

JULIO ALMEIDA SILVA

**Avaliação em Estudos Longitudinais da Eficácia do
Hipoclorito de sódio e da Clorexidina sobre o
Enterococcus faecalis presente em Infecções
Endodônticas – Revisão Sistemática**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do título de Mestre em Odontologia, Área de Concentração em Reabilitação Oral.

UBERLÂNDIA

2007

JULIO ALMEIDA SILVA

**Avaliação em Estudos Longitudinais da Eficácia do
Hipoclorito de sódio e da Clorexidina sobre o
Enterococcus faecalis presente em Infecções
Endodônticas – Revisão Sistemática**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do título de Mestre em Odontologia, Área de Concentração em Reabilitação Oral.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Estrela

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Ana Helena Golçalves Alencar

Prof. Dr. Carlos Estrela

Prof. Dr. João Carlos Gabrielli Biffi

UBERLÂNDIA

2007

D
E
D
I
C
A
T
Ó
R
I
A

Dedico este trabalho à minha mãe Edivane Coelho Silva, uma pessoa de extrema sensibilidade, sinônimo de afeto e amparo. Ao meu pai João Antonino da Silva que por toda vida não poupou esforços em me fazer um homem de bem, através do exemplo de humildade, honestidade e disciplina. E à Mariana, meu grande amor, que traz tanta luz para minha vida.

A
G
R
A
D
E
C
I
M
E
N
T
O

E
S
P
E
C
I
A
L

Minha gratidão e agradecimento especial ao Professor Carlos Estrela, o grande Educador que reúne as virtudes do verdadeiro Mestre. Sua arte de transmitir conhecimentos ininterruptamente transforma o convívio com sua pessoa em uma “Escola” de inesgotável fonte de instrução. Amigo que nos clarea a visão do futuro, obrigado por preocupar-se com nossa saúde física e mental. Meu eterno agradecimento por ser um orientador na plenitude do termo, por tanto nos enriquecer cientificamente e nos princípios morais. Obrigado por permitir que sua estrela nos ilumine!

A
G
R
A
D
E
C
I
M
E
N
T
O
S

Agradeço a Deus por encher o meu caminho de graças e luz, por me contemplar com mais essa vitória.

Ao Daniel de Almeida Decurcio, um amigo que pelo convívio fraterno considero um verdadeiro irmão. A sua inteligência compartilhada contribuiu muito na minha formação, faz de você um de meus grandes professores. Sou grato pelo companherismo e colaboração fundamental na execução deste trabalho.

Aos meus irmãos de sangue e alma Jales, Janine e Rafael, por toda torcida e orações dedicadas à minha proteção.

À Cintya Rodrigues de Araújo Estrela, pela paciência e serenidade com que gentilmente dispensou seu apoio nos últimos anos.

À Professora Ana Helena Gonçalves Alencar, pela colaboração prestada sempre que solicitada e pela confiança depositada em nossa pessoa.

Aos Professores João Carlos Gabrielli Biffi e Carlos José Soares pelo modo receptivo que nos acolheram em Uberlândia.

Aos demais professores do Programa de Pós-graduação: Alfredo Júlio, Flávio, Paula, Paulo, Darceny, Denildo, Íris, Vanderlei e Célio, pelos ensinamentos transmitidos.

Aos amigos Augusto, Orlando, Orcelo e Welington, pela amizade e disposição imediata em nos ajudar no que fosse preciso.

Aos amigos e companheiros de viagem, Taty, Rubens e Weuler, por dividir experiências nas horas passadas juntos.

Aos amigos Nadim, Márcio, Glécio e Gabriel, companheiros de morada, pela afinidade demonstrada entre pessoas de lugares tão diferentes.

Aos amigos Ana Cristina, Veridiana, Paulo César, Janaína, Carol, Paulo Vinícius, Murilo, Elisângela, Marco Aurélio, José Afonso, Itamar, Lara, Gustavo, Liliane, Lucas, Michele e Raposo, pela receptividade e convívio harmonioso.

E
P
Í
G
R
A
F
E

*“..A cada dia que vivo, mais me
convenço de que o desperdício da vida
está no amor que não damos, nas
forças que não usamos, na prudência
egoísta que nada arrisca, e que,
esquivando-se do sofrimento,
perdemos também a felicidade..”*

Carlos Drummond Andrade

SUMÁRIO

Lista de Tabelas	12
Lista de Figuras	14
Lista de Quadros	16
Resumo	18
Abstract	20
1. Introdução	22
2. Retrospectiva da Literatura	26
3. Proposição	44
4. Material e Método	46
4.1. Estratégias de Estudo	47
4.2. Critérios de Inclusão e Exclusão	48
5. Resultados	59
6. Discussão	63
7. Conclusão	77
8. Referências Bibliográficas	79
9. Anexos	102

L
I
S
T
A

D
E

T
A
B
E
L
A
S

Tabela 1.	Critérios de inclusão	49
Tabela 2.	Critérios de exclusão	50
Tabela 3.	Estudos excluídos com análise em evidência científica	51
Tabela 4.	Estudos incluídos que permitiram a análise da eficácia do hipoclorito de sódio e da clorexidina sobre o <i>E. faecalis</i>	61
Tabela 5.	Distribuição de artigos científicos publicados em revistas de impacto em endodontia, analisados de acordo com o modelo biológico <i>in vivo</i> e a solução irrigadora utilizada (1966/2007) (Anexo 1).	103
Tabela 6.	Distribuição de artigos científicos publicados em revistas de impacto em endodontia, analisados de acordo com o delineamento experimental <i>in vitro</i> (1966/2007)(Anexo 2).	104
Tabela 7	Distribuição de artigos científicos com estudos <i>in vivo</i> publicados de acordo com a solução irrigadora avaliada (1966 / 2007) (Anexo 4).	106
Tabela 8	Distribuição de artigos científicos com estudos <i>in vitro</i> publicados de acordo com a solução irrigadora avaliada (1966 / 2007) (Anexo 5).	107

L
I
S
T
A

D
E

F
I
G
U
R
A
S

Figura 1. Delineamento do processo de distribuição dos artigos para revisão sistemática de acordo com a metodologia e a solução irrigadora empregada. **62**

L
I
S
T
A

D
E

Q
U
A
D
R
O
S

Quadro 1. Passos recomendados pela Colaboração Cochrane para a realização de uma revisão sistemática (Anexo 3)	105
---	------------

R E S U M O

Avaliou-se em estudos longitudinais a eficácia do hipoclorito de sódio e da clorexidina sobre o *Enterococcus faecalis* presente em infecções endodônticas, através de revisão sistemática. Fontes de catalogação bibliográfica identificadas eletronicamente por MEDLINE (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>), a partir de 1966 até 01 de janeiro de 2007 e Cochrane Library no mesmo período. Na estratégia de busca empregou-se a combinação dos unitermos – *faecalis and sodium hypochlorite* ou *faecalis and chlorhexidine* ou *faecalis and root canal infections* ou *faecalis and endodontics infections* ou *faecalis and root canal irrigants* ou *faecalis and irrigant solution* ou *faecalis and endodontics irrigants* ou *faecalis and intracanal irrigant*. Os estudos foram selecionados por dois revisores, independentes, que, determinaram os critérios de inclusão e exclusão. A busca apresentou 229 artigos relacionados, sendo que destes 6 artigos eram de revisão de literatura, 39 artigos relacionavam-se com estudos *in vivo* (humanos ou animais), e 189 incluíam estudos *in vitro*. Dos 39 estudos *in vivo* 5 estudos satisfizeram os critérios de inclusão. A estruturação metodológica dos estudos incluídos inviabilizou a combinação de resultados. A eficácia do hipoclorito de sódio e da clorexidina sobre o *E. faecalis* foi demonstrada *in vitro* por teste de contato direto. Nos estudos envolvendo dentina contaminada, tanto o hipoclorito de sódio quanto a clorexidina mostram-se ineficazes. Nos 5 estudos incluídos, do total de 159 dentes com infecções endodônticas primárias ou secundárias, detectou-se o *E. faecalis* no início do tratamento em 16 dentes por PCR e 42 por cultura; e após o processo de sanificação em 11 por PCR e 12 por cultura. Observou-se ausência de estudos longitudinais em humanos da eficácia da clorexidina sobre o *E. faecalis*. O processo de sanificação coadjuvado pelo esvaziamento, alargamento e ação do hipoclorito de sódio reduz a microbiota endodôntica remanescente, o que certamente potencializa a ação da medicação intracanal e favorece um maior nível de sucesso do tratamento endodôntico.

Unitermos: *E. faecalis*, hipoclorito de sódio, clorexidina, solução irrigadora, infecção endodôntica, revisão sistemática.

ABSTRACT

The efficacy of the sodium hypochlorite and chlorhexidine over the *Enterococcus faecalis* present in endodontic infections was evaluated in longitudinal studies through a systematic review. Bibliographic catalogue sources, electronically identified as MEDLINE (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>), from 1966 until January 1st, and Cochrane Library on the same period, were used. On the searching strategy, the following combination of keywords were used – *faecalis and sodium hypochlorite* or *faecalis and chlorhexidine* or *faecalis and root canal infections* or *faecalis and endodontics infections* or *faecalis and root canal irrigants* or *faecalis and irrigant solution* or *faecalis and endodontics irrigants* or *faecalis and intracanal irrigant*. The studies were selected by two independent reviewers that determined the inclusion and exclusion criteria. The search presented 229 related articles, with 6 of these as literature review articles, 39 articles were related with *in vivo* studies (humans or animals), and 189 included *in vitro* studies. From the 39 *in vivo* studies, 5 studies satisfied the inclusion criteria. The methodological structure of the included studies prohibited the combination of results. The efficacy of the sodium hypochlorite and chlorhexidine over the *E. faecalis* was demonstrated *in vitro* by direct contact test. On the studies involving contaminated dentin, either the sodium hypochlorite or the chlorhexidine were inefficient. On the 5 studies included, from the total of 159 teeth with endodontic infections primary or secondary, the *E. faecalis* was detected initially in 16 teeth by PCR and 42 by culture, and after the sanitization process in 11 teeth by PCR and 12 by culture. It was observed the absence of longitudinal studies in humans about the efficacy of chlorhexidine over the *E. faecalis*. The sanitization process with the emptying, enlargement and action of the sodium hypochlorite reduces the remaining endodontic microbiota, what certainly potentiates the action of the intracanal dressing and favors a higher level of success of the endodontic treatment.

Keywords: *E. faecalis*, sodium hypochlorite, chlorhexidine, irrigant solution, endodontic infection, systematic review.

I N T R O D U Ç Ã O

A patogenicidade dos microrganismos responsáveis por estabelecer a periodontite apical tem realçado a necessidade de investigações à busca de substâncias que auxiliem no preparo do canal radicular, com vistas ao efetivo controle microbiano.

O processo de sanificação estabelece privilegiada ação no prélio frente aos microrganismos presentes em dentes com infecções endodônticas. O controle microbiano estrutura-se a partir da associação entre o esvaziamento e o alargamento do canal radicular monitorados pela ação química-mecânica estabelecida pelos instrumentos e pelos irrigantes. Além destes recursos, a manutenção da medicação intracanal por um determinado período de tempo contribui expressivamente para o sucesso do tratamento endodôntico (Byström *et al.*, 1987; Pécora & Estrela, 2004).

O hipoclorito de sódio constitui um agente irrigante muito estudado e utilizado por profissionais em todo o planeta. Várias propriedades podem estar associadas a esta substância, entre as quais incluem: atividade antimicrobiana, capacidade de dissolução tecidual, capacidade de limpeza e tolerância tecidual em concentrações apropriadas (Spängberg *et al.*, 1973; Abou-Rass & Oglesby, 1981; Gordon *et al.*, 1981; Byström & Sundqvist, 1983; 1985, Harrison *et al.*, 1990; Andersen *et al.*, 1992; Holland *et al.*, 1992; Sydney *et al.*, 1996; Estrela *et al.*, 2002a, b; Spanó *et al.*, 2001).

Outro agente antimicrobiano muito investigado é a clorexidina. Este irrigante tem sido testado e indicado para a aplicação sobre diferentes microrganismos endodontopatogênicos. A clorexidina é um agente catiônico (grupo biguanida; 4-clorofenil radical), o qual exibe atividade antibacteriana. A natureza catiônica do composto promove conexão com o grupo aniônico do composto na superfície bacteriana (grupos fosfatos), sendo capaz de alterar sua integridade. Uma concentração apropriada de clorexidina altera a permeabilidade da membrana citoplasmática, promove precipitação de proteínas o que altera o balanço osmótico da célula, interfere no metabolismo, crescimento e divisão celular, inibe a enzima ATPase e o processo anaeróbio (Rolla & Melsen, 1975; Jenkins *et al.*, 1988; Hugo & Russel, 1992; Denton, 1991; Jeansonne *et al.*, 1994; Estrela C *et al.*, 2003).

Spratt *et al.* (2001) investigaram o efeito antimicrobiano do hipoclorito de sódio 2,25%, clorexidina 0,2%, prata coloidal ou iodo 10% contra biofilmes gerados por filtros de membrana em discos a partir de espécimes de *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus micros*, *Streptococcus intermedius*, *Fusobacterium nucleatum* e *E. faecalis*. Esses microrganismos foram incubados anaerobiamente e as unidades formadoras de colônias (UFC) foram calculadas após a exposição aos agentes antimicrobianos por 15 minutos ou 1 hora. O hipoclorito de sódio foi o agente testado mais efetivo, sendo o único 100% efetivo contra o biofilme de *E. faecalis* após 15 e 60 minutos. O hipoclorito de sódio e o iodo foram mais efetivos que a clorexidina matando todos os microrganismos após 1 hora de incubação com o agente antimicrobiano. Gomes *et al.* (2001) analisaram *in vitro* a atividade antibacteriana de irrigantes endodônticos (Hipoclorito de sódio a 0,5%, 1%, 2,5%, 4% e 5,25%; digluconato de clorexidina na forma líquida e gel a 0,2%, 1% e 2%) na eliminação do *E. faecalis*. Os resultados mostraram que todos os irrigantes apresentaram atividade antibacteriana, e que o tempo para eliminar o *E. faecalis* depende da concentração e do irrigante usado.

Um aspecto relevante durante a seleção de uma substância irrigadora com características antimicrobianas é conhecer a concentração inibitória mínima. Neste sentido, Estrela C *et al.* (2003) estudaram a efetividade de diferentes soluções irrigadoras de canais radiculares, entre as quais o hipoclorito de sódio a 1% e a clorexidina a 2% sobre *Staphylococcus aureus*, *E. faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* e a mistura destes microrganismos. Para a concentração inibitória mínima foi feita a diluição seriada na razão de 10. Observou-se que a concentração inibitória mínima do hipoclorito de sódio foi igual a 0,1% para *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* e *C. albicans*, e igual a 1% para *B. subtilis* e a mistura. Comparativamente o hipoclorito de sódio mostrou melhor efetividade sobre todos microrganismos e em todos períodos analisados (5 a 30 minutos). A clorexidina a 2% apresentou uma concentração inibitória mínima igual a 0,000002% para *S. aureus*, 0,002% para *P. aeruginosa*, 0,02% para *E. faecalis*, *B. subtilis*, *C. albicans* e a mistura; no teste por exposição direta, verificou-se

efetividade antimicrobiana sobre *S. aureus*, *E. faecalis* e *C. albicans* em todos os períodos (5 a 30 minutos), e inefetividade sobre *P. aeruginosa*, *B. subtilis* e a mistura. A magnitude do efeito antimicrobiano é influenciada pelos métodos experimentais, indicadores biológicos e tempo de exposição.

Todavia, a literatura contemporânea tem discutido com muito cuidado a utilização de uma odontologia baseada em evidência. Neste segmento, a prerrogativa para sua aplicação inclui estudos em humanos, que direcionam investigar respostas a questionamentos clínicos, por meio de uma análise longitudinal crítica de artigos publicados. A resposta dentro de um contexto clínico aceitável pode ser buscada a partir de algumas questões que envolvem um problema, a intervenção, a seleção, a avaliação, a comparação e uma possível conclusão. Este fato requer o conhecimento de estratégias a serem aplicadas para a seleção dos estudos (Estrela *et al.*, 2007a).

O *E. faecalis* é uma bactéria Gram-positiva, facultativa, associada a infecções persistentes aos tratamentos convencionais (Camilleri *et al.*, 2006; Siwek *et al.*, 2002; Sundqvist, 1976; Tanriverdi *et al.*, 1997; Tronstad *et al.*, 1981; Zerella *et al.*, 2005). Com efeito à proposta com base em evidência, um questionamento clínico expressivo e atual envolve a eficácia do hipoclorito de sódio e da clorexidina sobre o *E. faecalis* presente em infecções endodônticas.

Assim, estudos *in vitro* têm comprovado a efetividade do hipoclorito de sódio e da clorexidina sobre esta importante bactéria comumente associada a infecções secundárias. Todavia, de forma idêntica ao hidróxido de cálcio, tem sido questionado a real eficácia destes agentes irrigantes sobre o *E. faecalis* nos estudos *in vivo*.

Por conseguinte, torna-se essencial investigar e debater com base em evidência científica, a ação do hipoclorito de sódio e da clorexidina sobre o *E. faecalis* presente nas infecções endodônticas.

R
E
T
R
O
S
P
E
C
T
I
V
A

D
A

L
I
T
E
R
A
T
U
R
A

Os trabalhos apresentados na revisão da literatura foram selecionados a partir da pertinência com o assunto em estudo.

