais água destilada. O valor médio do pH das medicações foi 12 durante todo o experimento, exceto para o gel de CHX a 2% (pH=7). Os resultados do estudo demonstraram que todas as medicações tiveram atividade antimicrobiana, mas o gel

de CHX a 2% foi o mais efetivo contra todos os microorganismos testados, seguido por sua combinação com o hidróxido de cálcio e o iodofórmio.

Lee et al. (2008) avaliaram a eficiência antimicrobiana de um dispositivo composto por um polímero controlador da liberação de clorexidina (PCRD) como medicação intracanal. Este produto foi testado conjuntamente com o hidróxido de cálcio, solução de clorexidina a 0.2%, com um controlador polimérico sem clorexidina e soro fisiológico estéril. As medicações foram testadas em cem cilindros dentinários oriundos de dentes unirradiculares humanos extraídos e inoculados com *E.faecalis* por três semanas. Amostras dentinárias foram coletadas após uma semana nas profundidades de 200 e 400µm e colocadas em meio de cultura, sendo analisadas a densidade óptica (OD) pela espectrofotometria após 24h de inoculação. Os valores obtidos para o grupo PCRD foram significativamente mais baixos que os outros grupos experimentais ($p < .001$). Os resultados deste experimento indicam que este dispositivo (PCRD) pode ser efetivo como medicamento intracanal contra o *E.faecalis*.

2.4 Clorexidina como medicação intracanal, estudos *in vivo*

Dos trabalhos realizados com a clorexidina como medicação intracanal, independentemente de sua concentração e forma, podemos ressaltar os trabalhos de:

Manzur et al. (2007) avaliaram *in vivo* a eficácia antibacteriana das medicações intracanaís de hidróxido de cálcio, gel de clorexidina a 2%, e uma combinação de ambos em 33 dentes com inflamação periapical crônica. Amostras bacterianas foram obtidas antes do tratamento (S1), após a instrumentação do canal

(S2) e na segunda sessão (S3), depois de uma semana de medicação intracanal em que se avaliou o crescimento bacteriano observado pela Turbididade e plaqueamento para a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC). O crescimento bacteriano e a UFC diminuíram significativamente de S1 para S2 ($p < 0.05$). Diferenças entre crescimento e contagem, não foram estatisticamente significantes para todos os grupos das três medicações testadas. Concluiu-se que as medicações de hidróxido de cálcio, gel de clorexidina e ambos comprovaram sua eficácia antibacteriana.

Paquette et al. (2007) verificaram *in vivo* a eficiência antimicrobiana da clorexidina líquida a 2% como medicação intracanal em 22 dentes. As amostras foram aspiradas do canal na primeira consulta após ser realizada a cirurgia de acesso (1AC), antes (1A) e após (1B) a instrumentação; na segunda sessão, após o acesso (2AC), após a neutralização da medicação (2A) e após a irrigação final com NaOCl a 2.5% (2B), para ser determinada a concentração de bactérias por μL . Foi realizada cultura aeróbica e anaeróbica por 7 e 14 dias, para a contagem de bactérias viáveis pelo método convencional (1) e através da técnica microscópica fluorescente por dois corantes vitais (2). Os valores obtidos foram mais elevados para a contagem microscópica que para a contagem convencional de UFC. Foi observada uma diminuição significativamente de 1A para 1B ($p < 0.0001$) e um aumento de 2A ($p < 0.04$) e uma diminuição para 2B no mesmo patamar que a amostra 1B. A clorexidina líquida a 2% não reduziu a concentração bacteriana por μL após a instrumentação do canal.

Vianna et al. (2007) avaliaram os efeitos antimicrobianos e antiendotoxinas dos procedimentos endodônticos quantificando a endotoxina e as bactérias dos canais radiculares com necrose pulpar de 24 pacientes. As amostras foram retiradas

antes do preparo do canal (S1), após a instrumentação do canal com o gel de clorexidina a 2% (S2), e após sete dias com mediação intracanal (S3), sendo subdivididos em três subgrupos com as seguintes medicações: pasta de Ca(OH)_2 , gel de CHX a 2%, e uma pasta de Ca(OH)_2 mais o gel de CHX a 2%. Para a análise quantitativa de endotoxina, foram utilizados o teste cromogênico do lisado do amebócito *Limulus* e técnicas aeróbicas e anaeróbicas para isolar, identificar e determinar a redução bacteriana por UFC. Em todas as amostras iniciais (100%), bactérias e endotoxinas estiveram presentes variando de 62.93 a 214.56 UE/ml e UFC de 4×10^5 a 2.6×10^6 . Após a instrumentação dos canais com gel de CHX a 2%, houve uma redução de endotoxina de 44.4%, e 33.3% (oito canais) apresentaram cultura bacteriana positiva, com uma redução média bacteriana de 99.96% (UFC). Após sete dias de medicação intracanal, a concentração de endotoxina diminuiu apenas 1.4% comparado com a amostra S2, e houve bactéria viável em 13 casos (54.1%). Não houve diferença estatística entre as medicações testadas. Valores elevados de endotoxinas foram encontrados após a instrumentação do canal, apesar da maioria das bactérias serem eliminadas. Não houve complementação antibacteriana das medicações intracanal testadas após sete dias.

3 PROPOSIÇÃO

Esta investigação bibliográfica teve como proposta avaliar a performance da clorexidina empregada como irrigante durante o preparo do canal radicular e como medicação intracanal, e se apresentam semelhanças tanto nas investigações realizadas *in vitro* como *in vivo*.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Como metodologia, o presente trabalho incluiu a busca crítica em bases de dados da Medline, Lilacs e BBO – Biblioteca Brasileira de Odontologia e a elaboração de uma tabela, para que pudesse ser avaliada a diferença mais significativa sobre o assunto em questão. Desta forma, foram escolhidos os trabalhos que avaliaram a clorexidina de uma maneira não combinada com outras substâncias ou fármacos, abordando sua utilização tanto como irrigante endodôntico, assim como medicação intracanal.

5 RESULTADOS

Para uma melhor compreensão e análise do assunto, os trabalhos selecionados foram agrupados e tiveram seus dados inseridos nas tabelas a seguir:

Tabela 5.1 – Clorexidina como irrigante, *in vitro*.

Estudo	Quantidade de amostras	Substâncias testadas	Cepas testadas	Metodologia	Retirada das Amostras	Resultados	Conclusões	Observações
Sen , Safavi e Spångberg 1999	266 cilindro dentinário humano	G1-NaOCl 1% G2-NaOCl 5% G3-CHX 0.12% G4-Controle + G5-Controle -	<i>C.albicans</i>	Meio de cultura por 24h para análise de turbidade dos tubos.	132 com e 132 sem smear layer: 1,5 e 30 min, e 1h.	Com smear layer em 1h- ação de todas as substâncias testadas. Sem smear layer em 30 min-NaOCl a 5%.	A efetividade antimicrobiana das soluções irrigantes deve ser reavaliada, principalmente em pacientes com predisposição a candidíase oral.	<i>A.C.albicans</i> apresenta maior virulência e patogenicidade <i>in vivo</i> .
Ferraz et al. 2001	95 dentes humanos unirradiculares extraídos – para irrigação 25 dentes para a limpeza	G1-CHX 2% gel G2-CHX 2% sol. G3-NaOCl 5.25% G4- C1 água destilada G5-C2 Natrosol gel	<i>E.faecalis</i> .	Meio de cultura por 48h, seguidamente da leitura da turbidade do meio de cultura. Para limpeza análise em MEV.	S1-antes da instrumentação. S2- após a instrumentação Com 3 mL de cada solução testada.	G1-produz limpeza e atividade antimicrobiana comparável com os resultados obtidos por outras	A CHX 2% gel tem um potencial para uso como solução irrigante.	Baixa tensoatividade pela ação do natrosol sendo hidrossolúvel. A viscosidade do gel permite uma ação lubrificante promovendo remoção de debris e remanescente tecidual durante a instrumentação.
Spratt et al. 2001	200 amostras com monobiofilmes	G1-5ppm prata coloidal G2-NaOCl a 2.25% G3-CHX a 0.2% G4-iodopovidona 10% G5- PBS	<i>Ef-E.faecalis</i> <i>Fn-F.nucleatum</i> <i>Pm - P.micros</i> <i>Pi- P.intermedia</i> <i>Si- S.intermedius</i>	Cultura anaeróbica e contagem de UFC.	Após 15 min (S1) e 1h (S2) de incubação com as soluções testadas.	<i>Ef- S1(G2) ,S (G2 e4)</i> <i>Fn-S2(G2,3 e 4)</i> <i>Pm-S1 e 2(G2,3 e 4)</i> <i>Pi- S1 e 2(G2,3 e 4)</i> <i>Si-S1(G4),S2(G2,3e4)</i>	O hipoclorito de sódio foi a solução mais eficiente testada seguida da iodopovidona.	Devem ser realizados mais estudos em dentes infectados como modelo experimental e com biofilmes de múltiplas espécies.
Leonardo et al. 2001	54 amostras testadas	G1- CHX a 2% G2- Endoquil G3- NaOCl a 0.5%	<i>Cocci Gram +</i> <i>Rods Gram –</i> <i>C.albicans</i>	Teste de difusão em ágar	2h período de pré-difusão e incubada por 24h.	CHX a 2% inibiu todas as cepas. Endoquil foi efetivo contra Gram + e NaOCl foi efetivo contra <i>S.aureus</i> .	Realizar novos estudos com alta concentração do irrigante Endoquil	Utilizaram substâncias indicadoras de formação bacteriana nas placas de ágar, pois o meio de cultura tornava-se vermelho.
Estrela et al. 2003	54 discos de papéis	G1-NaOCl a 2% G2-CHX a 2% G3-água destilada	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Candida albicans</i>	teste de difusão em ágar e de exposição direta	1h temperatura ambiente e incubada por 48h. Para exposição 5, 10 e 30min.	A melhor efetividade antimicrobiana ao teste da exposição direta foi do grupo do hipoclorito de sódio, e a clorexidina para o teste de difusão em ágar.	O efeito antimicrobiano foi influenciado pelos métodos experimentais, indicadores biológicos e tempo de exposição.	Deve-se tomar muito cuidado para correlacionar estudos <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> .

