

Eficácia antimicrobiana de formulações de digluconato de clorexidina de concentrações e procedências diferentes

Antimicrobial effectiveness of chlorhexidine digluconate at formulations at different concentrations and source

Carlos ESTRELA*

Cyntia R. A. ESTRELA**

Jesus Djalma PÉCORA***

Lilian de Fátima Guedes AMORIM****

Orlando Ayrton de TOLEDO*****

* Professor Titular de Endodontia da FO/UFG

** Mestre em Microbiologia, Doutoranda em Biologia Celular e Molecular - ICB-UFG

*** Professor Titular de Endodontia da FORP-USP

**** Prof^a Assistente de Odontopediatria da FO/UFG

***** Professor Titular de Odontopediatria da FO/UNB

RELEVÂNCIA CLÍNICA

A qualidade dos produtos químicos produzidos e utilizados no mercado nacional deve ser constantemente avaliada, especialmente quando se trata de substâncias associadas a importantes propriedades biológicas. A solução de digluconato de clorexidina tem sido indicada como solução irrigadora coadjuvante no tratamento de infecções endodônticas. Desta maneira, torna-se pertinente estudar a eficácia antimicrobiana do digluconato de clorexidina com formulações, procedências e concentrações diferentes.

RESUMO

Verificou-se a atividade antimicrobiana do digluconato de clorexidina em diferentes formas farmacêuticas (solução e gel), procedências (Gelplak[®], Cav Clean[®], Solução Aquosa de clorexidina a 2%[®] e Endogel) e concentrações (1% e 2%), encontradas no mercado nacional. A eficácia antimicrobiana foi avaliada por meio de teste de difusão em ágar, valendo-se das cepas da *American Type Culture Collection*: *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* e *C. albicans*. Para o experimento (teste de difusão em ágar), 30 placas de Petri com 20 mL de BHIA inoculadas com 0,1 mL da suspensão microbiana foram semeadas por meio do auxílio de swabs estéreis. Noventa discos de papel com 9 mm de diâmetro foram imersos nos produtos experimentais durante 1 minuto. Para cada placa de ágar foram colocados 3 discos de papel sobre a superfície do BHIA. As placas foram mantidas por 1 hora à temperatura ambiente, e então incubadas a 37°C por 48 horas. Decorrido este período, mensurou-se os diâmetros dos halos de inibição microbiana, indicadores da eficácia ou não das soluções testadas. Frente aos resultados obtidos, baseado na metodologia em apreço, pode-se concluir que todas as soluções testadas apresentaram eficácia antimicrobiana sobre todos os indicadores biológicos, com valores médios dos halos de inibição entre 16 e 25 milímetros.

PALAVRAS-CHAVE

Irrigantes do canal radicular; digluconato de clorexidina; medicação intracanal; atividade antimicrobiana.

INTRODUÇÃO

A busca de uma substância irrigadora capaz de auxiliar no processo de controle microbiano das infecções endodônticas tem sido alvo de inúmeros estudos (Ayhan et al.¹, 1999; Buck et al.², 1999; Buck et al.², 2001; Byström & Sundqvist⁴, 1983; Byström & Sundqvist⁵, 1985; Costa⁶, 2001; Denton⁷, 1991; Emilson⁸, 1977; Emilson⁹, 1994; Estrela et al.¹⁰, 2002; Estrela et al.¹¹, 2003; Estrela et al.¹², 1996; Estrela et al.¹³, 2002; Estrela et al.¹⁴, 2003; Gomes et al.¹⁵, 2001; Helling & Chandler¹⁶, 1998; Hugo & Russel¹⁷, 1992; Jeansonne & White¹⁸, 1994; Jenkins et al.¹⁹, 1988; Ohara et al.²¹, 1993; Pécora & Estrela²², 2004; Piskin & Turkun²³, 1995; Ringel et al.²⁴, 1982; Rolla & Melsen²⁵, 1975; Silva²⁶, 1999; Sydney & Estrela²⁹, 1996; Trepagnier et al.³⁰, 1997; Vahdaty et al.³¹, 1993).