Ringel *et al.* (1982) compararam a eficácia antimicrobiana do hipoclorito de sódio a 2,5% e do gluconato de clorexidina a 0,2% como soluções irrigadoras. Foram selecionados 60 dentes unirradiculares de 52 pacientes, com necrose pulpar e lesão periapical confirmada por exame radiográfico e ausência de resposta ao teste de vitalidade. Amostras microbiológicas foram obtidas do canal radicular a cada sessão e transportadas para o tioglicolato de sódio. Após a abertura coronária, os canais radiculares foram preenchidos com meio de cultura e instrumentados com as limas de número 10 e 15. Os cabos das limas foram removidos e as partes ativas foram introduzidas em tubos com meio de cultura. Uma segunda coleta foi realizada com o emprego de cones de papel absorvente. Procedeu-se preparo do canal radicular com o emprego das soluções teste por um mínimo de 30 minutos. Os canais foram alargados com mais 3 limas subseqüentes, seguido de uma irrigação final com solução fisiológica. A terceira coleta foi realizada e os dentes foram selados temporariamente. O número de sessões requeridas para reduzir a microbiota do canal radicular a níveis não cultiváveis variou de 1 a 5, com uma média de 2,1 sessões para clorexidina e 1,7 para o hipoclorito de sódio. Os resultados do processamento das amostras, mostraram que o hipoclorito de sódio a 2,5% foi mais efetivo que o gluconato de clorexidina a 0,2%.

Byström & Sundqvist (1983) compararam o efeito antibacteriano do hipoclorito de sódio a 0,5% e da solução fisiológica, em 30 dentes humanos com necrose pulpar. Após a abertura coronária, os canais radiculares foram irrigados com solução fisiológica e instrumentados até a lima de número 40, sendo realizada coleta do conteúdo do canal radicular por meio de cones de papel absorvente esterilizados. A instrumentação dos canais radiculares foi completada sob irrigação com hipoclorito de sódio a 0,5% e uma segunda coleta foi realizada. Na segunda sessão, após a remoção dos selamentos temporários e preenchimento dos canais radiculares com solução fisiológica, fez-se a terceira coleta. Em seguida, os canais foram novamente instrumentados e irrigados com as soluções testes, antes da realização da

quarta coleta. Estes procedimentos foram realizados nas cinco sessões adjacentes, com intervalo entre sessões variando de 2 a 4 dias. Foram isoladas 169 cepas bacterianas diferentes, quando se empregou a solução fisiológica como solução irrigadora, contra 89 cepas bacterianas distintas quando se empregou hipoclorito de sódio a 0,5%. O *E. faecalis* não esteve presente entre as cepas bacterianas identificadas. O hipoclorito de sódio a 0,5% se mostrou mais efetivo para a irrigação dos canais radiculares que a solução fisiológica.

Baumgartner & Cuenin (1992) usaram microscopia eletrônica de varredura para examinar superfícies do terço médio de canais radiculares instrumentados com auxílio do hipoclorito de sódio 5,25%, 2,5%, 1% e 0,5%. O hipoclorito de sódio foi utilizado tanto com cânulas endodônticas irrigadoras quanto por um dispositivo ultra-sônico de irrigação. Todas as concentrações de hipoclorito de sódio foram efetivas na remoção de *debris* dos canais radiculares. A *smear layer* foi observada em todas as superfícies instrumentadas independentemente da concentração da solução ou meio de irrigação. O hipoclorito de sódio a 5,25%, 2,5% e 1% removeu completamente a pré-dentina e remanescentes pulpare das superfícies não instrumentadas. Apesar do hipoclorito de sódio a 0,5% ter removido a maior parte da pré-dentina e dos remanescentes pulpares, fibrilas permaneceram nas superfícies não instrumentadas.

Briseño *et al.* (1992) avaliaram a sobrevivência de microrganismos após o preparo do canal radicular por meio de testes em cultura e microscopia eletrônica de varredura. Foram usadas como soluções irrigadoras o hipoclorito de sódio 1% e 2%, e o Fokalhydran I e II (soluções a base de clorexidina). Setenta e cinco canais radiculares humanos foram alargados, esterilizados e inoculados com uma cultura mista de *Escherichia coli* e *Streptococcus mutans*. Após a inoculação, os canais foram irrigados tanto manualmente quanto com auxílio de ultra-som por 20 segundos com 5 mL de solução. Ambos os grupos (*E. coli* e *S. mutans*) mostraram que o número de bactérias viáveis após a irrigação foram significativamente menor para as duas soluções irrigadoras em comparação com o grupo controle. Para *E. coli* a efetividade do hipoclorito de sódio foi significativamente melhor que as soluções de Fokalhydran. O

hipoclorito de sódio 1% irrigado com seringa foi o grupo mais efetivo contra os dois microrganismos inoculados.

Vahdaty *et al.* (1993) investigaram a eficácia do hipoclorito de sódio a 0,2% e 2% e do gluconato de clorexidina a 0,2% e a 2% sobre o *E. faecalis* em túbulos dentinários de incisivos de bovinos. Espécimes com 4 mm de altura e 5 mm de extensão foram preparados e divididos em grupos de 6 amostras, que após esterilizados foram incubados com cerca de 0,1 mL da suspensão bacteriana de *E. faecalis* durante 6 dias a 37°C. Após este período, os espécimes foram removidos dos tubos, secos e lavados com 20 mL das soluções testadas durante 2 minutos. Através do uso de brocas em baixa rotação, removeu-se dentina de diferentes profundidades (100, 200 e 300 µm) do canal radicular irrigado. O pó de dentina obtido foi transferido para 5 mL de caldo de BHI e 0,1 mL dessa suspensão foi inoculado em placas com ágar-sangue. Seguindo-se incubação em anaerobiose por 7 dias, procedeu-se a contagem do número de colônias. Os resultados indicaram que tanto a clorexidina quanto o hipoclorito de sódio, reduziram o número de microrganismos.

Georgopoulou *et al.* (1994) avaliaram a efetividade antimicrobiana do ácido cítrico a 25% e do hipoclorito a 2,5%, sobre microrganismos anaeróbios isolados de canais radiculares. Trinta tipos diferentes de microrganismos (cocos Gram-positivos e Gram-negativos, bastonetes Gram-positivos e Gram-negativos) foram isolados de canais radiculares infectados de pacientes não submetidos ao uso de antibióticos nos 6 meses anteriores ao tratamento. As amostras foram coletadas com cones de papel esterilizados em 0,9 mL de *Reduced Transport Fluid* (RTF) e transportadas para uma câmara anaeróbia. Inóculos de 0,2 mL dos microrganismos isolados foram transferidos para placas contendo 10 mL das substâncias teste. Alíquotas de 0,01 mL de cada diluições foram colocadas em tubos com 0,9 mL de tioglicolato e 0,1 mL de Tween 80 de após os intervalos de 5, 15, 30 e 60 minutos. Após a análise dos resultados verificou-se que o hipoclorito foi mais eficaz que o ácido cítrico contra coccus e bastonetes.

Jeansone & White (1994) analisaram a ação do hipoclorito de sódio a 5,25% e do gluconato de clorexidina a 2%, em 62 dentes humanos recém extraídos com lesão de cárie extendendo até a câmara pulpar ou radiolucidez periapical. Após a abertura coronária, fez-se a primeira coleta de material do interior dos canais radiculares. Procedeu-se o preparo do canal com o auxílio das soluções irrigadoras, seguido da segunda coleta; a terceira coleta foi obtida após 24 horas de incubação dos dentes em condições de anaerobiose. Para se avaliar a substantividade das soluções testadas, os canais radiculares foram irrigados com tioglicolato e incubados em anaerobiose. Após 24 horas, coletou-se material do interior dos canais radiculares. A análise dos resultados revelou que tanto o hipoclorito de sódio a 5,25% quanto a clorexidina a 2% foram eficazes na redução da microbiota do canal radicular. Não houve diferença significativa no teste de substantividade entre as duas soluções testadas.

Molander *et al.* (1999) investigaram se uma estratégia antimicrobiana incluindo o hidróxido de cálcio poderia ser potencializada se os canais fossem pré-tratados com iodo iodeto de potássio a 2% ou se o período de medicação fosse extendido por 2 meses. Cinquenta e oito dentes com periodontite apical assintomática foram utilizados no estudo. Na primeira sessão os dentes foram preenchidos com VMGA I e instrumentados até limas hedström número 25. O conteúdo do canal foi coletado (coleta inicial) com cones de papel e transferidos para VMGA III. O preparo do canal foi realizado sob irrigação com hipoclorito de sódio 0,5% até as limas de número 35 a 50. Subseqüentemente os canais foram preenchidos com iodo iodeto de potássio 5% e selados com cimento de óxido de zinco e eugenol. A segunda coleta foi realizada 7 dias depois, antes da colocação da medicação intracanal a base de hidróxido de cálcio. Os dentes que apresentaram crescimento microbiano na segunda coleta foram deixados com medicação por mais 2 meses para posterior realização da terceira coleta. As amostras iniciais demonstraram presença de microrganismos em 42 de 50 dentes investigados. A grande maioria dos microrganismos foram classificados como anaeróbios. Após a instrumentação e preenchimento com iodo iodeto de potássio, a flora residual foi levemente predominada por facultativos e 1 espécie de *E. faecalis* foi isolada. Amostras

obtidas após 2 meses com hidróxido de cálcio revelaram crescimento de *E. faecalis* em 2 espécimes.

Ayhan *et al.* (1999) estudaram o efeito do hipoclorito de sódio a 5,25% e 0,5%, gluconato de clorexidina a 2%, álcool a 21% e cresofeno sobre *S. aureus*, *E. faecalis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus pyogenes*, *E. coli* e *C. albicans*. Discos de papel com 15 µL das soluções teste foram colocados sobre placas inoculadas com os microrganismos relacionados. Os halos de inibição foram medidos após 24 horas. O hipoclorito de sódio a 5,25% foi efetivo sobre todos os microrganismos. O álcool apresentou halos de inibição menores que o gluconato de clorexidina, porém, sem significância estatística. O cresofeno foi a substância que apresentou os maiores halos, embora seja uma substância possivelmente carcinogênica, mutagênica e teratogênica.

Silva (1999) estudou a efetividade do hipoclorito de sódio a 1% e da clorexidina a 2%, como soluções irrigadoras endodônticas, usando um modelo de estudo *in vivo*. Vinte de quatro dentes unirradiculares com lesões periapicais foram selecionados e distribuídos em dois grupos experimentais, de acordo com as soluções teste. A coleta de material do canal radicular para exame microbiológico foi efetivada antes, logo após e decorridos 7 dias do preparo do canal radicular. Desta forma foram avaliados o efeito imediato e residual das soluções irrigadoras. Todos os canais selecionados estavam infectados antes do tratamento. Quando o hipoclorito de sódio a 1% foi usado como solução irrigadora, 16,7% e 83,3% dos canais evidenciaram resultado positivo no teste microbiológico imediatamente e decorridos sete dias do tratamento respectivamente. A irrigação com clorexidina 2% apresentou 8,3% e 41,7% de resultados positivos para coleta imediata e após sete dias do preparo, respectivamente. O hipoclorito de sódio 1% mostrou-se estatisticamente tão eficaz quanto a clorexidina 2%, quando avaliado o aspecto antimicrobiano imediatamente após preparo do canal ou ao final de 7 dias do procedimento.

Peciulienė *et al.* (2000) investigaram a ocorrência do *E. faecalis* em canais radiculares de dentes submetidos a retratamento endodôntico em pacientes da Lituânia. Vinte e cinco dentes unirradiculares, com tratamento endodôntico previamente realizado, apresentando evidência radiográfica de

periodontite apical foram incluídos no estudo. A obturação foi removida mecanicamente na ausência de solvente e a primeira coleta foi obtida com cones de papel esterilizados. Os canais foram preparados utilizando o hipoclorito de sódio 2,5% e EDTA 17% como solução irrigadora. A segunda coleta foi tirada da dentina apical com alargadores. Alternativamente, as paredes do canal foram instrumentadas com limas Hedström e as amostras coletadas com cones de papel. As culturas foram realizadas em placas e os tipos de colônias bacterianas foram enumeradas, isoladas, codificadas e identificadas. Anteriormente ao preparo dos canais radiculares, 20 dentes apresentaram cultura positiva para microrganismos; em 14 dentes detectou-se o *E. faecalis*, dos quais 5 em monocultura. Após preparo dos canais radiculares, 7 dentes evidenciaram cultura positiva para microrganismos; em 5 destes dentes detectou-se o *E. faecalis* em monocultura. Destes 5 casos de monocultura, 4 apresentavam-se como monocultura na coleta inicial.

Peciulienė *et al.* (2001) avaliaram a ocorrência de levedura, bactérias entéricas Gram-negativas e espécies de *Enterococcus* em canais com periodontite apical crônica. Quarenta dentes com tratamento endodôntico considerados insatisfatórios de acordo com manual publicado pela *European Society of Endodontology* 1994 foram selecionados e divididos em 2 grupos. A obturação antiga foi removida usando instrumentos manuais na ausência de solvente e as amostras iniciais foram colhidas com cones de papel esterilizado. Os canais foram limpos e modelados com alargadores e limas Hedström, usando hipoclorito de sódio 2,5% e EDTA 17% como solução irrigadora. A segunda coleta foi tirada da dentina apical com os instrumentos usados no preparo do canal. O grupo "A" recebeu medicação de hidróxido de cálcio por 10-14 dias antes de serem obturados. No grupo B, após o preparo do canal, os canais foram irrigados com iodo iodeto de potássio (iodo 2% em iodeto de potássio 4%) por 5 minutos e a terceira coleta foi realizada antes da obturação final pela técnica da condensação lateral. As culturas foram realizadas em placas com diferentes meios de cultura. As colônias bacterianas foram enumeradas, isoladas, codificadas e identificadas. Dos dentes analisados, em 33 detectou-se a presença de microrganismos. A única espécie de

Enterococcus isolada no estudo foi o *E. faecalis*, sendo isolada em 21 dentes (64% da amostra), nos quais em 19 apresentaram-se como microrganismos dominantes, e em 11 espécies como monoculturas. Posterior ao preparo do canal radicular, auxiliado com hipoclorito de sódio a 2,5% e EDTA, houve uma redução na identificação do *E. faecalis* para 6 espécimes (5 monoculturas). Considerando o total de unidades formadoras de colônias, as amostras detectadas após o preparo do canal radicular apresentaram valor inferior a 1% do número de colônias detectadas inicialmente.

Love (2001) identificou um possível mecanismo que explicaria como o *E. faecalis* poderia sobreviver e reproduzir dentro de túbulos dentinários e reinfectar canais radiculares obturados. Cem dentes humanos foram clivados ao longo dos seus eixos e foram submergidos por 14 dias em meio de cultura contendo células bacterianas de *Streptococcus gordonii*, *S. mutans* ou *E. faecalis*. O meio de cultura foi trocado a cada 3 dias e a viabilidade das células bem como sua pureza foi continuamente monitoradas. Em alguns grupos experimentais foram adicionados soro humano ou colágeno tipo I ácido solúvel ao meio de cultura. A capacidade dos microrganismos de invadir os túbulos dentinários e aderirem ao colágeno tipo I na presença de soro humano foi avaliada microscopicamente por coloração de Brown & Brenn. Os resultados mostraram que células de *E. faecalis* permaneceram viáveis, mantiveram sua capacidade de invadir túbulos dentinários e aderir ao colágeno na presença de soro humano.

Buck *et al.* (2001) compararam a efetividade de três soluções irrigadoras frente ao *E. faecalis* incubado por 12 horas em canais radiculares de dentes humanos extraídos, para que houvesse a penetração do microrganismo no interior dos túbulos dentinários. Após 1 minuto do uso de hipoclorito de sódio 0,5%, Tubulicid (EDTA) e Peridex (clorexidina 0,12%) como soluções irrigadoras, amostras de dentina foram colhidas com brocas para contagem das unidades formadoras de colônia (UFC). O hipoclorito de sódio apresentou o maior número de placas com unidades formadoras de colônia igual a zero.

Estrela *et al.* (2002b) avaliaram o controle microbiano e químico de diferentes soluções de hipoclorito de sódio: hipoclorito de sódio 0,5% (Dakin

Sol, Maza 2000), hipoclorito de sódio 0,5% (Líquido de Dakin, Probem), hipoclorito de sódio 0,5% (Líquido de Dakin, Biodinâmica), hipoclorito de sódio 1% (Hi-Clor, Halex Istar), hipoclorito de sódio 1% (Milton Sol, Maza 2000), hipoclorito de sódio 1% (Líquido de Milton, Biodinâmica), hipoclorito de sódio 2% (Soda Clorada, Biodinâmica). A efetividade antimicrobiana das soluções testadas foi verificada por contato direto. Noventa e seis cones de papel foram imersos, por 5 minutos, em uma mistura microbiana de *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* e *C. albicans*. Após a contaminação, os cones foram transferidos para placas de petri permanecendo em contato com as diferentes soluções teste a intervalos de 1, 3, 5 e 10. Os cones foram transportados individualmente para 10 mL de *Lethen Broth* acrescido de tiosulfato de sódio e Tween 80. O crescimento microbiano foi analisado macroscopicamente perante a presença ou ausência de turvação do meio. As soluções testes a 1% e 2% apresentaram eficácia antimicrobiana sobre a cultura microbiana mista após 3 minutos, enquanto que nas soluções teste a 0,5% a efetividade ocorreu decorridos 5 minutos. A determinação do teor de cloro ativo das amostras em questão foi realizada pelo método da iodometria. O teor de cloro ativo foi mantido nas seguintes soluções: Líquido de Dakin, Biodinâmica – 0,5%, Hi-Clor, Halex Istar - 1,07%, Milton Sol, Maza 2000 – 1,06%, e Soda clorada, Biodinâmica – 2,51%. O exame com peagâmetro digital revelou pH acima de 11 para as soluções comerciais: Dakin Sol, Maza 2000 - 0,5%, Hi-Clor, Halex Istar – 1%, Milton Sol, Maza 2000 1% e Soda Clorada, Biodinâmica – 2%.

