

Artigo de Revisão de Literatura

Clorexidina na terapia endodôntica

Chlorhexidine in endodontic therapy

André Luiz da Costa MICHELOTTO*

Bruna Martins de ANDRADE**

Joel Alves da SILVA JÚNIOR.***

Gilson Blitzkow SYDNEY****

Endereço para correspondência:

André Luiz da Costa Michelotto

Rua Manoel Eufrásio, 395 – Bairro Juvevê

Curitiba – PR – CEP 80030-440

E-mail: andremichelotto@hotmail.com

* Professor adjunto de Endodontia (UTP – Universidade Tuiuti do Paraná). Doutorando em Endodontia (Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo – FOU SP).

** Cirurgiã-dentista.

*** Professor adjunto de Endodontia (UTP).

**** Professor titular de Endodontia (Universidade Federal do Paraná – UFPR). Doutor em Endodontia (FOUSP).

Recebido em 12/2/08. Aceito em 31/3/08.

Palavras-chave:

clorexidina; medicação
intra canal; substâncias
químicas.

Resumo

Introdução e objetivo: Este trabalho buscou realizar uma revisão de literatura sobre o emprego da clorexidina no tratamento endodôntico.

Revisão da literatura e conclusão: Foram estudadas as propriedades antimicrobianas, de substantividade, biocompatibilidade, capacidade de limpeza e de dissolução tecidual da clorexidina. Em virtude de sua eficácia antimicrobiana, essa droga pode ser empregada como substância irrigadora durante o preparo químico-mecânico, assim como na fase medicamentosa, em casos de polpa morta. Por não possuir capacidade de dissolução tecidual, sua indicação torna-se limitada. Quando comparada às demais concentrações, a clorexidina na concentração de 2% tem apresentado maior efetividade bactericida, com baixa toxicidade. Parece-nos claro que sua efetividade é muito maior como irrigante do que como substância auxiliar na forma de gel. Entretanto recentes estudos sobre a sua genotoxicidade conduzem a um alerta sobre sua indicação segura na terapia endodôntica.

Keywords:

chlorhexidine; intracanal dressing; irrigants.

Abstract

Introduction and objective: The objective of this work was to make a review about the use of chlorhexidine in the endodontic therapy. **Literature review and conclusion:** Its properties of substantivity, antimicrobial, biocompatibility, cleanliness and tissue dissolution were analyzed. Widely used as an endodontic irrigant during root canal preparation and as an intracanal dressing the inability on tissue dissolution establishes a limitation. In 2% concentration it has shown its better antimicrobial effectiveness and low toxicity, but recent studies about its potential genotoxicity and tissue damage when extruded into the periradicular tissue require new researches to answer important questions.

Introdução

O preparo químico-mecânico tem por objetivo promover a limpeza e a modelagem do sistema de canais radiculares. Para tanto, são empregadas limas endodônticas, uma substância química auxiliar e medicação intracanal entre sessões. A ação mecânica das limas nas paredes do canal radicular promove o debridamento de detritos orgânicos e inorgânicos que devem ser eliminados, pois a decomposição do material orgânico constitui substrato para a proliferação microbiana. Ao utilizar uma solução irrigante durante o ato mecânico, propicia-se uma melhora considerável na limpeza, em virtude da ação física da circulação do líquido pelo interior do canal radicular. Além disso, há ainda a ação química de controlar e diminuir a quantidade de microrganismos presentes. O uso de soluções irrigadoras é um procedimento essencial na remoção de raspas de dentina, evitando sua compactação, lubrificando as paredes dentinárias, facilitando a introdução dos instrumentos e auxiliando na desinfecção do sistema de canais radiculares.

Das soluções capazes de dissolver tecidos necróticos, a mais utilizada é a de hipoclorito de sódio, por possuir triplo modo de ação: habilidade de dissolução de tecido necrótico, atribuída a sua alta alcalinidade; propriedade bactericida, relacionada com a formação do ácido hipocloroso pela liberação de cloro da solução; e saponificação de gorduras.

Entre as alternativas ao hipoclorito de sódio está o gluconato de clorexidina. Este tem se mostrado um agente antimicrobiano efetivo no interior dos canais radiculares, com potencial para ser empregado como irrigante ou medicamento intracanal. Tem indicação também em casos de rizogênese incompleta ou de hipersensibilidade ao hipoclorito de sódio, uma vez que apresenta relativa ausência de toxicidade. A clorexidina pode ser

encontrada sob a forma líquida (solução aquosa) ou gel em concentrações que variam de 0,2% a 2%.

Revisão da literatura

Ação antimicrobiana

A ação antimicrobiana da clorexidina ocorre ante um grande número de bactérias aeróbias e anaeróbias, como também ante espécies gram-positivas e gram-negativas, podendo ser bactericida ou bacteriostática. A ação bactericida que ocorre com as soluções mais concentradas dá-se pela ruptura da membrana citoplasmática desses microrganismos; já a ação bacteriostática acontece quando a solução de clorexidina é utilizada em baixas concentrações e se deve à inibição da síntese de ATP das bactérias.

Ringel *et al.* (1982) [54] realizaram em três sessões o tratamento endodôntico em 60 dentes unirradiculares necrosados e infectados. Nas duas primeiras sessões foi feito o preparo químico-mecânico empregando-se gluconato de clorexidina a 0,2% ou hipoclorito de sódio a 2,5% como soluções irrigadoras. Durante todo esse procedimento foram tomadas amostras para avaliar o poder antimicrobiano das substâncias. Na terceira sessão foram efetuadas as obturações dos canais. Para os anaeróbios, o hipoclorito mostrou-se mais efetivo, e para os aeróbios, ambas as soluções apresentaram semelhantes resultados, ressaltando um aumento no número de colônias entre as sessões. Esse fato foi mais observado nos espécimes irrigados com clorexidina, o que demonstrou que esta é menos efetiva que o hipoclorito de sódio para manter um prolongado efeito antibacteriano após a irrigação.

Orstavik e Haapasalo (1990) [50] estudaram *in vitro* o efeito de soluções irrigadoras e de medicamentos intracanal sobre bactérias, utilizando espécimes de dentina bovina contaminada com

Enterococcus faecalis, *Streptococcus sanguis*, *Escheria coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Peças cilíndricas foram obtidas de dentina de raízes de incisivos bovinos recém-extraídos, cujo cimento foi intencionalmente removido durante o procedimento. Removeram-se resíduos orgânicos e inorgânicos, incluindo a camada residual de magma, e os cilindros de dentina foram autoclavados antes da infecção com os microrganismos. O período de incubação variou de 3 a 6 semanas. Os medicamentos de uso intracanal utilizados na desinfecção foram hidróxido de cálcio, paramonoclorofenol canforado, clorexidina, iodo-iodeto de potássio, hipoclorito de sódio a 5,25% e EDTA. Após a aplicação da medicação, os espécimes foram incubados a 37°C por períodos de cinco minutos a sete dias, e os tubos que não mostraram crescimento bacteriano foram reinoculados e incubados por outros sete dias. A eficácia dos medicamentos variou significativamente e dependeu da espécie bacteriana utilizada. Os resultados analisados, levando-se em conta a capacidade dos microrganismos de infectar e colonizar os túbulos dentinários, mostraram que o paramonoclorofenol canforado foi mais eficiente que o hidróxido de cálcio e que, entre as soluções irrigadoras, o iodeto de potássio foi mais efetivo que o hipoclorito de sódio e a clorexidina. A presença do magma retardou – sem porém eliminar – o efeito dos medicamentos testados.