O processo de sanificação de canais radiculares infectados é destaque entre os fatores responsáveis pelo sucesso endodôntico. A particular atenção a esta etapa direciona-se à atividade conjunta das soluções irrigantes com os instrumentos endodônticos. Desta forma, as características antimicrobianas, físico-químicas e de solvência tecidual de uma substância química auxiliar, em conjunto com a ação mecânica de esvaziamento, contribuem de forma decisiva no controle microbiano das infecções endodônticas (Pécora & Estrela²², 2004).

Por conseguinte, a solução irrigante ideal deve apresentar capacidade de ser ativa sobre a microbiota endodôntica nos diferentes padrões de infecções e bem tolerada pelos tecidos periapicais. O hipoclorito de sódio e a clorexidina são importantes agentes antimicrobianos usados para o tratamento de infecções endodônticas e periodontais (Ayhan et al.¹, 1999; Buck et al.², 1999; Buck et al.², 2001; Byström & Sundqvist⁴, 1983; Byström & Sundqvist⁵, 1985; Costa⁶, 2001; Estrela et al.¹⁰, 2002; Estrela et al.¹¹, 2003; Gomes et al.¹⁵, 2001; Helling & Chandler¹⁶, 1998; Jeansonne & White¹⁸, 1994; Jenkins et al.¹⁹, 1988; Ohara et al.²¹, 1993; Pécora & Estrela²², 2004). No entanto, algumas diferenças têm sido encontradas quando da comparação dos efeitos antimicrobianos do hipoclorito de sódio e da clorexidina (Ayhan et al.¹, 1999; Buck et al.², 1999; Buck et al.², 2001; Estrela et al.¹⁰, 2002; Estrela et al.¹¹, 2003; Gomes et al.¹⁵, 2001; Helling & Chandler¹⁶, 1998; Ohara et al.²¹, 1993; Pécora & Estrela²², 2004; Piskin & Turkun²³, 1995; Ringel

et al.²⁴, 1982; Silva²⁵, 1999; Siqueira Júnior et al.²⁷, 1998; Trepagnier et al.³⁰, 1997; Vahdaty et al.³¹, 1993). Os fatores mais aceitáveis das diferenças observadas apontam os métodos experimentais, os indicadores biológicos, as concentrações e os períodos de tempo experimentais (Estrela et al.¹¹, 2003).

Desta forma, o controle de qualidade da substância irrigante para emprego clínico é destacado como essencial, o que merece constante verificação. A forma de apresentação, a procedência e a concentração do produto constituem aspectos relevantes na seleção da substância.

A clorexidina tem sido testada e indicada para a aplicação sobre diferentes microrganismos endodontopatogênicos, o que oportuniza a verificação das soluções disponíveis no mercado nacional.

Assim, constitui objetivo do presente estudo analisar a atividade antimicrobiana de diferentes formulações de digluconato de clorexidina (Gelplak[®], Cav Clean[®], Solução Aquosa de clorhexedina a 2%[®] e Endogel), nas concentrações de 1 e 2%, sobre microrganismos com distintas características estruturais (cocos Gram-positivos; bacilos Gram-negativos; bacilos Gram-positivos e levedura), valendo-se do teste de difusão em ágar.

MATERIAL E MÉTODOS

Produtos Testes

No presente estudo foram investigadas as seguintes soluções experimentais:

- 1 - Gelplak[®] (Gel de clorexidina a 1%, Dentsply-Herpo Ind. e Com. Ltda, Petrópolis, RJ, Brasil)
- 2 - Cav Clean[®] (Solução de clorexidina a 2%, Dentsply-Herpo Ind. e Com. Ltda, Petrópolis, RJ, Brasil)
- 3 - Solução Aquosa de clorexidina a 2%[®] (FGM, produtos odontológicos, Joinville, SC, Brasil)
- 4 - Endogel (Gel de clorexidina a 2%, Endosupport, Itapetininga, SP, Brasil)

Microrganismos Indicadores e Determinação da Atividade Antimicrobiana

Os indicadores biológicos utilizados no experimento foram da *American Type Culture Collection*: *Staphylococcus aureus*

(ATCC 6538), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) e *Candida albicans* (ATCC 10231).