Evans *et al.* (2002), buscando esclarecer o mecanismo pelo qual o *E. faecalis* é capaz de sobreviver ao alto pH, expuseram cepas microbianas a concentrações subletais de hipoclorito de sódio e hidróxido de cálcio. A solução de hipoclorito de sódio a 0,5% revelou-se letal, embora o *E. faecalis* tenha sobrevido a concentração de 0,0001%. O *E. faecalis* foi resistente ao hidróxido de cálcio em pH 11,1, embora não o tenha sido em pH 11,5. Nenhuma diferença na sobrevivência celular foi observada quando a síntese protéica foi bloqueada durante indução de estresse, entretanto a adição de um inibidor da bomba de prótons resultou na drástica redução da viabilidade do *E. faecalis* na presença do hidróxido de cálcio.

Estrela C *et al.* (2003) mostraram que a magnitude do potencial antimicrobiano de uma solução irrigadora pode ser influenciado pelo tipo de método experimental usado para testá-la. O efeito antimicrobiano do hipoclorito de sódio 2% e da clorexidina 2% foi testado tanto por contato direto quanto por teste de difusão em ágar. Os resultados mostraram que o hipoclorito de sódio 2% apresentaram maior efetividade antimicrobiana no teste por contato direto impedindo o crescimento do *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* e *C. albicans* cultivado isoladamente ou da mistura deles. Já no teste de difusão em ágar, a clorexidina 2% apresentou maiores halos de inibição contra as mesmas cepas microbianas.

Gomes *et al.* (2003) avaliaram a efetividade do gel de clorexidina 2%, hidróxido de cálcio em veículo viscoso (polietilenoglicol 400) e da mistura do hidróxido de cálcio com o gel de clorexidina. Cento e oito tubos de dentina obtidos a partir de dentes bovinos recém extraídos foram infectados *in vitro* por *E. faecalis* durante 7 dias, antes do preenchimento do lúmen dos tubos com as medicações teste.. Após 1, 2, 7 15 e 30 dias, amostras de raspas de dentina foram coletas com brocas de baixa rotação e separadas em tubos de ensaio contendo BHI. Apesar do gel de clorexidina 2% sozinho ou misturado ao hidróxido de cálcio ter impedido o crescimento microbiano nos períodos iniciais, após os 30 dias todas as medicações testadas permitiram crescimento microbiano.

Hauman & Love (2003) discutiram os conceitos de testes de biocompatibilidade e descreveram as características de direntes soluções irrigadoras, dentre elas o hipoclorito de sódio e da clorexidina. A biocompatibilidade dos materiais endodônticos foi caracterizada por alguns parâmetros como genotoxicidade, mutagenicidade, carcinogenicidade, citotoxicidade, histocompatibilidade ou efeitos microbianos. Assim, foi evidenciada a impossibilidade de caracterizar o material por um simples método de teste separadamente, suas propriedades precisam ser investigadas por uma bateria de vários testes *in vitro* e *in vivo* em uma seqüência estruturada em níveis: 1 - Toxicidade não específica (cultura de células ou pequenos animais de laboratório); 2 - Toxicidade específica (testes de utilização, ex: em primatas

sub-humanos); e 3 - Teste clínico em humanos. Como o efeito proteolítico do hipoclorito de sódio depende da quantidade de cloro livre disponível que é usado durante o processo de reação de redução de substâncias inorgânicas, freqüentemente a irrigação com uma baixa concentração pode atingir tanto efeito proteolítico quanto o uso com alta concentração. Assim, considera-se que uma adequada concentração de hipoclorito para ser utilizada na irrigação endodôntica seja 0,5 a 1% com pH próximo do neutro tendo boa efetividade antimicrobiana com mínimo efeito irritante tecidual. A Clorexidina por ser ativa contra uma grande porção de microrganismos (bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, esporos microbianos, vírus lipofílicos, fungos e dermatófitos) e apresentar relativa falta de toxicidade foi sugerida como um bom substituto naqueles pacientes com alergia ao hipoclorito.

Estrela *et al.* (2004b) avaliaram a influência de soluções irrigadoras no potencial antimicrobiano de pasta de hidróxido de cálcio em dentes de cão com periodontite apical. Quarenta e oito pré-molares de cães foram preparados até a lima de número 40 e irrigados com hipoclorito de sódio 2,5%, clorexidina 2% ou vinagre antes da colocação do hidróxido de cálcio ou do próprio vinagre como medicação intracanal. Após 21 dias, amostras dos canais radiculares foram colhidas com pontas de papel para avaliação do crescimento microbiano por dois meios: turbidez do meio de cultura e subcultura em meio nutriente específico. Independente do tipo de medicação ou solução irrigadora utilizada, todos os grupos experimentais apresentaram crescimento microbiano em diferentes porcentagens.

Estrela *et al.* (2004a) estudaram a eficácia antimicrobiana de formulações de digluconato de clorexidina de diferentes concentrações e procedências através de teste de difusão em ágar. Trinta placas de Petri foram inoculadas 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 do *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* e *C. albicans*. Noventa discos de papel com 9 mm de diâmetro foram imersos, por 1 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 3 discos de papel sobre a superfície do meio de cultura. As placas foram mantidas por 1 hora à temperatura ambiente, e então encubados a 37°C por 48 horas. Os diâmetros dos halos de inibição microbiana foram medidos ao redor dos discos de papel. Os resultados mostraram que todas soluções testadas apresentaram eficácia antimicrobiana sobre todos os indicadores biológicos com valores médios dos halos de inibição entre 16 e 25 milímetros.

Kvist *et al.* (2004) compararam os resultados microbiológicos de um protocolo de tratamento endodôntico em 1 sessão, usando uma medicação de iodo iodeto de potássio por 10 minutos antes da obturação, com o protocolo padrão em 2 sessões utilizando o hidróxido de cálcio como medicação intracanal entre as sessões. Noventa e seis dentes com periodontite apical foram preenchidos com fluido para coleta inicial e instrumentados até lima de número 25. Após o término do preparo do canal sob irrigação com hipoclorito de sódio 0,5%, nova coleta foi realizada. No grupo de 1 única sessão, a coleta final foi realizada após o preenchimento do canal com iodo iodeto de potássio por 10 minutos. No grupo de 2 sessões, a coleta final foi realizada após uma semana de medicação intracanal com hidróxido de cálcio e selamento com cotosol. A coleta inicial dos canais radiculares apresentou o crescimento de microrganismos em 98% dos dentes investigados. Nas coletas após a instrumentação do canal houve uma redução da microbiota cultivável, porém, bactérias foram encontradas em 62% a 64% dos dentes analisados. Nas coletas após medicação, foi constatado microrganismo residual em 29% no grupo de sessão única e 36% para o grupo de duas sessões.

Ferrari *et al.* (2005) detectaram bactérias entéricas, *Enterococcus* e leveduras em canais radiculares com infecção endodôntica primária antes e após o preparo do canal radicular, além de testar a susceptibilidade antibiótica das linhagens de *Enterococcus* isolados dos canais radiculares infectados. Foram selecionados 25 dentes unirradiculares, com câmara pulpar intacta apresentando periodontite apical assintomática sem presença de fístula. Após a abertura coronária, a primeira coleta foi realizada com a introdução

seqüencial de 2 cones de papel número 15 ou 20 até aproximadamente 1 mm. A instrumentação dos canais foi executada usando Endo PTC creme, hipoclorito de sódio 0,5% e irrigação final com 10 ml de EDTA. A segunda coleta foi realizada de modo similar a primeira e o acesso coronário foi selado com Cimpat. A terceira coleta foi realizada na segunda sessão, após 7 dias, com 3 cones de número 30. Os canais foram novamente instrumentados e preenchidos com solução PRP (Fórmula & Ação), uma medicação a base de paramonoclorofenol. Na terceira sessão, após 7 dias, a quarta coleta foi realizada, a obturação finalizada e a câmara pulpar selada com ionômero de vidro. Cada amostra foi semeada em diferentes meios de cultura. As linhagens dos microrganismos foram identificadas usando testes bioquímicos. Na coleta realizada após abertura coronária, microrganismos foram isolados em 23 de 25 dentes (92%), sendo que, em 5 dentes observou-se pelo menos um dos microrganismos alvo; em 3 dentes detectou-se Enterococcus. Na coleta realizada após o preparo, microrganismos foram isolados em 5 dentes, sendo que nenhum estava infectado por um dos microrganismos alvo. Na coleta realizada após 7 dias sem medicação intracanal, microrganismos foram isolados em 25 dentes (em 12 canais radiculares identificou-se Enterococcus, sendo que em 9 canais eram monoculturas). Na coleta realizada após 7 dias com medicação intracanal (solução PRP) em 9 canais ainda havia presença de microrganismos, sendo 3 canais com Enterococcus.

Estrela *et al.* (2005a) estudou a tensão superficial do hipoclorito de sódio 1% isoladamente e do hidróxido de cálcio associado a água destilada deionizada, paramonoclorofenol canforado, digluconato de clorexidina 2%, Otosporin, sulfato éter lauril sódio 3%, furacin ou Paramono com furacin usando tensiômetro. O modelo experimental consistiu na aplicação de uma força para separar um anel de platina imerso na superfície das substâncias, exercido por um tensiômetro. Considerando a metodologia aplicada, pode-se concluir: hipoclorito de sódio apresentou alta tensão superficial de 75,00 dinas/cm; a água destilada isolada ou associada com o hidróxido de cálcio apresenta alta tensão superficial de 70,00 e 68,40 dinas/cm; hidróxido de cálcio associado ao detergente aniônico mostrou baixa tensão superficial de 31,60

dinas/cm; paramonoclorofenol canforado mais hidróxido de cálcio apresentou baixa tensão superficial de 37,50 dinas/cm; clorexidina 2% associada com hidróxido de cálcio mostrou um alto valor de tensão superficial de 58,00 dinas/cm; Otoporin mais hidróxido de cálcio mostrou baixa tensão superficial de 35,40 dinas/cm; paramonoclorofenol furacin misturado com hidróxido de cálcio apresentou tensão superficial igual a 45,50 dinas/cm.

Hems *et al.* (2005) testaram a eficácia antimicrobiana do ozônio e do hipoclorito de sódio contra culturas de *E. faecalis* em suspensão ou biofilme, avaliando períodos experimentais de 30, 60, 120 e 240 segundos. A suspensão de *E. faecalis* apresentou uma redução de bactéria após a aplicação da água ozonificada ou do gás do ozônio por 240 segundos. Já o biofilme microbiano incubado com água ozonificada por 240 segundos, não apresentou redução significativa na viabilidade das células. No mesmo período experimental de 240 segundos, nenhuma célula viável de *E. faecalis* em cultura planctônica foi encontrada após a utilização do hipoclorito de sódio 0,05%. Concluiu-se que: 1- o ozônio em suspensão foi antibacteriano contra *E. faecalis* planctônico no período de 240 segundos; 2 - o ozônio não foi efetivo contra células de *E. faecalis* em biofilme; 3 - o fenótipo biofilme não foi mais resistente ao ozônio que o fenótipo planctônico; 4 - o gás do ozônio não teve efeito sobre o biofilme de *E. faecalis*; 5 - o hipoclorito de sódio 0,05% foi mais efetivo nos testes planctônicos na ausência de matéria orgânica; 6- o hipoclorito de sódio 2,5% foi mais efetivo no biofilme com agitação do que sem a mesma.

Abdullah *et al.* (2005) reinteraram a efetividade do hipoclorito de sódio após comparem a eficácia do hidróxido de cálcio, hipoclorito de sódio 3%, clorexidina 0,2%, EDTA 17% ou polvidine iodado 10%. Cepas de *E. faecalis* foram isoladas de canais radiculares infectados, associados a doença periapical, e apresentadas sob forma de biofilme, suspensão fenotípica planctônica ou uma suspensão preparada e centrifugada na forma de uma pelota. O hipoclorito de sódio foi a substância antimicrobiana mais eficaz eliminando 100% dos microrganismos após 2 minutos de exposição, nas diferentes formas de apresentação.

Zerella *et al.* (2005) compararam o efeito da mistura de clorexidina 2% aquosa e hidróxido de cálcio pró-análise com a pasta de hidróxido de cálcio na desinfecção do canal radicular em retratamento. Foram incluídos 40 dentes unirradiculares previamente tratados associados a periodontite apical. A obturação foi removida com brocas de Gates-Glidden e limas manuais, com auxílio de um microscópio operatório. Os canais foram preenchido com solução salina e agitado com lima número 20 até o comprimento de trabalho durante 1 minuto. O conteúdo dos canais foram absorvidos com pontas de papel e transferidos para caldo de tioglicolato. Os canais foram limpos e modelados pela técnica convencional usando abundante irrigação com hipoclorito de sódio 1% e a segunda coleta foi realizada. A medicação intracanal com pasta aquosa de hidróxido de cálcio ou pasta de hidróxido de cálcio associada a clorexidina 2% foi colocada e os dentes foram restaurados temporariamente com cavit. Na segunda sessão, após 7-10 a medicação intracanal foi removida e obteve-se a terceira coleta. Os canais foram novamente instrumentados com a lima memória e hipoclorito de sódio 1% e preenchidos com solução salina para quarta coleta. A turbidez dos meios foram analisadas diariamente durante os primeiros 7 dias, e semanalmente nas 3 semanas seguintes. Todos os 40 dentes apresentaram microrganismos cultiváveis na coleta inicial, dos quais, 4 de cada grupo apresentaram *E. faecalis* identificados por PCR. Após o preparo dos canais radiculares, o grupo da pasta de hidróxido de cálcio e clorexidina a 2% apresentou 2 amostras positivas pelo teste de cultura, nas quais nenhuma foi positiva para *E. faecalis* inicialmente. No grupo da pasta aquosa de hidróxido de cálcio, 7 amostras foram positivas, valendo-se de cultura, sendo que nenhuma apresentava-se positiva para o *E. faecalis* inicialmente.

Zehnder (2006) sugere que não há razões para o uso de soluções de hipoclorito 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 a clorexidina é incapaz de dissolver remanentes

teciduais necróticos, e ao fato de ser menos efetiva frente bactérias Gram-negativas que Gram-positivas.

Williams *et al.* (2006) apresentaram um teste *real-time quantitative DNA-base PCR* (qPCR) e o compararam com o teste de cultura para detecção e quantificação do *E. faecalis* em pacientes com infecções primárias e refratárias. Nos casos de infecção primária o canal foi preenchido *liquid dental transport médium* (LDTM) e 3 coletas com cones de papel foram transferidas respectivamente para o meio LTDM para cultura microbiológica, *Dulbelco's Phosphate Buffered Saline* (DPBS) para análise com qPCR e *RNA-later* para análise com *reverse transcription-PCR* (RT-PCR). Os canais foram novamente preenchidos com LTDM e as coletas foram feitas na ordem reversa da primeira série de coletas. Nos casos de infecção refratária as coletas iniciais foram feitas de modo similar as anteriores, após a remoção da guta-percha com *orifice shaper* e limas hedström sem a utilização de solvente. Em seguida Limas tipo k foram usadas e o conteúdo do canal foi coletado. A modelagem final foi realizada com instrumentos rotatórios sob irrigação com hipoclorito de sódio 1% a cada troca de lima. Amostras bacterianas foram obtidas após a instrumentação e irrigação. Para a cultura e identificação dos espécimes, foram usadas placas de ágar específicas para subcultura de *Enterococcus*. O crescimento do *E. faecalis* foi confirmada pela coloração de Gram, micromorfologia, morfologia da colônia, meio de crescimento seletivo sob condições aeróbicas e anaeróbicas. Nas amostras iniciais de infecções primárias, verificou-se que de 15 dentes em apenas 1 houve detecção de *E. faecalis* por cultura e 2 por qPCR; nas infecções refratárias de 14 dentes houve detecção de *E. faecalis* em 2 dentes por cultura e em 6 por qPCR. Após o preparo dos canais radiculares com hipoclorito de sódio a 1%, nas infecções primárias não foi verificado *E. faecalis* em nenhuma amostra por cultura, porém, detectou-se esta bactéria em 3 dentes por qPCR; nas infecções refratárias, observou-se o *E. faecalis* em 1 dente por cultura e em 8 dentes por qPCR.

Vianna *et al.* (2006) determinaram, em um estudo *in vivo*, o grau de redução microbiana após o preparo químico-mecânico de canais radiculares

humanos com tecido pulpar necrosado quando se utilizou o hipoclorito de sódio 2,5% ou a clorexidina 2% gel. Trinta e dois pacientes foram divididos em dois grupos de acordo com as soluções irrigadoras teste, os canais radiculares foram instrumentados e coletas microbianas foram realizadas para a análise da redução microbiana. Apesar de ambas 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.

