

FACULDADE SETE LAGOAS – FACSETE

MELISSA HANGAI

CLOREXIDINA COMO SOLUÇÃO IRRIGADORA

São Paulo

2018

MELISSA HANGAI

CLOREXIDINA COMO SOLUÇÃO IRRIGADORA

Monografia apresentada ao curso de Especialização *Lato Sensu* da FACSETE - Faculdade Sete Lagoas, como requisito parcial para a conclusão do curso especialização em endodontia.

Orientadora: Prof. Beatriz Braghin Arimitsu

São Paulo

2018

FACULDADE SETE LAGOAS – FACSETE

Monografia intitulada “Clorexidina como solução irrigadora” de autoria do aluno Melissa Hangai, aprovada em ___/___/___ pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:

Prof(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

São Paulo

2018

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Maria Marta Rocha de Oliveira e Taquetsugu Hangai, por acreditarem em mim e por toda força e motivação que me dão todos os dias.

Aos meus irmãos, Kamila Hangai e Henrique dos Santos Hangai, por estarem sempre ao meu lado.

A todos professores da especialização e, em especial, aos professores Sérgio Koiti Kamei, Sergio Toshinori Maeda e Deborah Calvo, por partilhar seus conhecimentos, pelo apoio e paciência.

Aos meus amigos de especialização, pela cooperação e respeito. Em particular, a Adriana Alves Fernandes, pelas risadas, por todo cuidado e cumplicidade; e, a Bruna Pereira Matsuura, pela amizade e orientação.

Aos meus amigos pessoais, pelo companheirismo.

E, sobretudo a Deus, por me guiar e por me fazer enxergar luz a cada obstáculo.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

Marthin Luther King

RESUMO

A endodontia é a especialidade da odontologia que estuda a morfologia da cavidade pulpar, a fisiologia da polpa dental e as patologias que a acometem. Sabe-se que os dentes não são formados exclusivamente por canais únicos e, sim, por um sistema de canais radiculares. Portanto, a adequada intervenção endodôntica requer o conhecimento detalhado dessa configuração interna. Devido a essa complexidade anatômica, a ação mecânica dos instrumentos endodônticos isoladamente é insuficiente para desinfecção, comprometendo, dessa forma, o sucesso do tratamento. Sendo assim, é imprescindível o uso de substâncias químicas auxiliares para o controle microbiano durante a fase de sanificação do sistema de canais. Este estudo, baseado em uma revisão de literatura, discute as propriedades e aplicabilidade do digluconato de clorexidina em diferentes concentrações e apresentação (gel e líquida) na endodontia. A pesquisa foi realizada nos bancos de dados das bases Lilacs, BIREME, PubMed, Scielo e Google Scholar.

Palavras-chave: Soluções irrigadoras. Clorexidina. Endodontia. Preparo do canal

ABSTRACT

Endodontics is the dental specialty that studies the pulp cavity morphology, the pulp physiology and the pathologies that affect it. It is known that the teeth are not formed exclusively by one single channel, but rather by a system of root canals. Therefore, the adequate endodontic intervention requires the detailed knowledge of this internal configuration. Due to this anatomical complexity, the isolate mechanical action of the endodontic instruments is insufficient for desinfection, compromising, this way, the treatment success. Thus, it is indispensable the use of auxiliary chemical substances for the microbial control during the sanification phase of the channel system. The present study, based on a literature review, discusses the properties and applicability of chlorhexidine digluconate in different concentrations and presentations (gel and liquid) in endodontics. The survey was conducted in the databasis of Lilacs, BIREME, PubMed, Scielo and Google Scholar.

Key-words: irrigant solutions, Chlorhexidine, Endodontics, Root canal preparation

SUMÁRIO

1 Introdução.....	9
2 Proposição	11
3 Materiais e Métodos	12
4 Revisão de Literatura.....	13
4.1 Microbiologia e preparo do canal radicular	13
4.2 Clorexidina e suas propriedades	14
4.3 Estudos <i>in vivo</i>	16
4.4 Estudo <i>in vitro</i>	21
5 Discussão	27
6 Conclusão.....	29
7 Referências Bibliográficas	30

1. INTRODUÇÃO

A remoção de detritos do complexo sistema de canais radiculares previamente à sua obturação é essencial para o sucesso do tratamento endodôntico. Segundo Schilder (1984), o que é removido do canal radicular é mais importante do que o que é colocado. Ainda, de acordo com o mesmo autor, pequenas deficiências na obturação de um canal radicular que foi totalmente desbridado e desinfetado podem ser biologicamente toleradas. No entanto, vale ressaltar que um bom preparo químico-cirúrgico facilita a fase de obturação, portanto, pode-se afirmar que a obturação é apenas o reflexo do preparo biomecânico.

O preparo biomecânico é basicamente constituído por duas etapas: modelagem e sanificação. Embora distintos, os processos de sanificação e modelagem do canal radicular se desenvolvem concomitantemente, evidenciando o valor do critério de seleção da solução irrigadora de acordo com a condição clínica. Os objetivos das soluções irrigadoras são: facilitar a ação do instrumento endodôntico; alterar o pH do meio; controlar possível infecção em casos de pulpectomia; neutralizar conteúdo presente nas infecções endodônticas; remover sangue da cavidade pulpar, prevenindo o escurecimento dentário; remover matéria orgânica e inorgânica; permitir a ação mais direta e intensa do agente antimicrobiano com a microbiota endodôntica e ser biocompatível. (ESTRELA, 2013).

Diversas soluções irrigadoras foram preconizadas para utilização durante o tratamento endodôntico. As soluções de hipoclorito de sódio tornaram-se, mundialmente, as mais utilizadas na endodontia devido principalmente a duas propriedades: atividade antimicrobiana e dissolução tecidual. Entretanto, é um agente citotóxico, sendo sua citotoxicidade proporcional à sua concentração. Por essa razão, surgiram novas pesquisas em busca de um irrigante com menor potencial de indução de efeitos adversos aos tecidos periapicais.

A clorexidina, que foi inicialmente introduzida no final da década de 40, torna-se uma alternativa para o tratamento endodôntico. Embora não apresente atividade solvente de tecido pulpar, o digluconato de clorexidina é um eficiente antimicrobiano e possui uma relativa ausência de citotoxicidade. Portanto, pode ser a substância química de eleição quando há relato de alergia ao hipoclorito de sódio por parte do

paciente e, possivelmente, no tratamento dentes como polpa necrosada associada a rizogênese incompleta, em que existe grande risco de extravasamento apical da solução química. (LOPES e SIQUEIRA JR, 2015).