Os microrganismos foram cultivados em meio sólido - BHI agar (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA), distribuídos em tubos de ensaio e esterilizado a 121°C, durante 20 minutos. Decorridas 24 horas de incubação, à temperatura de 37°C e em condições respiratórias adequadas aos microrganismos indicadores, células microbianas foram suspensas em solução fisiológica esterilizada. Em todos os casos, a suspensão teste foi ajustada, com auxílio do mesmo diluente, ao tubo número 1 da Escala de MacFarland, na concentração aproximada de 3×10^8 células por mL. A partir das cepas selecionadas foi preparada uma mistura microbiana. Uma alíquota de 1 mL das suspensões foram transferidas para um tubo de ensaio, obtendo-se, portanto, a mistura experimental contendo *S. aureus* + *E. faecalis* + *P. aeruginosa*, + *B. subtilis* + *C. albicans*.

Para o teste de difusão em ágar, 30 placas de Petri com 20 mL de BHIA foram inoculadas com 0,1 mL da suspensão microbiana, com o auxílio de swabs estéreis, e foram espalhadas no meio, obtendo-se um crescimento confluinte. Noventa discos de papel com 9 mm de diâmetro foram imersos nas soluções experimentais durante 1 minuto. Para cada placa de ágar foram colocados 3 discos de papel sobre a superfície do BHIA. As placas foram mantidas por 1 hora à temperatura ambiente, e então incubados a 37°C por 48 horas. Os diâmetros dos halos de inibição microbiana foram então medidos, com uma régua milimetrada, ao redor dos discos de papel contendo as substâncias. Além do emprego da água destilada esterilizada como controle, foram feitos controles positivos e negativos, mantendo-se as placas inoculadas e sem inoculação, sob os mesmos períodos e condições de incubação idênticas. Todos os experimentos foram realizados sob condições assépticas, e em triplicata.

RESULTADOS

A Tabela 1 apresenta os resultados da atividade antimicrobiana dos diferentes produtos avaliados sobre as culturas puras e mistura dos microrganismos *E. faecalis* + *S. aureus* + *P. aeruginosa* + *B. subtilis* + *C. albicans*.

Tabela 1 - Médias (mm) dos diâmetros dos halos de inibição microbiana dos produtos testes por meio de difusão em ágar

Microrganismo/ Produtos testados	<i>S. aureus</i> CGP*	<i>E. Faecalis</i> CGP	<i>P. aeruginosa</i> BGN	<i>B. subtilis</i> BGP**	<i>C. albicans</i> Levedura	Mistura
1 - Gelplak [®]	19	22	20	25	18	18
2 - Cav Clean [®]	20	25	21	25	18	17
3 - Endogel	21	25	20	26	20	19
4 - Solução de clorexidina 2% [®]	18	18	24	18	16	18
5 - Água destilada esterilizada	0	0	0	0	0	0

1 - Gelplak[®] (Gel de clorexidina a 1%)

2 - Cav Clean[®] (Solução de clorexidina a 2%)

3 - Endogel (Gel de clorexidina a 2%)

4 - Solução Aquosa de clorexidina a 2%[®]

(*CGP - Cocos Gram-Positivos, BGN - Bacilos Gram-Negativos,

**BGP - Bacilos Gram-Positivos, forma esporulada)

DISCUSSÃO

A partir de diferentes investigações que buscaram valorizar o controle de qualidade da eficácia antimicrobiana de soluções de hipoclorito de sódio, torna-se oportuno também analisar a ação antimicrobiana de algumas formulações de clorexidina (Gelplak®, Cav Clean®, Solução Aquosa de clorexidina a 2%® e Endogel), em forma de solução e de gel, e nas concentrações de 1 e 2%.