Helling *et al.* (1992) [27] compararam *in vitro* a eficácia de um dispositivo de liberação controlada contendo 25 mg de clorexidina e da solução de clorexidina 0,2% como medicação intracanal. Todas as espécies controle, de cada período testado (5 minutos, 24 horas, 48 horas e sete dias), mostraram um constante nível de infecção em todos os níveis de penetração examinados. Os resultados demonstraram que as medicações foram ativas em uma profundidade de dentina de até 0,5 mm. Ao empregar metodologia semelhante, Helling *et al.* (1992) [28] também verificaram que a clorexidina não só reduziu a população bacteriana como evitou uma infecção secundária dos túbulos dentinários.

Siqueira e Uzeda (1997) [63] empregaram o teste de difusão em ágar para avaliar o efeito antimicrobiano do gel de clorexidina 0,12%, do gel de metronidazol 10% e do hidróxido de cálcio contra bactérias anaeróbias e anaeróbias facultativas, normalmente encontradas em canais radiculares infectados. Os resultados mostraram que a clorexidina teve um poder inibitório do crescimento de todas as espécies bacterianas testadas, entretanto não foi mais efetiva que o hidróxido de cálcio.

Silva *et al.* (1997) [61] avaliaram o efeito antibacteriano das soluções de clorexidina 0,12%, 0,2% e 2% em cilindros de dentina obtidos de incisivos bovinos. Após preparo e esterilização eles foram infectados com *S. sanguis*. Os espécimes foram então imersos em tubos com gluconato de clorexidina em diferentes concentrações, por períodos de cinco minutos, um dia e uma semana. Na seqüência os cilindros foram imersos em meio de cultura e incubados a 37°C. A avaliação do crescimento foi realizada diariamente até um período máximo de 30 dias. Observou-se que após um dia e após sete dias todos os espécimes de dentina estavam desinfetados, independentemente da concentração de clorexidina empregada.

Buck *et al.* (1999) [7] utilizaram dentes humanos extraídos e avaliaram o poder antibacteriano de várias soluções irrigadoras contra *M. luteus* e *Bacillus megaterium*. Todas as soluções empregadas (hipoclorito de sódio 5,25%, clorexidina 0,12%, RC prep e betadina 0,5%) penetraram nos túbulos dentinários infectados e eliminaram facilmente *M. luteus*, enquanto os esporos de *Bacillus megaterium* não foram eliminados. Os autores concluíram que a efetividade na desinfecção do canal depende do tipo de microrganismo infectante.

Vianna *et al.* (2000) [68] investigaram a atividade antimicrobiana da clorexidina gel nas concentrações 0,2%, 1% e 2% em diferentes períodos contra *Enterococcus faecalis*, *S. auerus*, *P. gingivalis* e *P. endodontalis* pela técnica de difusão em caldo. Os resultados indicaram que as bactérias anaeróbias estritas foram inibidas totalmente após entrarem em contato com as substâncias testadas, enquanto as bactérias anaeróbias facultativas se mostraram mais resistentes a concentrações inferiores a 2%.

Gomes *et al.* (2003) [23] avaliaram *in vitro* a efetividade da clorexidina 2% gel e do hidróxido de cálcio perante *Enterococcus faecalis*. Foram infectados 108 dentes bovinos. Os espécimes foram divididos em grupos, de acordo com a medicação intracanal: grupo 1 – clorexidina gel 2%; grupo 2 – hidróxido de cálcio em veículo viscoso; grupo 3 – hidróxido de cálcio + clorexidina; grupo 4 – grupo controle. A medicação foi deixada no interior do canal por tempos experimentais de 1, 2, 7, 15 e 30 dias. Após cada período, os espécimes foram irrigados com soro fisiológico, para remoção da medicação, e secados com pontas de papel estéreis. Removeram-se as raspas de dentina com seqüência de brocas esféricas em baixa rotação. As amostras obtidas foram coletadas e separadas em tubos de ensaio contendo BHI (*brain heart infusion*) como

meio de cultura. Os tubos foram incubados a 37°C, e as culturas microbianas foram observadas diariamente. Os resultados indicaram que a clorexidina gel (grupo 1) se mostrou mais eficaz que o hidróxido de cálcio, entretanto a atividade antibacteriana depende do tempo de permanência da medicação no interior do canal.

Estrela *et al.* (2004) [15] estudaram a eficácia antimicrobiana de formulações de digluconato de clorexidina de diferentes concentrações e procedências por intermédio de teste de difusão em ágar. Inocularam-se 30 placas de Petri com 0,1 mL da suspensão microbiana com o auxílio de *swabs* esterilizados, e os microrganismos foram espalhados no meio, obtendo-se um crescimento confluyente. A suspensão microbiana foi obtida da mistura de *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* e *C. albicans*. Imergiram-se 90 discos de papel com 9,0 mm de diâmetro por um minuto nas soluções experimentais: Gelplak (gel de clorexidina a 1%), Cav Clean (solução de clorexidina a 2%), solução aquosa de clorexidina a 2% e Endogel (gel de clorexidina a 2%). Para cada placa foram colocados três discos de papel sobre a superfície do meio de cultura. As placas foram mantidas por uma hora em temperatura ambiente e então foram incubadas a 37°C por 48 horas. Os resultados mostraram que todas as soluções testadas apresentaram eficácia antimicrobiana sobre todos os indicadores biológicos com valores médios dos halos de inibição entre 16 e 25 mm.

Carson *et al.* (2005) [8] compararam a atividade antimicrobiana das soluções de hipoclorito de sódio 3% e 6%, clorexidina 0,12% e 2% e da doxiciclina 0,005% e 0,01% perante quatro microrganismos associados a infecções endodônticas primárias. O teste de difusão em ágar foi utilizado para medir a atividade antimicrobiana desses agentes contra *P. micros*, *P. intermedia*, *S. sanguis* e *L. acidophilus*. Foi avaliada a mínima concentração inibitória usando-se o método de macrodiluição. Os resultados demonstraram que ambas as soluções de doxiciclina tiveram maiores zonas de inibição que o hipoclorito de sódio 6% para *P. micros*, *P. intermedia* e *S. sanguis*. O hipoclorito de sódio 6% foi significativamente mais efetivo na inibição de *L. acidophilus*, quando comparado aos outros irrigantes. Além disso, o hipoclorito de sódio 6% teve maiores zonas de inibição que a concentração 3% dessa mesma substância para todos os microrganismos testados. A clorexidina 0,12% mostrou zonas de inibição consideravelmente menores quando comparada às outras substâncias irrigadoras.

Dametto *et al.* (2005) [11] compararam a irrigação do canal radicular com clorexidina gel e

solução 2% e hipoclorito de sódio 5,25%. Oitenta raízes de pré-molares extraídos foram instrumentadas, autoclavadas e contaminadas com *E. faecalis* por sete dias. As amostras foram avaliadas antes, logo após e sete dias após a instrumentação. A clorexidina gel ou solução 2% foi mais efetiva na redução dos microrganismos quando comparada ao hipoclorito de sódio.