A proposta deste estudo foi avaliar as propriedades da clorexidina como substância química auxiliar e analisar sua capacidade antimicrobiana em estudos *in vitro* e *in vivo*.

2. PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho foi descrever as propriedades da clorexidina como substância química auxiliar e analisar sua capacidade antimicrobiana em estudos *in vitro* e *in vivo*.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em livros de endodontia e nas bases de dados: Lilacs, BIREME, PubMed, Scielo e Google Scholar, utilizando as palavras-chave: chlorhexidine/clorexidina, root canal irrigant/irrigantes de canal radicular. Foram incluídos artigos em português e inglês, publicados entre 1984 a 2015.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. Microbiologia e preparo do canal radicular

A polpa é naturalmente asséptica, ou seja, isenta de microrganismos. Sendo assim, só ocorre infecção na polpa se a barreira mineral for rompida ou pela via periodontal (LORENZO, 2010).

De acordo com Hargreaves e Cohen (2011), sempre que a dentina é exposta, a polpa corre risco de infecção como consequência da permeabilidade da dentina inerente a sua estrutura tubular.

Segundo Lorenzo (2010), a causa mais comum de infecções endodônticas é o contato da polpa dental com o grande número de espécies microbianas presentes no meio bucal, o que desencadeia uma resposta imunoinflamatória intensa e irreversível. Polpas recentemente infectadas apresentam em maiores proporções bactérias Gram-positivas facultativas sacarolíticas. Na evolução do processo infeccioso, aumenta o número de bactérias facultativas, que vão gradativamente consumindo o oxigênio local. Com isso, o ambiente endodôntico torna-se cada vez mais favorável ao desenvolvimento de bactérias anaeróbias proteolíticas como *Porphyromonas* spp, *Prevotella* spp, *Fusobacterium nucleatum* e *Peptostreptococcus micros*.

De acordo com Lopes e Siqueira Jr (2015), o clínico deve conhecer como a infecção se estabelece no local a ser tratado para que uma terapia adequada seja instituída. Na infecção primária, por exemplo, muitas células microbianas encontram-se em suspensão na fase fluida, na luz do canal principal (estado planctônico). No entanto, agregados microbianos são usualmente visualizados colonizando as paredes dentinárias do canal, formando estruturas organizadas na forma de biofilmes. Além disso, a infecção pode se propagar para os túbulos dentinários e para variações da anatomia interna (canais laterais, delta apical, istmos, reentrâncias). Sendo assim, vale ressaltar que o sucesso do tratamento de dentes despolpados (necropulpectomia ou retratamento) dependerá não só da assepsia, que, como na biopulpectomia, assume extrema importância, mas também da eliminação ou da máxima redução possível de bactérias no interior do sistema de canais radiculares. Vale salientar que a infecção endodôntica se difere de outras infecções em outras partes do organismo.

Ao instalar-se, ela não é passível de remissão espontânea pela ação de mecanismo de defesa do hospedeiro, visto que, o canal com polpa necrosada (necropulpectomia) ou previamente tratado (retratamento) é desprovido de vasos sanguíneos que possam transportar células e moléculas de defesa para o sítio infectado. Por tudo isso, a infecção só pode ser tratada por meios químicos e mecânicos, representados pela intervenção profissional.

Mohammadi e Abbott (2008) frisam que a instrumentação mecânica, isolada, não resulta em um sistema de canais radiculares livre de bactérias, visto que existem evidências que devido à complexidade anatômica algumas paredes permanecem intocadas. Acredita-se que qualquer tecido pulpar deixado nos canais radiculares pode servir como uma fonte de nutrientes para qualquer microrganismo remanescente.

Segundo Leonardo (2008), o preparo biomecânico consiste na aplicação de um conjunto de meios (químico, físico e mecânico) que compõe um processo único, simultâneo e contínuo. A irrigação e aspiração concomitante constituem recursos insuperáveis para remoção dos restos necróticos, microrganismos e raspas de dentina consequentes da instrumentação.

Baker et al. (1975) afirma que a função de limpeza não é em razão da natureza química da solução irrigadora em si, mas muito mais em função da quantidade (volume) de solução empregada.

Para Castellucci (2005), ao preparar o sistema de canais radiculares, ele é de fato limpo de todos os detritos inorgânicos, substratos orgânicos e microrganismos, e é modelado para resultar em um selamento hermético e tridimensional. Segundo o autor, a limpeza e modelagem estão intimamente relacionados e quando um dos dois é bem executado, o outro também será executado corretamente.

4.2. Clorexidina e suas propriedades

Marion et al. (2013) fizeram uma revisão de literatura, destacando as propriedades da clorexidina como substância química auxiliar na terapia endodôntica. Os bancos de dados utilizados para a pesquisa foram: MEDLINE, PubMed, BBO,

Lilacs, SciELO e sites disponíveis na internet e nos arquivos da biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP-UNICAMP). A clorexidina é formada por dois anéis de 4- clorofenil simétricos, dois grupos biguanida, ligados por um hexametileno. A biguanida é uma base forte praticamente insolúvel em água e, por esta razão, é preparada em forma de sal (sal de digluconato de clorexidina), aumentando sua solubilidade. Em altas concentrações (2%), a clorexidina tem ação bactericida e em baixas concentrações (0,2%), a clorexidina tem um efeito bacteriostático. O efeito antibacteriano residual (substantividade) da clorexidina deve-se a sua capacidade de se ligar à hidroxiapatita, causando uma liberação gradual suficiente para criar um cenário bacteriostático dentro do canal radicular por um longo período. Seu efeito antibacteriano é excelente para valores de pH variando de 5,5 a 7,48. O sucesso do tratamento endodôntico depende da eliminação do tecido pulpar e, nesse requisito, uma das desvantagens da clorexidina é a incapacidade de dissolução tecidual. O uso de clorexidina a 2% como irrigante extra, ou seja, após o preparo biomecânico com hipoclorito de sódio, melhorou a atividade antimicrobiana. No entanto, a combinação do hipoclorito de sódio e da clorexidina causa a formação de um subproduto chamado paracloranilina, consequência da hidrólise do digluconato de clorexidina, o que resulta em um precipitado e alteração de cor. Tanto a pigmentação quanto a precipitação são diretamente proporcionais a concentração de hipoclorito de sódio. A paracloranilina tem um potencial carcinogênico e causa metemoglobinemia e cianose, sendo citotóxica. Sendo assim, a clorexidina pode ser usada como irrigante final após a completa remoção do hipoclorito de sódio para evitar interações. A ação da clorexidina depende da suscetibilidade de microrganismos; Gram-positivos têm maior susceptibilidade à clorexidina em comparação com Gram-negativos. Algumas espécies de *Streptococcus* parecem reter uma quantidade adicional de clorexidina em suas cápsulas polissacarídicas extracelulares, o que pode estar relacionado à alta sensibilidade de *Streptococcus* para clorexidina. Além disso, o digluconato de clorexidina tem um amplo espectro de ação com atividade antifúngica potente contra *Candida albicans*.