Estrela *et al.* (2007b) determinaram a eficácia da água ozonificada, gás de ozônio, hipoclorito de sódio 2,5% e clorexidina 2% em canais radiculares humanos infectados pelo *E. faecalis*. Trinta dentes humanos extraídos foram preparados até a lima de numero 50 e tiveram suas coroas e porções apicais seccionadas transversalmente de modo a manter um comprimento de dente padronizado em 16 mm. Cepas microbianas de cocos Gram-positivos anaeróbios facultativos de *E. faecalis* foram inoculadas nos dentes por 60 dias. A porção coronal das raízes foram fixadas em tubos de ependorff cortados que estavam conectadas a uma bomba peristáltica por meio de mangueira plástica. Este aparato permitiu que as soluções irrigadoras circulassem constantemente pelo interior dos canais radiculares infectados por 20 minutos. Amostras das raízes radiculares foram coletadas com pontas de papel em triplicata e transportadas para 7 mL de Letheen Broth. Nenhuma substância teste apresentou efeito contra o *E. faecalis* nas coletas realizadas após 72 horas ou imediatamente após o período de irrigação.

Chávez de Paz *et al.* (2007) investigaram se as bactérias isoladas de canais radiculares infectados melhor sobreviveriam a um pH alcalino quando em biofilme ou em cultura planctônica. Os biofilmes e culturas planctônicas bacterianas foram mantidos a um pH de 10,5 por 4 horas e a viabilidade celular foi microscopicamente determinada usando o método de corante fluorescente *LIVE/DEAD*. Adicionalmente, o perfil das proteínas produzidas pelas bactérias

testadas foi avaliado. O *E. faecalis*, *Lactobacillus paracasei*, *Olsenella uli* e *S. gordonii* sobreviveram em alto número tanto nas culturas planctônicas quanto em biofilmes, após a mudança de pH. O *Streptococcus anginosus*, *S. oralis* e *F. nucleatum* mostraram o aumento da viabilidade no biofilme comparado a cultura planctônica. Em geral, as bactérias resistiram melhor ao pH alcalino em biofilme do que em cultura planctônica, embora as células planctônicas parecessem usar a agregação e o transporte extracelular de proteínas específicas como mecanismo de sobrevivência.

Manzur *et al.*, (2007) testaram a eficácia antimicrobiana da pasta aquosa de hidróxido de cálcio, gel de clorexidina 2% e da mistura de hidróxido de cálcio com clorexidina 2%. Trinta dentes com periodontite apical crônica foram instrumentados e divididos em 3 grupos de acordo com o tipo de 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 1 semana na segunda sessão. O crescimento bacteriano foi avaliado por teste de turbidez e pela cultura em placa para 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 de 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 apresentaram-se positivos nos testes de turbidez e cultura em placa; e 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.

P
R
O
P
O
S
I
Ç
Ã
O

O objetivo deste trabalho é avaliar em estudos longitudinais a eficácia do hipoclorito de sódio e da clorexidina sobre o *E. faecalis* presente em infecções endodônticas.

M
A
T
E
R
I
A
L

E

M
É
T
O
D
O

4.1. Estratégia de Estudo

A presente avaliação foi delineada a partir de uma análise de estudos longitudinais desenvolvida por meio de revisão sistemática quantitativa de resultados de várias pesquisas. Para tanto, foram selecionados estudos prospectivos relacionados à eficácia do hipoclorito de sódio e da clorexidina sobre o *E. faecalis* presente nas infecções endodônticas, identificado antes e após o preparo do canal radicular. Utilizou-se de fontes de catalogação bibliográfica identificados eletronicamente pela MEDLINE e *Cochrane Collaboration*. A MEDLINE é uma base de dados da literatura internacional da área médica e biomédica, produzida pela *National Library of Medicine* – USA (Bueno, 2005). A estratégia de busca dos artigos na base de dados MEDLINE foi realizada pelo portal *PubMed* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>), no período entre o ano de 1966 até 1 de janeiro de 2007, utilizando-se de várias combinações de palavras-chave conforme descrito a seguir:

1. *faecalis* and sodium hypochlorite OR (n = 75)
2. *faecalis* and chlorhexidine OR (n = 36)
3. *faecalis* and root canal infections OR (n = 12)
4. *faecalis* and endodontics infections OR (n = 22)
5. *faecalis* and root canal irrigants OR (n = 114)
6. *faecalis* and irrigant solution OR (n = 17)
7. *faecalis* and endodontics irrigants OR (n = 27)
8. *faecalis* and intracanal irrigants (n = 34)

Os artigos relacionados pela busca eletrônica foram selecionados, por dois revisores independentes, avaliando os critérios de inclusão e exclusão. Quando as informações contidas nos títulos e resumos foram insuficientes, os artigos na íntegra foram avaliados pelos mesmos revisores, com os mesmos critérios.

A *Cochrane Collaboration* representa uma organização internacional independente cuja função é disseminar revisões sistemáticas sobre tratamentos na área da saúde e estimular pesquisa baseada em evidência na forma de estudos de intervenção clínica. A *Cochrane Collaboration*, fundada

em 1995 pelo Epidemiologista Archie Cochrane, tem como maior produto o *Cochrane Database of Systematic Reviews* publicada como parte da *Cochrane Library*. A estratégia de busca de revisões sistemáticas na base de dados da *Cochrane Library* foi realizada por meio de uma pesquisa no site do *Oral Health Group* (<http://www.ohg.cochrane.org/reviews.html>).

3.2. Critérios de Inclusão e Exclusão

Dois revisores examinaram todos os estudos relacionados e determinaram os critérios de inclusão e exclusão, de acordo com as **Tabela 1** e **2**. A **Tabela 3** evidencia os estudos excluídos com análise em evidência científica, bem como as razões para a rejeição.

Para cada estudo selecionado, foram calculados os números de amostras, tabulados os dados sobre a época do tratamento endodôntico inicial, o número de raízes dos dentes envolvidos na pesquisa, o método de identificação da bactéria, a presença do *E. faecalis* nas amostras, as substâncias irrigadoras utilizadas durante o preparo do canal radicular e a eficácia do hipoclorito de sódio e clorexidina sobre a bactéria em discussão. A avaliação destes fatores combinados proporcionou um novo conjunto associado de dados, o que incluiu todas as amostras selecionadas.

Tabela 1 - Critérios de Inclusão dos estudos

1. Estudos *in vivo*
 2. Desenvolvidos em humanos
 3. Prospectivos
 4. Experimental e grupo controle
 5. Relacionados à eficácia do hipoclorito de sódio e da clorexidina frente ao *Enterococcus faecalis*
 6. Realização de coleta microbiana antes e após o preparo dos canais radiculares
 7. Estudos publicados em idioma Inglês
-

Tabela 2 – Critérios de Exclusão dos estudos

1. Estudos *in vitro*
 2. Desenvolvidos em animais
 3. Ausência de avaliação da eficácia antimicrobiana do hipoclorito de sódio e clorexidina usados como medicações endodônticas
 4. Ausência de coleta intracanal para identificação do *E. faecalis* imediatamente após a utilização do hipoclorito de sódio ou clorexidina
 5. Ausência de coleta intracanal e identificação do *E. faecalis* intracanal antes do processo de sanificação dos canais radiculares
 6. Idioma de origem não inglesa
 7. Ausência de resumo
 8. Revisão de literatura
 9. Envolvendo dentes decíduos
 10. *Cases Reports*
-

Tabela 3 – Estudos excluídos com análise em evidência científica

	Estudos excluídos	Critério
1.	Johnson <i>et al.</i> , 2006 J Endod 946-50	2
2.	Fabricius <i>et al.</i> , 2006 Eur J Oral Sci 278-85	2
3.	Strabelli <i>et al.</i> , 2006 Braz J Infect Dis 113-6	3,4,5
1.	Gomes <i>et al.</i> , 2006 O Surg O Med O Pathol 247-53	3,4
4.	Oncaag <i>et al.</i> , 2006 J Clin Ped Dent 233-7	9
5.	Reynaud <i>et al.</i> , 2006 Oral Microbial Immun 164-8	3,4
6.	Zehnder <i>et al.</i> , 2006 Int Endod J 952-8	1
7.	Sena <i>et al.</i> , 2006 Int Endod J 878-85	1
8.	Oncag <i>et al.</i> , 2006 Gen Dent 319-22	1
9.	Gomes <i>et al.</i> , 2006 O Surg O Med O Pathol 544-50	1
10.	Silva Garcez <i>et al.</i> , 2006 O Surg O Med O Pathol e93-8	1
11.	Tay <i>et al.</i> , 2006 J Endod 970-5	1
12.	Shurrab, 2006 J Contemp Dent Pract 53-62	1
13.	Nakajo <i>et al.</i> , 2006 Oral Microbial Immunol 283-8	1
14.	Oztan <i>et al.</i> , 2006 O Surg O Med O Pathol 410-6	1
15.	Ercan <i>et al.</i> , 2006 O Surg O Med O Pathol e27-31	1
16.	Salas <i>et al.</i> , 2006 Rev Enf 43-8	6
17.	Kolzet, 2006 J Am Dent Assoc 722-4	8
18.	Yang <i>et al.</i> , 2006 J Endod 663-7	1
19.	Kho & Baumgartner, 2006 J Endod 652-5	1
20.	Buxbaum <i>et al.</i> , 2006 J Antim Chemother 193-7	1
21.	Dunavant <i>et al.</i> , 2006 J Endod 527-31	1
22.	Lin <i>et al.</i> , 2006 Quintessence Int 391-4	1
23.	Jha <i>et al.</i> , 2006 J Am Dent Assoc 67-70	1
24.	Portenier <i>et al.</i> , 2006 J Endod 138-41	1
25.	Stuart <i>et al.</i> , 2006 J Endod 93-8	8
26.	Berber et al. 2006 Int Endod J 10-7	1
27.	Menyhay & Maki, 2006 Infect Control Hosp Epidemiol 023-7	1
2.	Foschi <i>et al.</i> , 2005 Oral Microbial Immunol 289-95	3,4
28.	Sedgley <i>et al.</i> , 2005 Arch Oral Biol 575-83	3,4,5

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>

(continuação)

Tabela 3 – Estudos excluídos com análise em evidência científica

	Estudos excluídos	Critério
29.	Fouad <i>et al.</i> , 2005 O Surg O Med O Pathol 112-8	3,4
30.	Bozza <i>et al.</i> , 2005 Act Odont Latinoam 51-6	1
31.	Almas <i>et al.</i> , 2005 Int J Dent Hyg 18-24	1
32.	Er <i>et al.</i> , 2005 Int Endod J 871-6	1
33.	Molinos <i>et al.</i> , 2005 Appl Environ Microbiol 7781-7	1
34.	Zehnder <i>et al.</i> , 2005 J Endod 817-20	1
35.	Gomes <i>et al.</i> , 2005 O Surg O Med O Pathol 512-7	1
36.	Vivacqua-Gomes <i>et al.</i> , 2005 Int Endod J 697-704	1
37.	Sirtes <i>et al.</i> , 2005 J Endod 669-71	1
38.	Reynaudo <i>et al.</i> , 2005 Int Endod J 667-77	1
39.	Fouad & Barry 2005 J Endod 510-3	1
40.	Dametto <i>et al.</i> , 2005 O Surg O Med O Pathol 768-72	1
41.	Koivunen <i>et al.</i> , 2005 Water Res 1519-26	1
42.	Portenier <i>et al.</i> , 2005 J Endod 380-6	1
43.	Lin <i>et al.</i> , 2005 Dent Traum 42-5	1
44.	Schafer & Bossman 2005 J Endod 53-6	1
45.	Cwikla <i>et al.</i> , 2005 J Endod 50-2	1
46.	Abdullah <i>et al.</i> , 2005 J Endod 030-7	1
47.	Sedgley <i>et al.</i> , 2005 Oral Microbial Immunol 010-9	1
48.	Hems <i>et al.</i> , 2005 Int Endod J 022-9	1
3.	Rocas <i>et al.</i> , 2004 O Surg O Med O Pathol 741-9	3,4
49.	Rocas <i>et al.</i> , 2004 J Endod 504-8	3,4
50.	Möller <i>et al.</i> , 2004 Eur J Oral Sci 207-15	2
4.	Gomes <i>et al.</i> , 2004 Oral Microbial Immunol 71-6	3,4
51.	Siqueira Jr & Rocas, 2004 O Surg O Med O Pathol 85-94	3,4
52.	Lee <i>et al.</i> , 2004 Aust Endod J 93-8	8
53.	Amorin <i>et al.</i> , 2004 Pesqui Odontol Bras 242-6	1
54.	Nagayoshi <i>et al.</i> , 2004 J Endod 778-81	1
55.	Nakajo <i>et al.</i> , 2004 Oral Microbial Immunol 390-4	1
56.	Rosenthal <i>et al.</i> , 2004 O Surg O Med O Pathol 488-92	1

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>

(continuação)

Tabela 3 – Estudos excluídos com análise em evidência científica

	Estudos excluídos	Critério
57.	Bhende & Spangler, 2004 <i>Infect Control Hosp Epidemiol</i> 664-7	1
58.	Baker <i>et al.</i> , 2004 <i>O Surg O Med O Pathol</i> 359-64	1
59.	Turner <i>et al.</i> , 2004 <i>Int Endod J</i> 664-71	1
60.	Schoop <i>et al.</i> , 2004 <i>Laser Surg Med</i> 111-6	1
61.	Evanov <i>et al.</i> , 2004 <i>J Endod</i> 653-7	1
62.	Paisano <i>et al.</i> , 2004 <i>Oral Microbial Immunol</i> 327-30	1
63.	Gulabilava <i>et al.</i> , 2004 <i>Int Endod J</i> 624-31	1
64.	Siren <i>et.al</i> 2004 <i>Eur J Oral Sci</i> 326-31	1
65.	Radcliffe <i>et al.</i> , 2004 <i>Int Endod J</i> 438-46	1
66.	Stowe <i>et al.</i> , 2004 <i>J Endod</i> 429-31	1
67.	Aarestrup & Hasmal, 2004 <i>Vet Microb</i> 86-9	1
68.	Perin <i>et al.</i> , 2004 <i>Aust Endod J</i> 020-2	1
69.	Menezes <i>et al.</i> , 2004 <i>Int Endod J</i> 311-9	1
70.	Zehnder <i>et al.</i> , 2004 <i>J Endod</i> 220-4	1
71.	Saleh <i>et al.</i> , 2004 <i>Int Endod J</i> 193-8	1
72.	Lui <i>et al.</i> , 2004 <i>Int Endod J</i> 105-13	1
73.	Barroso <i>et al.</i> , 2004 <i>J Endod</i> 42-4	1
74.	Vianna <i>et al.</i> , 2004 <i>O Surg O Med O Pathol</i> 79-84	1
75.	Fraser <i>et al.</i> , 2004 <i>Burns</i> 35-40	1
76.	Costa <i>et al.</i> , 2003 <i>Braz Dent J</i> 95-8	3,4,5
5.	Oncag <i>et al.</i> , 2003 <i>Int Endod J</i> 423-32	4,9
77.	Pinheiro <i>et al.</i> , 2003 <i>Int Endod J</i> 001-11	3,4
78.	Estrela <i>et al.</i> , 2003 <i>Braz Den J</i> 187-92	1
79.	Sassone <i>et al.</i> , 2003 <i>Int Endod J</i> 848-52	1
80.	Basrani <i>et al.</i> , 2003 <i>O Surg O Med O Pathol</i> 618-24	1
81.	Zehnder <i>et al.</i> , 2003 <i>O Surg O Med O Pathol</i> 608-13	1
82.	Shabahang & Torabinejad, 2003 <i>J Endod</i> 576-9	1
83.	Lin <i>et al.</i> , 2003 <i>J Endod</i> 565-6	1
84.	Sassone <i>et al.</i> , 2003 <i>Braz Dent J</i> 99-102	1
85.	Souza <i>et al.</i> , 2003 <i>Pesqui Odontol Bras</i> 75-7	1

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>

(continuação)

Tabela 3 – Estudos excluídos com análise em evidência científica

	Estudos excluídos	Critério
86.	Gaonkar <i>et al.</i> , 2003 Infect Control Hosp Epidemiol 506-13	1
87.	Lin <i>et al.</i> , 2003 J Endod 416-8	1
88.	Torabinejad <i>et al.</i> , 2003 J Endod 400-3	1
89.	Grawehr <i>et al.</i> , 2003 Int Endod J 411-7	1
90.	Podbielski <i>et al.</i> , 2003 J Endod 340-5	1
91.	Evans <i>et al.</i> , 2003 J Endod 338-9	1
92.	Gomes <i>et al.</i> , 2003 Int Endod J 267-75	1
93.	Mickel <i>et al.</i> , 2003 J Endod 259-60	1
94.	Tree <i>et al.</i> , 2003 App Envir Microb 2038-43	1
95.	Lynne <i>et al.</i> , 2003 J Endod 187-90	1
96.	Haenni <i>et al.</i> , 2003 Int Endod J 100-5	1
97.	Estrela <i>et al.</i> , 2003 Braz Dent J 58-62	1
98.	Debroy & Chattopadhyay 2002 Ind J Dent Res 100-1	7
99.	Siqueira Jr <i>et al.</i> , 2002 J Endod 168-72	3,4
100.	Zehnder <i>et al.</i> , 2002 O Surg O Med O Pathol 756-62	1
101.	Distel <i>et al.</i> , 2002 J Endod 689-93	1
102.	Portenier <i>et al.</i> , 2002 J Endod 634-7	1
103.	Basrani <i>et al.</i> , 2002 O Surg O Med O Pathol 240-5	1
104.	Fuss <i>et al.</i> , 2002 Int Endod J 522-6	1
105.	Pataky <i>et al.</i> , 2002 J Endod 603-5	1
106.	Kolgalg <i>et al.</i> , 2002 J Hosp Inf 106-13	1
107.	Zamany & Spangberg, 2002 O Surg O Med O Pathol 617-20	1
108.	Al-Nazhan, 2002 O Surg O Med O Pathol 593-5	1
109.	Coldero <i>et al.</i> , 2002 Int Endod J 437-46	1
110.	Siqueira Jr <i>et al.</i> , 2002 J Endod 181-4	1
111.	Almyroudi <i>et al.</i> , 2002 J Endod 163-7	1
112.	Shimizu <i>et al.</i> , 2002 Dermatology 021-7	1
113.	Sukawat & Srisuwan, 2002 J Endod	1
114.	Marais & Williams, 2001 Int Endod J 237-43	1
115.	Portenier <i>et al.</i> , 2001 Int Endod J 184-8	1