Schäfer e Bossman (2005) [60] investigaram *in vitro* a eficácia da solução de clorexidina 2%, do hidróxido de cálcio e da associação dessas substâncias perante *E. faecalis*. O soro fisiológico foi usado no grupo controle. Após a instrumentação e a remoção do magma dentinário, foi feita a inoculação da bactéria estudada e os dentes foram medicados. Os espécimes ficaram incubados por três dias. Em seguida, todos os canais foram reinstrumentados a diâmetros maiores e a dentina foi removida para análise microbiológica. A clorexidina foi significativamente mais eficiente que as demais substâncias contra o microrganismo em questão.

Vianna *et al.* (2006) [69] determinaram, em um estudo *in vivo*, o grau de redução microbiana após o preparo químico-mecânico de canais radiculares humanos com tecido pulpar necrosado com uso de hipoclorito de sódio 2,5% ou gel de clorexidina 2%. Dividiram-se em dois grupos 32 pacientes, de acordo com as soluções irrigadoras. Os canais radiculares foram instrumentados, e coletas microbianas foram realizadas para a análise da redução microbiana. Apesar de ambas as substâncias obterem sucesso na redução do número de microrganismos na maioria dos casos (96%), o hipoclorito de sódio 2,5% foi superior tanto pela contagem das unidades formadoras de colônias quanto pelo *Real-time quantitative-polymerase chain reaction* (RTQ-PCR). O hipoclorito de sódio, além de ter tido maior capacidade de matar os microrganismos, foi também mais hábil em remover células do canal radicular.

Zehnder (2006) [75] sugere que não há razões para o uso de soluções de hipoclorito de sódio em concentrações superiores a 1% e que o tempo adequado para o hipoclorito permanecer no interior do canal ainda é uma questão a ser resolvida. A clorexidina, apesar de ser útil como irrigante final, não deveria ser recomendada como solução irrigadora principal em um caso endodôntico padrão, uma vez que é incapaz de dissolver remanescentes teciduais necróticos e pelo fato de ser menos efetiva contra bactérias gram-negativas do que contra as gram-positivas.

Manzur *et al.* (2007) [45] testaram a eficácia antimicrobiana da pasta aquosa de hidróxido de cálcio, do gel de clorexidina 2% e da mistura de hidróxido de cálcio com clorexidina 2%, *in vivo*.

Trinta dentes com periodontite apical crônica foram instrumentados e divididos em três grupos, de acordo com a medicação intracanal utilizada. Coletas microbianas foram realizadas antes e após o preparo dos canais radiculares na primeira sessão e após o período de medicação intracanal de uma semana na segunda sessão. O crescimento bacteriano foi avaliado por teste de turbidez e pela cultura em placa para a contagem de unidades formadoras de colônia. O número de espécimes positivos ao crescimento bacteriano, após a utilização da medicação intracanal, no grupo da pasta aquosa do hidróxido de cálcio foi de 27% no teste de turbidez e 18% no teste de cultura de células em placa. No grupo do gel de clorexidina, 45% dos espécimes se apresentaram positivos nos testes de turbidez e cultura em placa. No grupo do hidróxido de cálcio associado à clorexidina, 45% das amostras foram positivas no teste de turbidez e 27% no teste de cultura em placa.

Wang *et al.* (2007) [72] avaliaram, *in vivo*, o poder antimicrobiano do gel de clorexidina 2%. Coletaram material do interior do canal após o acesso, após a instrumentação e depois de sete dias. No período de uma semana os canais permaneceram com medicação de hidróxido de cálcio. Culturas anaeróbicas foram avaliadas. Encontraram diferença significativa de culturas bacterianas entre a coleta após o acesso (maiores índices) e a instrumentação. Não encontraram diferença estatística significativa entre as culturas realizadas após a instrumentação e após sete dias. Os resultados mostraram que o gel de clorexidina 2% possui um bom poder antimicrobiano e que a medicação com o hidróxido de cálcio não aumentou a redução microbiana nas amostras analisadas.

Substantividade

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).

Delany *et al.* (1982) [13] estudaram a eficácia da clorexidina como substância irrigadora, avaliando sua capacidade antimicrobiana residual. Foram utilizados 40 dentes humanos extraídos, que tiveram seus canais preparados e irrigados com solução de clorexidina a 0,2% ou soro fisiológico. Ao final do preparo, a clorexidina foi deixada dentro dos canais como curativo de demora, e as amostras de material foram colhidas antes e após o preparo químico-

mecânico. Vinte e quatro horas depois, uma nova coleta de material foi realizada e inoculada em meio de cultura, para a medição das unidades formadoras de colônias. No grupo em que a clorexidina foi empregada, observou-se uma considerável redução no número de culturas em todos os períodos avaliados, tanto em dentes unirradiculares como em multirradiculares. O estudo demonstrou que a clorexidina tem poder antimicrobiano efetivo, auxilia na redução das bactérias remanescentes ao preparo químico-mecânico e pode ser usada como medicação entre sessões.

Jeansonne e White (1994) [32] avaliaram o poder antibacteriano da clorexidina 2% e do hipoclorito de sódio a 5,25% como soluções irrigadoras, assim como sua substantividade após um período de 24 horas. Verificaram que ambas as soluções foram eficazes. A clorexidina teve substantividade maior que o hipoclorito de sódio. Embora não possua a capacidade de dissolução tecidual do hipoclorito, a clorexidina apresenta ausência relativa de toxicidade, podendo ser empregada em pacientes alérgicos a ele ou em casos de dentes com ápices abertos, em que o extravasamento do hipoclorito de sódio para os tecidos perirradiculares poderia causar dor e inflamação.

White *et al.* (1997) [74], objetivando avaliar a substantividade da solução de clorexidina 0,12% e 2%, utilizaram dentes extraídos que foram preparados e irrigados com as soluções testes. Após o preparo, os canais foram irrigados com água deionizada para remover os resíduos da solução irrigadora e preenchidos com água deionizada estéril. Após período de 6, 12, 24, 48 e 72 horas, cones de papel foram introduzidos nos canais por dois minutos e transferidos para meio de cultura em placas inoculadas com *S. mutans*. A maior atividade antibacteriana ocorreu nos dentes tratados com clorexidina a 2%. Esse fato demonstrou que a clorexidina teve substantividade que permaneceu por horas após a realização do preparo químico-mecânico.

Lenet *et al.* (1999) [40] também avaliaram a substantividade da clorexidina a 2% em gel, ou na concentração de 2,5% em sistema de liberação controlada. Foram utilizados cilindros de dentina bovina infectados com *E. faecalis*. Após 21 dias, a análise dos resultados mostrou que os espécimes tratados com clorexidina a 2% em gel por sete dias adquiriram resistência à colonização da dentina pela bactéria estudada.

Komorowski *et al.* (2000) [36] estudaram *in vitro* a substantividade antimicrobiana da clorexidina utilizando dentes bovinos. Os espécimes

foram divididos em três grupos e em seguida imersos nas seguintes soluções: grupo 1 – soro fisiológico; grupo 2 – hipoclorito de sódio 2,5%; grupo 3 – clorexidina 0,2%. Metade dos espécimes de cada grupo foi tratada com suas respectivas soluções por um período de cinco minutos, e a outra metade, por sete dias. As soluções foram removidas, e os espécimes, incubados a 37°C em BHI (*brain heart infusion*) contendo *E. faecalis*. Os canais foram alargados com brocas estéreis, e as raspas de dentina foram coletadas para avaliar a presença de bactérias. A dentina dos espécimes tratados por sete dias apresentou-se menos contaminada pelo microrganismo estudado.