As formulações de clorexidina estudadas sobre os indicadores biológicos (*S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *C. albicans*) mostraram-se eficazes com valores médios dos halos de inibição entre 16 e 25mm (Tabela 1).

A metodologia descrita no presente estudo foi experimentalmente validada e aceita dentro das limitações de um estudo *in vitro* (Estrela et al.¹¹, 2003). Os indicadores biológicos constituíram-se de microrganismos importantes em canais radiculares infectados e, também, em outros experimentos.

A verificação de propriedades físico-químicas e antimicrobianas é essencial, pois, todo material para o emprego clínico necessita ser constantemente bem monitorado.

A clorexidina é um agente catiônico do grupo 1,6-di (4'-clorofenilbiguanido) hexano. A natureza catiônica do composto promove ligação/atração eletrostática com o grupo aniônico do componente dos microrganismos (grupos fosfatos), sendo capaz de alterar sua integridade. Uma concentração apropriada de clorexidina altera a permeabilidade em nível da membrana citoplasmática, promove precipitação de proteínas o que altera o balanço osmótico da célula, interfere no metabolismo, crescimento, divisão celular, e inibe certas enzimas ligadas à membrana ATPase e inibe o processo energético de anaeróbio (Denton⁷, 1991; Estrela et al.¹¹, 2003; Hugo & Russe¹⁷, 1992; Jeansonne & White¹⁸, 1994; Jenkins et al.¹⁹, 1988).

A tensão superficial da clorexidina mostra valores de 55.50 dinas/cm e pH de 5,9 (Pécora & Estrela²², 2004).

Vahadaty et al.²¹ (1993), analisaram a eficácia da clorexidina a 2% e do hipoclorito de sódio a 2% na desinfecção de túbulos dentinários infectados com *E. faecalis*. A dentina foi removida da parede do canal por meio de brocas de diâmetro crescente para as amostras dadas 100, 100-300 e 300-500 µm de profundidade. Os resultados indicaram que clorexidina e hipoclorito de sódio foram agentes igualmente eficazes em concentrações semelhantes contra o microrganismo testado. Observaram diminuição significativa da contagem de bactérias nos primeiros 100 µm dos túbulos de dentina, de qualquer forma, mas 50% das amostras de dentina permaneceram infectadas com ambos os agentes.

Estrela et al.¹¹ (2003), avaliaram o efeito antimicrobiano do hipoclorito de sódio e clorexidina a 2%, sobre diferentes microrganismos, valendo-se de 2 métodos diferentes (teste por difusão em ágar e por exposição direta). Os dados mostraram que o hipoclorito de sódio e o digluconato de clorexidina a 2% apresentam efeito antimicrobiano contra os indicadores biológicos *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* e *C. albicans*. Pode-se concluir ainda que a magnitude do efeito antimicrobiano é influenciada pelos métodos experimentais, indicadores biológicos e tempo de exposição.

Gomes et al.¹⁵ (2001), analisaram *in vitro* a atividade antibacteriana de irrigantes endodônticos (NaOCl a 0,5, 1,0, 2,5, 4,0 e 5,25; digluconato de clorexidina na forma líquida e gel a 0,2, 1,0 e 2,0%) na eliminação do *E. faecalis*. Os resultados

mostraram que todos os irrigantes apresentam atividade antibacteriana, e que o tempo para eliminar o *E. faecalis* depende da concentração e do tipo de irrigante usado.