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>

(continuação)

Tabela 3 – Estudos excluídos com análise em evidência científica

	Estudos excluídos	Critério
116.	Estrela <i>et al.</i> , 2001 J Endod 720-3	1
117.	Leonardo <i>et al.</i> , 2001 J Endod 717-9	1
118.	Roach <i>et al.</i> , 2001 J Endod 657-60	1
119.	Lima <i>et al.</i> , 2001 J Endod 616-9	1
120.	Gomes <i>et al.</i> , 2001 Int Endod J 424-8	1
121.	Ferraz <i>et al.</i> , 2001 J Endod 452-5	1
122.	Buck <i>et al.</i> , 2001 J Endod 206-8	1
123.	Estrela <i>et al.</i> , 2001 Int Endod J 341-5	1
124.	Heling <i>et al.</i> , J Endod 278-80	1
125.	Spratt <i>et al.</i> , 2001 Int Endod J 300-7	1
126.	Messenger <i>et al.</i> , 2001 J Med Microb 284-92	1
127.	Dahlén <i>et al.</i> , 2000 Oral Microbial Immunol 309-12	3,4
128.	Lenet <i>et al.</i> , 2000 J Endod 657-5	1
129.	Peters <i>et al.</i> , 2000 Int Endod J 28-36	1
130.	Haapasalo <i>et al.</i> , 2000 Int Endod J 126-31	1
131.	Podbielski <i>et al.</i> , 2000 J Endod 398-403	1
132.	Siqueira Jr <i>et al.</i> , 2000 J Endod 331-4	1
133.	Komorowski <i>et al.</i> , 2000 J Endod 315-7	1
134.	Block <i>et al.</i> , 2000 J Hosp Inf 147-52	1
135.	Huang <i>et al.</i> , 2000 J Control Res 293-307	1
6.	Molander <i>et al.</i> , 1999 End Dent Traum 205-9	4
136.	Hannan <i>et al.</i> , 1999 Anaesthesia 868-72	3,4,5
137.	Pilloni <i>et al.</i> , 1999 J Per Res 473-7	1
138.	Shafer & Bossman, 1999 J Endod 547-51	1
139.	D'Arcangelo <i>et al.</i> , 1999 J Endod 351-3	1
140.	Estrela <i>et al.</i> , 1999 J Endod 416-8	1
141.	Kampf <i>et al.</i> , 1999 J Hosp Inf 143-50	1
142.	Ayhan <i>et al.</i> , 1999 Int Endod J 99-102	1
143.	Waltimo <i>et al.</i> , 1999 Int Endod J 94-8	1
144.	Steinberg <i>et al.</i> , 1999 J Oral Rehabil 151-6	8

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>

(continuação)

Tabela 3 – Estudos excluídos com análise em evidência científica

	Estudos excluídos	Critério
145.	Sobrinho <i>et al.</i> , 1998 J Endod 405-8	2
146.	Flanagan <i>et al.</i> , 1998 Det Mat 399-404	1
147.	Siqueira Jr <i>et al.</i> , 1998 J Endod 663-5	1
148.	Heling & Chandler, 1998 Int Endod J 008-14	1
149.	Hartke <i>et al.</i> , 1998 App Envir Microb 4238-45	1
150.	Siqueira Jr <i>et al.</i> , 1998 J Endod 414-6	1
151.	Siren <i>et al.</i> , 1997 Int Endod J 91-5	3,4
152.	Berutti <i>et al.</i> , 1997 J Endod 725-7	1
153.	Siqueira Jr <i>et al.</i> , 1997 Int Endod J 279-82	1
154.	Laplace <i>et al.</i> , 1997 Curr Microb 284-9	1
155.	Tanriverdi <i>et al.</i> , 1997 Braz Dent J 67-72	1
156.	Siqueira & Uzeda, 1996 J Endod 674-6	1
157.	Siqueira Jr <i>et al.</i> , 1996 J Endod 308-10	1
158.	Yanagiguchi <i>et al.</i> , 1995 J Endod 552-6	2
159.	Kearns <i>et al.</i> , 1995 J Hos Inf 193-9	1
160.	Goebel <i>et al.</i> , 1994 Am J Sports Med 387-91	2
161.	Owadally <i>et al.</i> , 1994 End Dent Traum 228-32	1
162.	Barbosa <i>et al.</i> , 1994 Int Endod J 006-10	1
163.	Vahdaty <i>et al.</i> , 1993 End Dent Traum 243-8	1
164.	Kjolen & Andersen, 1992 J Hosp Inf 61-71	3,4,5
165.	Jette & Lapierre, 1992 Infect Control Hosp Epidemiol 387-93	1
166.	Heling <i>et al.</i> , 1992 Int Endod J 024-4	1
167.	Heling <i>et al.</i> , 1992 Int Endod J 015-9	1
168.	Wang, 1992 Zho Kou Qiang Yi...012-5	6
7.	Gray <i>et al.</i> , 1991 Burns 37-40	3,4,5
169.	Snelling <i>et al.</i> , 1991 J Burn Care Rehab 013-8	3,4,5
170.	Wijnbergen & van Mullem, 1991 Int Endod J 243-8	1
171.	Baumgartner & Falkler 1991 J Endod 380-3	1
172.	Stikler & Hewett, 1991 Eur J Clin Microb Inf Dis 416-20	1
173.	Stikler & Hewett, 1991 Eur J Clin Microb Inf Dis 157-62	1

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>

(continuação)

Tabela 3 – Estudos excluídos com análise em evidência científica

	Estudos excluídos	Critério
174.	Ørstavik & Haapasalo, 1990 End Dent Traum 142-9	1
175.	Kirzioglu, 1990 Quintessence Int 649-53	1
176.	Harrison <i>et al.</i> , 1990 J Endod 328-30	1
177.	Maris, 1990 Ann Rech Vet 49-55	6
178.	Spijkervet <i>et al.</i> , 1989 O Surg O Med O Pathol 154-61	3,4,5
179.	van Mullen & Wijnbergen, 1989 Int Endod J 278-82	1
180.	Meurman <i>et al.</i> , 1989 Oral Microbial Immunol 117-9	1
181.	Moreno Silva <i>et al.</i> , 1989 Pract Odontol 13-20	6
182.	Snelling & Robert, 1988 J Burn Care Rehab 35-40	3,4,5
183.	Stickler <i>et al.</i> , 1987 Br J Urol 413-8	1
184.	Gorgul <i>et al.</i> , 1987 Mikrob Bul 289-95	6
185.	Haapasalo & Ørstavik, 1987 J Dent Res 1375-9	1
186.	Stickler <i>et al.</i> , 1987 J Hosp Inf 28-39	1
187.	Harper & Epis 1987 Microbios 107-12	6
188.	Reverdy <i>et al.</i> , 1986 Pathol Biol 688-93	7
189.	Smith & Wayman 1986 J Endod 54-8	1
190.	Barbeyrac <i>et al.</i> , 1985 Pathol Biol 635-8	3,4,5,6
191.	Walker & Lowes, 1985 J Hosp Inf 389-97	1
192.	Washington <i>et al.</i> , 1983 Surgery 576-81	3,4,5
193.	Steves & Grossman, 1983 J Endod 372-4	7
194.	Harper, 1983 Paraplegia 86-93	8
195.	Dahlén <i>et al.</i> , 1982 Scand J Dent Res 338-44	2
196.	Dahlén <i>et al.</i> , 1982 Scand J Dent Res 207-16	2
197.	Raphael <i>et al.</i> , 1981 J Endod 330-4	7
198.	Harrison & Hand, 1981 J Endod 128-32	7
199.	Parsons <i>et al.</i> , 1980 O Surg O Med O Pathol 455-9	1
200.	van Klingeren <i>et al.</i> , 1980 Zentralbl Bakteriologie 457-68	1
201.	Lan, 1978 Bull Tokyo Med Dent Univ 71-6	1
202.	Kin & Konno, 1978 Kansens Zasshi 010-5	7
203.	Russel & Furr, 1977 J Appl Bact 253-60	7

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>

(continuação)

Tabela 3 – Estudos excluídos com análise em evidência científica

	Estudos excluídos	Critério
204.	Kaufman & Henig, 1976 O Surg O Med O Pathol 810-6	10
205.	Willians <i>et al.</i> , 1976 Infection 031-4	1
206.	Skoluda <i>et al.</i> , 1976 Urologe A 33-8	1
207.	The, 1975 J Endod 300-2	1
208.	Majare, 1975 Odont Revy 193-204	1
209.	Raahave, 1974 Act Chir Scand 595-601	7
210.	Korner <i>et al.</i> , 1973 Act Chir Scand Sup 595-601	7
211.	Hesselgrem <i>et al.</i> , 1972 Sven Tand Tidskr 155-60	7
212.	Hesselgrem <i>et al.</i> , 1971 Sven Tand Tidskr 801-6	7
213.	Black <i>et al.</i> , 1970 Am J Public Health Nat Health 740-50	7
214.	Harold <i>et al.</i> , 1969 Biochim Bio Act 129-36	7
215.	Koski <i>et al.</i> , 1967 Appl Microbiol 1291-5	7
216.	Koski <i>et al.</i> , 1966 Appl Microbiol 276-9	7
217.	Engstrom & Frostell, 1964 Acta Odontol Scand 43-69	7

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>

RESULTADOS

Os estudos incluídos que possibilitaram a análise da eficácia do hipoclorito de sódio e da clorexidina sobre o *E. faecalis* em infecções endodônticas estão descritos na **Tabela 4**. Alguns fatores expressivos foram considerados, como: o modelo de estudo e o tamanho da amostra, o número de canais radiculares por dente envolvidos na pesquisa, o tipo de infecção estudada, o tempo decorrido do tratamento endodôntico prévio até o início do estudo, o método de identificação das bactérias, a presença do *E. faecalis* nas amostras iniciais, as substâncias irrigadoras utilizadas durante o preparo do canal radicular e a presença do *E. faecalis* na coleta posterior a instrumentação/irrigação do canal radicular.

A busca pelo PubMed apresentou 229 artigos relacionados, sendo que destes 6 artigos eram de revisão de literatura, 39 artigos relacionavam-se com estudos *in vivo* (humanos ou animais), e 189 incluíam estudos *in vitro*. Cinco (05) trabalhos apresentaram uma fase experimental *in vivo* e outra *in vitro* no mesmo artigo. Dos 39 estudos *in vivo* 5 satisfizeram os critérios de inclusão. Nestes estudos analisaram-se 159 dentes com infecções endodônticas primárias ou secundárias. Destas amostras foi detectado o *E. faecalis* no início do tratamento em 16 dentes por PCR e 42 por cultura; e após o preparo dos canais radiculares e emprego do hipoclorito de sódio de 0,5% a 2,5% em 11 por PCR e 12 por cultura

A **Tabela 5** (Anexo 1) apresenta a distribuição de artigos científicos publicados em revistas de impacto em endodontia, analisados de acordo com o modelo biológico e a substância irrigadora utilizada (1966/2007). A **Tabela 6** (Anexo 2) evidencia a distribuição de artigos científicos publicados em revistas de impacto em endodontia, analisados de acordo com o delineamento experimental *in vitro* (1966/2007). A **Figura 1** exemplifica o delineamento do processo de distribuição dos artigos para a revisão sistemática de acordo com a metodologia e a solução irrigadora empregada.

A pesquisa no banco de revisões sistemáticas do Cochrane, não foi apresentou nenhum cadastro de investigação relacionada a eficácia de soluções irrigadoras sobre a microbiota endodôntica.

Tabela 4 – Estudos incluídos que permitiram a análise da eficácia do hipoclorito de sódio e da clorexidina sobre o *E. faecalis*

Referência	N	TE i	Dentes	Infecção	N (<i>E. faecalis</i> inicial)		Agentes Irrigantes	N (<i>E. faecalis</i> pós-preparo)	
					PCR	Cultura		PCR	Cultura
Willian <i>et. al.</i> (2006)	29	>5 anos	Uni e Birradicular	1 ^a (15)	2	1	NaOCl 1%	3	0
				2 ^a (14)	6	2		8	1
Zerella <i>et. al.</i> (2005)	40	n.i.	Unirradicular	2 ^a	8	-	NaOCl 1%	n.i.	0
Ferrari <i>et. al.</i> (2005)	25	-	Unirradicular	1 ^a	n.i.	4	NaOCl 0,5% + Endo PTC	n.i.	0 (imediato) 11 (após 7 dias)
Peculiene <i>et. al.</i> (2001)	40	5-10 anos	-	2 ^a	n.i.	21	NaOCl 2,5%	n.i.	6
Peculiene <i>et. al.</i> (2000)	25	n.i.	Unirradicular	2 ^a	n.i.	14	NaOCl 2,5%	n.i.	5
Total	159	-	-	-	16	42	-	11	12

Legenda:

N = número de amostras

NaOCl = hipoclorito de sódio

TEi = Tempo decorrido do tratamento endodôntico inicial

n.i. = Não identificado

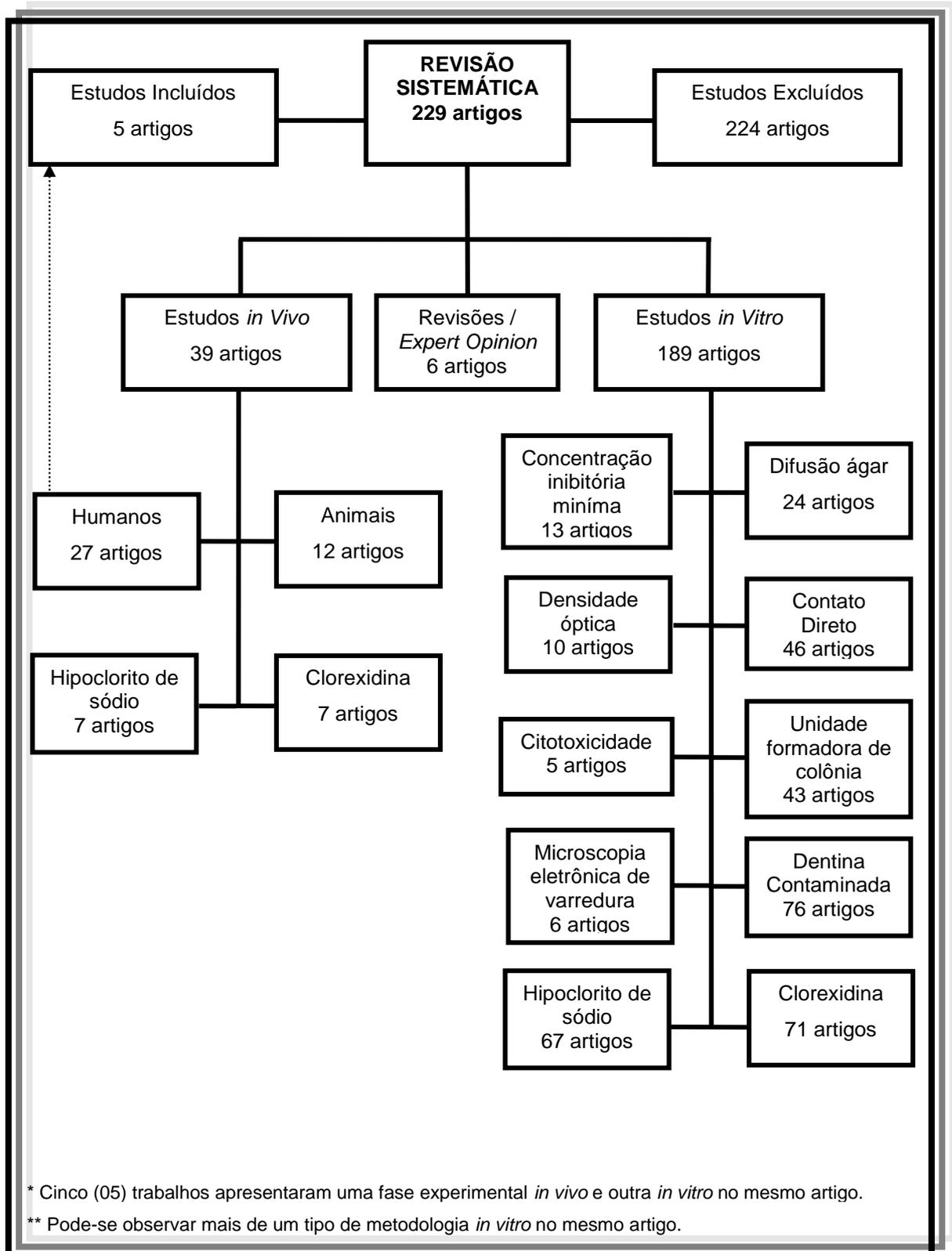


Figura 1 - Delineamento do processo de distribuição dos artigos para a revisão sistemática de acordo com a metodologia e a solução irrigadora empregada.