Lenet *et al.* (2000) [39] estudaram, *in vitro*, a eficácia do digluconato de clorexidina em gel 2% e de um composto de liberação controlada 25%. Após serem instrumentados, 60 dentes bovinos foram divididos igualmente em quatro grupos de acordo com as medicações empregadas: grupo 1 – dispositivo de liberação controlada contendo clorexidina 25%; grupo 2 – clorexidina gel 2%; grupo 3 – pasta de hidróxido de cálcio; grupo 4 – solução salina (grupo controle). Depois de medicados, os espécimes foram inoculados com *E. faecalis* por 21 dias. As raspas de dentina obtidas do uso de brocas esféricas foram separadas em tubos de ensaio contendo BHI como meio de cultura e incubadas por 24 horas. Os resultados sugerem que os canais radiculares medicados com clorexidina gel por sete dias adquiriram propriedades antimicrobianas por no mínimo 21 dias e que esta se mostrou mais eficiente quando comparada ao sistema de liberação controlada e ao hidróxido de cálcio.

Tanomaru Filho *et al.* (2002) [66] estudaram o reparo apical e periapical após o tratamento endodôntico em dentes de cães com necrose pulpar e lesões periapicais crônicas. Os canais foram submetidos ao preparo químico-mecânico com hipoclorito de sódio 5,25% e solução de clorexidina 2% como substâncias irrigadoras. Foram divididos em quatro grupos: grupo 1 – solução de hipoclorito de sódio sem medicação intracanal; grupo 2 – solução de clorexidina sem medicação intracanal; grupo 3 – solução de hipoclorito de sódio e medicação intracanal (Calen/paramonoclorofenol); grupo 4 – solução de clorexidina e medicação intracanal (Calen/paramonoclorofenol). Nos grupos 1 e 2 os dentes foram obturados imediatamente após o preparo químico-mecânico. A reparação histológica foi melhor nos grupos que receberam medicação intracanal, quando comparados aos grupos imediatamente obturados. Confrontando os resultados entre os grupos imediatamente obturados, o reparo no grupo irrigado com clorexidina mostrou-se melhor do que o do grupo irrigado com hipoclorito de sódio.

Weber *et al.* (2003) [73] compararam a irrigação do canal radicular entre a clorexidina 2% e o hipoclorito de sódio 5,25%, com ativação das soluções com sistema ultra-sônico, durante um minuto, no final da instrumentação. Após seis horas um pouco de fluido das soluções dos canais foi pipetado e colocado em placas com ágar contendo *Streptococcus sanguinis*. As placas foram incubadas, e os halos de inibição foram medidos. Esse procedimento foi repetido 24, 48, 72, 96, 120 e 168 horas depois. Os autores concluíram que a atividade antimicrobiana residual da clorexidina foi estatisticamente maior que a do hipoclorito e se manteve por até 168 horas.

Dissolução de matéria orgânica

Okino *et al.* (2004) [49] analisaram a capacidade de dissolução do tecido pulpar pela clorexidina líquida e gel. Nesse experimento foram utilizadas soluções de hipoclorito de sódio 0,5%, 1% e 2,5%, gluconato de clorexidina líquida e gel a 2% e água destilada no grupo controle. Fragmentos pulpares de dentes bovinos foram colocados em placas contendo 20 mL de cada uma das substâncias testes e centrifugados a 150 rpm para dissolução da polpa. Os resultados apontaram que a água destilada e a clorexidina não dissolveram o tecido pulpar; já o hipoclorito de sódio foi eficiente na dissolução, porém depende do tempo de atuação e da concentração empregada.

Capacidade de limpeza

Chaves (2002) [10] avaliou, por meio de microscopia eletrônica de varredura, a presença de detritos nas paredes dentinárias dos canais radiculares após a instrumentação, tendo como substâncias irrigadoras os géis de clorexidina 2% e de mamona e solução de EDTAC 17% associada ao hipoclorito de sódio 1%. Os resultados mostraram que a associação das soluções de EDTAC 17% com o hipoclorito de sódio 1% foi capaz de remover totalmente o magma dentinário das paredes dos canais produzido durante a instrumentação. O hipoclorito de sódio 1% e os géis de clorexidina e de mamona não foram eficientes na limpeza dos canais radiculares. A associação das soluções de EDTAC com o hipoclorito de sódio promoveu os melhores resultados, com canais livres de magma.

Menezes *et al.* (2003) [46] avaliaram por intermédio de microscopia eletrônica de varredura a capacidade de limpeza e de remoção de *smear layer* e *debris* das paredes de canais radiculares

preparados e irrigados com solução de hipoclorito de sódio 2,5%, clorexidina 2% e soro fisiológico (grupo controle). Todas as soluções irrigadoras avaliadas mostraram-se ineficientes na eliminação de *debris* e *smear layer*.

Biocompatibilidade

Souza *et al.* (1981) [65] estudaram *in vivo* a resposta dos tecidos periapicais de dentes de cães perante associações de corticosteróide com clorexidina e com antibióticos. Essas associações foram aplicadas no canal radicular por sete dias, após pulpectomia e sobreinstrumentação de 1 mm. A análise dos resultados mostrou melhor comportamento tecidual nos casos em que se utilizou a associação de corticosteróide com antibióticos.

Santos *et al.* (2000) [56] avaliaram a citotoxicidade, *in vitro*, de cinco concentrações de clorexidina (0,12%, 0,2%, 1%, 2% e 5%), na forma líquida e em gel. Os materiais foram colocados sobre lamínulas de vidro, e estas foram depositadas sobre células em cultura. Os resultados mostraram que a clorexidina nas concentrações 0,12% e 2% foi significativamente menos citotóxica do que as outras concentrações testadas, e a clorexidina em gel mostrou ser menos tóxica, em todas as concentrações, do que a forma líquida.

Kalil *et al.* (2000) [34] avaliaram, *in vitro*, a citotoxicidade da solução de clorexidina 2% em cultivo de células HEP-2 (fibroblastos originários de células epitelióides, de carcinoma de laringe humana). Compararam os efeitos citotóxicos da clorexidina 2% com os efeitos da solução de hipoclorito de sódio 4,5% e também com soro fisiológico. Os resultados demonstraram que a solução de clorexidina 2% pode ser classificada como substância não tóxica para esse tipo de linhagem celular, ao contrário do hipoclorito de sódio, que demonstrou ser severamente citotóxico quando comparado ao grupo controle.

Genotoxicidade

Nos últimos anos tem havido um grande interesse nas células do epitélio bucal para avaliação citogenética de diferentes materiais. Eren *et al.* (2002) [14] usaram células do epitélio bucal e linfócitos periféricos para avaliar a citogenética promovida pelo digluconato de clorexidina. A técnica detecta alterações no DNA em células individuais em condições alcalinas. Trinta voluntários enxaguaram a cavidade oral com 0,12% de solução de digluconato de clorexidina por 18 dias. Células epiteliais da cavidade oral e linfócitos foram obtidos e analisados quanto ao dano no DNA. Um aumento

estatístico foi observado após o uso de solução de digluconato de clorexidina. Como a clorexidina é pouco absorvida pelos tecidos da mucosa bucal, e em virtude da baixa concentração, o dano produzido em linfócitos foi muito menor. A clorexidina não acumula no corpo, assim a frequência de dano no DNA pode ser transitória. Entretanto o uso contínuo poderia predispor a uma toxicidade crônica, e um reparo de DNA deficiente poderia predispor a carcinogênese. Os autores concluíram que o dano no DNA deve ser indicativo de um primeiro efeito e merece estudos mais aprofundados.