Continua

Estudo	Quantidade de amostras	Substâncias testadas	Cepas testadas	Metodologia	Retirada das Amostras	Resultados	Conclusões	Observações
Sassone et al. 2003	200	G1-CHX 0.12% G2-CHX 0.5% G3-CHX 1% G4-NaOCl 1% G5-NaOCl 5%	<i>S. aureus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. gingivalis</i> <i>F. nucleatum</i> .	Teste de contato	Início, 5, 15 e 30 min.	G1 não eliminou o <i>E. faecalis</i> em nenhum tempo, enquanto que todas as demais substâncias eliminaram todas as bactérias.	A Concentração de CHX terá que ser superior a 0.12%, para se ter uma melhor atividade antimicrobiana.	Os autores sugerem que CHX deve ter contato direto com as regiões periapicais, áreas de perfurações e cirurgia para-endodôntica.
Weber et al. 2003	94 raízes de dente unirradicular humano	G1-CHX a 2% (Com e sem agitação ultrassônica) G2-NaOCl 5.25% (Com e sem agitação ultrassônica)	<i>Streptococcus sanguinis</i>	Teste de contato com medição do halo de inibição em placa de ágar	24, 48, 72, 96, 120, 144, e 168h.	A atividade antimicrobiana residual da CHX foi significativamente superior ao NaOCl a 5.25% somente com irrigação e com ativação ultrassônica passiva (p<0.001)	A Clorexidina a 2% demonstrou atividade antimicrobiana residual por até 168h.	Substantividade das soluções irrigantes. Remoção do efeito residual da dentina sobre a placa de difusão em ágar.
Sassone et al. 2003	1000 testes	G1- NaOCl (1 e 5%) Com e sem BSA G2- CHX (0.12, 0.5 e 1%) Com e sem BSA	A- <i>S.aureus</i> B- <i>E.faecalis</i> C- <i>E.coli</i> D- <i>P.gingivalis</i> E- <i>F.nucleatum</i>	Teste caldo de cultura e contagem de UFC.	Imediato, 5 min, 15 min e 30 min.	G2 a 0.12% não eliminou B. Já G1 e G2 a 1% eliminaram A,B,C,D e E. Não houve interferência do BSA.	A Clorexidina a 0.12% foi incapaz de eliminar o <i>E. faecalis</i> .	BSA é neutralizador de substâncias químicas de baixa concentração. Neste estudo o BSA não causou interferência na ação antimicrobiana das soluções testadas.
Vianna et al. 2004	5616 poços	G1-CHX 0.2%,1% e 2% em gel e liquido. G2-NaOCl 0.5%,1%, 2.5%, 4% e 5.25%	<i>E. faecalis</i> , <i>C. albicans</i> , <i>S. aureus</i> , <i>P. gingivalis</i> , <i>P. endodontalis</i> , <i>P. intermedia</i> .	Teste de diluição em caldo	15,30 3 45s; 1, 3, 5, 10, 15,20 e 30 min; 1 e 2h.	<i>P. gingivalis</i> , <i>P. endodontalis</i> , <i>P. intermedia</i> : foram eliminados por todos em 15s. CHX 2% gel e liquido eliminou <i>S. aureus</i> e <i>C. albicans</i> em 15s, <i>E. faecalis</i> por CHX em gel 2% em 1 min. CHX 1 e 2% liquido todos os microorganismos no mesmo tempo que NaOCl a 5.25%.	A ação antimicrobiana esta relacionada ao tipo, concentração e forma de apresentação dos irrigantes, assim como a susceptibilidade antimicrobiana.	CHX liquida a 1 e 2% e NaOCl 5.25% mesma performance.
Evanov et al. 2004	95 cilindros dentinários bovinos	G1-Salina 37°C G2-Salina 42°C G3-Ca(OH) ₂ 10% 37°C G4-Ca(OH) ₂ 10%42°C G5-CHX 0.12% 37°C G6-CHX 0.12% 42°C	<i>E. faecalis</i>	Cultura bacteriana e contagem de UFC.	Após 35 min de contato nas T de 37°C e 42°C.	G3 e G5>G1 G6 e G4>G5 e G6	O aumento da Temperatura melhora a ação antibacteriana dos irrigantes testados contra o <i>E. faecalis</i> .	Baixa [] de CHX, mas demonstrou eficiência.

Continuação

Estudo	Quantidade de amostras	Substâncias testadas	Cepas testadas	Metodologia	Tempo de contato das Amostras	Resultados	Conclusões	Observações
Vivacqua-Gomes et al. 2005	45 pré-molares inferiores de humanos	G1-Sessão única-instrumentação com CHX 2% gel e obturação. G2-Sessão múltipla-G1 mais medicação com Ca(OH) ₂ por 14 dias G3-G1 mais 7 dias de BHI e obturação G4-controle s/ obturação G5-controle c/obturação	<i>E. faecalis</i>	Cultura bacteriana e contagem de UFC.	Durante a fase de instrumentação dos canais	G1=G2 diminuindo a quantidade de <i>E. faecalis</i> da dentina.	Nem G1 e G2 eliminaram completamente o <i>E. faecalis</i> da dentina radicular.	A irrigação contribuiu para a diminuição das bactérias.
Dametto et al. 2005	80 raízes de pré-molares inferiores de humanos	G1-CHX gel a 2% G2-CHX liq a 2% G3-NaOCl a 5.25% G4-controle água destilada G5-controle natrogel	<i>E. faecalis</i>	Cultura bacteriana contagem de UFC, e confirmação da espécie bacteriana.	Início, após instrumentação e irrigação do canal e após 7 dias.	G1, G2 e G3 ↓ bac. Após PQC, mas apenas G1 e G2 ↓ após sete dias.	CHX a 2% gel e líquido foram capazes de manter a UFC baixa após sete dias da instrumentação.	Efeito de substantividade
Carson, Goodell e McClanahan 2005	384	G1-Doxiciclina .01% G2-Doxi .005% G3-NaOCl a 6% G4-NaOCl a 3% G5-CHX a 2% G6-CHX a 0.12%	<i>A. P. micros</i> , <i>B. P. intermedia</i> , <i>C. S. sanguis</i> , <i>D. L. acidophilus</i>	Teste de macrodiluição e Concentração mínima inibitória. Medição turbidade halo de inibição.	48 e 72h	A: G1>G2>G3>G4>G5>G6 B: G1>G2>G3=G5>G4>G6 C: G1>G3=G2>G4>G5>G6 D: G3>G4>G5=G1=G2>G6.	NaOCl a 6% mostrou zonas de inibição maiores que NaOCl a 3% em todos os microorganismos testados	Sugestão da irrigação final com CHX a 2%.
Portenier et al. 2005	36	G1-solução saturada de Ca(OH) ₂ G2-CHX 0.05% G3-0.0001% NaOCl	<i>E. faecalis</i> , nas fases exponencial, estacionária e declínio.	Cultura bacteriana, UFC, SDS-Page, MET e MEV	Início a 10min	Curva bacteriana até 10 min de contato: G1:63% bactérias viáveis. G2:9.3%. G3:3.1%.	As Células de <i>E. faecalis</i> na fase de declínio são as mais resistentes.	A CHX e o NaOCl apresentaram bom desempenho antimicrobiano ao teste.
Portenier et al. 2006	384	G1- MTAD a1, 10 e 100% G2-CHX 0.2,0.02 e 0.01% G3-CHX +Cetrimida 0.1 e 0.01%	<i>E. faecalis</i>	UFC	1 e 24h	MTAD a 100% e 0,2% de clorexidina eliminaram rapidamente ambas as cepas testadas	As substâncias inativadoras interferiram no papel antibacteriano das medicações testadas	BSA e presença de dentina podem atrapalhar no papel antimicrobiano das substancias testadas