D
I
S
C
U
S
S
Ã
O

O papel das soluções irrigantes no contexto endodôntico contemporâneo cada vez mais tem sido privilegiado, constituindo-se destaque no cenário de discussões nos mais expressivos encontros científicos.

O processo de sanificação do sistema de canais radiculares infectados, o qual inclui o esvaziamento e o alargamento da luz do canal radicular, interposto pela atividade de agentes irrigantes e de medicamentos intra-sessões, representa um privilegiado recurso no controle microbiano. As soluções irrigadoras têm sido aplicadas durante o preparo do canal radicular com funções específicas, entre as quais destacam-se: facilitar a ação do instrumento endodôntico, manter a cadeia asséptica nos casos de pulpectomia, auxiliar no controle das infecções endodônticas, prevenir o possível escurecimento da estrutura coronária, remover restos orgânicos (pulpaes) e inorgânicos (detritos e raspas dentinárias); liberar e/ou solubilizar restos de matéria orgânica; permitir uma ação mais rápida e intensa do agente irrigante com a microbiota endodôntica; apresentar tolerância frente os tecidos periapicais (Pécora & Estrela, 2004).

Com o intuito de se alcançar as funções anteriormente descritas, várias soluções irrigantes auxiliares no preparo do canal radicular têm sido propostas e muito estudadas, entre as quais incluem: hipoclorito de sódio, clorexidina, detergentes, ácido etileno diaminotetraacético (EDTA), MTAD, vinagre de maçã (Substância ESP), além de várias associações (Baumgartner & Cuenin, 1992; Pécora *et al.*, 1993; Siqueira *et al.*, 1998; Molander *et al.*, 1999; Ayhan *et al.*, 1999; Buck *et al.*, 1999; Silva, 1999; Peciulienė *et al.*, 2000; Gomes *et al.*, 2001; Spratt *et al.*, 2001; Yamashita *et al.*, 2003; Torabinejad *et al.*, 2003; Estrela *et al.*, 2004b; Zehnder, 2006; Williams *et al.*, 2006, Estrela *et al.*, 2007c).

Sabe-se que o emprego de uma solução irrigante auxiliar da instrumentação é essencial. Todavia, alguns aspectos merecem maiores discussões, pois, mantem-se vivos e apóiam-se unicamente em estimativas ou hipóteses.

Uma adequada sinalização para as indicações de uma solução irrigante leva em consideração algumas características, como a atividade antimicrobiana, a tolerância tecidual e a capacidade de limpeza.

Vários trabalhos discutem dois expressivos agentes irrigadores, que detêm características interessantes, particularmente quanto ao controle microbiano do sistema de canais radiculares infectados – o hipoclorito de sódio e a clorexidina (Byström & Sundqvist, 1981, 1983; Baumgartner & Cuenin, 1992; Pécora *et al.*, 1993; Siqueira *et al.*, 1998; Molander *et al.*, 1999; Ayhan *et al.*, 1999; Silva, 1999; Peciulienė *et al.* 2000; Gomes *et al.*, 2001; Spratt *et al.*, 2001; Yamashita *et al.*, 2003; Torabinejad *et al.*, 2003; Zehnder, 2006; Williams *et al.*, 2006, Estrela *et al.*, 2007b).

Estudos com base em evidência científica têm sido muito enfatizados na odontologia, sendo que a comprovação de resultados e o rigor metodológico servem como base de exclusão nas investigações sistemáticas (Law & Messer, 2004; Kojima *et al.*, 2004; Sathorn *et al.*, 2007; Estrela *et al.*; 2007a).

A estratégia adotada para o desenvolvimento deste estudo levou em consideração o conhecimento de protocolos de estudos clínicos baseados em evidências previamente publicados, bem como os níveis de evidências, os aspectos favoráveis e as limitações de revisões sistemáticas e meta-análises (Greenhalgh, 2001; Glasziou, 2001; Siwek *et al.*, 2002; McIntosh *et al.*, 2004; Giannotti, 2004; Lyman & Kuderer, 2005; Law & Messer, 2004; Kojima *et al.*, 2004; Sathorn *et al.*, 2007; Estrela *et al.*; 2007a). A execução de uma revisão sistemática obedece alguns passos apresentados no **Quadro 1** (Anexo 3), os quais envolvem: 1) formulação da pergunta; 2) localização e seleção dos estudos; 3) avaliação crítica dos estudos; 4) coleta de dados; 5) análise e apresentação dos dados; 6) interpretação dos dados; 7) aprimoramento e atualização da revisão (<http://www.cochrane.org>).

É essencial destacar que a revisão sistemática parte de uma questão clínica que direciona para uma solução aceitável e sedimentada. Observa-se que várias decisões clínicas têm sido embasadas em dados pouco aceitáveis e desprovidos de conclusões convincentes sob o enfoque clínico. Vários estudos têm mostrado conclusões concordantes e discordantes, o que vem sendo

questionado. O caminho mais coerente direciona-se a pesquisa com evidência, particularmente frente à extraordinária quantidade de informações (**Tabelas 7 e 8 - Anexos 4 e 5**) (Estrela *et al.*, 2007a).

Um cuidado a ser tomado diante de condutas clínicas, relaciona-se com a extrapolação de resultados obtidos em diferentes tipos de estudo, o que muitas vezes não são conclusivos e não permitem uma decisão clínica para protocolos terapêuticos em humanos (Estrela *et al.*, 2005c).

A resposta a esta questão clínica em pauta que afirme ou não a eficácia do hipoclorito de sódio ou da clorexidina sobre o *E. faecalis* implica vários aspectos de reflexão, que dentro da limitação do método, os estudos longitudinais analisados parecem direcionar.

A literatura apresenta muitos trabalhos desenvolvidos *in vitro* ou em animais. Certamente, evidencia-se uma desproporcionalidade entre os estudos em humanos e em *in vitro*, em detrimento das especificidades de cada um. É natural à nova visão e rotina científica verificar a validade de estudos que buscam subsidiar uma discussão científica, que muitas vezes necessita ser resguardada por embasamento com evidência.

A busca apresentou 229 artigos relacionados ao estudo, sendo que destes, 39 artigos relacionavam-se com estudos *in vivo* (humanos ou animais) e 189 envolviam estudos *in vitro* (24 experimentos com teste de difusão em ágar, 46 artigos com teste por contato direto, 43 artigos empregando unidade formadora de colônias, 76 artigos em dentina contaminada, 13 valeram-se de concentração inibitória mínima, 10 artigos com espectrofotometria, 5 artigos com citotoxicidade, e 6 artigos envolvendo microscopia eletrônica de varredura. Foram encontrados também 6 artigos de revisão de literatura. Dos 39 estudos *in vivo*, 5 estudos satisfizeram os critérios de inclusão, o que permitiu uma análise dos dados (**Figura 1**).

Peciulien *et al.* (2000) analisaram a presença de *E. faecalis* em 25 dentes com infecções secundárias. Anterior ao preparo dos canais radiculares, em 20 dentes observaram cultura positiva para microrganismos; em 14 dentes detectaram-se o *E. faecalis*, dos quais 5 eram monoculturas. Após preparo dos canais radiculares, em 7 dentes identificaram cultura positiva para

microrganismos; em 5 destes dentes detectaram-se o *E. faecalis*, sendo que, todos eram monoculturas. Destes 5 casos, 4 apresentaram-se como monocultura na coleta inicial. Verificou-se assim, que mesmo o preparo químico-mecânico tendo sido realizado com hipoclorito de sódio a 2,5% e EDTA, bactérias residuais (especialmente o *E. faecalis*) foram encontradas após a instrumentação. Peciulien *et al.* (2001) avaliaram a ocorrência de leveduras, bactérias entéricas e espécies de *Enterococcus* em canais radiculares com periodontites apicais durante o retratamento de 40 dentes. A presença de microrganismos foi detectada em 33. A única espécie de *Enterococcus* isolada no estudo foi o *E. faecalis*, sendo isolada em 21 dentes (64% da amostra) (19 apresentaram-se como microrganismos dominantes, 11 espécies como monoculturas). Posterior ao preparo do canal radicular, auxiliado com hipoclorito de sódio a 2,5% e EDTA, houve uma redução para 6 bactérias (5 monoculturas). Considerando o total de unidades formadoras de colônias, as amostras detectadas após o preparo do canal radicular apresentaram valor inferior a 1% do número de colônias detectadas inicialmente. Ferrari *et al.* (2005) detectaram bactérias entéricas (*Enterococcus*) e leveduras em canais radiculares com infecção endodôntica primária antes e após o preparo do canal radicular, valendo-se do hipoclorito de sódio e creme Endo-PTC e EDTA, como agentes irrigantes. Na coleta realizada após abertura coronária, microrganismos foram isolados em 23 de 25 dentes (92%), sendo que, em 5 dentes observaram-se pelo menos um dos microrganismos alvo; em 3 dentes detectaram-se *Enterococcus*. Na coleta realizada após o preparo, microrganismos foram isolados em 5 dentes, sendo que nenhum estava infectado por um dos microrganismos alvo. Na coleta realizada após 7 dias sem medicação intracanal, microrganismos foram isolados em 25 dentes (em 12 canais radiculares identificaram-se apenas *Enterococcus*, sendo que em 9 canais eram monoculturas). Na coleta realizada após 7 dias com medicação intracanal (solução PRP – medicação intracanal contendo paramonoclorofenol) em 9 canais radiculares ainda havia presença de microrganismos, sendo 3 canais com *Enterococcus*. Zerella *et al.* (2005) compararam o efeito da mistura de solução de clorexidina a 2% e hidróxido de cálcio pró-análise com a pasta

aquosa de hidróxido de cálcio na desinfecção do canal radicular em casos de insucesso endodôntico. A obturação foi removida, os canais radiculares foram limpados e modelados com abundante irrigação com hipoclorito de sódio 1%, preenchidos com os materiais testes, selados coronariamente e mantidos por 7 a 10 dias. Os canais radiculares foram obturados com guta-percha e cimento AH26 usando condensação lateral. Todos os 40 dentes apresentaram microrganismos cultiváveis na coleta inicial, dos quais, 4 de cada grupo apresentaram *E. faecalis* identificados por PCR. Após o preparo dos canais radiculares, o grupo da pasta de hidróxido de cálcio e clorexidina a 2% apresentou 2 amostras positivas pelo teste de cultura, das quais nenhuma foi positiva para *E. faecalis* inicialmente. No grupo da pasta aquosa de hidróxido de cálcio, 7 amostras foram positivas, valendo-se de cultura, sendo que nenhuma apresentou-se positiva para o *E. faecalis* inicialmente. Williams *et al.* (2006) compararam o *real-time quantitative DNA-base PCR* (qPCR) com cultura para detecção e quantificação do *E. faecalis* em 29 pacientes com infecções primárias (15 dentes) e refratárias (14 dentes). Nas amostras iniciais de infecções primárias, verificou-se que de 15 dentes em apenas 1 houve identificação de *E. faecalis* por cultura e 2 por qPCR; nas infecções refratárias de 14 dentes houve detecção em 2 dentes por cultura e em 6 por qPCR. Após o preparo dos canais radiculares auxiliado por irrigação com hipoclorito de sódio a 1%, nas infecções primárias não foi verificado *E. faecalis* em nenhuma amostra por cultura, porém, detectou-se esta bactéria em 3 dentes por qPCR; nas infecções refratárias, observou-se o *E. faecalis* em 1 dente por cultura e em 8 dentes por qPCR.

Nos 5 estudos que satisfizeram os critérios de inclusão - Peciulienė *et al.* (2000), Peciulienė *et al.* (2001), Ferrari *et al.* (2005), Zerella *et al.* (2005), Williams *et al.* (2006), - foram analisados 159 dentes com infecções endodônticas primárias e secundárias. No início do tratamento endodôntico foi identificado o *E. faecalis* em 16 destes dentes pelo método de PCR e em 42 dentes por cultura de bactérias. Após o preparo do canal radicular e ação do hipoclorito de sódio de 0,5% a 2,5% ainda foi possível identificar o *E. faecalis* por PCR em 11 dentes e por cultura em 12 dentes. Ferrari *et al.* (2005)

verificaram que imediatamente após o preparo do canal radicular com hipoclorito de sódio a 0,5%, nenhuma amostra de *E. faecalis* foi identificada. Entretanto, após a manutenção do canal vazio e selado por 7 dias, detectou-se um aumento considerável de *E. faecalis*, presente em 10 dos 25 dentes avaliados.

Frente à análise dos estudos incluídos, podem-se observar várias discrepâncias metodológicas entre os estudos (Peciulienė *et al.*, 2000; Peciulienė *et al.*, 2001; Ferrari *et al.*, 2005; Zerella *et al.*, 2005; Willians *et al.*, 2006). Dentre os dados que envolveram os métodos, especialmente quanto à sua descrição, dados importantes e que ficaram ocultos incluem: o volume do agente irrigante utilizado a cada troca de lima, a profundidade da penetração da cânula de irrigação, os calibres das cânulas de irrigação, o controle de qualidade da solução irrigadora bem como a variação em sua concentração (em função da estabilidade, armazenamento, pH), o emprego do EDTA ao final da irrigação (o tempo de aplicação do EDTA), o tempo gasto durante o preparo do canal radicular, o tipo de técnica de instrumentação utilizada, o limite de dilatação após o esvaziamento, critérios para a detecção da lesão periapical, etc. (**Tabela 4**). Além disso, os trabalhos incluídos não apresentaram um padrão homogêneo quanto ao método de identificação bacteriana e a seleção das amostras (tipo e número de dentes incluídos nos experimentos).

Todos os fatores anteriormente descritos sinalizam a heterogeneidade dos protocolos clínicos, os quais, certamente tornam-se implicações limitantes ao modelo de estudo adotado.

Desta maneira, as variações entre as metodologias empregadas, a seleção de estudos, os vícios de publicações, acesso a todas às informações dos experimentos publicados e a própria natureza dos ensaios, indicaram implicações críticas e de complexa resolução do método de trabalho. O enorme número de publicações pode mostrar um perfil de estudos com conclusões contraditórias (Estrela *et al.*, 2007a). Por conseguinte, o modelo de investigação utilizado não possibilitou a combinação dos resultados, o que se tornou crítica uma correlação, particularmente, em detrimento da variabilidade dos modelos de ensaios empregados, o que caracterizou uma heterogeneidade

dos protocolos clínicos adotados. Este fato foi uma das limitações para a execução da meta-análise.

Por conseguinte, ao se estabelecer uma tomada de decisão no âmbito clínico, levando-se em consideração os cuidados que envolvem a utilização de uma odontologia baseada em evidência científica, destaca-se um problema clínico interligado a muitas discussões – qual a eficácia do hipoclorito de sódio ou clorexidina sobre o *E. faecalis* presente nas infecções endodônticas?

A resposta a este questionamento exige a prévia discussão do mecanismo de ação antimicrobiano do hipoclorito de sódio previamente à análise de sua eficácia antimicrobiana. Uma vez que, dentre os estudos incluídos, o hipoclorito de sódio foi a solução irrigante mais empregada em todos estes experimentos.

O mecanismo de ação antimicrobiano do hipoclorito de sódio foi discutido por Estrela *et al.* (2002a), baseando-se em suas propriedades. Entre as reações químicas que se desenvolvem entre o tecido orgânico e o hipoclorito de sódio, verifica-se a reação de saponificação, reação de neutralização de aminoácidos e reação de cloraminação. O hipoclorito de sódio também expressa sua efetividade antimicrobiana a partir do alto pH da solução (ação de íons hidroxila). O alto pH do hipoclorito de sódio interfere na integridade da membrana citoplasmática, alterações biossintéticas no metabolismo celular e degradação fosfolipídica observada com a peroxidação lipídica. A dissolução de tecidos orgânicos pode ser verificada na reação de saponificação quando o hipoclorito de sódio degrada ácidos graxos e lipídios resultando em sabão e glicerol. Observa-se que o hipoclorito de sódio atua como solvente de matéria orgânica e de gordura, transformando esses ácidos graxos (óleos e gorduras) em sais de ácidos graxos (sabão) e glicerol (álcool), o que reduz a tensão superficial da solução remanescente (explicada na reação de Saponificação). O hipoclorito de sódio (hidróxido de sódio) neutraliza aminoácidos formando água e sal (interpretada na Reação de Neutralização de Aminoácidos) e degrada ácidos graxos. Com a saída dos íons hidroxila ocorre a redução do pH da solução remanescente. O ácido hipocloroso, quando em

contato com a matéria orgânica age como solvente, libera cloro nascente que em contato com proteínas do grupo amina forma as cloraminas (Reação de Cloraminação). O ácido hipocloroso (HOCl) e os íons hipoclorito (OCl^-) tem a capacidade de hidrolisar e degradar aminoácidos. A reação de cloraminação entre o cloro e o grupamento amina (NH_2) dos aminoácidos, com a formação de cloraminas interfere no metabolismo celular. O cloro (oxidante forte) apresenta ação antimicrobiana através da inibição enzimática bacteriana, a partir de uma oxidação irreversível dos grupos SH (grupo sulfidríla) de enzimas bacterianas essenciais.