Michelotto et al. (2008) realizaram uma revisão de literatura sobre o emprego da clorexidina na terapia endodôntica. Segundo o autor, a ação bactericida da clorexidina em altas concentrações dá-se pela ruptura da membrana citoplasmática dos microrganismos, já a ação bacteriostática, em baixas concentrações, se deve à

inibição da síntese de ATP das bactérias. Além de possuir ação antimicrobiana de amplo espectro, a clorexidina apresenta a propriedade de substantividade, em que se liga à superfície do esmalte e da dentina como também às glicoproteínas salivares, e, à medida que a sua concentração no meio diminui, desloca-se para esse meio de forma a manter uma concentração mínima por um longo período de tempo (atuação prolongada).

Segundo Almeida (2013), uma característica importante da clorexidina gel é a ação reológica, isto é, durante a instrumentação, os resíduos de matéria orgânica e inorgânica que se soltam das paredes ficam em suspensão na massa amorfa do gel, tornando mais fácil de serem removidas com a irrigação com soro. Esse processo diminui uma grande parte de formação da *smear layer*. Além disso, apresenta baixos níveis de toxicidade tanto em uso para animais quanto em humanos.

4.3. Estudos *in vivo*

Tanomaru Filho et al. (2002) estudaram a resposta inflamatória de soluções irrigadoras injetadas na cavidade peritoneal de camundongos. Sessenta camundongos foram divididos em três grupos aleatoriamente, sendo que cada grupo recebeu uma dose intraperitoneal de 0,3 ml: (1) PBS, (2) hipoclorito de sódio 0,5% e (3) digluconato de clorexidina 2%. Cinco animais de cada grupo foram sacrificados em 4, 24, 48 e 7 dias (168h). O líquido da cavidade peritoneal foi coletado para a contagem de células inflamatórias e extravasamento de proteínas (parâmetro do edema). A contagem total de células foi realizada com microscopia ótica (Zeiss, Jena, Germany, 120x). A coloração de Rosenfeld (Faccioli et al. 1990) foi empregada para corar as células, sendo que a contagem de neutrófilos e de células mononucleares foi realizada com microscópio ótico (Jenamed 2, Zeiss) com lente de imersão (1000x). No que se refere a concentração de proteína, foi empregada a coloração de Coomassie (Pierce, Rockford, IL, EUA). A migração celular inflamatória foi analisada pelo Teste de Kruskal-Wallis e os grupos também foram comparados usando o teste de Miller. No grupo de hipoclorito de sódio a 0,5%, os resultados mostraram que houve um aumento no número de neutrófilos nos períodos de 48h e 168h ($p < 0,05$) e um aumento significativo de proteínas após 4 e 48h ao comparar com o grupo controle. O

grupo da clorexidina a 2% apresentaram resultados semelhantes ao grupo controle em todos períodos. Portanto, este estudo comprovou a biocompatibilidade da clorexidina a 2%, enquanto o hipoclorito de sódio a 0,5% provou-se como um agente irritante, provocando respostas inflamatórias.

Tanomaru et al. (2003) avaliaram o efeito de diferentes soluções irrigadoras e do hidróxido de cálcio sobre a endotoxina bacteriana (LPS). Foram selecionados segundos, terceiros e quartos pré-molares mandibulares e segundos e terceiros pré-molares maxilares de 7 cachorros de ambos sexos, totalizando 140 raízes, que foram divididas em 7 grupos de 20 cada. Os cachorros foram anestesiados e o acesso coronário foi realizado após isolamento e desinfecção com clorexidina 0,12%. O comprimento de trabalho foi determinado 2 mm aquém do ápice radiográfico. A polpa foi removida e o canal foi irrigado com solução salina a cada instrumento. A ampliação foraminal foi realizada com limas tipo K (20,25 e 30, Maillefer) a fim de padronizar o diâmetro e, deste modo, permitir as análises comparativas e auxiliar o contato do LPS com o tecido apical e periapical. Os canais foram preparados até uma lima tipo K #40, aspirados e secos com cones de papel estéreis e, em seguida, preenchidos com EDTA por 3 minutos e agitados. Em seguida foram lavados com 3,6 de solução salina, secos e preenchidos com a solução de LPS. Após 10 dias, os dentes foram isolados e o selamento removido. As 140 raízes foram divididas em 7 grupos de acordo com a solução de irrigação: grupo I= hipoclorito de sódio a 1%; grupo II= hipoclorito de sódio a 2,5%; grupo III= hipoclorito de sódio 5%; grupo IV= digluconato de clorexidina 2%; grupo V= salina; grupo VI= sem irrigação, LPS permaneceu no canal; grupo VII= salina durante o preparo biomecânico e hidróxido de cálcio durante o período experimental (Calen; controle). O preparo biomecânico foi complementado com limas tipo K #45-70 até o comprimento de trabalho utilizando 3,6 ml da respectiva solução de cada grupo e a cavidade foi preenchida com ionômero de vidro e amálgama. Após 60 dias, os animais foram sacrificados e os espécimes obtidas foram desmineralizadas, estando este processo completo em aproximadamente 20 dias. Os espécimes foram lavados em água corrente por 24 horas, desidratados em concentrações crescentes de álcool etílico, clarificados em xilol e embebidos em bloco de parafina. Para análise histopatológica, foram utilizadas as colorações de hematoxilina e eosina e de tricrômio de Mallory. Os seguintes parâmetros de doença periapical foram avaliados: infiltrado inflamatório; espessura do ligamento periodontal; reabsorção do cimento e

reabsorção óssea comparados ao grupo controle. Os resultados demonstraram que os grupos I-VI tiveram mais infiltrado inflamatório, aumento do espaço periodontal e maior reabsorção de cimento e osso quando comparado ao grupo VII. Sendo assim, conclui-se o preparo biomecânico com substâncias auxiliares não inativam o efeito do LPS, mas o hidróxido de cálcio parece inativar o efeito dessa endotoxina *in vivo*.