Continuação

Estudo	Quantidade de amostras	Substâncias testadas	Cepas testadas	Metodologia	Tempo de contato das Amostras	Resultados	Conclusões	Observações
Clegg et al. 2006	140 hemiseções de ápices radiculares	G1-NaOCl a 6%, 3%, 1%. G2-CHX a 2% G3-NaOCl a 1% G4-MTAD G5-PBS	Biofilme polimicrobiano	MEV e Viabilidade bacteriana	15 min	NaOCl a 6% foi capaz de desorganizar e eliminar os microorganismos viáveis, e o NaOCl a 3% só desorganizou o biofilme	NaOCl a 6% foi capaz de desorganizar e eliminar os microorganismos viáveis	CHX foi incapaz de agir no biofilme (nem a 12%), sugerem agitação mecânica das soluções irrigantes.
Khademi, Mohammadi e Havaee 2006	80 tubos dentinários bovinos infectados	G1-CHX a 2% G2-Doxicilina 100mg mL ⁻¹ G3-NaOCl 2.6% Controle positivo Controle negativo	<i>E. faecalis</i>	Cultura bacteriana e contagem de UFC.	No início do experimento, sete, quatorze, vinte e um e vinte e oito dias.	Início:G3 mais efetivo. 7,14,21 e 28dias: CHX mais efetivo ($P<0.05$).	A substantividade da clorexidina foi maior que das outras substâncias testadas.	Substantividade da CHX até 21 dias.
Ruff, McClanahan e Babel 2006	48 dentes unirradiculares humanos	G1-NaOCl 6% G2-CHX 2% G3-MTAD G4-EDTA 17% G5-solução saline	<i>C. albicans</i>	Cultura microbiológica e contagem de UFC.	1min e 5min para MTAD (acordo fabricante)	G1 e G2 > MTAD e EDTA 17%. MTAD > EDTA. (p<0.05)	CHX e NaOCl apresentaram melhor atividade antifúngica como irrigantes.	CHX=NaOCl como irrigantes final.
Sena et al. 2006	84 amostras de biofilmes de mono espécie	G1-NaOCl 5.25% G2-NaOCl 2.5% G3-CHX 2% liq G4-CHX 2% gel	<i>A-E. faecalis,</i> <i>B-S.aureus,</i> <i>C-C. albicans,</i> <i>D-P.intermedia,</i> <i>E-P.gingivalis,</i> <i>F-P.endodontalis</i> <i>G-F.nucleatum</i>	Cultura microbiológica e contagem de UFC.	30s, 5, 10, 15, 30 e 60 min	D,F,G,E: 30 s por todos com e sem agitação mecânica. B e G2 foram = com e sem agitação mecânica. G1 = G3 eliminando todos os microorganismos.	Agitação mecânica melhorou o desempenho antimicrobiano das soluções irrigantes líquidas de NaOCl 5.25% e CHX 2%.	G3=G1 forma líquida e agitação mecânica para biofilmes.
Estrela et al. 2007	30 dentes ântero-superiores humanos.	G1-água ozonizada G2-Ozônio gasoso G3-NaOCl a 2.5% G4-CHX a 2%	<i>E. faecalis</i>	Cultura microbiológica e densidade óptica – turbidímetro.	20 min.	Nenhuma solução irrigante testada demonstrou efetividade antibacteriana contra o <i>E. faecalis</i> .	As soluções irrigantes empregadas por 20 min não foram eficientes na eliminação do <i>E. faecalis</i>	Nenhum grupo testado demonstrou eficiência.

Continuação.

Estudo	Quantidade de amostras	Substâncias testadas	Cepas testadas	Metodologia	Tempo de contato das Amostras	Resultados	Conclusões	Observações
Ferraz et al. 2007	297 testes de difusão	G1-CHX gel 0.2,1 e 2% G2-CHX liq 0.2,1 e 2% G3-NaOCl 0.5,1,2.5,4 e 5.25%	<i>A-E. faecalis</i> <i>B-S.aureus</i> <i>C-S.sanguis</i> <i>D-S.sobrinus</i> <i>E-A.naeslundii</i> <i>F-P.intermedia</i> <i>G-P.gingivalis</i> <i>H-P.endodontalis</i> <i>I-P.denticola</i>	Difusão em ágar	48h facultativas e 7 dias anaeróbias.	G1 = G2 (todas as concentrações). G1 a 2% > G3 (todas as concentrações) P > 0.05.	A clorexidina em gel tem grande potencial antimicrobiano para ser usada como substância química auxiliar.	Eficácia CHX gel a 2% em teste de contato microbiológico.
Oliveira et al. 2007	98 dentes unirradiculares humanos	G1-NaOCl 2.5% G2-NaOCl 5.25% G3-CHX 2% G4-Ca(OH) ₂ 0.14% G5-Polimixina B G6-Controle positivo G7-Controle negativo	Endotoxina da <i>Escherichia coli</i>	Teste do <i>Limulus</i> e produção de anticorpos na cultura do linfócito β	Imediato e após 7 dias	G4,G5 e G7 > G1,G2,G3 e G6 (P<.05).G4 e G5 detoxicaram a endotoxina e alteraram as propriedades do LPS para estimular a produção de anticorpos pelos linfócitos β	As soluções de clorexidina e hipoclorito de sódio não detoxicaram as endotoxinas	Resultado de acordo com a literatura.CHX não detoxica a endotoxina.
Oliveira et al. 2007	80 pré-molares inferiores humanos	G1-CHX gel 2% G2-NaOCl 1.5% G3-NaOCl 5.25% G4-água destilada G5-natrosol gel	<i>E.faecalis</i>	Cultura microbiológica e contagem de UFC.	S1-inicial S2-após preparo S3-7 dias após.	G1eG3 = S3<S2<S1. G2=S3=S2<S1.	O gel de gluconato de clorexidina a 2% e o NaOCl a 5.25% foram efetivos na redução de <i>E.faecalis</i> por 7 dias.	Substantividade do CHX gel a 2% como irrigante e menos tóxico que o NaOCl aos tecidos periapicais.
Sassone et al. 2008	2000 testes	G1-NaOCl 1% G2-NaOCl 5% G3-CHX 0.12% G4-CHX 0.5% G5-CHX 1% Com e sem BSA	<i>A-S. aureus</i> <i>B-E.faecalis</i> <i>C-E.coli</i> <i>D-P.gingivalis</i> <i>E-F.nucleatum</i>	Testes de atividade (contato e difusão em ágar).	T ₁ -inicial T ₅ -5min T ₁₅ -15min T ₃₀ -30min	Teste de contato, G3=B de 0 a 30 min. G4=B=T ₁ . No teste de difusão em ágar, todas as soluções exibiram zonas de atividade antimicrobiana.	A clorexidina a 0.12% foi incapaz de eliminar o <i>E.faecalis</i> , enquanto que a 0.5 e 1% de clorexidina e hipoclorito de sódio a 1 e 5% mostraram efetividade contra todas as cepas bacterianas	A adição de material orgânico interferiu com a precisão do teste de difusão em ágar, enquanto que ao teste de contato não.

Conclusão.

Tabela 5.2 – Clorexidina como irrigante, *in vivo*

Estudo	Amostra	Critério de Inclusão	Solução de irrigação	Instrumentação do canal	Medicação Intracanal e período	Metodologia	Amostras	Resultados	Conclusões	Observações
Leonardo et al. 1999	22	Polpa necrótica	Solução de CHX a 2%	Técnica manual	Vazio por 48h	Cultura microbiológica e teste de contato em placa	(S1): Inicial (S2): após a irrigação final (S3): 48h após	S1≠ S2 (100%), S2=S3.	Eficácia na redução de anaeróbios em 77.78%, efeito residual por 48h.	Resultado esperado pelos autores e metodologia correta.
Zamany et al. 2003	24	Periodontite apical crônica	G1=NaOCl a 1% G2=solução de CHX a 2%	Profile GT e Profile. 04	Pasta de Hidróxido de Cálcio por 7 a 10 dias	Cultura microbiológica por 28 dias	(C1): Inicial (C2): após preparo (C3): após irrigação	C1 ≠ C2 (G1 e 2). C2 = C3, com 1 cultura no grupo testado e 7 para o controle.	A solução de CHX a 2% demonstrou eficácia na desinfecção do canal radicular.	Utilizada como irrigante final, os autores acharam o número de amostra pequena.
Tanomaru Filho et al. 2006	78	Periodontite apical crônica induzida	G1=NaOCl 2.5% G2= CHX 2% G3=soro fisiológico	Técnica manual	–	Cultura microbiológica e contagem de UFC.	(S1): antes da irrigação (S2):30 dias após	S1≠ S2, com maior efetividade para a CHX a 2%.	O uso das soluções irrigadoras durante o PQC, diminui os microorganismos.	Estudo realizado em cães. Lesão periapical induzida.
Vianna et al. 2006	32	Periodontite apical crônica	G1=NaOCl 2.5% G2= gel de CHX a 2%	Instrumentação híbrida, cervical com instrumentos rotatórios GT e preparo apical com limas manuais de 35 a 45.	-	Técnicas de cultura tradicionais, RTQ-PCR em formato de SYBRGreen e TaqMan	(S1): antes do preparo (S2): após o preparo	S1 ≠ S2.	Ambas as substâncias reduzem os microorganismos, mas pelo PCR o NaOCl demonstrou níveis elevados	Metodologia eficiente e custo elevado.
Wang et al. 2007	43	Periodontite apical	G1=CHX gel a 2% e Soro fisiológico	Profile. 04 # 40 e 60	Ca(OH) ₂ + CHX 2% - 2 semanas	Cultura anaeróbica e UFC	(S1): antes do preparo (S2): após o preparo (S3): após medicação	S1 ≠ S2 = S3.	CHX 2% gel eficiente na desinfecção do canal	Tempo de contato e metodologia aplicada

Continua.

Estudo	Amostra	Critério de Inclusão	Solução de irrigação	Instrumentação do canal	Medicação Intracanal e período	Metodologia	Amostras	Resultados	Conclusões	Observações
Siqueira Jr et al. 2007	13	Periodontite apical crônica	G1=NaOCl a 2.5% G2=Solução de CHX a 0.12%	Limas de NiTi # 50 a 60	Ca(OH) ₂ + CHX 0.12%/ 1 semana	Cultura bacteriana e 16S rRNA	(S1): antes do preparo (S2): após o preparo (S3): após medicação	S1 ≠ S2 = S3	A substância testada reduziu significativamente as bactérias	Limitação da metodologia, eficiência e padronização.
Siqueira Jr, Paiva e Rôças 2007	32	Periodontite apical crônica	G1=NaOCl a 2.5% G2= solução de CHX a 0.12%	Limas de NiTi # 50 a 60	Ca(OH) ₂ por 1 semana	Cultura bacteriana e 16S rRNA	(S1): antes do preparo (S2): após o preparo (S3): após medicação	S1 ≠ S2 = S3	Ambas as substâncias foram eficiente na desinfecção do canal	Metodologia, resultados semelhantes.
Conclusão										