Ribeiro *et al.* (2004) [53] estudaram danos induzidos no DNA de leucócitos periféricos de ratos e células da mucosa oral produzidos pela clorexidina. O grupo experimental foi tratado via oral com 0,5 mL de digluconato de clorexidina 0,12% duas vezes ao dia durante 8 dias. Os ratos foram sacrificados, e um volume de 1 mL de sangue periférico foi coletado do coração com uma agulha bem fina; células da mucosa oral foram coletadas do palato duro, da mucosa da bochecha e do assoalho da cavidade oral e processadas. Um aumento estatisticamente significativo de dano no DNA foi observado nos leucócitos e nas células da mucosa oral. Entretanto não se detectou nenhum aumento de células micronucleadas nos reticulócitos das células periféricas do sangue. Os autores concluíram que o digluconato de clorexidina é capaz de induzir dano primário ao DNA em leucócitos e células da mucosa oral, mas sem quebra de cromossomos ou perda de eritrócitos.

Bonacorsi *et al.* (2004) [6] avaliaram, *in vitro*, a indução de citotoxicidade e o seu efeito na indução intermediária da reação oxigênio/nitrogênio em macrófagos peritoniais de camundongos. Os macrófagos têm sido usados para os testes de imunotoxicidade porque permitem medir a resposta diretamente na cultura da célula e também por causa da sua habilidade de manter a função imunológica na presença de diferentes agentes químicos. Os resultados mostraram que a clorexidina não apresentou atividade de imunoestimulação, e subconcentrações empregadas não afetaram as respostas dos macrófagos.

Buscando testar a genotoxicidade de 14 agentes químicos empregados na prática odontológica, Hikiba *et al.* (2005) [30] realizaram um estudo em células de embrião de ratos. SHE cells (células de embriões de *hamsters* sírios) têm sido utilizadas por vários anos para os estudos sobre os mecanismos de carcinogênese. Entre os agentes químicos estudados estavam: eugenol, timol, fenol canforado, óxido de zinco, solução de formaldeído, peróxido de hidrogênio, iodofórmio, gluconato de clorexidina

e glutaraldeído. A citotoxicidade é determinada pela formação de colônias de eficiência de células SHE tratadas com os agentes químicos. Os resultados indicaram que a clorexidina não induziu a aberrações cromossômicas.

Reações de oxigenação produzidas por neutrófilos têm demonstrado recentemente possuir um papel crítico nas respostas de defesa do hospedeiro contra a invasão microbiana e também na patogênica das alterações pulpares e periapicais. Os leucócitos humanos podem gerar quantidades excessivas de reações de oxigenação, como o radical hidroxila, o radical H₂O₂ e o hipoclorito nos tecidos inflamados. Reações de oxigenação podem matar a bactéria, mas também são capazes de destruir os tecidos adjacentes infectados. Yeung *et al.* (2007) [71] estudaram as propriedades pró-oxidativas e antioxidativas da clorexidina e sua interação com o DNA para avaliar a segurança de seu emprego. Os autores verificaram que a clorexidina, tanto com o hipoclorito de sódio como com o hidróxido de cálcio, exibe reações antioxidantes e pró-oxidantes. O potencial de genotoxicidade e de dano tecidual, quando extruído nos tecidos periapicais e em altas concentrações, deve ser considerado.

Discussão

O sucesso do tratamento endodôntico depende, entre outros fatores, do preparo mecânico, da irrigação, do controle microbiano e de uma obturação que proporcione a impermeabilização do canal radicular. Para o alcance da desinfecção, a tríade formada pelos instrumentos endodônticos, pela substância química auxiliar e pela medicação intracanal é indiscutível, desempenhando papel importantíssimo na terapia pulpar.

Na busca de uma substância química que tenha ação com o máximo de propriedades desejáveis, tais como ação antimicrobiana, biocompatibilidade aos tecidos periapicais e capacidade de solvência tecidual e de limpeza dos canais radiculares, estudos têm sido realizados ao longo de várias décadas. Entre essas substâncias, a clorexidina vem sendo avaliada na terapia endodôntica como solução irrigadora e como medicação intracanal, por conta de suas propriedades.

A clorexidina pode apresentar-se na forma líquida e em gel, nas concentrações 0,12%, 0,2%, 1%, 2% e 5%.

O gluconato de clorexidina tem se mostrado um agente antimicrobiano efetivo no interior dos canais radiculares. Essa eficácia depende do tipo de

microrganismo infectante, do tempo de atuação no interior do conduto e da concentração empregada. Vários trabalhos demonstram que a clorexidina em baixas concentrações (0,12% a 0,2%) não apresenta ação antimicrobiana satisfatória [7] como as concentrações maiores (1% e 2%) [15, 18, 39, 40, 68, 72, 74]. As propriedades apresentadas por essa substância sugerem sua utilização tanto na irrigação dos canais radiculares, em que é possível encontrar um efeito antibacteriano residual de no mínimo 48 horas, como na fase medicamentosa, em que tem se demonstrado eficiente [28] por até 168 horas [73], desde que utilizada por um período mínimo de sete dias [23, 36]. Ainda em relação à propriedade antimicrobiana, apresentou-se eficiente contra bactérias aeróbias e anaeróbias estritas. Porém os estudos de Buck *et al.* (1999) [7] mostraram que a clorexidina 0,12% não é capaz de eliminar os esporos de *Bacillus megaterium*. Do mesmo modo, a pesquisa de Carson *et al.* (2005) [8] comprovou que nessa mesma concentração tal substância não é efetiva contra *Peptostreptococcus micros*, *Prevotella intermedia*, *Streptococcus sanguis* e *Lactobacillus acidophilus*.

Enterococcus faecalis é uma bactéria anaeróbia facultativa, frequentemente encontrada em infecções endodônticas. Em geral é resistente aos agentes antimicrobianos comumente utilizados na terapia endodôntica. Estudos têm comprovado a eficácia da clorexidina na eliminação desse microrganismo.

Entretanto a evidência científica de sua efetividade não é confirmada, por causa da ausência de estudos *in vivo*. Entre os poucos trabalhos existentes, há o de Ringel *et al.* (1982) (54), que ao realizarem estudo comparativo *in vivo* da efetividade da clorexidina 0,2% e do hipoclorito de sódio a 2,5% verificaram que o número de colônias entre sessões foi maior no grupo de pacientes tratados com a clorexidina. Ao compararem o grau de redução microbiana após o preparo químico-mecânico de canais radiculares humanos com tecido pulpar necrótico utilizando o hipoclorito de sódio 2,5% ou o gel de clorexidina 2%, Vianna *et al.* (2006) [69] concluíram que o hipoclorito foi superior em eliminar as bactérias, assim como na remoção das células do canal radicular. O fato de ser incapaz de dissolver remanescentes teciduais necróticos e ser menos efetiva contra microrganismos gram-negativos do que contra os gram-positivos levou Zehnder (2006) [75] a sugerir o não emprego da clorexidina como irrigante.