Um aspecto relevante durante a seleção de uma substância irrigadora com propriedades antimicrobianas é conhecer a concentração inibitória mínima. Neste sentido, Estrela et al.¹⁴ (2003), estudaram a eficácia de diferentes soluções irrigadoras de canais radiculares, entre as quais o digluconato de clorexidina a 2% sobre *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* e a mistura destes microrganismos. Com o objetivo de determinar a concentração inibitória mínima (CIM) das soluções estudadas, foi feita a diluição decimal seriada. No teste de exposição direta, avaliaram-se as ações antimicrobianas das soluções irrigadoras nos intervalos de 5, 10, 15, 20 e 30 minutos. Observaram que a concentração inibitória mínima do digluconato de clorexidina a 2% foi igual a 0,000002% para *S. aureus*, 0,002% para *P. aeruginosa*, 0,02% para *E. faecalis*, *B. subtilis*, *C. albicans* e para a mistura, e no teste por exposição direta, observaram-se, em todos os períodos, eficácia antimicrobiana sobre *S. aureus*, *E. faecalis* e *C. albicans*, e inefetividade sobre *P. aeruginosa*, *B. subtilis* e a mistura.

A ação de algumas substâncias de utilização intracanal sobre o LPS bacteriano deve receber especial atenção. Buck et al.² (1999) avaliaram a detoxificação da endotoxina de irrigantes endodônticos (clorexidina, hipoclorito de sódio, cloreto de clorexidina, etanol, EDTA, água) e hidróxido de cálcio. Os resultados mostraram que a porção ativa da endotoxina, lipídio A, é hidrolisada por substâncias químicas altamente alcalinas, ou seja o hidróxido de cálcio ou a mistura de clorexidina, hidróxido de sódio e etanol. O EDTA, hipoclorito de sódio, clorexidina, cloreto de clorexidina, etanol e água mostraram pequena ou nenhuma habilidade de detoxificação para o lipídeo A. O hidróxido de cálcio tem a vantagem de poder ser mantido no canal por vários dias.

Okino et al.²⁰ (2004) verificaram a capacidade de dissolução tecidual pulpar de soluções de hipoclorito de sódio (0,5, 1,0 e 2,5%) e do digluconato de clorexidina a 2% em forma de solução e de gel. Os resultados mostraram que as duas formas de clorexidina (solução e gel) e a água destilada não foram capazes de dissolver o tecido pulpar, enquanto que todas as soluções de hipoclorito de sódio foram eficientes na dissolução do tecido pulpar.

Outrossim, deve-se considerar as condições da microbiota presente para uma real seleção da substância de uso intracanal. A solução irrigante ideal para uso endodôntico deve apresentar propriedades antimicrobianas, apresentar capacidade de dissolução tecidual e aceitável tolerância aos tecidos periapicais. Por conseguinte, é essencial uma adequada análise de suas características.

CONCLUSÃO

Frente às metodologias em apreço pode-se concluir que:

1. Todos os produtos analisados (Gelplak®, Cav Clean®, Solução Aquosa de clorexidina a 2%® e Endogel) mostraram-se eficazes sobre os seguintes indicadores biológicos: *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* e *C. albicans* - com valores médios dos halos de inibição entre 16 e 25 milímetros.

ABSTRACT

**ANTIMICROBIAL EFFECTIVENESS OF
CHLORHEXIDINE DIGLUCONATE FORMULATIONS AT
DIFFERENT CONCENTRATIONS AND SOURCES**

The antimicrobial activity of chlorhexidine digluconate formulations (gel and solution) at different concentrations and origins (Gelplak, Cav Clean, 2% chlorhexidine aqueous solution and Endogel) found in national market was studied. The antimicrobial effectiveness was assessed by means of agar diffusion test, using the following biological indicators: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* and *Candida albicans*. For the experimental model (agar diffusion test), 30 Petri dishes with 20 mL of BHIA were inoculated with 0.1 mL of the microbial suspension were spread with the aid of sterile swabs. Ninety paper disks of 9 mm of diameter were immersed in the experimental formulations for 1 minute. For every agar plate 3 paper disks were placed on the BHIA surface. The plates were kept for 1 hour at room temperature and then incubated at 37°C for 48 hours. After this time, microbial inhibition zones, indicative of the effectiveness of the tested products, were measured. Based on results obtained, it can be concluded that all the tested formulations presented antimicrobial effectiveness, with average values of the inhibition zones between 16 and 25 millimeters.