Tanomaru Filho et al (2006) avaliaram o efeito antimicrobiano do preparo biomecânico com diferentes soluções irrigadoras. Para isso, induziram lesões periapicais em 78 canais radiculares de pré-molares de 4 cães e, após o isolamento e antissepsia do campo operatório com clorexidina 2%, o canal radicular foi preparado com limas K-file até # 60 ou 70 no CRT. Foram empregadas as seguintes soluções: hipoclorito de sódio a 2,5% (grupo 1); clorexidina a 2% (grupo 2) e soro fisiológico (grupo 3). Vale ressaltar que no grupo controle (grupo 4) não foi realizado nenhum preparo químico-cirúrgico. Além disso, coletou-se material de cada grupo previamente ao preparo para avaliação microbiológica e posterior análise comparativa. A irrigação final foi realizada com EDTA e solução salina e, em seguida, secos com cones de papel absorvente. A câmara pulpar foi selada com uma base de ionômero de vidro e a coroa foi restaurada com amálgama de prata. Após os 30 dias, o selamento foi removido e dois cones de papel absorvente foram utilizados em cada canal radicular para a realização da colheita microbiológica. A avaliação microbiológica foi obtida pela contagem de unidades formadoras de colônias (UFCs) e as placas de cultura foram incubadas em ambiente de aerobiose, anaerobiose e microaerofilia. Os resultados demonstraram que houve redução no número de microrganismos no grupo 1 e 2, enquanto observou-se um aumento nos grupos 3 e 4. O Teste de Tukey e de Student demonstraram que houve redução dos microrganismos nos grupos hipoclorito de sódio e clorexidina ($p < 0,05$), com maior efetividade para a solução de clorexidina.

Silva et al. (2004) avaliaram, histopatologicamente, o efeito do preparo biomecânico com diferentes soluções irrigadoras em dentes de cães preenchidos com LPS bacteriano após puplectomia. Para isso, foram utilizados 120 canais radiculares de 6 cães. As soluções irrigadoras usadas foram solução de hipoclorito de sódio a 1, 2,5 e 5% e solução de clorexidina a 2%. Nenhuma irrigação foi realizada no grupo controle. Radiografias periapicais foram realizadas previamente ao tratamento, 30 e 60 dias após. O isolamento foi realizado com dique de borracha e a desinfecção do campo operatório foi realizada com digluconato de clorexidina a 2%. O acesso foi

realizado com pontas esféricas diamantadas e o CRT foi de 2 mm aquém do ápice radiográfico, sendo instrumentado até a lima #40. A remoção da polpa foi realizada durante a instrumentação e a cada troca de instrumento irrigava-se com 3,6 ml de solução salina. A ampliação foraminal foi realizada com limas K#20, 25 e 30 (Maillefer). Após a aspiração e secagem, os canais foram preenchidos com EDTA e agitados por 3 minutos. Em seguida, foram novamente lavados com soro, secos, preenchidos com LPS e soro (100mg de endotoxina de *Escherichia coli* em 10 ml de soro) e o selamento da cavidade foi realizado com bolinha de algodão e óxido de zinco e eugenol. Nenhum grupo sem LPS foi utilizado. Após 10 dias, os canais foram reabertos e divididos em 6 grupos de 20 canais cada e irrigados com: sem irrigação, LPS mantido (grupo I); solução salina (grupo II); hipoclorito de sódio 1% (grupo III); hipoclorito a 2,5% (grupo IV), hipoclorito a 5% (grupo V) e clorexidina a 2% (grupo VI). A instrumentação foi completada de #45 até #70 e os canais irrigados com 3,6 ml da respectiva solução. Os dentes foram restaurados com cimento ionômero de vidro como base e amálgama como material definitivo. Sessenta dias depois, os dentes foram radiografados e os animais sacrificados. Cortes seriados de 6 µm foram corados com hematoxilina e eosina e com tricrômio de Mallory para análise histopatológica. Os seguintes parâmetros foram avaliados e os resultados foram graduados segundo uma escala numérica: intensidade do infiltrado inflamatório (grau 1, leve; grau 2, moderado; grau 3, grave); infiltrado inflamatório (grau 1, agudo; grau 2, crônico); espessura do ligamento periodontal (grau 1, normal ou levemente aumentado; grau 2, moderadamente aumentado; grau 3, severamente aumentado); reabsorção de cimento (grau 1, ausente; grau 2, presente); reabsorção dentinária (grau 1, ausente; grau 2, presente); e reabsorção óssea (grau 1, ausente; grau 2, presente). Os resultados foram analisados estatisticamente pelo teste de Mann-Whitney e demonstraram que, no grupo I, ocorreram mudanças severas nas regiões apical e periapical com um intenso infiltrado inflamatório composto principalmente por células mononucleares e neutrófilos. No grupo II, alterações nas regiões apical e periapical foram severas em todos os parâmetros avaliados, sendo o infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear. No grupo III, alterações severas da região apical e periapical semelhantes às dos grupos LPS e salina foram observadas, no entanto o infiltrado inflamatório era misto. No grupo IV, as alterações apicais e periapicais foram semelhantes às dos grupos LPS, salina e hipoclorito de sódio a 1% com inflamação moderada / grave, reabsorção de cimento, reabsorção óssea ativa,

áreas de necrose, intensa proliferação vascular e congestão e número considerável de osteoclastos e ausência de osteoblastos. Identificou-se no grupo V, um infiltrado inflamatório predominantemente moderado e difuso no periápice, com alguns neutrófilos, edema e sangramento extensivo no tecido intersticial. No grupo VI, havia um infiltrado inflamatório misto moderado adjacente ao forame apical em 10 de 20 raízes, infiltrado intenso em 5 raízes e infiltrado leve em 5 raízes. A análise estatística dos resultados mostrou que nenhuma das soluções utilizadas para irrigação dos canais radiculares com necrose pulpar e lesão periapical crônica inativou o LPS bacteriano. Entretanto, houve significativamente menos infiltrado inflamatório tanto no grupo hipoclorito de sódio a 5% quanto no grupo clorexidina a 2% do que nos outros grupos ($p < 0,05$).