Tabela 5.3 – Clorexidina como mediação intracanal, *in vitro*

Estudo	Quantidade de amostras	Substâncias testadas	Cepas testadas	Metodologia	Retirada das Amostras	Resultados	Conclusões	Observações
Komorowski et al. 2000	60 cilindros dentinários bovinos	A- NaOCl a 2.5% B- CHX a 0.2% C- soro fisiológico	<i>E. faecalis</i>	Cultura bacteriana e densidade óptica	5 min 7 dias	CHX a 0.2% por 7 dias	CHX a 0.2% tem potencial para medicação intracanal por 7 dias	5 min para simular a irrigação do canal e sete dias como medicação intracanal
Lenet et al. 2000	60 cilindros dentinários bovinos	A- CHX a 25% modelo B- gel CHX a 2% C- pasta Ca(OH) ² D- controle	<i>E. faecalis</i>	Cultura bacteriana e densidade óptica	7 dias para as medicações e retirada das amostras após 21 dias	B>C>A>D	CHX a 2% por 7 dias, tem substantividade por até 21 dias	Medicação que seja liberada gradativamente
Lima ,Fava e Siqueira 2001	60 Monobiofilmes cultivados 1 e 3 dias	A- gel CHX 2% B- gel CHX 2% + detergente C- clindamicina2% e gel D- clindamicina2% + detergente E- B+15% OZn F- D+metronidazol 10%	<i>E. faecalis</i>	Cultura bacteriana e células viáveis	Contato por 1 dia	A- para todos os monofilmes cultivados por 1 e 3 dias.	CHX a 2% em gel é capaz de eliminar biofilme de <i>E. faecalis</i>	O gel fica mais aderido a parede dentinária liberando a CHX e elimina o monobiofilme
Rosa et al. 2002	24	A- Ca(OH) ² B- CHX C- PMCC D- formocrsol	<i>Prevotella nigrescens</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Clostridium perfringens</i>	CIM e CBM	48 ou 96h	<i>Clostridium perfringens</i> , bactéria mais resistente.	O caldo RCM foi o mais efetivo e o <i>C. perfringens</i> , o microrganismo mais resistente.	As CIMs e CBMs foram compatíveis com seu conhecido desempenho clínico, variando com as bactérias e meios de cultura empregados
Basrani et al. 2002	98 raízes humanas	A- gel CHX 2% B- gel CHX 0.2% C- solução CHX 2% D- Ca(OH) ² E- Ca(OH) ² + gel CHX 0.2% F- C+ modelo CHX 25% G-soro fisiológico H-Gel	<i>E. faecalis</i>	Cultura bacteriana e densidade óptica	7 dias	A,C e F > G e H, B,D e E = G e F.	CHX gel a 2% por 7 dias combate o <i>E. faecalis</i>	O diâmetro do canal radicular humano é menor que o bovino por este motivo que se preferiu utilizar dentes humanos. Não realizado em infecção polimicrobiana.

Continua

Estudo	Quantidade de amostras	Substâncias testadas	Cepas testadas	Metodologia	Retirada das Amostras	Resultados	Conclusões	Observações
Barthel et al. 2002	75 raízes dentárias humanas	A- CHX gel 5% B- pasta de Ca(OH) ₂ C- Guta percha com CHX D- Guta percha com Ca(OH) ₂ E- cone de papel C+ F- controle negativo	bactérias anaeróbicas e ou facultativas.	Cultura bacteriana e UFC	S1-início S2- após medicação por 7 dias S3- após meio de cultura no canal por sete dias	S1≠S2 para todos testados S2≠S3 para A e B	A e B não apresentaram recolonização após 1 e 2 semanas.	os produtos foram testados em bactérias anaeróbicas e ou facultativas. Substantividade
Ferreira et al. 2002	320	A - Ca(OH) ₂ a 10%, B - CHX a 2%, C -PMCC e D -10% detergente de óleo de rícino	<i>F. nucleatum</i> <i>P. nigrescens</i> <i>C. perfringens</i> <i>B. fragilis</i>	Determinação da MIC e MBC	48h	MIC = B > D > C > A.	Todas as substâncias tiveram ação antibacteriana	Única cepa – limitação, Difusão medicação. + Resistentes= <i>C. perfringens</i> <i>B. fragilis</i>
Gomes et al. 2003	180 cilindros dentinários bovinos	A- gel CHX a 2% B- pasta de Ca(OH) ₂ C- A + B D- BHI controle	<i>E. faecalis</i>	Meio de cultura, densidade óptica	1,2,7,15 e 30 dias.	A=1,2,7 e 15 dias de inibição. B= nenhum dia. C= 1 e 2 dias.	O gel de CHX a 2% foi efetivo por 15 dias e mais que o Ca(OH) ₂	A bactéria presente no canal radicular cresce num pH em torno de 6.5 e 7.5. por longo períodos a CHX perde a efetividade
Lynne et al. 2003	30 cilindros dentinários bovinos	A- controle + B- Ca(OH) ₂ a 10% C- Ca(OH) ₂ a 10% + CHX a 0.12% D- CHX a 0.12% E- controle -	<i>E. faecalis</i>	Cultura bacteriana e UFC	24h	B,C e D > A e E B > C e D.	Ca(OH) ₂ a 10% é mais eficiente no combate ao <i>E. faecalis</i> em túbulos dentinários.	A pasta de hidróxido de cálcio foi neutralizada pelo peridex, afetando suas propriedades física e químicas. Pouco tempo de contato para difusão.
Lin et al. 2003	27 cilindros dentinários bovinos	A- Guta percha +CHX (Active Point) B- 10 mL de CHX a 0.2% C- controle +	<i>E. faecalis</i>	Cultura bacteriana e contagem UFC.	7 dias	A- eliminação de bactérias em até 500 µm B- redução de bactérias nas camadas dentinárias	Active Point foi eficaz na eliminação das bactérias.	Interpretação dos estudos in vivo e vitro, quanto a [] das medicações e tempo.

Continuação

Estudo	Quantidade de amostras	Substâncias testadas	Cepas testadas	Metodologia	Retirada das Amostras	Resultados	Conclusões	Observações
Basrani et al. 2003	100 dentes humanos unirradiculares	A- CHX(solução e gel a 0.2 e 2%) B- Ca(OH) ₂ C-Ca(OH) ₂ + CHX gel a 0.2%	<i>E. faecalis</i>	Teste de difusão em ágar. Cultura bacteriana, densidade óptica e bactérias viáveis.	7 dias	Teste de difusão em ágar= A e C>B. Bactérias viáveis= A>C.	CHX é eficaz no combate ao <i>E. faecalis in vitro</i> .	Fazer trabalhos <i>in vivo</i> para comparar os resultados
Lin, Mickel e Chogle 2003	6 amostras com discos de papéis	A- pasta Ca(OH) ₂ B- Pulpdent C- CHX a 0.12% D- Ca(OH) ₂ mais C E- B + C F- ampicilina como controle.	<i>E. faecalis</i>	Teste de ágar difusão	72h	Peridex (CHX a 0.12%) > que Ca(OH) ₂ , e C = D.	CHX é eficaz como medicação intracanal	A combinação da CHX com o hidróxido de cálcio não melhora sua atividade antimicrobiana. O Ca(OH) ₂ possui pouca difusão em ágar de Mueller-Hinton.
Menezes et al. 2004	96 dentes humanos unirradiculares	GMI1- Ca(OH) ₂ GMI2 – PMCC GMI3 – tricresol GMI4 - Ca(OH) ₂ + PMCC GMI5 – Calen GI6 – NaOCl 2.5% GI7 – CHX a 2% G8 – soro fisiológico	<i>E. faecalis</i> e <i>C. albicans</i>	Cultura microbiológica e contagem de UFC.	7 e 15 dias	<i>C. albicans</i> - G1,2,4 e 5 > 3 e 8. <i>E. faecalis</i> - G1,4, e 7 > G6 e 8.	Solução de CHX a 2%,foi mais efetiva como irrigante e Ca(OH) ₂ + PMCC, como medicação intracanal.	Importância do uso de irrigações em duas sessões e uso de medicação intracanal, para eliminação de microorganismos.
Rosenthal, Spångberg e Safavi 2004	60 cilindros dentinários bovinos	Gel de CHX a 2% por 10 min: G1- 1 dia G2- 3 semanas G3- 6 semanas G4- 12 semanas	<i>E. faecalis</i>	Espectrofotometria UV e contagem de UFC.	1 dia, 3,6 e 12 semanas	G1- 0.0048% de CHX e 1 ufc G2- 0.0023% e 41.33 ± 18.23 ufc G3- 0.0016% e 169 ± 79.64 ufc G4- 0.0010% e 577.33 ± 177.78 ufc	A CHX se mantém eficiente como antimicrobiana na dentina por até 12 semanas.	Metodologias eficientes, comprovando a substancialidade da CHX.
Abdullah et al. 2005	24	G1- Ca(OH) ₂ G2 – CHX a 0.2% G3 –EDTA a 17% G4 – iodopovidona a 10% G5– NaOCl 3% G6 – PBS, controle	<i>E. faecalis</i> em biofilme, suspensão e pelota.	Cultura microbiológica e contagem de UFC	1,2,4,8,15,30 e 60 min.	G1 = 5 , eliminam todas as formas de <i>E. faecalis</i> .	NaOCl a 3%elimina 100% de <i>E. faecalis</i> em 2 min, independento de sua forma de apresentação	A efetividade antimicrobiana depende do agente testado, do fenótipo bacteriano e da duração de contato com o agente antimicrobiano.