KEY WORDS

Root canal irrigants, Chlorhexidine digluconate, intracanal dressing, antimicrobial activity.

REFERÊNCIAS

1. AYHAN, H.; SULTAN, N.; CIRAK, M.; RUHI, M.Z.; BODUR, H. Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. *Int. Endod. J.*, Oxford, v.32, n.2, p.99-102, mar.1999.
2. BUCK, R.A.; CAL J.; ELEASER, P.D.; STAAT, R.H.; HURST, H.E. Detoxification of endotoxin by endodontic irrigants and calcium hydroxide. *J. Endod.*, Baltimore, v.27, n.5, p.325-327, may 2001.
3. BUCK, R.A.; ELEASER, P.D.; STAAT, R.H. In vitro disinfection of dentinal tubules by various endodontics irrigants. *J. Endod.*, Baltimore, v.25, n.12, p.786-788, dec. 1999.
4. BYSTRÖM, A.; SUNDQVIST, G. Bacteriologic evaluation of the effects of 0.5% sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, St. Louis, v. 55, n. 3, p. 307-312, mar. 1983.
5. BYSTRÖM, A.; SUNDQVIST, G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int. Endod. J.*, Oxford, v.18, n.1, p.35-40, jan. 1985.
6. COSTA, C.A.S. Teste de biocompatibilidade dos materiais odontológicos. In: ESTRELA, C. Metodologia científica: ensino e pesquisa em odontologia. São Paulo: Artes Médicas, 2001. cap. 10, p.161-194.
7. DENTON, G.W. Chlorhexidine. In: BLOCK, S.S. *Disinfection, sterilization and preservation*. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991, p.274-89.
8. EMILSON, C.G. Susceptibility of various microorganisms to chlorhexidine. *Scand. J. Dent. Res.*, Copenhagen, v.85, n.4, p.255-265, may 1977.
9. EMILSON, C.G. Potential efficacy of chlorhexidine against mutans streptococci and human dental caries. *J. Dent. Res.*, Washington, v.73, n.8, p.682-691, aug. 1994.
10. ESTRELA, C.; ESTRELA, C.R.A.; BARBIN, E.L.; SPANÓ, J.C.; MARCHESAN, M.A.; PÉCOR, J.D. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz. Dent. J.*, Ribeirão Preto, v.13, n.2, p.113-117, aug. 2002.
11. ESTRELA, C.; RIBEIRO, R.G.; ESTRELA, C.R.A.; PÉCOR, J.D.; SOUSA-NETO, M.D. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. *Braz. Dent. J.*, Ribeirão Preto, v.14, n.1, p.58-62, jan. 2003.
12. ESTRELA, C.; SIQUEIRA, R.M.G.; RESENDE, E.V.; SILVA, A.S.; SILVA, F.A. Influência da substância química, do cimento obturador e do número de sessões na incidência de pericementite traumática. *ROBRAC*, Goiânia, v.6, n.20, p.9-13, out./dez. 1996.
13. ESTRELA, C.R.A.; ESTRELA, C.; CARVALHO, A.L.; GONELLA, A.N.P.F.; PÉCOR, J.D. Controle microbiano e químico de diferentes soluções de hipoclorito de sódio. *ROBRAC*, Goiânia, v.11, n.30, p.16-21, out./dez. 2002.
14. ESTRELA, C.R.A.; ESTRELA, C.; REIS, C.; BAMMANN, L.L.; PÉCOR, J.D. Control of microorganisms in vitro by endodontic irrigants. *Braz. Dent. J.*, Ribeirão Preto, v.14, n.3, p.187-192, dez. 2003.
15. GOMES, B.P.F.A.; FERRAZ, C.C.R.; VIANNA, M.E.; BERBER, V.B.; TEIXEIRA, F.B.; SOUZA-FILHO, F.J. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int. Endod. J.*, Oxford, v.34, n.6, p.424-28, aug. 2001.