Leonardo et al. (1999) avaliou a eficácia antimicrobiana e atividade residual (substatividade) de gluconato de clorexidina a 2% como irrigante de canal radicular *in vivo*. Vinte e dois canais radiculares de dentes incisivos e molares com polpa necrosada e lesões periapicais crônicas visíveis radiograficamente foram selecionadas de 12 pacientes, de 14 a 47 anos e de ambos os sexos. O canal radicular foi acessado e a primeira amostra foi coletada com dois cones de papéis estéreis que foram transferidos para um tubo contendo fluido de transporte. O canal radicular foi instrumentado usando solução de clorexidina, um algodão estéril foi colocado na entrada do canal radicular e a cavidade foi selada com cimento de óxido de zinco e eugenol. Os canais foram mantidos vazios e, após 48h, três cones de papéis estéreis foram introduzidos para absorver o fluido do canal radicular, compondo a segunda amostra. Um cone de papel foi colocado em uma placa de ágar inoculado com *Micrococcus luteus* ATCC 9341 e incubado por 24 horas a 37°C e os outros dois foram submetidos para avaliação microbiológica. Os *Streptococcus mutans*, que estavam presentes em 100% dos casos, foram reduzidos a 0% na segunda análise microbiológica. O percentual de anaeróbios presentes 48 h após a instrumentação foi de 22,22%, mostrando uma eficiência de 77,78% para este grupo de microrganismos. Sendo assim, os resultados demonstram que a clorexidina previne atividade *in vivo* com efeitos residuais em até 48 h.

4.4. Estudo *in vitro*

Santos et al. (2012) avaliaram 50 raízes de pré-molares inferiores com canal único. As amostras foram padronizadas em um comprimento de 13 mm e preparadas até uma lima tipo KF #30 (Dentsply-Malleifer) e brocas de gates glidden n°3 foram utilizadas para ampliar a embocadura do canal. As raízes foram impermeabilizadas externamente com cianoacrilato, secas em temperatura ambiente por 24h, montadas em tubos eppendorf e esterilizadas em autoclave a 134°C por 15 min. A cepa utilizada no estudo foi a *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) e as amostras foram divididas em 4 grupos: grupo de controle negativo (GN), grupo de controle positivo (GP), grupo que recebeu tratamento com hipoclorito de sódio (G1) e grupo com clorexidina gel a 2% (G2). Uma instrumentação híbrida foi realizada nos grupos G1 e G2 com o sistema rotatório Protaper e limas manuais tipo KF #35 e #40. No G1, o preparo do canal radicular foi realizado com a solução de hipoclorito de sódio a 2,5% a cada troca de instrumento, totalizando 20 ml. Utilizou-se, no grupo 2, aproximadamente 1 ml de gel de clorexidina a 2% e irrigação com 5 ml de soro fisiológico a cada troca de instrumento. A irrigação final foi realizada com EDTA-T 17% e com 5 ml de soro fisiológico. Para avaliar os tratamentos propostos foi realizado a contagem de UFC e as médias dos grupos foram comparadas utilizando o teste Anova e o teste de Tukey a 5% de significância. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre G1 e G2, havendo, porém, diferença estatística significativa desses grupos em relação ao grupo controle positivo (G1 - redução microbiana de 99,57% e G2 - redução de 99,30%). Houve erradicação de 7 amostras de um total de 15 no G1, enquanto apenas 1 de 15 no G2, ou seja, apesar de não ter diferença estatística, o grupo em que se aplicou a clorexidina apresentou um menor número de redução de unidades formadoras de colônia (UFCs) e erradicação e, segundo o autor, esse fato pode estar vinculado ao esquema de irrigação empregado, onde o canal era irrigado com soro fisiológico o que, provavelmente, diluía o gel no interior do conduto e diminuía o tempo de ação e contato da clorexidina.

Vance et al. (2004) estudaram 10 pré-molares superiores bifurcados e, após a preparação dos espécimes e padronização do forame apical, obtiveram dois grupos: raiz palatina (grupo 1) e raiz vestibular (grupo 2). A instrumentação foi realizada pela

técnica seriada, com limas tipo K (Maillefer), até o número 40. A clorexidina gel a 2% seguida de clorexidina solução aquosa 0,2% foi a substância química auxiliar empregada para a raiz palatina (grupo 1). Já na raiz vestibular (grupo 2) utilizou-se o Endo-PTC e hipoclorito de sódio 0,5%. A irrigação final foi realizada com EDTA-T seguida de soro fisiológico. Concluída a etapa de instrumentação, injetou-se o corante Rhodamina B 1% para a avaliação da permeabilidade dentinária. Os resultados mostraram que houve penetração do corante em todas os espécimes, sendo que a clorexidina apresentou 74,86% e a associação Endo PTC/Hipoclorito de sódio 66,95%, de média. A análise estatística de Mann-Whitney mostrou que não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo 1 e 2.

Okino et al. (2004) avaliaram a capacidade de dissolução de tecido pulpar da clorexidina gel e líquida a 2% em comparação ao hipoclorito de sódio em diferentes concentrações, tendo como controle água destilada. Oito incisivos foram extraídos de mandíbulas bovinas frescas. Os dentes eram divididos ao meio e o tecido pulpar era removido e lavados em água destilada. Cada amostra foi dividida em quatro partes, resultando em cinco fragmentos para cada grupo: grupo 1 (água destilada), grupo 2 (hipoclorito de sódio 0,5%), grupo 3 (hipoclorito de sódio a 1%), grupo 4 (hipoclorito de sódio a 2,5%), grupo 5 (solução aquosa de digluconato de clorexidina a 2%) e grupo 6 (digluconato de clorexidina gel a 2%). Os fragmentos foram pesados, colocados em contato com 20 ml de cada irrigante e agitados a 150 r.p.m até os fragmentos serem totalmente dissolvidos, ou por 6 horas. A velocidade de dissolução foi calculada de acordo com peso do fragmento dividido pelo tempo de dissolução. A análise estatística foi realizada com o teste Kruskal-Wallis. Os resultados mostraram que tanto a clorexidina gel quanto a aquosa não são capazes de dissolver tecido pulpar no período de seis horas e que o hipoclorito de sódio é eficiente na dissolução de matéria orgânica, sendo essa capacidade é proporcional a concentração da solução.