Uma propriedade que amplifica a sua capacidade antimicrobiana é a substantividade, responsável pela manutenção de sua ação bactericida por um tempo prolongado. O estudo de

Hays *et al.* (1976) [26] mostrou que a atividade antimicrobiana da clorexidina permaneceu por pelo menos 72 horas, igualmente a White *et al.* (1997) [74]. Parsons *et al.* (1980) [51], Delany *et al.* (1982) [13] e Jeansonne e White (1994) [32] relataram esse efeito residual por 24 horas. Lenet *et al.* (1999) [40] e Lenet *et al.* (2000) [39] observaram que a clorexidina apresentou substantividade por 21 dias, diferentemente de Almyroudi *et al.* (2002) [2], que verificaram um tempo de atuação de 14 dias. Já Parsons *et al.* (1980) [51] notaram que a clorexidina permaneceu atuante por um período de sete dias. Jung *et al.* (1999) [33] afirmaram que essa substância preveniu a contaminação do canal radicular através do material obturador, e Tanomaru Filho *et al.* (2002) [66] alegaram que a reparação histológica dos dentes não medicados foi melhor nos grupos irrigados com clorexidina, em virtude dessa propriedade. No entanto Ringel *et al.* (1982) [54] observaram que os canais irrigados com clorexidina líquida 0,2% apresentaram maior colonização bacteriana entre sessões, quando comparados aos irrigados com hipoclorito de sódio, demonstrando menor efetividade para manter um prolongado efeito antimicrobiano após a irrigação.

Da mesma forma, não há estudos *in vivo* que comprovem sua efetividade. Wang *et al.* (2007) [72] verificaram diferença significativa entre a identificação microbiana após a realização da cavidade de acesso e após o preparo, a favor da clorexidina. Contudo empregaram entre as sessões a pasta de hidróxido de cálcio como medicação intracanal e não encontraram diferença significativa. O uso da pasta de hidróxido de cálcio entre sessões não permitiu comprovar o efeito de substantividade. Da mesma forma o estudo de Manzur *et al.* (2007) [45], ao comparar *in vivo* a eficácia antimicrobiana da pasta aquosa de hidróxido de cálcio, do gel de clorexidina 2% e da mistura de hidróxido de cálcio com clorexidina 2% como medicação intracanal, apontou melhores resultados para o primeiro.

Quanto à limpeza dos canais radiculares, a remoção dos detritos localizados no interior do conduto, produzidos durante a instrumentação, é de fundamental importância para o sucesso do tratamento endodôntico, uma vez que eles podem abrigar microrganismos. Chaves (2002) [10] e Menezes *et al.* (2003) [46], ao utilizar gel e solução de clorexidina 2%, respectivamente, com metodologias semelhantes, afirmaram que a clorexidina não é eficiente na remoção do magma dentinário. Em contrapartida, os resultados obtidos por Ferraz *et al.* (2000) [19] indicaram que a incapacidade de dissolução tecidual foi superada pela ação mecânica do instrumento em virtude de

sua viscosidade e que o gel de clorexidina 2% promoveu melhor limpeza das paredes dos canais radiculares do que a forma líquida. Porém Lenet *et al.* (2000) [39] mostraram que a dificuldade na remoção completa do gel de clorexidina do interior dos canais radiculares pode comprometer a obturação.

A substância química auxiliar também deve apresentar baixa toxicidade, uma vez que o objetivo do tratamento endodôntico é o reparo dos tecidos periapicais, para que o elemento dental retorne às suas funções normais. Souza *et al.* (1981) [65], ao comparar em cães uma associação de corticosteróide com clorexidina e outra com antibiótico, observaram maior toxicidade para a associação que continha a clorexidina. Todavia os autores afirmaram que a obtenção dos resultados pode estar condicionada ao tipo de corticosteróide utilizado, ao potencial de irritação das substâncias associadas ao corticosteróide e também à forma de apresentação dos produtos testados. Acrescentaram ainda que o principal fator responsável pelos resultados é a forma de apresentação dos produtos. Felipe *et al.* (1995) [17], ao avaliar a solução de clorexidina 1%, e Machado *et al.* (2002) [43], ao empregar um sistema de liberação controlada contendo clorexidina, verificaram que essa substância tem potencial irritativo. Contrariando as citações anteriores, Magro Filho *et al.* (1998) [44] constataram que a solução de clorexidina 0,2% possui baixa toxicidade. Santos *et al.* (2000) [56] avaliaram tanto a solução de clorexidina quanto o gel nas concentrações 0,12%, 0,2%, 1%, 2% e 5% e mostraram que o gel, nas concentrações 0,12% e 0,2%, é menos tóxico que as demais concentrações estudadas. Kalil *et al.* (2000) [34] classificaram a solução de clorexidina 2% como uma substância não tóxica. Concordando com os autores citados anteriormente, Jeansonne e White (1994) [32] e Menezes *et al.* (2003) [46] indicaram o uso de clorexidina como substância auxiliar na desinfecção do canal radicular em pacientes alérgicos ao hipoclorito de sódio e em casos de rizogênese incompleta, por causa da sua relativa ausência de toxicidade, confirmada também por Greenstein *et al.* (1986) [24], White *et al.* (1997) [74], Ferraz *et al.* (2000) [19], Gomes *et al.* (2001) [22], Machado Jr. *et al.* (2001) [42] e Almyroudi *et al.* (2002) [2].

Embora os estudos sobre o potencial de genotoxicidade ainda sejam conflitantes, têm aumentado as evidências de que um incremento no potencial de dano no DNA e a quebra de cromossomos ou sua perda sejam considerados importantes fatores de risco a carcinogênese. Nesse particular, Ribeiro *et al.* (2004) (53), ao estudar o

efeito em leucócitos e células da mucosa oral de ratos tratados com 0,5 mL de solução de clorexidina 0,12% duas vezes ao dia durante 8 dias, confirmaram um aumento de dano ao DNA. Esses resultados obrigam os pesquisadores a novos estudos que possibilitem definir, com evidência científica, o emprego da clorexidina na odontologia e na terapia endodôntica, quer seja como substância irrigadora ou como medicação intracanal.

Conclusão

Com base na revisão da literatura pode-se concluir que:

1. A clorexidina tem demonstrado eficiente atividade antimicrobiana;
2. Sua propriedade de substantividade tem um papel importante na manutenção de condições impróprias para o crescimento bacteriano;
3. Em função de não possuir efeito de dissolução tecidual e não ser efetiva na remoção do magma dentinário, sua melhor aplicação na terapia endodôntica seria como irrigante final, tirando proveito do seu efeito de substantividade;
4. Os resultados dos estudos sobre a sua genotoxicidade obrigam os pesquisadores a buscar evidências científicas que comprovem a segurança de sua utilização.