Continuação

Estudo	Quantidade de amostras	Substâncias testadas	Cepas testadas	Metodologia	Retirada das Amostras	Resultados	Conclusões	Observações
Schäfer e Bössmann 2005	40 dentes humanos unirradiculares	G1- Ca(OH) ₂ G2- CHX a 2% gel G3- Ca(OH) ₂ + CHX a 2% G4- água	<i>E.faecalis</i>	Cultura microbiológica e contagem de UFC	Após 72h do canal medicado, utilizando as limas # 45,50,55 e 60.	G2 > G1 e G3, G1=G3.	CHX a 2% eficaz na eliminação do <i>E.faecalis</i> dos túbulos dentinários	Dente humano condição mais semelhante à clínica. CHX a 2% é segura e rápida.
Gomes et al. 2006	510 poços, seis repetições para cada grupo.	G1- Ca(OH) ₂ G2- CHX a 2% gel G3- Ca(OH) ₂ + CHX a 2%	<i>E.faecalis</i> , <i>S.aureus</i> , <i>C. albicans</i> , <i>P. endodontalis</i> , <i>P.gingivalis</i> e <i>P.intermedia</i>	métodos do teste de difusão em ágar e o teste de contato direto	30seg à 24h	Zonas de inibição: G2>G3>G1.	A pasta de Ca(OH) ₂ + gel CHX a 2% mostrou melhor ação antimicrobiana.	As zonas de inibição dos medicamentos devem estar mais relacionadas às propriedades de difusibilidade e solubilidade dos materiais em agar que sua eficácia contra os microorganismos
Ercan, Dalli e Dülgergil 2006	8 dentes humanos unirradiculares	G1- Ca(OH) ₂ G2- Ca(OH) ₂ + CHX a 2% G3- CHX a 2% gel G4- solução salina a 0.9%	<i>E.faecalis</i> e <i>C.albicans</i>	Cultura microbiológica e contagem de UFC	7, 15 e 30 dias.	G3>G2>G1>G4.	O gel de clorexidina a 2% é efetivo na eliminação do <i>E.faecalis</i> e <i>C.albicans</i> do sistema de canal radiculares.	Correlacionar os resultados de trabalho in vitro com resultados clínicos, através de métodos mais aplicáveis em estudos clínicos.
Ballal et al. 2007	270 poços	G1- Ca(OH) ₂ G2- CHX a 2% gel G3- Ca(OH) ₂ + CHX a 2%	<i>E.faecalis</i> e <i>C.albicans</i>	Métodos do teste de difusão em ágar e o teste de contato direto	24 e 72h	72h: G2>G1 e G3, para <i>E.faecalis</i> . 24h: G1 para <i>C.albicans</i> .	Em dentes com insucesso no tratamento endodôntico, a CHX a 2% gel é mais efetiva como medicação intracanal.	Teste de difusão e em monocultura.
Cook, Nandakumar e Fouad 2007	85 dentes humanos unirradiculares	G1- Obturação G2- Ca(OH) ₂ por 7 dias G3- CHX 2% por 30 min e obturação	<i>E.faecalis</i>	Cultura Microbiológica e PCR	7 dias	Nenhuma cultura com crescimento. Pelo PCR, poucos <i>E.faecalis</i> no G3, em relação ao G2 e 1. (p=0.05)	CHX a 2% por 10 min, seguido de obturação foi mais efetivo na remoção do <i>E.faecalis</i>	Sem crescimento bacteriano por pequena quantidade de amostra. Estudo em monocultura limita as variáveis.

Continuação

Estudo	Quantidade de amostras	Substâncias testadas	Cepas testadas	Metodologia	Retirada das Amostras	Resultados	Conclusões	Observações
Delgado 2007	120 raízes de dentes humanos	G1- Ca(OH) ₂ G2- CHX a 2% gel G3- Ca(OH) ₂ + CHX a 2% G4- soro fisiológico	<i>E.faecalis</i> e <i>C.albicans</i>	Cultura microbiológica e células viáveis por microscopia de fluorescência	14 dias	G2 e G3 >G1 eG4.	G2 e G3 são indicados como medicação intracanal	Semelhante com a situação clínica e métodos mais precisos.
Krithikadatta, Indira e Dorothykalyani 2007	45 blocos dentinários de pré-molares extraídos	G1- Sol. Salina G2- Ca(OH) ₂ G3- Vidro bioativo G4- CHX gel 2% G5- Metronidazol gel 2%	<i>E.faecalis</i>	Cultura microbiológica e contagem de UFC	200 e 400µm, nos dias 1, 3 e 5.	100% de inibição para G4 em 200 e 400µm, nos dias 1, 3 e 5. G5 (86.5%)> G3(62.8%)> G2(58.5%)	O gel de clorexidina a 2% foi o mais efetivo dos medicamentos contra o <i>E.faecalis</i> .	Metodologia coerente com a condição clínica
Souza-Filho et al 2008	210 testes de difusão	G1- CHX gel 2% G2- G1 + Ca(OH) ₂ G3- G2 + Iodoformio G4- G2 + Ozn G5- soro fisiológico + Ca(OH) ₂	<i>E.faecalis</i> , <i>S.mutans</i> , <i>C. albicans</i> , <i>S.sobrinus</i> , <i>S.sanguis</i> , <i>P.gingivalis</i> e <i>P.intermedia</i>	Métodos do teste de difusão e medição do pH.	48h – teste de difusão. Inicial, 24h e sete dias. Medição do pH.	Melhor atividade antimicrobiana: G1>G2>G3>G4>G5. pH de todos foi de 12, exceto do G1=7.0	Todas as medicações tiveram atividade antimicrobiana	Colocação de outras substâncias em pó para radiopacidade e barreira física na CHX gel.
Lee et al. 2008	100 cilindros dentinários humanos	G1- sol. salina G2- Ca(OH) ₂ G3- modelo experimental – CHX 40% G4- G3 s/ CHX G5- sol CHX a 0.2%	<i>E.faecalis</i> .	Meio de Cultura, e analisadas a densidade óptica (OD)	7 dias, 200 e 400µm.	Valores de OD mais baixos para o G3 que noutros grupos	O modelo experimental foi efetivo como medicação intracanal contra a bactéria testada.	A concentração da CHX no modelo experimental foi de 40%, contra da solução a 0.2%.

Conclusão

Tabela 5.4 – Clorexidina como medicação intracanal, *in vivo*

Estudo	Amostra	Critério de Inclusão	Solução de irrigação	Instrumentação do canal	Medicação Intracanal e período	Metodologia	Amostras	Resultados	Conclusões	Observações
Manzur et al. 2007	33	Periodontite apical crônica	NaOCl 1%	K3 .04 # 35 e 40.	G1=Ca(OH) ₂ G2=CHX 2% G3=Ca(OH) ₂ / CHX 2% p/ 1 semana	Turbidez e Cultura anaeróbica e UFC	(S1): antes do preparo (S2): após o preparo (S3):após medicação	S1 ≠ S2 = S3 para todos os grupos	As medicações apresentaram o mesmo desempenho antibacteriano	<i>in vivo</i> – contagem de células suspensas e não em biofilmes
Paquette et al. 2007	22	Periodontite apical crônica	NaOCl a 2.5% , CHX líquida a 2% final e soro fisiológico	Profile .04 e .06 #35	CHX líquido 2% / 1 a 2 semanas	Cultura aeróbica anaeróbica, [] bac/vol UFC e corantes fluorescentes	1AC:: abertura do dente 1A: antes do preparo 1B:após do preparo 2AC: após acesso 2A: após neutralização 2B:após irrigação final com NaOCl a 2.5%	1A ≠ 1B ↓ 1B ≠ 2A ↑ 2A ≠ 2B ↓	CHX líquida a 2% não foi eficiente na eliminação de microorganismos	Metodologia, técnica de aspiração, resultado falso positivo e negativo.
Vianna et al. 2007	24	Periodontite apical crônica	Gel de CHX a 2%	Instrumentação híbrida, cervical com instrumentos rotatórios GT e preparo apical com limas manuais até lima 45	G1=Ca(OH) ₂ G2=CHX 2% G3=Ca(OH) ₂ / CHX 2% p/ 1 semana	Técnicas de cultura tradicionais, cromogênica do lisado do amebócito <i>Limulus</i> , identificação	(S1): antes do preparo (S2): após o preparo (S3):após medicação	S1 ≠ S2 = S3 para todos os grupos	As medicações foram semelhantes não diminuindo a quantidade de endotoxina e bactérias remanescentes após instrumentação	A endotoxina é eliminada pela resposta inflamatória do hospedeiro.

6 DISCUSSÃO

Com a evolução tecnológica na Endodontia, os procedimentos clínicos tornaram-se mais rápidos e precisos, fazendo com que os profissionais buscassem produtos e soluções eficazes a este fim.

Dentre os fármacos empregados na Endodontia, a Clorexidina vem se tornando a substância de eleição nas fases de preparo químico-cirúrgico do canal radicular, como irrigante (STUART et al., 2006; ZEHNDER, 2006) e medicação intracanal entre sessões (STUART et al., 2006), devido sua excelente performance, das quais a antimicrobiana é a primordial, com um potencial de largo espectro, contra gram-positivos e negativos, microorganismos facultativos, anaeróbios estritos e mais a ação antifúngica (GOMES et al., 2006; LEONARDO et al., 1999; SIQUEIRA et al., 2007).

Quimicamente, a Clorexidina é um detergente bisguanida catiônico, que age pela adsorção na parede celular do microorganismo resultando na infiltração dos componentes intracelulares, e que em concentrações mais elevadas, torna-se bactericida causando a precipitação ou coagulação dos constituintes intracelulares. Sua molécula catiônica se liga à carga negativa da parede celular bacteriana, causando uma alteração no equilíbrio osmótico bacteriano (VIANNA et al., 2004). A carga positiva adsorve dentro da dentina prevenindo a colonização bacteriana para dentro dos túbulos dentinários, evitando desta maneira uma reinfecção após a obturação do canal radicular (LEE et al., 2008). Desse modo, explica-se sua baixa tensão superficial penetrando em túbulos dentinários e promovendo seu efeito residual (substantividade) por até 12 semanas (ROSENTHAL; SPÅNBERG; SAFAVI,

2004). Deve-se salientar que sua substantividade ocorre tanto em tecidos moles como em tecidos dentários (LEONARDO et al., 1999).