Camargo et al. (2008) compararam os valores de pH entre a solução de digluconato de clorexidina 2% manipulada e o hipoclorito de sódio 1% e 2,5% manipulado e comercial em diferentes períodos de tempo. O pH das amostras foi aferido com um pHmetro digital (pH 211 Microprocessor pH Meter-Hanna instruments-ABC-Lab). As aferições foram realizadas em intervalos de 0, 1, 7, 14 e 30 dias após a

abertura dos frascos das soluções, sendo que a primeira aferição foi realizada no ato da abertura dos frascos e considerada o dia zero, início do experimento. Os resultados foram submetidos ao teste de dispersão (Minitab versão 14) e observou-se que a marca comercial Carrefour apresentou maiores valores de pH em relação às demais soluções e que a Clorexidina 2% (Byoformula) mostrou valores inferiores de pH em relação a todas as soluções testadas. Verificou-se que houve diferença estatisticamente significativa entre as médias dos valores de pH entre a Clorexidina 2% (Byoformula) e as demais soluções, sendo que as demais soluções não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si. O teste ANOVA de Comparação de Linhas de Regressão (Programa Statistix 8.0) foi aplicado e comprovou que todas as soluções testadas apresentaram estabilidade do pH ao longo do tempo, demonstrando que não houveram alterações significativas de pH de cada solução nos intervalos de 0, 1, 7, 14 e 30 dias. Sendo assim, conclui-se que as soluções irrigadoras apresentaram estabilidade de pH durante o tempo de armazenamento de 30 dias e a solução de clorexidina 2% testada mostrou os menores valores de pH (5,5), sendo considerada uma solução levemente ácida.

Oliveira, Ferraz e Pithoh (2012) avaliaram a capacidade de dissolução tecidual da clorexidina solução aquosa a 2% e do hipoclorito de sódio a 2,5%. Foram utilizadas as seguintes soluções: clorexidina solução aquosa a 2%, hipoclorito de sódio (controle positivo) a 2,5% (Lab Brax) e solução salina. Utilizou-se a porção central de 9 polpas frescas de incisivos bovinos adultos que foram colocadas em um sistema de fluxo constante de solução, por meio de uma bomba peristáltica, simulando o processo de irrigação e aspiração. Os valores da média de dissolução pulpar foram analisados estatisticamente utilizando Kruskal–Wallis e Mann–Whitney U-test. A clorexidina a 2% e a solução salina não foram capazes de dissolver o tecido pulpar, não havendo diferenças estatísticas entre elas; já o hipoclorito de sódio promoveu a dissolução completa. Assim, concluiu-se que a clorexidina não apresenta a propriedade de dissolução tecidual, sendo contraindicada como irrigante de canais radiculares para tal finalidade.

Estrela et al. (2003) estudaram a concentração inibitória mínima (MIC) e o efeito antimicrobiano de quatro soluções irrigantes: hipoclorito de sódio a 1%, clorexidina a 2%, solução de hidróxido de cálcio a 1% e solução de hidróxido de cálcio com

detergente. Quatro cepas bacterianas foram utilizadas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) e uma cepa de levedura *Candida albicans* (ICB/USP – 562). Dois métodos foram utilizados para avaliar o crescimento microbiano: turvação do meio de cultura e confirmação pela coloração de Gram e subcultura em caldo nutriente específico. Os resultados mostraram que o hipoclorito de sódio a 1% apresentou concentração mínima inibitória igual a 0,1% para *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, e *C. albicans* e igual a 1% para o *B. subtilis* e a cultura mista. A clorexidina a 2% mostrou uma concentração mínima inibitória igual a 0,000002% para o *S. aureus*, 0,02% para *E. faecalis*, *B. subtilis*, *C. albicans* e a cultura mista e 0,002% para *P. aeruginosa*. A solução de hidróxido de cálcio a 1% apresentou concentração mínima inibitória superior a 1% para todos os microrganismos testados, com exceção da *P. aeruginosa* (igual a 1%). A solução de hidróxido de cálcio com detergente mostrou concentração mínima inibitória igual a 4,5 mL para *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *C. albicans* e a cultura mista e superior a 4,5 ml para o *E. faecalis*. No teste de exposição direta, o hipoclorito de sódio a 1% apresentou melhor efeito antimicrobiano para todos os microrganismos em todos os períodos experimentais. A clorexidina a 2% foi efetiva sobre *S. aureus*, *E. faecalis*, e *C. albicans* em todos os períodos, e inefetivo sobre *P. aeruginosa*, *B. subtilis* e sobre a cultura mista. As soluções irrigantes contendo hidróxido de cálcio mostraram os piores resultados.

Böttcher (2014) estudou o efeito antimicrobiano residual (substatividade) da clorexidina a 2% em dentina humana e contaminada com *Enterococcus faecalis* por 48 horas, 7 e 30 dias. Para isso, foram selecionados cento e vinte e três dentes humanos extraídos e unirradiculares, sendo que as amostras foram divididas em quatro grupos de acordo com a solução irrigadora utilizada, clorexidina ou soro fisiológico, e na presença ou ausência do biofilme de *Enterococcus faecalis*. A clorexidina reduziu o percentual de células viáveis em relação ao soro após 48 horas e no período de 7 dias, no entanto houve um aumento da viabilidade bacteriana após 30 dias.

Santana (2011) avaliou in vitro a ação da clorexidina gel 2% como substância química auxiliar durante o preparo biomecânico e como medicação intracanal

associada ou não ao hidróxido de cálcio sobre *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* e sua endotoxina em canais radiculares. Foram utilizados 48 dentes humanos unirradulares divididos em 4 grupos de acordo com a medicação intracanal. Os canais foram inicialmente instrumentados até a lima Kerr #30, sendo irrigados com solução salina a cada troca de instrumento. Em seguida, foram distribuídos em placas de cultura celular de 24 poços com 12 dentes em cada. Tais placas foram tampadas, embaladas e esterilizadas por radiação para neutralizar endotoxinas pré-existentes. Em ambiente estéril, todos os canais radiculares foram contaminados com 5 µl de suspensão de *Escherichia coli*. Os espécimes foram mantidos em estufa a 37±1°C, em umidade relativa, por 7 dias. Após 7 dias, foram adicionados aos canais radiculares 5 µl de suspensão de *Candida albicans*, 5 µl de suspensão de *Enterococcus faecalis* e 10 µl de caldo BHI, sendo mantidos em estufa a 37±1°C por mais 21 dias. Após o período de contaminação, foi realizada coleta de todas as amostras dos espécimes para confirmar a presença de microrganismos (coleta de confirmação). Confirmada a contaminação, os espécimes foram instrumentados pela técnica seriada até a lima #50. Durante a instrumentação os canais foram preenchidos em sua totalidade com a clorexidina a 2% e lavados a cada troca de instrumento com 3 ml de solução salina fisiológica. Imediatamente após o preparo biomecânico, o conteúdo do canal radicular foi coletado para semeadura (primeira coleta). As placas contendo os espécimes foram fechadas e mantidas em estufa por 7 dias. Sete dias após o preparo do canal, obteve-se a segunda coleta e diluições seriadas foram realizadas para posterior semeadura e análise da endotoxina. Previamente à colocação das medicações intracanaís, foi utilizado EDTA durante 3 minutos. As associações do hidróxido de cálcio com a solução salina e com a clorexidina gel a 2% foram manipuladas em proporções iguais e foram introduzidas ao canal radicular até o completo preenchimento. A clorexidina e a solução fisiológica foram inseridas no conduto radicular com o auxílio de seringas de 1 ml. Após o preenchimento dos canais radiculares com a medicação intracanal, estes foram vedados com bolinhas de algodão apirogênica e os dentes permaneceram em estufa a 37°C por 14 dias em umidade relativa. Após este período, as medicações foram removidas e foi realizada a terceira coleta. Os canais foram preenchidos com solução salina fisiológica e levados novamente em estufa. Após 7 dias foi realizada a quarta coleta. Para determinar a atividade antimicrobiana foram realizadas diluições seriadas