Referências

1. Ayan A, Sultan N, Cirak M, Ruhi MZ, Bodur H. Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. *Int Endod J*. 1999 Mar;32(2):99-102.
2. Almyroudi A, Mchught S, Saunders WP. The effectiveness of various disinfectants used as endodontic intracanal medications: an *in vitro* study. *J Endod*. 2002 Mar;28(3):163-7.
3. Barbosa CAM, Gonçalves RB, Siqueira Jr. JF, Uzeda M. Evaluation of the antibacterial activities of calcium hydroxide, chlorexidine and camphorated paramonochlorophenol as intracanal medicaments. A clinical and laboratory studies. *J Endod*. 1997 May;23(5):297-9.
4. Basrani B, Robinson C. Evaluación de la limpieza y desinfección del conducto radicular con diferentes irrigantes. Parte I. *Revista de la Asociación Odontológica Argentina*. 1998 Nov/Dec;86(6):584-9.
5. Bolzani LMV, Pappen FG, Amaral MR, Vinholes JA, Demarco FF. Efeitos antimicrobianos *in vitro* de soluções irrigadoras utilizadas em endodontia. In: Reunião da SBPqO 2000; 17, resumo 1126.
6. Bonacorsi C, Raddi MSG, Carlos IZ. Citotoxicity of chlorhexidine digluconate to murine macrophages and its effect on hydrogen peroxide and nitric oxide inductions. *Braz J Med Biol Res*. 2004;37(2):207-12.
7. Buck R, Eleazer PD, Staat R. *In vitro* disinfection of dentinal tubules by various endodontic irrigants. *J Endod*. 1999 Dec;25(12):7886-8.
8. Carson KR, Godell GG, Mcclanahan SB. Comparison of the antimicrobial activity of six irrigants on primary endodontic pathogens. *J Endod*. 2005;31(6):471-3.
9. Cervone F, Tronstad L, Hammond B. Antimicrobial effect of chlorexidine in a controlled release delivery system. *Endod Dent Traumatol*. 1990 Feb;6(1):33-6.
10. Chaves M. Avaliação por meio de microscopia eletrônica de varredura da presença de detritos nos canais radiculares instrumentados com géis de clorexidina e de mamona. [Dissertação – Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto; 2002.
11. Dametto FR, Ferraz CCR, Gomes BPFA, Teixeira FB, Zaia A, Souza Filho FJ. *In vitro* assessment of the immediate and prolonged antimicrobial action of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant against *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2005;99:768-72.
12. D'arcangelo C, Varvara G, De Fazio P. An evaluation of the action of different root canal irrigants on facultative aerobic-anaerobic, obligate anaerobic and microaerophilic bacteria. *J Endod*. 1999 May;25(5):352-3.
13. Delany GM, Patterson SS, Miller CH, Newton CW. The effect of chlorhexidine gluconate irrigation on the root canal flora of freshly extracted necrotic teeth. *Med Oral Pathol Radiol Endod*. 1982 May;53(5):518-23.
14. Eren K, Özmeriç N, Sardas S. Monitoring of buccal epithelial cells by alkaline comet assay (single cell gel electrophoresis technique) in cytogenetic evaluation of chlorhexidine. *Clin Oral Invest*. 2002;6:150-4.
15. Estrela C, Estrela CRA, Pécora JD, Amorim LFG, Toledo OA. Eficácia antimicrobiana de formulações de digluconato de clorexidina de concentrações e procedências diferentes. *ROBRAC*. 2004;13(35):10-3.
16. Fardall O, Turnbull RSA. Review of the literature on use chlorhexidine in dentistry. *J Am Dent Assoc*. 1986;112:863-9.

17. Felipe WT, Soares IJ, Mallmann J. Avaliação da reação do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos a três substâncias utilizadas na irrigação de canais radiculares. *Revista Odonto Ciência*. 1995;20(2):47-54.
18. Ferraz CCR. Avaliação *in vitro* do gel de clorexidina usado como irrigante endodôntico. [Tese - Doutorado]. Piracicaba: Universidade Estadual de Campinas; 1999.
19. Ferraz CCR, Gomes BPFA, Teixeira FB, Zaia A, Souza Filho FJ. Avaliação *in vitro* do gel de clorexidina como irrigante endodôntico. In: Reunião da SBPqO 2000; 17, resumo A357.
20. Ferreira CM, Rosa OPS, Torres SA, Ferreira FBA, Bernardinelli N. Activity of endodontic antibacterial agents against selected anaerobic bacteria. *Braz Dent J*. 2002 Feb;13(2):118-22.
21. Fidel SR, Marques JLL, Antoniazzi JH. Avaliação da capacidade de penetração dentinária radicular da clorexidina associada a três diferentes veículos. *Rev Pos Grad*. 1995 Jul/Set;2(3):121-6.
22. Gomes BPFA, Ferraz CCR, Vianna ME, Berbert VB, Teixeira FB, Souza Filho FJ. *In vitro* antimicrobial activity of several concentration of sodium hypochlorite and clorexidine gluconate in the elimination of *E. faecalis*. *J Endod*. 2001;34:424-8.
23. Gomes BPFA, Souza SFC, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia A, Valdrighi L et al. Effectiveness of 2% clorexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine *in vitro*. *Int Endod J*. 2003;36:267-75.
24. Greenstein G, Berman C, Jaffin R. Chlorhexidine. An adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol*. 1986 Jun;57(6):370-7.
25. Guimarães CCCP, Cai S, Lage-Marques JL. Atividade antimicrobiana da clorexidina e do paramonoclorofenol em veículo gel. In: Reunião da SBPqO 2001; 18, resumo A024.
26. Hays GL, Janer LR, White RR. Quantification of antimicrobial activity remaining in chlorhexidine-treated root canals. *J Dent Res*. 1976;75:52. Abstract 277.
27. Heling I, Sommer M, Steinberg D, Friedman M, Sela MN. Microbiological evaluation of the efficacy of chlorhexidine in a sustained-release device for dentine sterilization. *Int Endod J*. 1992 Jan;25(1):15-9.
28. Heling I, Steinberg D, Kenig S, Gavriloch I, Sela MN, Friedman M. Efficacy of a sustained release device containing chlorhexidine and calcium hydroxide in preventing secondary infection of dentinal tubules. *Int Endod J*. 1992 Jan;25(1):20-4.
29. Heling I, Chandler NP. Antimicrobial effect of irrigant contamination within dentinal tubules. *Int Endod J*. 1998 Jan;31(1):8-14.
30. Hikiba H, Watanabe E, Barret JC, Tsutsui T. Ability of fourteen chemical agents used in dental practice to induce chromosome aberrations in Syrian Hamster Embryo cells. *J Pharmacol Sci*. 2005;97:146-52.
31. Janer LR, Hays GL, White RR. Comparison of antimicrobial activity remaining after three 2% chlorhexidine endodontic irrigating systems. *J Dent Res*. 1996;75:52. Abstract 278.
32. Jeansonne MJ, White RRA. Comparison of 2% clorexidine gluconate and 5,25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. *J Endod*. 1994 Jun;20(6):276-8.
33. Jung S, Savavi K, Spankberg L. The effectiveness of chlorhexidine in the prevention of root canal infection. *J Endod*. 1999 Apr;25(4):288. Abstract OR26.
34. Kalil MV, Cormack MF, Motta AR, Araújo HP, Boller MAA, Silva LE. Avaliação *in vitro* da citotoxicidade da solução de clorexidina 2% em cultivo de células Hep-2. In: Reunião da SBPqO 2000; 17, resumo B334.
35. Keyes PH, McCabe RM. The potential of various compounds to suppress microorganisms in plaques produced *in vitro* by *Streptococcus* or an *Actinomyces*. *J Am Dent Assoc*. 1973 Feb;86(2):396-400.
36. Komorowski R, Grad H, Wu XY, Friedman S. Antimicrobial substantivity of chlorhexidine treated bovine root dentin. *J Endod*. 2000 Jun;26(6):315-7.
37. Kubo CH, Gomes APM, Jorge AOC. Isolamento de *Candida* de canais radiculares e verificação da sensibilidade a medicamentos utilizados na prática endodôntica. *Revista Odontológica Unacid*. 1997 Jul/Dez;9(2):119-30.