No que se refere à associação da ação antimicrobiana com o pH, a clorexidina age com um pH entre 5.5 a 8 (GOMES et al., 2006; LEONARDO et al., 1999; SIQUEIRA et al., 2007; SOUZA-FILHO et al., 2008; WANG et al., 2007). Tal fato merece uma melhor interpretação, pois o uso de substâncias com pH básico apresenta grandes ações bactericidas, como o hidróxido de cálcio. Entretanto, substâncias como o iodofórmio, também possui um desempenho antimicrobiano, mas com um pH ácido. Assim sendo, esta questão da ação antimicrobiana associada ao pH, deve ser mais bem interpretada, pois diante o exposto o pH não seria uma condição exclusiva do potencial antimicrobiano.

A biocompatibilidade é um fator que deve ser observado quando do trato de tecidos vivos. Entretanto, na terapia endodôntica é difícil associar substâncias biocompatíveis com a presença de bactérias e a busca da desinfecção. Neste particular, salientamos agressões promovidas pelo hipoclorito de sódio utilizado nas concentrações de 1% até a 6%, causando muitas vezes reações a nível celular que resultam num processo de necrose tecidual. Ademais, tais fatos são observados também quando do uso de medicações intra e extracanaís como o paramonoclorofenol, hidróxido de cálcio e iodofórmio todos com alto grau de toxicidade. Neste particular, a clorexidina na concentração de 2% desempenha sua atividade antimicrobiana com boa tolerância tecidual sendo indicada na terapia das perfurações radiculares e na região periapical quando o ápice estiver aberto (SASSONE et al., 2003b), não sendo citotóxica a estas regiões adjacentes (OLIVEIRA et al., 2007a).

Frente a algumas dúvidas envolvendo a eficiência da Clorexidina no uso endodôntico destaca-se que na presença de matéria orgânica, como a albumina bovina sérica (BSA) *in vitro* e em contato com as substâncias irrigantes e medicações intracanalais, o fármaco tem sua ação antimicrobiana diminuída (PORTENIER et al., 2005; PORTENIER et al., 2006; SASSONE et al., 2003b). De acordo com Wang et al. (2007), seu pH reduz na presença de material orgânico, e também, não possui a capacidade de dissolver material orgânico (FERRAZ et al., 2001; STUART et al., 2006; ZEHNDER, 2006). Entretanto, a clorexidina não se constitui numa barreira intracanal efetiva, permitindo microinfiltração de fluídos periapicais; além de não apresentar radiopacidade (SOUZA-FILHO et al., 2008).

Quando da avaliação dos estudos da clorexidina como irrigante *in vitro* (Tabela 5.1), utilizando-se diferentes metodologias, dentre elas: meio de cultura bacteriana (CLEGG et al., 2006; DAMETTO et al., 2005; ESTRELA et al., 2007; KHADEMI; MOHAMMADI; HAVAEE, 2006; OLIVEIRA et al., 2007a; PORTENIER et al., 2005; PORTENIER et al., 2006; EVANOV et al., 2004; RUFF; MCCLANAHAN; BABEL, 2006; SENA et al., 2006; SPRATT et al., 2001; SEM; SAFAVI; SPÅNGBERG, 1999; VIVACQUA-GOMES et al., 2005), difusão em ágar (ESTRELA et al., 2003; FERRAZ et al., 2007; LEONARDO et al., 2001; SASSONE et al., 2003a; SASSONE et al., 2008; VIANNA et al., 2004), teste de contato (WEBER et al., 2003), diluição em caldo de cultura (CARSON; GOODELL; MCCLANAHAN, 2005; FERRAZ et al., 2001; SASSONE et al., 2003b), teste do *Limulus*, produção de anticorpos na cultura do linfócito β (OLIVEIRA et al., 2007b) e com o uso de diferentes cepas bacterianas, a substância demonstrou efetividade em dezoito dos vinte e quatro trabalhos selecionados (DAMETTO et al., 2005; ESTRELA et al., 2003; EVANOV et al., 2004; FERRAZ et al., 2001; FERRAZ et al., 2007; KHADEMI; MOHAMMADI;

HAVAEE, 2006; LEONARDO et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2007a; PORTENIER et al., 2005; PORTENIER et al., 2006; RUFF; MCCLANAHAN; BABEL, 2006; SASSONE et al., 2003a; SASSONE et al., 2003b; SASSONE et al., 2008; SENA et al., 2006; VIANNA et al., 2004; VIVACQUA-GOMES et al., 2005; WEBER et al., 2003).

Dos seis trabalhos em que a clorexidina não demonstrou efetividade podemos ressaltar quatro que foram realizados em dentes humanos (CLEGG et al., 2006; ESTRELA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2007b; SEN; SAFAVI; SPÅNGBERG, 1999). Dentre algumas observações, num dos ensaios os espécimes foram inoculados por *C.albicans* sendo testados com CHX (0.12%) e NaOCl (1 e 5%). Os resultados demonstraram pouca efetividade da CHX contra *C.albicans* em que os autores preconizaram o uso em concentrações superiores a 0.12% (SEN; SAFAVI; SPÅNGBERG, 1999). No ensaio de Clegg et al. (2006), a clorexidina não demonstrou efetividade contra biofilmes polimicrobiano em hemiseções de ápices radiculares, em que sugeriram o acréscimo da agitação mecânica das soluções irrigantes. Estrela et al. (2007), testaram os irrigantes num fluxo contínuo por 20 min em dentes infectados por *E.faecalis* sem eficiência antimicrobiana para todos os grupos testados.

No quesito detoxicação de endotoxinas, em que os autores aplicaram metodologias específicas para estes fins (OLIVEIRA et al., 2007b), os resultados não foram favoráveis, pois a clorexidina não detoxica a endotoxina bacteriana.

Quanto aos demais ensaios que não foram realizados no mesmo ambiente experimental, destacam-se os estudos de: Spratt et al. (2001) que estudando a ação do fármaco em biofilmes, demonstraram que a clorexidina não possui efetividade, pois tal ação foi observada apenas quando o fármaco era associado à agitação

mecânica (SENA et al., 2006); e Carson, Goodell e McClanahan (2005), pois a CHX foi pouco eficiente em teste de macrodiluição e concentração mínima inibitória contra quatro microorganismos presentes em infecções endodônticas primárias.

Outro fator que pode criar discussões na interpretação da ação bactericida do fármaco e a metodologia utilizada, enquanto que os resultados são favoráveis em ambiente intracanal, e no meio de cultura podemos observar contradições (CARSON; GOODELL; MCCLANAHAN, 2005). Tal característica pode estar associada à difusão da droga no ambiente metodológico empregado.

Na análise dos ensaios como irrigante *in vivo*, a clorexidina se destaca com uma excelente performance antimicrobiana, como se observa nos trabalhos (LEONARDO et al., 1999; SIQUEIRA et al., 2007; SIQUEIRA; PAIVA; ROÇAS, 2007; TANOMARU FILHO et al., 2006; VIANNA et al., 2006; WANG et al., 2007; ZAMANY, SAFAVI; SPÂNBERG, 2003) inseridos na Tabela 5.2. Nestas condições, destacam-se os meios de cultura como os mais utilizados (LEONARDO et al., 1999; TANOMARU FILHO et al., 2006; WANG et al., 2007; ZAMANY; SAFAVI; SPÂNBERG, 2003;) e o uso do PCR (SIQUEIRA et al., 2007; SIQUEIRA, PAIVA e ROÇAS, 2007; VIANNA et al., 2006).

Desta forma, podemos observar que a clorexidina como irrigante, desempenhou sua atividade antimicrobiana com eficácia, quando testada *in vivo* como *in vitro*.

Na análise dos resultados literários quando do uso da clorexidina como medicação intracanal *in vitro* (Tabela 5.3), observamos uma grande variação entre os métodos utilizados. Neste particular destaca-se novamente a cultura microbiológica (ABDULLAH et al., 2005; BALLAL et al., 2007; BARTHEL et al., 2002; BASRANI et al., 2002; BASRANI et al., 2003; COOK; NANDAKUMAR; FOUAD,

2007; DELGADO, 2007; ÉRCAN; DALLI; DÜLGERGIL, 2006; FERREIRA et al., 2002; GOMES et al., 2003; GOMES et al. 2006; KOMOROWSKI et al., 2000; KRITHIKADATTA; INDIRA; DOROTHYKALYANI, 2007; LEE et al., 2008; LENET et al., 2000; LIMA; FAVA; SIQUEIRA, 2001; LIN et al., 2003; LIN; MICKEL; CHOGLÉ, 2003; LYNNE et al., 2003; MENEZES et al., 2004; ROSA et al., 2002; ROSENTHAL; SPÅNBERG; SAFAVI, 2004; SCHÄFER e BÖSSMANN, 2005; SOUZA-FILHO ET AL., 2008). Que foram empregadas em diferentes condições, tais como: densidade óptica (BASRANI et al., 2002; BASRANI et al., 2003; GOMES et al., 2003; KOMOROWSKI et al., 2000; LEE et al., 2008; LENET et al., 2000), unidades formadoras de colônias (ABDULLAH et al., 2005; BARTHEL et al., 2002; BASRANI et al., 2003; DELGADO, 2007; ÉRCAN; DALLI; DÜLGERGIL, 2006; LIMA; FAVA; SIQUEIRA, 2001; KRITHIKADATTA; INDIRA; DOROTHYKALYANI, 2007; LIN et al., 2003; LYNNE et al., 2003; MENEZES et al., 2004; ROSENTHAL; SPÅNBERG; SAFAVI, 2004; SCHÄFER e BÖSSMANN, 2005), determinação da concentração mínima inibitória e mínima bactericida (FERREIRA et al., 2002; ROSA et al., 2002), método de difusão em ágar (BALLAL et al., 2007; BASRANI et al., 2003; GOMES et al., 2006; LIN; MICKEL; CHOGLÉ, 2003; SOUZA-FILHO et al., 2008), microscopia de fluorescência (DELGADO, 2007) e PCR (COOK; NANDAKUMAR; FOUAD, 2007).