das amostras coletadas do canal radicular e semeadura, em duplicata, em três meios de cultura seletivos para cada microrganismo. As placas foram mantidas em estufa a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, para determinação de UFC/ml. Os resultados foram submetidos à análise estatística pelo teste de KruskalWallis e de Dunn. Verificou-se que a clorexidina utilizada como substância química auxiliar reduziu significativamente microrganismos. Em relação a capacidade de neutralizar endotoxinas, observou-se que na primeira e na segunda coleta houve diminuição percentual de 92,03 e 98,10% respectivamente, ao comparar com a coleta de confirmação, e, que a associação do hidróxido de cálcio com a clorexidina apresentou melhores resultados (terceira e quarta coleta). Portanto, tanto o preparo biomecânico quanto a medicação intracanal são capazes de eliminar os microrganismos, entretanto, não são capazes de eliminar completamente endotoxinas do canal radicular.

5. DISCUSSÃO

Estudos têm demonstrado que a instrumentação mecânica isolada é insuficiente para desinfetar os canais radiculares. Sendo assim, pode afirmar que a ação mecânica causa uma descontaminação parcial do canal radicular; fato este, explicado por Lopes e Siqueira Jr (2015) ao descrever o canal radicular como um complexo sistema que apresenta variações anatômicas como canais laterais, delta apical, istmos e reentrâncias; locais, esses, intocados pelo instrumento. Portanto, o emprego de substâncias químicas auxiliares é imprescindível para a sanificação do sistema de canais radiculares durante o preparo biomecânico.

Um irrigante ideal deve matar bactérias, dissolver tecido necrótico, lubrificar o canal, remover a smear layer e não irritar os tecidos saudáveis. A clorexidina apresenta ação bactericida/bacteriostática (dependente da concentração), substantividade (efeito antibacteriano residual), ação reológica, biocompatibilidade, mas não dissolve tecido orgânico (MARION et al., 2013).

Os estudos *in vivo* descritos na revisão de literatura demonstraram resultados similares ao estudar a eficiência da clorexidina como substância química auxiliar. Tanomaru Filho et al. (2002), por exemplo, ao estudar a resposta inflamatória de soluções irrigadoras injetadas na cavidade peritoneal de camundongos, comprovou a biocompatibilidade da clorexidina a 2% e a citotoxicidade do hipoclorito de sódio a 0,5%. Tais resultados vão ao encontro com os obtidos por Silva et al. (2004), onde também se observou menos infiltrado inflamatório nos canais irrigados clorexidina a 2%.

Leonardo et al. (1999) avaliaram a eficácia antimicrobiana da clorexidina a 2% e obtiveram a redução de 100% de *Streptococcus mutans*, confirmando, assim, que essa substância é capaz de erradicar bactérias gram-positivas como descrito por Almeida et al. (2013). Ainda Leonardo et al. (1999) comprovaram uma outra propriedade da clorexidina apresentada por Marion et al. (2013), a substantividade, visto que, após 48h da instrumentação, a maior parte dos canais radiculares permaneciam livres de anaeróbios (redução de 77,78%).

Tanomaru Filho et al. (2006) pesquisaram o efeito antimicrobiano do hipoclorito de sódio a 2,5%, clorexidina 2% e soro fisiológico e demonstraram que houve a redução dos microrganismos nos grupos de hipoclorito de sódio e clorexidina com

maior efetividade para solução de clorexidina. Esse resultado corrobora com Almeida et al. (2013) que afirma que a clorexidina em altas concentrações apresenta efeito bactericida, pois rompem a parede celular da bactéria.

Os estudos *in vitro* também apresentaram resultados semelhantes entre si e a maior parte deles corroboraram com os dados apresentados nas pesquisas *in vivo*.

Tanto Okino et al. (2004) e Oliveira, Ferraz e Pithoh (2012) avaliaram, *in vitro*, a capacidade da clorexidina 2% de dissolver tecido pulpar em comparação ao hipoclorito de sódio em diferentes concentrações. Em ambas pesquisas, a análise estatística foi realizada com o teste Kruskal-Wallis. Os resultados foram iguais e demonstraram que a clorexidina não tem a capacidade de dissolução tecidual. No entanto, essa desvantagem seria compensada pela ação reológica, propriedade, essa, descrita por Almeida (2013) como a habilidade de a clorexidina manter os resíduos de matéria orgânica e inorgânica em suspensão na massa amorfa do gel, tornando mais fácil de serem removidas com a irrigação com soro.

Böttcher et al. (2014) estudaram o efeito antimicrobiano residual da solução de clorexidina a 2%, em dentina humana de dentes extraídos contaminada com *Enterococcus faecalis*, por 48 horas, 7 e 30 dias. Os resultados indicaram que a clorexidina a 2% foi detectada nos períodos de 48 horas e 7 dias, mantendo reduzido o percentual de células viáveis. Tal estudo corrobora com os resultados apresentados anteriormente na pesquisa *in vivo* desenvolvida por Leonardo et al. (1999).

Tanomaru et al, 2003, avaliaram o efeito de diferentes soluções irrigadoras e do hidróxido de cálcio sobre a endotoxina bacteriana (LPS) *in vivo*. Já Santana (2011) fizeram basicamente a mesma avaliação, porém *in vitro*. Ambas pesquisas demonstraram que as substâncias auxiliares não capazes de inativarem completamente o efeito do LPS.