38. Lee L, Lan W, Wang G. An evaluation of chlorexidine as an endosonic irrigant. Taiwan I Hsueh Hui Tsa Chih. Gen Dent. 1995 Mar/Apr;43(2):126-40.
39. Lenet BJ, Komorowski R, Lawrence HP, Friedman S. Antimicrobial substantivity of bovine root dentin exposed to different chlorexidine delivery vehicles. J Endod. 2000 Nov;26(11):652-5.
40. Lenet BJ, Komorowski R, Lawrence HP, Friedman S. Colonization of *E. faecalis* in root canal bovine dentin treated with different chlorexidine formulations. J Endod. 1999 Apr;25(4):289. Abstract OR28.
41. Lin Y, Mickel AK, Chogle S. Effectiveness of selected materials against *E. faecalis*: part 3. The antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorexidine on *E. faecalis*. J Endod. 2003 Sep;29(9):565-6.
42. Machado Jr JA, Nascimento CMO, Machado MFC. Estudo *in vitro* da ação antimicrobiana de substâncias utilizadas como soluções irrigadoras de canais radiculares. Rev Odontol Univ Santo Amaro. 2001 Jan;6(1):54-60.
43. Machado WAS, Canabarro A, Alves Jr J, Machado RC. Reação tecidual ao implante de um dispositivo de liberação lenta (Periochip) em dorso de rato albino. Revista Brasileira de Odontologia. 2002 Mar/Abr;59(2):94-6.
44. Magro Filho O, Okamoto T, Garcia Jr IR, Aranega A, Dezan JRE. Biocompatibilidade das soluções de PVPI e de clorexidina. Estudo histológico em ratos. BCI. 1998 Jul/Set;5:9-16.
45. Manzur A, Gonzales 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.
46. Menezes ACSC, Zanet CG, Valera MC. Smear layer removal capacity of disinfectant solutions and without EDTA for the irrigation of canals: a SEM study. Pesqui Odontol Bras. 2003;17(4):349-55.
47. Miranzi MAS, Miranzi BAS, Miranzi AJS. Reparo de radioluscência periapical usando o gluconato de clorexidina a 2%. J Bras Clin Estet Odonto. 2000;4(19):25-32.
48. Ohara PK, Torabinejad M, Kettering JD. Antibacterial effects of various endodontic irrigants on selected anaerobic bacteria. Endod Dental Traumat. 1993 Jun;9(3):95-100.
49. Okino LA, Siqueira EL, Santos M, Bombana AC, Figueiredo JAP. Dissolution of pulp tissue by aqueous solution of chlorhexidine digluconate and chlorhexidine digluconate gel. Int Endod J. 2004;37:38-41.
50. Orstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. Endod Dent Traumatol. 1990 Aug;6(4):142-9.
51. Parsons GJ, Patterson SS, Miller CH, Katz S, Kafrawy AH, Newton CW. Uptake and release of chlorexidine by bovine pulp and dentin specimens and their subsequent acquisition of antibacterial properties. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodont. 1980 May;49(5):455-9.
52. Paiva JG, Antoniazzi JH. Endodontia – Bases para a prática clínica. São Paulo: Artes Médicas; 1988. p. 531-8.
53. Ribeiro DA, Bazo AP, Franchi CAS, Marques MEA, Salvadori DMF. Chlorhexidine induces DNA damage in rat peripheral leukocytes and oral mucosal cells. J Periodont Res. 2004;39:358-61.
54. Ringel AM, Patterson SS, Newton CW, Miller CH, Mulhern JM. *In vivo* evaluation of chlorexidine gluconate solution and sodium hypochlorite solution as root canal irrigants. J Endod. 1982;8(5):200-4.
55. Rosa OPS, Ferreira CM, Ferreira FBA. *In vitro* effect of intracanal medicaments on strict anaerobes by means of the broth dilution method. Pesqui Odontol Bras. 2002 Jan/Mar;16(1):31-6.
56. Santos EM, Modesto LMM, Bussadori SK, Jaeger MMM. Toxicidade de diferentes concentrações de clorexidina líquida e gel em cultura celular. In: Reunião da SBPqO 2000; 17, resumo B154.
57. Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. Dent Clin North Ame. 1997;18:86-93.
58. Schiott CR, Loe H, Jensen SB, Kilian M, Davies RM, Glavind K. The effect of chlorexidine on the human oral flora. J Periodontal Res. 1970;5(2):84-9.

59. Schiott CR. Effect of chlorexidine on the microflora of the oral cavity. *J Periodontal Res.* 1973;8:7-10.
60. Schäfer E, Bossman K. Antimicrobial efficacy of chlorexidine and two calcium hydroxide formulations against *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2005;31(1):53-6.
61. Silva CHFP, Lima KC, Siqueira Jr JF, Uzeda M. Dentinal tubule disinfection by chlorexidine solutions: an *in vitro* study. *Bras Endod J.* 1997;2(1):55-7.
62. Silva MMR. Análise *in vitro* da ação antibacteriana da medicação intracanal na superfície radicular. [Dissertação – Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo; 1999.
63. Siqueira Jr JF, Uzeda M. Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorexidine, metronidazole and calcium hydroxide associated with three vehicles. *J Endod.* 1997 Mar;23(3):167-9.
64. Siqueira Jr JF, Batista MMD, Fraga RC, Uzeda M. Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gram-negative anaerobes and facultative bacteria. *J Endod.* 1998 Aug;24(8):414-6.
65. Souza V, Nery MJ, Holland R, Tagliavini RL, Mello W, Bernabé PFP. Reação dos tecidos periapicais de dentes de cães a clorexidina ou antibiótico associado a corticosteróide. *Revista Regional de Araçatuba APCD.* 1981;2(2):5-9.
66. Tanomaru Filho M, Leonardo MR, Silva LAB. Effect of irrigating solution and calcium hydroxide root canal dressing on the repair of apical and periapical tissues of teeth with periapical lesions. *J Endod.* 2002 Apr;28(4):295-9.
67. Vahdaty A, Pitt Ford TR, Wilson RF. Efficacy of chlorexidine in disinfecting dentinal tubules *in vitro*. *Endod Dent Traumatol.* 1993 Oct;9(5):243-8.
68. Vianna ME, Gomes BPFA, Berbert VB, Ferraz CCR, Souza Filho FJ. Atividade antimicrobiana *in vitro* de gluconato de clorexidina. In: Reunião da SBPqO 2000; 17, resumo 1256.
69. Vianna ME, Horz HP, Gomes BPFA, Conrads G. *In vivo* evaluation of microbial reduction after chemomechanical preparation of human root canals containing necrotic pulp tissue. *Int Endod J.* 2006;39:484-92.
70. Yesilsoy C, Whitaker E, Cleveland D, Phillip E, Trope M. Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. *J Endod.* 1995 Oct;21(10):513-5.
71. Yeung SY, Huang CS, Chan CP, Lin CP, Lee PH, Jia HW et al. Antioxidant and pro-oxidant properties of chlorhexidine and its interaction with calcium hydroxide solutions. *Int Endod J.* 2007;40:837-44.
72. Wang CS, Arnold RR, Trope M, Teixeira FB. Clinical efficiency of 2% chlorhexidine gel in reducing intracanal bacteria. *J Endod.* 2007 Nov;33(11):1283-9.
73. Weber CD, McClanahan SB, Miller GA, West MD, Johnson J. The effect of passive ultrasonic activation of 2% chlorhexidine or 5,25% hypochlorite irrigant on residual antimicrobial activity in root canals. *J Endod.* 2003 Sep;29(9):562-4.
74. White RR, Hays GL, Janer LR. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. *J Endod.* 1997 Apr;23(4):229-31.
75. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod.* 2006;32(5):389-98.