Desta forma pode-se observar uma grande efetividade da clorexidina como medicação intracanal, praticamente em todos os ensaios, com exceção de alguns trabalhos, como os de Rosa et al. (2002), Lynne et al. (2003), Menezes et al. (2004) e Abdullah et al. (2005). Tais resultados talvez possam encontrar justificativas nos diferentes aspectos metodológicos: no ensaio de Rosa et al. (2002), que tinha como proposta definir a Concentração Mínima Inibitória e Bactericida, a droga pode ter sofrido difusão no meio de cultura e reagido, mascarando o resultado. No ensaio de

Lynne et al. (2003), os fracos resultados podem ser explicados pela baixa concentração da clorexidina, empregada a 0.12%, já no trabalho de Menezes et al. (2004), a baixa atuação pode estar vinculada ao curto período experimental, apenas 24h, ademais os autores só considerariam a droga eficiente, se a mesma atuasse contra a *C.albicans* e o *E.faecalis*, visto que o resultado determinou apenas a morte do *E.faecalis*, limitando a interpretação do resultado. Outras situações demonstraram baixa ação bactericida nos métodos, como na forma de apresentação do *E.faecalis*: em suspensão, biofilme e pelota, avaliados entre 1 a 60 min (ABDULLAH et al., 2005).

Quanto à análise dos ensaios *in vivo* do uso da clorexidina como medicação intracanal (Tabela 5.4), podemos observar que foram realizados sob diferentes aspectos clínicos metodológicos: emprego da clorexidina a 2% por uma semana, com resultado favorável (MANZUR et al., 2007); emprego da clorexidina a 2% líquida, sem resultado favorável (PAQUETTE et al., 2007) e do emprego como gel a 2% na detoxicação da endotoxina bacteriana após instrumentação e medicação do canal (VIANNA et al., 2007) que não foi eficiente.

Sob o ponto de vista metodológico, deve-se ter cautela quando da comparação e correlação dos resultados de ensaios *in vivo* e *in vitro*, pois devemos observar quais os métodos que possam ser aplicáveis dentro de uma realidade clínica (ÉRCAN; DALLI; DÜLGERGIL, 2006). A dificuldade em se estabelecer paralelos nos ensaios *in vivo* e *in vitro*, está relacionada ao ambiente de estudo. Nos ensaios *in vitro*, utilizando metodologias como o teste de contato direto (LEONARDO et al., 1999) e a determinação da concentração mínima inibitória e bactericida (SASSONE et al., 2003a), são pesquisas em que na sua grande maioria são efetuadas com uma única cepa microbiológica a fim de verificar a ação de

determinada substância sobre determinado microorganismo específico, completamente diferente do ecossistema apresentado *in vivo*.

Do ponto de vista microbiológico, o desempenho dos fármacos varia de acordo com o microorganismo testado, da sua forma de apresentação e do meio em que se apresenta (ABDULLAH et al, 2005), pois exemplificando, observamos a não eficiência da clorexidina como irrigante em biofilme de único microorganismo, como nos trabalhos de Spratt et al. (2001) e Clegg et al. (2006), sendo que esta mesma droga apresenta resultados positivos quando associada a uma agitação mecânica (SENA et al., 2006).

Quanto ao emprego de cilindros dentinários como amostra experimental, estes métodos podem permitir algumas associações com a realidade clínica. Todavia algumas limitações são observadas, como o uso da dentina bovina que pode apresentar alterações, pois o lúmen do canal é maior que o da dentina humana, propiciando de maneira diferente o processo de infecção microbiológica (BASRANI et al., 2002). Desse modo, observa-se uma quantidade maior de trabalhos sendo realizados em dentina humana (BARTHEL et al., 2002; BASRANI et al., 2002; BASRANI et al., 2003; CLEGG et al., 2006; COOK; NANDAKUMAR; FOUAD, 2007; DAMETTO et al., 2005; DELGADO, 2007; ÉRCAN; DALLI; DÜLGERGIL, 2006; ESTRELA et al., 2007; FERRAZ et al., 2001; KRITHIKADATTA; INDIRA; DOROTHYKALYANI, 2007; LEE et al., 2008; MENEZES et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2007a; OLIVEIRA et al., 2007b; RUFF; MCCLANAHAN; BABEL, 2006; SCHÄFER e BÖSSMANN, 2005; SEN; SAFAVI; SPÅNGBERG, 1999; VIVACQUA-GOMES et al., 2005; WEBER et al., 2003). Esta metodologia busca obter resultados mais próximos das condições clínicas.

Outro fator a ser observado é que nos ensaios clínicos, a relação simbiótica dos microorganismos é mais complexa, permitindo a competição e a dependência entre as espécies favorecendo a sobrevivência de determinados microorganismos (GOMES et al., 2006; SIQUEIRA et al., 2007). Assim sendo, a ação das substâncias poderá ser efetiva e seletiva contra determinadas espécies (VIANNA et al., 2006), ao passo que em estudos laboratoriais, utilizam-se cepas específicas que se apresentaram mais resistentes em estudos clínicos sendo utilizadas como marcadores microbiológicos *in vitro* (BASRANI et al., 2002).

No que tange ao tempo experimental (clínico e de contato) empregado em ambos os ensaios, foi observado nos trabalhos laboratoriais que utilizaram metodologicamente cilindros dentinários como amostras ou raízes dentárias com o mesmo tempo experimental, que apresentaram resultados semelhantes na ação antimicrobiana quando comparados às investigações *in vivo*. Dentre os períodos, a clorexidina foi empregada como irrigante em torno de 30 min (CLEGG et al., 2006; DAMETTO et al., 2005; ESTRELA et al., 2007; FERRAZ et al., 2001; LEONARDO et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2007a; RUFF; MCCLANAHAN; BABEL, 2006; SEN; SAFAVI; SPÅNGBERG, 1999; TANOMARU FILHO et al., 2006; VIVACQUA-GOMES et al., 2005; WANG et al., 2007) e como medicação intracanal, observaram períodos de sete a catorze dias (BARTHEL et al., 2002; BASRANI et al., 2002; BASRANI et al., 2003; COOK; NANDAKUMAR; FOUAD, 2007; DELGADO, 2007; ÉRCAN; DALLI; DÜLGERGIL, 2006; KRITHIKADATTA; INDIRA; DOROTHYKALYANI, 2007; LEE et al., 2008; MANZUR et al., 2007; MENEZES et al., 2004; SCHÄFER e BÖSSMANN, 2005).

Nos trabalhos realizados por Lenet et al. (2000) e Lee et al. (2008), notou-se a preocupação dos autores em transformar a clorexidina numa medicação intracanal

com barreira física através de uma composição polimérica adicionada de clorexidina em concentração mais elevada. Deste modo, além da efetividade antibacteriana que ambos os modelos experimentais demonstraram, sua liberação foi realizada de forma gradual e tendo ação através da sua difusibilidade nos túbulos dentinários alcançando regiões inatingíveis a instrumentação endodôntica.

Após a análise literária, observamos a necessidade da realização de novos experimentos tanto laboratoriais como clínicos quanto ao emprego da clorexidina, principalmente em ambiente dentinário e periodontal com infecção polimicrobiana, para que se possa compreender melhor a ação da clorexidina nestas condições.

7 CONCLUSÕES

Sob o ponto de vista crítico, é lícito concluir que:

1. Os ensaios realizados *in vitro* e *in vivo* com a Clorexidina empregada como irrigante e medicação intracanal na terapia endodôntica, demonstraram resultados semelhantes quanto à efetividade antimicrobiana.
2. A Clorexidina a 2% é a concentração mais efetiva e sugerida para ser utilizada na Endodontia.

REFERÊNCIAS¹

Abdullah M, Ng YL, Gulabivala K, Moles DR, Spratt DA. Susceptibilities of two *Enterococcus faecalis* phenotypes to root canal medications. *J Endod* 2005; 31(1): 30-6.

Ballal V, Kundabala M, Acharya S, Ballal M. Antimicrobial action of calcium hydroxide, chlorhexidine and their combination on endodontic pathogens. *Aust Dent J* 2007;52(2):118-21.

Barthel CR, Zimmer S, Zilliges S, Schiller R, Göbel UB, Roulet JF. In situ antimicrobial effectiveness of chlorhexidine and calcium hydroxide: gel and paste versus gutta-percha points. *J Endod* 2002; 28(6): 427-30.

Basrani B, Santos JM, Tjäderhane L, Grad H, Gorduysus O, Huang J, et al. Substantive antimicrobial activity in chlorhexidine-treated human root dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002;94(2):240-5.

Basrani B, Tjäderhane L, Santos JM, Pascon E, Grad H, Lawrence HP, et al. Efficacy of chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medicaments against *Enterococcus faecalis* in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 96(5): 618-24.

Carson KR, Goodell GG, McClanahan SB. Comparison of the antimicrobial activity of six irrigants on primary endodontic pathogens. *J Endod* 2005 ; 31(6): 471-3.

Clegg MS, Vertucci FJ, Walker C, Belanger M, Britto LR. The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentin biofilms in vitro. *J Endod* 2006; 32(5): 434-7.

Cook J, Nandakumar R, Fouad AF. Molecular- and culture-based comparison of the effects of antimicrobial agents on bacterial survival in infected dentinal tubules. *J Endod* 2007; 33(6): 690-2.

Dametto FR, Ferraz CCR, Gomes BPF, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro of the immediate and prolonged antimicrobial action of chlorhexidine gel as na endodontic irrigant against *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005;99(6):768-72.

Delgado, RJR. Avaliação in vitro da viabilidade de *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans* nos túbulos dentinários após a aplicação de hidróxido de cálcio e clorexidina gel 2%. [Dissertação de Mestrado]. Bauru: Faculdade de Odontologia da USP; 2007.

¹ De acordo com o Estilo Vancouver. Abreviatura de periódicos segundo base de dados MEDLINE.