6. CONCLUSÕES

O hipoclorito de sódio é a substância química auxiliar mais utilizada na endodontia devido principalmente à sua excelente capacidade antimicrobiana e à sua eficiente dissolução tecidual. No entanto, é altamente irritante aos tecidos periapicais, causam manchamento de tecidos e provoca a corrosão de instrumentos. Sendo assim, estudos surgiram em busca de alternativas ao hipoclorito de sódio.

A clorexidina pode ser encontrada tanto na forma líquida como em gel e em concentrações que variam de 0,2 a 2%. É bactericida/bacteriostática, apresenta substantividade, é biocompatível e apresenta ação reológica. Esta propriedade compensa a incapacidade da clorexidina dissolver tecidos orgânicos, visto que esses detritos mantidos em suspensão são removidos durante a irrigação e aspiração.

Sendo assim, pode-se concluir que, devido a sua excelente ação antimicrobiana e baixa toxicidade, confirmados nos estudos *in vivo* e *in vitro* apresentados durante este trabalho, a clorexidina pode ser utilizada como um substituto do hipoclorito de sódio durante o preparo biomecânico.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A.P.; DUQUE, T.M.; MARION, J.J.C.. **O Uso da Clorexidina na Endodontia**. Revista UNINGÁ Review, v. 20, n.2, p. 68-73, 2014. Disponível em: <<http://revista.uninga.br/index.php/uningareviews/article/view/1583>>. Acesso em: 12 mar. 2018.

BAKER, N. A. et al. **Scanning electron microscopic study of the efficacy of various irrigating solutions**. Journal of Endodontics, 1975. v. 1, n. 4, p. 127-135.

BÖTTCHER, D.E. **Avaliação do efeito da presença do biofilme de Enterococcus faecalis no canal radicular sobre a manutenção da substantividade da clorexidina a 2%: estudo in vitro**. 2014. Dissertação de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

CAMARGO, S.E.A. et al. **Avaliação do pH das soluções de hipoclorito de sódio 1% e 2,5% e digluconato de clorexidina 2% em função do tempo**. Revista Odonto, São Bernardo do Campo, n. 31, 2008.

CASTELLUCCI, A; WEST, J. D. **Endodontics**. IL Tridente, 2005.

ESTRELA, C. **Endodontia Laboratorial e Clínica: Série Abeno: Odontologia Essencial - Parte Clínica**. São Paulo: Artes Médicas Editora, 2013. Cap. 3, p. 37-47.

ESTRELA, C.R.A et al. **Control of microorganisms in vitro by endodontic irrigants**. Brazilian Dental Journal, Ribeirão Preto, v. 14, n. 3, p. 187-192, 2003.

FERGUSON, D.B.; MARLEY, J.T.; HARTWELL, G.R. **The effect of chlorhexidine gluconate as an endodontic irrigant on the apical seal: long-term results**. Journal Endodontics, v. 29, n. 2, p. 91 - 94, fev. 2003.

HARGREAVES, K.M.; COHEN, S. **Caminhos da Polpa**. 10ª Edição. Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 2011.

LEONARDO, M. R. et al. **In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution**. J Endod, v. 25, n. 3, p. 167-71, mar 1999.

LEONARDO, M. R. **Endodontia: Tratamento de canais radiculares – Princípios técnicos e biológicos**. São Paulo: Artes Médicas, 2008.

LOPES, H. P.; SIQUEIRA JR, J. F. **Endodontia: Biologia e Técnica**. 4ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil, 2015.

LORENZO, J. L. **Microbiologia, Ecologia e Imunologia Aplicada à Clínica Odontológica**. São Paulo: Editora Atheneu, 2010.

MARION, J. et al. **Chlorhexidine and its applications in Endodontics: A literature review**. Dental Press Endod, v. 3, p. 36-54, set/dez 2013.

MICHELOTTO, A. L. D. C. et al. **Clorexidina na terapia endodôntica**. RSBO, v.5, n.1, p. 77-89, 2008.

MOHAMMADI, Z.; ABBOTT, P. V. **The properties and applications of chlorhexidine in endodontics**. International Endodontic Journal, v. 42, n. 4, p. 288–302, abr 2009.

OKINO, L. A. et al. **Dissolution of pulp tissue by aqueous solution of chlorhexidine digluconate and chlorhexidine digluconate gel**. Int Endod J, v. 37, n. 1, p. 38-41, jan 2004.

OLIVEIRA, G. C. D.; FERRAZ, C. S.; PITHON, M. M. **Comparação in vitro do efeito da clorexidina 2% e do hipoclorito de sódio a 2,5% na dissolução de tecido pulpar**. Editora Plena. 2012.

SANTANA, R. S. **Avaliação in vitro da ação de substâncias químicas auxiliares, clorexidina e medicações intracanaís sobre Candida Albicans, Enterococcus faecalis, escherichia coli e sua endotoxina em canais radiculares**. 2011. 28f. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos, 2011.

SANTOS, T. L. et al. **Ação antimicrobiana do hipoclorito de sódio a 2,5% e clorexidina gel 2% em raízes contaminadas com Enterococcus faecalis**. RFO, Passo Fundo, v. 17, n. 2, p. 150-155, mai/ago 2012.

SCHILDER, H; YEE, F.S. **Canal debridement and disinfection**. In Cohen S., Burns R.C.: Pathways of the pulp. 3ª edição, St. Louis, C.V. Mosby, p. 175, 1984.

SILVA, LAB et al. **Histological study of the effect of some irrigating solutions on bacterial endotoxin in dogs**. Brazilian Dental Journal, Ribeirão Preto, v. 15, n. 2, p. 109-114, 2004.

TANOMARU, J. M. et al. **Effect of different irrigation solutions and calcium hydroxide on bacterial LPS.** International Endodontic Journal, v. 36, n. 11, p. 733-9, 2003.

TANOMARU FILHO, M et al. **In vivo microbiological evaluation of the effect of biomechanical preparation of root canals using different irrigating solutions.** Journal of Applied Oral Science, Bauru, v. 14, n. 2, p. 105-110, 2006.

TANOMARU FILHO, M. et al. **Inflammatory response to different endodontic irrigating solutions.** International Endodontic Journal, v. 35, n. 9, p. 735-9, 2002.

VANCE, R. et al. **Permeabilidade dentinária após a instrumentação endodôntica: estudo comparativo: clorexidina gel 2% x Endo PTC/hipoclorito de sódio 0,5%.** RGO, Porto Alegre, v. 53, n. 4, p. 277-280, 2004.