16. HELING, I.; CHANDLER, N.P. Antimicrobial effect of irrigant combinations within dentinal tubules. *Int. Endod. J.*, Oxford, v.31, n.1, p.8-14, jan. 1998.
17. HUGO, W.B.; RUSSEL, A.D. *Pharmaceutical microbiology*. 5.ed. Oxford: Blackwell, 1992, p.245-99.
18. JEANSONNE, M.J.; WHITE, R.R. A comparison of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigant. *J. Endod.*, Baltimore, v.20, n.6, p.276-78, june 1994.
19. JENKINS, S.; ADDY, M.; WADE, W. The mechanism of action of chlorhexidine. *J. Clin. Periodontol.*, Chicago, v. 15, n.4, p.415-24, apr. 1988.
20. OKINO, L.A.; SIQUEIRA, E.L.; SANTOS, M.; BONBANA, A.C.; FIGUEIREDO, J.A.P. Dissolution of pulp tissue by aqueous solution of chlorhexidine digluconate and chlorhexidine digluconate gel. *Int. Endod. J.*, Oxford, v.37, n.1, p.38-41, jan. 2004.
21. OHARA, P.K.; TORABINEJAD, M.; KETTERING, J.D. Antibacterial effect of various endodontic irrigants on selected anaerobic bacteria. *Endod. Dent. Traumatol.*, Copenhagen, v.9, n.3, p.95-100, june 1993.
22. PÉCOR, J.D.; ESTRELA, C. Hipoclorito de sódio. In: ESTRELA, C. *Ciência endodôntica*. São Paulo: Artes Médicas, 2004. cap. 11, p.415-455.
23. PISKIN, B.; TURKUN, M. Stability of various sodium hypochlorite solutions. *J. Endod.*, Baltimore, v.21, n.5, p.253-255, may 1995.
24. RINGEL, A.M.; PATTERSON, S.S.; NEWTON, C.W.; MILLER, C.H.; MULHERN, J.M. In vivo evaluation of chlorhexidine gluconate solution and sodium hypochlorite solution as root canal irrigants. *J. Endod.*, Baltimore, v.8, n.5, p.200-04, may 1982.
25. ROLLA, G.; MELSEN, B. On the mechanism of the plaque inhibition by chlorhexidine. *J. Dent. Res.*, Washington, v.54, p.57-62, 1975.
26. SILVA, C.A.G. *Efetividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio e clorexidina como irrigantes endodônticos*. 1999. 80p. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Luterana do Brasil, Porto Alegre.
27. SIQUEIRA-JÚNIOR, J.F.; BATISTA, M.D.; FRAGA, R.C.; UZEDA, M. Antimicrobial effects of endodontic irrigants on black-pigmented Gram-negative anaerobes and facultative bacteria. *J. Endod.*, Baltimore, v.24, n.6, p.414-416, mar. 1998.
28. SPANÓ, J.C.E.; BARBIN, E.L.; SANTOS, T.C.; GUIMARÃES, L.F.; PÉCOR, J.D. Solvent action of sodium hypochlorite on bovine pulp and physico-chemical properties of resulting liquid. *Braz. Dent. J.*, Ribeirão Preto, v.12, n.2, p.154-157, 2001.
29. SYDNEY, G.B.; ESTRELA, C. The influence of root canal preparation on anaerobic bacteria in teeth with asymptomatic apical periodontitis. *Braz. Endod. J.*, Goiânia, v.1, n.1, p. 7-10, aug. 1996.
30. TREPAGNIER, C.M.; MOOLDEN, R.M.; LAZZARI, E.P. Quantitative study of sodium hypochlorite as an in vitro endodontic irrigant. *J. Endod.*, Baltimore, v.3, n.5, p.194-196, may 1997.
31. VAHDATY, A.; PITT FORD, T.R.; WILSON, R.F. Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules in vitro. *Endod. Dent. Traumatol.*, Copenhagen, v.9, n.4, p.243 -248, sept. 1993.

Endereço para correspondência

Professor Carlos Estrela

e-mail: estrela3@terra.com.br