- Ercan E, Dalli M, Dülgergil ÇT. In vitro assessment of the effectiveness of chlorhexidine gel and calcium hydroxide paste with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;102:e27-e31.
- Estrela C, Estrela CR, Decurcio DA, Hollanda AC, Silva JA. Antimicrobial efficacy of ozonated water, gaseous ozone, sodium hypochlorite and chlorhexidine in infected human root canals. *Int Endod J* 2007; 40(2): 85-93.
- Estrela C, Ribeiro RG, Estrela CR, Pécora JD, Sousa-Neto MD. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. *Braz Dent J* 2003; 14(1): 58-62.
- Evanov C, Liewehr F, Buxton TB, Joyce AP. Antibacterial efficacy of calcium hydroxide and chlorhexidine gluconate irrigants at 37 degrees C and 46 degrees C. *J Endod* 2004 ;30(9): 653-7.
- Ferreira CM, da Silva Rosa OP, Torres SA, Ferreira FB, Bernardinelli N. Activity of endodontic antibacterial agents against selected anaerobic bacteria. *Braz Dent J* 2002; 13(2):118-22.
- Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endod* 2001; 27(7): 452-5.
- Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Comparative study of the antimicrobial efficacy of chlorhexidine gel, chlorhexidine solution and sodium hypochlorite as endodontic irrigants. *Braz Dent J* 2007;18(4):294-8.
- Gomes BPFA, Souza SFC, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, et al. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. *Int Endod J* 2003; 36: 267-75.
- Gomes BPFA, Vianna ME, Sena NT, Zaia AA, Ferraz CCR, Souza-Filho FJ. In Vitro evaluation of the antimicrobial activity of calcium hydroxide combined with chlorhexidine gel used as intracanal medicament. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006; 102(4): 544-50.
- Khademi A, Mohammadi Z, Havaee A. Evaluation of the antibacterial substantivity of several intra-canal agents. *Aust Endod J* 2006; 32: 112-5.
- Komorowski R, Grad H, Wu XY, Friedman S. Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentin. *J Endod* 2000; 26(6): 315-7.
- Krithikadatta J, Indira R, Dorothykalyani AL. Disinfection of dentinal tubules with 2% chlorhexidine, 2% metronidazole, bioactive glass when compared with calcium hydroxide as intracanal medicaments. *J Endod* 2007; 33(12):1473-6.
- Lee Y, Han SH, Hong SH, Lee JK, Ji H, Kum KY. Antimicrobial efficacy of a polymeric chlorhexidine release device using in vitro model of *Enterococcus faecalis* dentinal tubule infection. *J Endod* 2008;34(7):855-8.

- Lenet BJ, Komorowski R, Wu XY, Huang J, Grad H, Lawrence HP, et al. Antimicrobial substantivity of bovine root dentin exposed to different chlorhexidine delivery vehicles. *J Endod* 2000; 26(11): 652-5.
- Leonardo MR, da Silva LA, Filho MT, Bonifácio KC, Ito IY. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of a castor oil-based irrigant. *J Endod* 2001; 27(12): 717-9.
- Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Silva LA, Nelson Filho P, Bonifácio KC, Ito IY. In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution. *J Endod* 1999;25(3):167-71.
- Lima KC, Fava LR, Siqueira JF. Susceptibilities of *Enterococcus faecalis* biofilms to some antimicrobial medications. *J Endod* 2001; 27(10): 616-9.
- Lin S, Zuckerman O, Weiss EI, Mazor Y, Fuss Z. Antibacterial efficacy of a new chlorhexidine slow release device to disinfect dentinal tubules. *J Endod* 2003; 29(6): 416-8.
- Lin YH, Mickel AK, Chogle S. Effectiveness of selected materials against *Enterococcus faecalis*: part 3. The antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2003; 29(9): 565-6.
- Lynne RE, Liewehr FR, West LA, Patton WR, Buxton TB, McPherson JC. In vitro antimicrobial activity of various medication preparations on *E. faecalis* in root canal dentin. *J Endod* 2003; 29(3): 187-90.
- Manzur A, González AM, Pozos A, Silva-Herzog D, Friedman S. Bacterial quantification in teeth with apical periodontitis related to instrumentation and different intracanal medications: a randomized clinical trial. *J Endod* 2007; 33(2): 114-8.
- Menezes MM, Valera MC, Jorge AO Koga-Ito CY; Camargo CH; Mancini MN. In vitro evaluation of the effectiveness of irrigants and intracanal medicaments on microorganisms within root canals. *Int Endod J* 2004; 37(5): 311-9.
- Oliveira DP, Barbizam JVB, Trope M, Teixeira FB. In vitro antibacterial efficacy of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007a; 103(5): 702-6.
- Oliveira LD, Jorge AOC, Carvalho CAT, Ito CYK, Valera MC. In vitro effects os endodontics irrigants on endotoxins in root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007b; 104(1): 135-42.
- Paquette L, Legner M, Fillery ED, Friedman S. Antibacterial efficacy of chlorhexidine gluconate intracanal medication in vivo. *J Endod* 2007;33(7):788-95.
- Portenier I, Waltimo T, Ørstavik D, Haapasalo M. The susceptibility of starved, stationary phase and growing cells of *Enterococcus faecalis* to endodontic medicaments. *J Endod* 2005; 31(5): 380-6.
- Portenier I, Waltimo T, Ørstavik D, Haapasalo M. Killing of *Enterococcus faecalis* by MTAD and chlorhexidine digluconate with or without cetrimide in the presence or absence of dentine powder or BSA. *J Endod*. 2006; 32(2):138-41.

Rosa OP, Torres AS, Ferreira CM, Ferreira FB. In vitro effect of intracanal medicaments on strict anaerobes by means of the broth dilution method. *Pesqui Odontol Bras* 2002; 16(1): 31-6.

Rosenthal S, Spångberg L, Safavi K. Chlorhexidine substantivity in root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 98(4): 488-92.

Ruff ML, McClanahan SB, Babel BS. In vitro antifungal efficacy of four irrigants as a final rinse. *J Endod* 2006; 32(4): 331-3.

Sassone LM, Fidel RA, Fidel SR, Dias M, Hirata RJ. Antimicrobial activity of different concentrations of NaOCl and chlorhexidine using a contact test. *Braz Dent J* 2003a; 14(2): 99-102.

Sassone LM, Fidel R, Fidel S, Vieira M, Hirata R. The influence of organic load on the antimicrobial activity of different concentrations of NaOCl and chlorhexidine in vitro. *Int Endod J* 2003b; 36(12): 848-52.

Sassone LM, Fidel RAS, Murad CF, Fidel SR, Hirata Jr R. Antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine by two different tests. *Aust Endod J* 2008; 34(1): 19-24.

Schäfer E, Bössmann K. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine and two calcium hydroxide formulations against *Enterococcus faecalis*. *J Endod*. 2005; 31(1): 53-6.

Sena NT, Gomes BP, Vianna ME, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, et al. In vitro antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against selected single-species biofilms. *Int Endod J* 2006; 39(11): 878-85.

Sen BH, Safavi KE, Spångberg LS. Antifungal effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine in root canals. *J Endod* 1999; 25(4): 235-8.

Siqueira JF, Paiva SS, Rôças IN. Reduction in the cultivable bacterial populations in infected root canals by a chlorhexidine-based antimicrobial protocol. *J Endod* 2007; 33(5): 541-7.

Siqueira JF, Rôças IN, Paiva SS, Guimarães-Pinto T, Magalhães KM, Lima KC. Bacteriologic investigation of the effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine during the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 104(1): 122-30.

Souza-Filho FJ, Soares AJ, Vianna ME, Zaia AA, Ferraz CC, Gomes BP. Antimicrobial effect and pH of chlorhexidine gel and calcium hydroxide alone and associated with other materials. *Braz Dent J* 2008; 19(1): 28-33.

Spratt DA, Pratten J, Wilson M, Gulabivala K. An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates. *Int Endod J* 2001; 34(4): 300-7.

Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod* 2006; 32(2): 93-8.

- Tanomaru Filho M, Yamashita JC, Leonardo MR, Silva LAB, Tanomaru JMG, Ito IY. In vivo microbiological evaluation of the effect of biomechanical preparation of root canals using different irrigating solutions. *J Appl Oral Sci* 2006; 14(2): 105-10.
- Vianna ME, Gomes BPFA, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CCR, Souza-Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 97(1): 79-84.
- Vianna ME, Horz HP, Conrads G, Zaia AA, Souza-Filho FJ, Gomes BP. Effect of root canal procedures on endotoxins and endodontic pathogens. *Oral Microbiol Immunol* 2007; 22(6):411-8.
- Vianna ME, Horz HP, Gomes BP, Conrads G. In vivo evaluation of microbial reduction after chemo-mechanical preparation of human root canals containing necrotic pulp tissue. *Int Endod J* 2006; 39(6): 484-92.
- Vivacqua-Gomes N, Gurgel Filho ED, Gomes BP; Ferraz CC; Zaia AA; Souza-Filho FJ. Recovery of *Enterococcus faecalis* after single or multiple-visit root canal treatments carried out in infected teeth ex vivo. *Int Endod J*. 2005; 38(10): 697-704.
- Wang CS, Arnold RR, Trope M, Teixeira FB. Clinical efficiency of 2% chlorhexidine gel in reducing intracanal bacteria. *J Endod* 2007; 33(11): 1283-9.
- Weber CD, McClanahan SB, Miller GA, Diener-West M, Johnson JD. The effect of passive ultrasonic activation of 2% chlorhexidine or 5.25% sodium hypochlorite irrigant on residual antimicrobial activity in root canals. *J Endod* 2003; 29(9): 562-4.
- Zamany A, Safavi K, Spångberg LS. The effect of chlorhexidine as an endodontic disinfectant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 96 (5): 578-81.
- Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod* 2006; 32(5): 389-98.