Particularmente, o hipoclorito de sódio constitui uma base forte (pH > 11). Na concentração de 1% apresenta tensão superficial igual a 75 dinas/cm, viscosidade igual a 0,986 cP, condutividade de 65,5 mS, densidade de 1,04 g/cm^3 e a capacidade umectante igual a 1 hora e 27 minutos (Pécora & Estrela, 2004).

A atividade dos íons hidroxila, nas reações químicas descritas (Reação de Saponificação, Neutralização de Aminoácidos e de Cloraminação) valoriza a influência do hipoclorito de sódio sobre as enzimas presentes nas membranas citoplasmáticas bacterianas e sua especificidade antimicrobiana. Estas reações são similares às que ocorrem com o hidróxido de cálcio (Estrela *et al.*, 1994, 2002a). Em síntese, o elevado pH do hipoclorito de sódio interfere na integridade da membrana citoplasmática, promove alterações biossintéticas com inibição enzimática irreversível (ação oxidante). Com a formação de cloraminas ocorre interferência no metabolismo celular, com oxidação irreversível do grupo sulfidríla (SH) de enzimas bacterianas (cisteína). A dissolução de tecidos orgânicos pode ser verificada na reação de saponificação quando o hipoclorito de sódio degrada ácidos graxos e lipídios resultando em sabão e glicerol (Estrela *et al.*, 2002a).

À sua vez, a clorexidina é um agente catiônico (grupo biguanida; 4-clorofenil radical), o qual exibe atividade antibacteriana. A natureza catiônica do composto promove conexão com o grupo aniônico do composto na superfície bacteriana (grupos fosfatos), sendo capaz de alterar sua integridade (Rolla &

Melsen, 1975; Jenkins *et al.*, 1981; Hugo & Russel, 1992; Denton, 1991; Jeansonne *et al.*, 1994; Estrela C *et al.* 2003).

O *E. faecalis* constitui uma bactéria Gram-positiva, facultativa, resistente em determinados tratamentos endodônticos. Entre os fatores de virulência incluem substância de agregação, agentes de adesão superficial, produção de superóxido extracelular, gelatinase e citolisina tóxica. Além destes aspectos que destacam esta bactéria como importante às infecções endodônticas, ela é capaz de sobreviver em condições adversas, como em ambiente de elevado pH (Evans *et al.*, 2003, Chávez de Paz *et al.*, 2007).

Love (2001) estudou um provável mecanismo que busca explicar como o *E. faecalis* pode sobreviver e se multiplicar dentro dos túbulos dentinários e reinfetar um canal radicular obturado. Células de *S. gordonii*, *S. mutans* e *E. faecalis* foram cultivadas por 56 dias contendo vários valores de soro humano. Os resultados mostraram que todas as três espécies se mantiveram viáveis além do período dos experimentos quando cultivadas em soro humano. Células de todas as três bactérias foram capazes de invadir a dentina e se unir para imobilizar o colágeno. O soro humano inibiu a invasão dentinária e a adesão do colágeno pelo *S. gordonii* e *S. mutans*, enquanto a invasão dentinária por *E. faecalis* foi reduzida na presença de soro, mas não inibida, e a união ao colágeno foi intensificada. O fator de virulência do *E. faecalis* no fracasso de dentes tratados endodonticamente pode estar relacionado à habilidade das células do *E. faecalis* manterem a capacidade para invadir os túbulos dentinários e aderir ao colágeno na presença de soro humano.

Considerando a busca de evidências que determine a eficácia do hipoclorito de sódio e da clorexidina sobre o *E. faecalis*, alguns fatores merecem ser melhor discutidos. Embora, considere-se que esta bactéria esteja presente tanto em infecções primárias como secundárias (Willians *et al.*, 2006), alguns estudos têm mostrado sua maior prevalência em infecções secundárias (Sundqvist *et al.*, 1998; Portenier *et al.*, 2003; Haapasalo *et al.*, 2003).

O modelo experimental utilizado em vários estudos aponta resultados distintos ao comparar a efetividade do hipoclorito de sódio ou da clorexidina

sobre o *E. faecalis* presente nas infecções endodônticas. Assim, ao considerar estudos *in vitro*, com as substâncias antimicrobianas analisadas (hipoclorito de sódio e clorexidina) e o *E. faecalis*, valendo-se de experimentos com teste por contato direto ou por meio de difusão em ágar, em poucos minutos as duas substâncias mostraram-se capazes de inativar esta bactéria (Spratt *et al.*, 2001; Estrela *et al.*, 2002a,b, 2003, 2004a; Abdullah *et al.*, 2005); em estudos *in vitro* em dentina contaminada, as duas mostraram-se ineficazes sobre esta bactéria (Buck *et al.*, 2001; Haenni *et al.*, 2003; Vivacqua-Gomes *et al.*, 2005; Estrela *et al.*, 2007b); e nos estudos em humanos que atenderam os critérios de inclusão (Peciulienė *et al.*, 2000; Peciulienė *et al.*, 2001; Ferrari *et al.*, 2005; Zerella *et al.*, 2005; Willians *et al.*, 2006) pode verificar apenas uma redução desta bactéria nas coletas após o processo de sanificação quando da utilização do hipoclorito de sódio.

Uma vez constatada a infecção endodôntica em nível dos túbulos dentinários, observa-se que tanto o hipoclorito de sódio como a clorexidina, necessita de atuação em profundidade no interior dos túbulos, o que não têm sido observado (Byström & Sundqvist, 1985; Peciulienė *et al.*, 2000; Peciulienė *et al.*, 2001; Ferrari *et al.*, 2005; Zerella *et al.*, 2005; Willians *et al.*, 2006; Estrela *et al.*, 2007b). Observa-se que frente às propriedades físico-químicas, ambas as substâncias não apresentaram baixa tensão superficial, o que certamente dificulta a atuação no interior dos túbulos dentinários. O pH e a tensão superficial do *hipoclorito de sódio* e da clorexidina, analisados em recente estudo, indicaram valores de pH 2,6 e 75,00 dinas/cm e pH 5,9 e 58,00 dinas/cm, respectivamente (Estrela *et al.*, 2005a).

Estudos desenvolvidos *in vivo* verificaram a relevância destas soluções irrigantes como potentes agentes antimicrobianos auxiliares durante o preparo de canais radiculares infectados, os quais favorecem a redução da população microbiana (Silva, 1999; Hauman & Love, 2003; Zamaný *et al.*, 2003; Estrela *et al.*, 2004b; Ercan *et al.*, 2004; Zehnder *et al.*, 2006; Vianna *et al.*, 2006, Manzur *et al.*, 2007). Neste sentido, Byström & Sundqvist (1985) analisaram a eficácia antimicrobiana do hipoclorito de sódio a 0,5% e a 5% e do hipoclorito de sódio a 5% associado ao EDTA em 60 dentes humanos com necrose pulpar. O

hipoclorito de sódio associado ao EDTA apresentou os melhores resultados, uma vez que ocorreu a remoção da magma dentinário das paredes do canal radicular, o que promoveu ação mais efetiva do hipoclorito de sódio a 5%. Quanto ao emprego isolado do hipoclorito de sódio a 0,5% e 5%, não foi possível observar nenhuma diferença clínica significativa. Silva (1999) estudou em 20 dentes humanos com lesões periapicais a efetividade do hipoclorito de sódio a 1% e da clorexidina a 2%. Quando o hipoclorito de sódio a 1% foi usado como solução irrigadora durante o preparo do canal radicular, 16,7% e 83,3% evidenciaram resultados positivos no teste microbiológico, imediatamente e decorridos 7 dias do tratamento. A irrigação com clorexidina a 2% garantiu 8,3% e 41,7% de resultados positivos para coleta imediata e após 7 dias do preparo do canal, respectivamente. Concluiu-se que o hipoclorito de sódio 1% mostrou ser tão eficaz quanto a clorexidina 2%, quando avaliado o aspecto antimicrobiano imediatamente após e ao final de 7 dias do preparo do canal. Estrela *et al.* (2004b) investigaram a influência do hipoclorito de sódio a 2,5%, solução de clorexidina a 2% e o vinagre de maçã, usados como soluções irrigadoras, no potencial antimicrobiano da pasta de hidróxido de cálcio em dentes de cães com periodontite apical. Indiferente às soluções irrigantes e à medicação intracanal observou-se que após 21 dias, todos os grupos experimentais apresentaram crescimento microbiano, em diferentes porcentagens, respectivamente: grupo 1 – 30%, grupo 2 – 30%, grupo 3 – 40%, e grupo 4 – 60%. Vianna *et al.* (2006) determinaram o grau de redução microbiana após o preparo químico-mecânico de canais radiculares humanos com tecido pulpar necrosado, com o emprego do hipoclorito de sódio 2,5% ou da clorexidina 2% gel. Apesar de ambas substâncias obterem sucesso na redução do número de microrganismos na maioria dos casos (96%), o hipoclorito de sódio 2,5% foi superior tanto nos testes pela Técnica de cultura 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.

Estudos *in vitro* mostraram para contemplar a efetividade antimicrobiana e de dissolução tecidual que o hipoclorito de sódio apresenta performance superior à clorexidina (Buck *et al.*, 2000; Spratt *et al.*, 2001; Abdullah *et al.*, 2005; Estrela *et al.*, 2005b, 2006, 2007a, b)

A seleção de um agente irrigante deve vincular-se a outras propriedades que contribuem ou influenciam no processo de sanificação. Neste sentido, Buck *et al.* (2000) avaliaram a detoxificação da endotoxina por 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 lipídio A. O hidróxido de cálcio tem a vantagem de ser usado no tratamento por vários dias.

De outra parte, outra característica importante de um agente irrigante, sob concentração adequada e condições clínicas envolve a capacidade de dissolução tecidual. O hipoclorido de sódio tem mostrado adequada capacidade de dissolução tecidual, o que favorece o processo de sanificação, enquanto a clorexidina não expressa esta característica (Okino *et al.*, 2004; Estrela *et al.*, 2006). Vários aspectos podem definir divergências de resultados entre os estudos, conforme anteriormente discutido. Outrossim, alguns fatores tornam-se essenciais para se lograr o melhor êxito de um agente irrigante, entre os quais incluem: o volume, a frequência e o alcance do irrigante em todo sistema de canais radiculares; a procedência do irrigante e o tempo de ação em detrimento do tempo gasto durante a instrumentação (Pécora & Estrela, 2004).

Considerando o modelo de estudo em pauta, vários cuidados merecem ser adotados durante a execução deste tipo de estudo. Deve-se entender que a revisão sistemática com meta-análise direciona as tomadas de decisões clínicas. Dentre os cuidados que merecem ser adotados destacam-se: a relevância do problema, .os critérios adotados na busca dos artigos,

seleção dos critérios de inclusão e exclusão, vieses de publicação, hierarquia dos estudos e critérios de análise. Estes aspectos tanto valorizam a revisão sistemática como demonstra limitações. Glenny *et al.* (2003) analisaram a qualidade das revisões sistemáticas publicadas dentro da odontologia. Neste sentido, foram identificadas 65 revisões sistemáticas. Destes pode-se verificar que apenas 19% mostraram cuidados adequados ao identificar todos os trabalhos relevantes. Outros fatores que necessitam melhoras envolvem: separação e análise dos estudos primários, a agregação dos dados e a análise da heterogeneidade, além da interpretação dos achados. Certamente que este estudo realça que a qualidade das revisões sistemáticas publicadas em Odontologia deve ser melhorada. Quando decisões clínicas futuras envolverem revisões sistemáticas torna-se essencial que estes estudos tenham relevância clínica, focados em questões importantes e desenvolvam uma metodologia transparente, bem delineada e reproduzível.

A endodontia contemporânea tem resistido às tentações momentâneas e comerciais, e vem se alicerçando em bases científicas seguras a partir das evidências científicas. O extermínio da população microbiana em infecções endodônticas ainda não foi evidenciado cientificamente. Porém, considera-se que o tratamento de dentes com infecções endodônticas apresenta um prognóstico favorável ao considerar a apreciável redução da microbiota endodôntica a partir do processo de sanificação (ação mecânica, de irrigantes e medicação intracanal) em conjunto com a elevada estimativa de êxito decorrente do sucesso clínico.

Certamente a ciência não pode ficar estagnada, o processo é dinâmico e crescente. Por conseguinte, urge novos estudos que sedimentem as implicações dos resultados alcançados neste momento.

O
A
S
U
L
C
N
O
C

A partir dos estudos longitudinais que satisfizeram os critérios de inclusão sobre a eficácia do hipoclorito de sódio e da clorexidina sobre o *E. faecalis*, pode-se concluir que:.

1 – Não houve homogeneidade dos protocolos clínicos empregados nos estudos incluídos, o que inviabilizou uma meta-análise.

2 – Há ausência de estudos longitudinais, em pacientes com infecção endodôntica, avaliando a eficácia da clorexidina sobre o *E. faecalis* .

3 – Nos estudos incluídos, o emprego do hipoclorito de sódio de 0,5% a 2,5% associado ao preparo dos canais radiculares reduziu o *E. faecalis* nos canais radiculares. O que certamente potencializa a ação da medicação intracanal e favorece um maior nível de sucesso do tratamento endodôntico

B
I
B
L
I
O
G
R
Á
F
I
C
A
S

R
E
F
E
R
Ê
N
C
I
A
S

1. Aarestrup FM, Hasman H. Susceptibility of different bacterial species isolated from food animals to copper sulphate, zinc chloride and antimicrobial substances used for disinfection. **Vet Microbiol.** 2004;100(1-2):83-9.
2. Abdullah M, Ng Y-L, Gulabilavala K, Moles DR, Spratt DA. Susceptibilities of Two Enterococcus faecalis Phenotypes to Root Canal Medications. **J Endod.** 2005;31:30-36.
3. Abou-Rass M, Oglesby SW. The effects of temperature, concentration, and tissue type on ability of sodium hypochlorite. **J Endod.** 1981;7:376-377.
4. Almas K, Skaug N, Ahmad I. An in vitro antimicrobial comparison of miswak extract with commercially available non-alcohol mouthrinses. **Int J Dent Hyg.** 2005;3(1):18-24.
5. Almyroudi A, Mackenzie D, McHugh S, Saunders WP. The effectiveness of various disinfectants used as endodontic intracanal medications: an in vitro study. **J Endod.** 2002;28(3):163-7.
6. Al-Nazhan S. Antimicrobial activity of extracts of calcium hydroxide points. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2002;93(5):593-5.
7. Andersen M, Andreasen JO, Andreasen FM. In vitro solubility of human pulp tissue in calcium hydroxide and sodium hypochlorite. **Endod Dent Traumatol.** 1992;8:104-108.
8. Ayhan H, sultan N, Çirak M, Ruhi MZ, Bodur H. Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. **Int Endod J.** 1999;32:99-102.
9. Baker NE, Liewehr FR, Buxton TB, Joyce AP. Antibacterial efficacy of calcium hydroxide, iodine potassium iodide, betadine, and betadine scrub with and without surfactant against E faecalis in vitro. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2004;98(3):359-64.
10. Barbosa SV, Spangberg LS, Almeida D. Low surface tension calcium hydroxide solution is an effective antiseptic. **Int Endod J.** 1994;27(1):6-10.
11. Barroso Ldos S, Habitante SM, Jorge AO, Faria Ida S. Microorganisms growth in endodontic citric-acid solutions with and without microbiological stabilizer. **J Endod.** 2004;30(1):42-4.
12. Basrani B, Santos JM, Tjaderhane L, Grad H, Gorduysus O, Huang J, Lawrence HP, Friedman S. Substantive antimicrobial activity in chlorhexidine-treated human root dentin. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2002;94(2):240-5.
13. Basrani B, Tjaderhane L, Santos JM, Pascon E, Grad H, Lawrence HP, Friedman S. Efficacy of chlorhexidine- and calcium hydroxide-containing medicaments against Enterococcus faecalis in vitro. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2003;96(5):618-24.

14. Baumgartner JC, Cuenin PR. Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation. **J Endod.** 1992, 18(12):605-612.
15. Baumgartner JC, Falkler WA Jr. Bacteria in the apical 5 mm of infected root canals. **J Endod.** 1991;17(8):380-3.
16. Berber VB, Gomes BP, Sena NT, Vianna ME, Ferraz CC, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing *Enterococcus faecalis* within root canals and dentinal tubules. **Int Endod J.** 2006;39(1):10-7.
17. Berutti E, Marini R, Angeretti A. Penetration ability of different irrigants into dentinal tubules. **J Endod.** 1997;23(12):725-7.
18. Bhende S, Spangler D. In vitro assessment of chlorhexidine gluconate-impregnated polyurethane foam antimicrobial dressing using zone of inhibition assays. **Infect Control Hosp Epidemiol.** 2004;25(8):664-7.
19. Black AP, Keirn MA, Smith JJ Jr, Dykes GM Jr, Harlan WE. The disinfection of swimming pool water. II. A field study of the disinfection of public swimming pools. **Am J Public Health Nations Health.** 1970;60(4):740-50.
20. Block C, Robenshtok E, Simhon A, Shapiro M. Evaluation of chlorhexidine and povidone iodine activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* using a surface test. **J Hosp Infect.** 2000;46(2):147-52.
21. Bozza FL, Molgatini SL, Perez SB, Tejerina DP, Perez Tito RI, Kaplan AE. Antimicrobial effect in vitro of chlorhexidine and calcium hydroxide impregnated gutta-percha points. **Acta Odontol Latinoam.** 2005;18(2):51-6.
22. Briseño BM, Wirth R, Hamm G, Standhartinger W. Efficacy of different methods and concentrations of root canal irrigations on bacteria in the root canal. **Endod Dent Traumatol.** 1992; 8:6-11.
23. Buck RA, Eleazer PD, Staat RH, Scheetz JP. Effectiveness of Three Endodontic Irrigants at Various Tubular Depths in Human Dentin. **J Endod.** 2001, 27:206-208.
24. Buck RA, Cai J, Eleazer PD, Staat RH, Hurst HE. Detoxification of endotoxin by endodontic irrigants and calcium hydroxide. **J Endod.** 2000; 26(6):325-27.
25. Buck RA, Cai J, Eleaser PD, Staat RH. In vitro disinfection of dentinal tubules by various endodontics irrigants. **J Endod.** 1999; 25:786-788.
26. Bueno MR. Pesquisa na Internet. In: Estrela C. **Metodologia Científica.** 2ª Ed. São Paulo: Artes Médicas, 2005. p.679-701.
27. Buxbaum A, Kratzer C, Graninger W, Georgopoulos A. Antimicrobial and toxicological profile of the new biocide Akacid plus. **J Antimicrob Chemother.** 2006;58(1):193-7.

28. Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the effects of 0,5% sodium hypochlorite in endodontic therapy. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.** 1983, 55:307-12.
29. Byström A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. **Int Endod J.** 1985, 18:35-40.
30. Byström A, Happonen RP, Sjögren U, Sundqvist G. Healing of periapical lesions of pulpless teeth after endodontic treatment with controlled asepsis. **Endod Dent Traumatol.** 1987, 3:58-63.
31. Camilleri, J.; Pitt Ford, T.R. Mineral trioxide aggregate: a review of the constituents and biological properties of the material. **Int Endod J.** 2006, 39:747–754.
32. Chávez de Paz LE, Dahlén G, Molander A, Möller A, Bergenholtz G. Bacteria recovered from teeth with apical periodontitis after antimicrobial endodontic treatment. **Int Endod J.** 2003;36(7):500-8.
33. Chávez de Paz LE, Bergenholtz G, Dahlén G, Svensäter G. Response to alkaline stress by root canal bacteria in biofilms. **Int Endod J.** 2007;40:344-55.
34. Coldero LG, McHugh S, MacKenzie D, Saunders WP. Reduction in intracanal bacteria during root canal preparation with and without apical enlargement. **Int Endod J.** 2002;35(5):437-46.
35. Costa ED, de Souza-Filho FJ, Barbosa SV. Tissue reactions to a component of root canal system bacteria: lipoteichoic acid. **Braz Dent J.** 2003;14(2):95-8.
36. Cwikla SJ, Belanger M, Giguere S, Progulsk-Fox A, Vertucci FJ. Dentinal tubule disinfection using three calcium hydroxide formulations. **J Endod.** 2005;31(1):50-2.
37. Dahlén G, Fabricius L, Heyden G, Holm SE, Möller AJ. Apical periodontitis induced by selected bacterial strains in root canals of immunized and nonimmunized monkeys. **Scand J Dent Res.** 1982;90(3):207-16.
38. Dahlén G, Fabricius L, Holm SE, Möller AJ. Circulating antibodies after experimental chronic infection in the root canal of teeth in monkeys. **Scand J Dent Res.** 1982;90(5):338-44.
39. Dahlén G, Samuelsson W, Molander A, Reit C. Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from the root canal. **Oral Microbiol Immunol.** 2000;15(5):309-12.
40. Dametto FR, Ferraz CC, de Almeida Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, de 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(6):768-72.

41. 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;25(5):351-3.
42. de Barbeyrac B, Perro G, Quentin C, Cutillas M, Bebear C, Sanchez R. Influence of chlorhexidine on the flora of burns. **Pathol Biol (Paris).** 1985;33(5 Pt 2):635-8.
43. de Souza RE, de Souza EA, Sousa-Neto MD, Pietro RC. In vitro evaluation of different chemical agents for the decontamination of gutta-percha cones. **Pesqui Odontol Bras.** 2003;17(1):75-7.
44. Debroy AK, Chattopadhyay UK. A study on the isolation of anaerobic bacteria from the root canal infections in anterior non-vital teeth with special reference to *Bacteroides* species. **Indian J Dent Res.** 2002;13(2):100-1.
45. Denton GW. Chlorhexedine. In: **Disinfection, sterilization and preservation.** Block SS. 4^a Ed. Philadelphia: Lea, Febiger; 1991. 274-89.
46. Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ. Biofilm formation in medicated root canals. **J Endod.** 2002;28(10):689-93.
47. do Amorim CV, Aun CE, Mayer MP. Susceptibility of some oral microorganisms to chlorhexidine and paramonochlorophenol. **Pesqui Odontol Bras.** 2004;18(3):242-6.
48. Dunavant TR, Regan JD, Glickman GN, Solomon ES, Honeyman AL. Comparative evaluation of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilms. **J Endod.** 2006;32(6):527-31.
49. Engstrom B, Frostell G. Experiences of bacteriological root canal control. *Acta Odontol Scand* 1964; 22:43-69.
50. Er K, Sumer Z, Akpınar KE. Apical extrusion of intracanal bacteria following use of two engine-driven instrumentation techniques. **Int Endod J.** 2005;38(12):871-6.
51. Ercan E, Dalli M, Dulgergil CT. In vitro assessment of the effectiveness of chlorhexidine gel and calcium hydroxide paste with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2006;102(2):27-31.
52. Ercan E, Ozekinci T, Atakul F, Gul k. Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite in infected root canal: in vivo study. **J Endod.** 2004; 30(2): 84-87.
53. Estrela C, Bammann LL, Pimenta FC, Pecora JD. Control of microorganisms in vitro by calcium hydroxide pastes. **Int Endod J.** 2001a; 34(5):341-5.
54. Estrela C, César OVS, Leles CR, Pimenta FC, Alencar AHG . Avaliação em estudos longitudinais da eficácia do hidróxido de cálcio sobre o *Enterococcus faecalis* em infecções endodônticas - Revisão Sistemática. **Rev Bras Odontol.** 2007a; (no prelo).

55. Estrela C, Estrela CRA, Bammann LL, Pecora JD. Two methods to evaluate the antimicrobial action of calcium hydroxide paste. **J Endod.** 2001b; 27(12):720-3.
56. Estrela C, Estrela CRA, Barbin EL, Spanó JCE, Marchesan MA, Pécora JD. Mechanism of Action of sodium hypochlorite. **Braz Dent J.** 2002a; 13(2):113-117.
57. Estrela C, Estrela CRA, Decurcio DA, Hollanda ACB, Silva JA. Antimicrobial efficacy of ozonated water, gaseous ozone, sodium hypochlorite and chlorhexidine in infected human root canals. **Int Endod J.** 2007b, 40(2):85-93.
58. Estrela C, Estrela CRA, Guimarães LF, Silva RS, Pécora JD. Surface tension of calcium hydroxide associated with different substances. **J Appl Oral Sci** 2005a, 13(2):152-6.
59. Estrela C, Estrela CRA, Pécora JD, Amorim LFG, Toledo OA. Eficácia antimicrobiana de formulações de digluconato de clorexidina de concentrações e procedências diferentes. **ROBRAC.** 2004a, 13(35):10-13.
60. Estrela C, Holland R, Bernabé PFE, Souza V, Estrela CRA. Antimicrobial potential of medicaments used in healing process in dog's teeth with apical periodontitis. **Braz Dent J.** 2004b, 15(3):181-183.
61. Estrela C, Hollanda ACB, Decurcio DA, Guedes OA, Pécora JD. Substância Esp: análise da dissolução tecidual superficial – Parte 1. **ROBRAC.** 2005b, 14(38):11-18.
62. Estrela C, Lopes HP, Elias CN, Leles CR, Pécora JD. Limpeza da superfície do canal radicular pelo vinagre de maçã, hipoclorito de sódio, clorexidina e EDTA. *Rev APCD.* 2007c, 61(2):117-22.
63. Estrela C, Marcelo VC, Sabino GA. Trabalho científico. In: Estrela C. **Metodologia Científica.** 2ª Ed. São Paulo: Artes Médicas, 2005c. p. 152-183.
64. Estrela C, Pimenta FC, Ito IY, Bammann LL. Antimicrobial evaluation of calcium hydroxide in infected dentinal tubules. **J Endod.** 1999; 25(6):416-8.
65. Estrela C, Ribeiro RG, Estrela CRA, Pécora JD, Sousa-Neto MD. Antimicrobial effect to 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. **Braz Dent J.** 2003; 14(1):58-62.
66. Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe-Júnior O. Estudo do efeito biológico do pH na atividade enzimática de bactérias anaeróbias. **Rev Fac Odontol Bauru.** 1994, 2:31-38.
67. Estrela CRA, Estrela C, Carvalho AL, Gonella ALPF, Pécora JD. Controle microbiano e químico de diferentes soluções de hipoclorito de sódio. **ROBRAC.** 2002b; 11(31):16-21.
68. Estrela CRA, Estrela C, Reis C, Bammann LL, Pécora JD. Control of microorganisms in vitro by endodontic irrigants. **Braz Dent J.** 2003, 14(3):187-192.

69. Evanov C, Liewehr F, Buxton TB, Joyce AP. Antibacterial efficacy of calcium hydroxide and chlorhexidine gluconate irrigants at 37 degrees C and 46 degrees C. **J Endod.** 2004;30(9):653-7.
70. Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* **Int Endod J.** 2002, 35:221-228.
71. Evans MD, Baumgartner JC, Khemaleelakul SU, Xia T. Efficacy of calcium hydroxide: chlorhexidine paste as an intracanal medication in bovine dentin. **J Endod.** 2003;29(5):338-9.
72. Fabricius L, Dahlén G, Sundqvist G, Happonen RP, Möller AJ. Influence of residual bacteria on periapical tissue healing after chemomechanical treatment and root filling of experimentally infected monkey teeth. **Eur J Oral Sci.** 2006;114(4):278-85.
73. Ferrari PH, Cai S, Bombana AC. Effect of endodontic procedures on enterococci, enteric bacteria and yeasts in primary endodontic infections. **Int Endod J.** 2005;38(6):372-80.
74. Ferraz CC, Figueiredo de Almeida Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, de Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. **J Endod.** 2001;27(7):452-5.
75. Flanagan DA, Palenik CJ, Setcos JC, Miller CH. Antimicrobial activities of dental impression materials. **Dent Mater.** 1998;14(6):399-404.
76. Foschi F, Cavrini F, Montebugnoli L, Stashenko P, Sambri V, Prati C. Detection of bacteria in endodontic samples by polymerase chain reaction assays and association with defined clinical signs in Italian patients. **Oral Microbiol Immunol.** 2005;20(5):289-95.
77. Fouad AF, Barry J. The effect of antibiotics and endodontic antimicrobials on the polymerase chain reaction. **J Endod.** 2005;31(7):510-3.
78. Fouad AF, Zerella J, Barry J, Spangberg LS. Molecular detection of *Enterococcus* species in root canals of therapy-resistant endodontic infections. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2005;99(1):112-8.
79. Fraser JF, Bodman J, Sturgess R, Faoagali J, Kimble RM. An in vitro study of the anti-microbial efficacy of a 1% silver sulphadiazine and 0.2% chlorhexidine digluconate cream, 1% silver sulphadiazine cream and a silver coated dressing. **Burns.** 2004;30(1):35-41.
80. Fuss Z, Mizrahi A, Lin S, Cherniak O, Weiss EI. A laboratory study of the effect of calcium hydroxide mixed with iodine or electrophoretically activated copper on bacterial viability in dentinal tubules. **Int Endod J.** 2002;35(6):522-6.
81. Gaonkar TA, Sampath LA, Modak SM. Evaluation of the antimicrobial efficacy of urinary catheters impregnated with antiseptics in an in vitro urinary tract model. **Infect Control Hosp Epidemiol.** 2003;24(7):506-13.

82. Georgopoulou M, Kontakiotis E, Nakou M. Evaluation of the antimicrobial effectiveness of citric acid and sodium hypochlorite on the anaerobic flora of the infected root canal. **Int Endod J.** 1994, 27:139-143.
83. Giannotti JDG. **Meta-análise de parâmetros genéticos de características de crescimento em bovinos de corte sob enfoques clássicos e bayesianos.** [Tese] Piracicaba: Universidade de São Paulo; 2004. 86p.
84. Glasziou P. **Systematic reviews in health care: a practical guide.** Cambridge: University Press; 2001.
85. Glenny AM, Esposito M, Coulthard P, Worthington HV. The assessment of systematic reviews in dentistry. **Eur J Oral Sci.** 2003;111:85-92.
86. Goebel ME, Drez D Jr, Heck SB, Stoma MK. Contaminated rabbit patellar tendon grafts. In vivo analysis of disinfecting methods. **Am J Sports Med.** 1994;22(3):387-91.
87. Gomes BP, Pinheiro ET, Gade-Neto CR, Sousa EL, Ferraz CC, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microbiological examination of infected dental root canals. **Oral Microbiol Immunol.** 2004;19(2):71-6.
88. Gomes BP, Pinheiro ET, Sousa EL, Jacinto RC, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza-Filho FJ. Enterococcus faecalis in dental root canals detected by culture and by polymerase chain reaction analysis. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2006a;102(2):247-53.
89. Gomes BP, Vianna ME, Matsumoto CU, Rossi Vde P, Zaia AA, Ferraz CC, Souza Filho FJ. Disinfection of gutta-percha cones with chlorhexidine and sodium hypochlorite. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2005;100(4):512-7.
90. Gomes BP, Vianna ME, Sena NT, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of calcium hydroxide combined with chlorhexidine gel used as intracanal medicament. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2006b;102(4):544-50.
91. Gomes BPFA, Ferraz CCR, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and Chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. **Int Endod J.** 2001, 34:424-428.
92. Gomes BPFA, Souza FSC, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, Souza-Filho FJ. Effectiveness of 2% Chlorhexidine gel and calcium hydroxide against to *Enterococcus faecalis* in bovine root dentin *in vitro*. **Int Endod J.** 2003, 36(4):267-275.
93. Gordon TM, Damato D, Christine P. Solvent of various dilutions of sodium hypochlorite on vital and necrotic tissue. **J Endod.** 1981; 7:466-469.
94. Gorgul G, Basbug N, Omurlu H. An evaluation of the antibacterial effectiveness of bisdequalinium acetate and sodium hypochlorite. **Mikrobiyol Bul.** 1987;21(4):289-95.

95. Grawehr M, Sener B, Waltimo T, Zehnder M. Interactions of ethylenediamine tetraacetic acid with sodium hypochlorite in aqueous solutions. **Int Endod J.** 2003;36(6):411-7.
96. Gray JH, Henry DA, Forbes M, Germann E, Roberts FJ, Snelling CF. Comparison of silver sulphadiazine 1 per cent, silver sulphadiazine 1 per cent plus chlorhexidine digluconate 0.2 per cent and mafenide acetate 8.5 per cent for topical antibacterial effect in infected full skin thickness rat burn wounds. **Burns.** 1991;17(1):37-40.
97. Greenhalgh T. **How to read a paper: the basics of evidence based medicine.** 2^a Ed. London: BMJ Books; 2001.
98. Gulabivala K, Stock CJ, Lewsey JD, Ghori S, Ng YL, Spratt DA. Effectiveness of electrochemically activated water as an irrigant in an infected tooth model. **Int Endod J.** 2004;37(9):624-31.
99. Haapasalo HK, Siren EK, Waltimo TM, Ørstavik D, Haapasalo MP. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. **Int Endod J.** 2000;33(2):126-31.
100. Haapasalo M, Ørstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. **J Dent Res.** 1987;66(8):1375-9.
101. Haapasalo M, Udnæs T, Endal U. Persistent recurrent and acquired infection of the root canal system post-treatment. **Endodontic Topics.** 2003; 6:29-56.
102. Haenni S, Schmidlin PR, Mueller B, Sener B, Zehnder M. Chemical and antimicrobial properties of calcium hydroxide mixed with irrigating solutions. **Int Endod J.** 2003;36(2):100-5.
103. Hannan M, Juste RN, Umasanker S, Glendenning A, Nightingale C, Azadian B, Soni N. Antiseptic-bonded central venous catheters and bacterial colonisation. **Anaesthesia.** 1999;54(9):868-72.
104. Harold FM, Baarda JR, Baron C, Abrams A. Dio 9 and chlorhexidine: inhibitors of membrane-bound ATPase and of cation transport in *Streptococcus faecalis*. **Biochim Biophys Acta.** 1969 ;183(1):129-36.
105. Harper WE, Epis JA. Effect of chlorhexidine/EDTA/Tris against bacterial isolates from clinical specimens. **Microbios.** 1987;51(207):107-12.
106. Harper WE. Simple additives to increase the activity of chlorhexidine digluconate against urinary pathogens. **Paraplegia.** 1983;21(2):86-93.
107. Harrison JW, Hand RE. The effect of dilution and organic matter on the anti-bacterial property of 5.25% sodium hypochlorite. **J Endod.** 1981;7(3):128-32.
108. Harrison JW, Wagner GW, Henry CA. Comparison of the antimicrobial effectiveness of regular and fresh scent Clorox. **J Endod.** 1990;16(7):328-30.
109. Hartke A, Giard JC, Laplace JM, Auffray Y. Survival of *Enterococcus faecalis* in an oligotrophic microcosm: changes in morphology,

- development of general stress resistance, and analysis of protein synthesis. **Appl Environ Microbiol.** 1998;64(11):4238-45.
110. Hauman CHJ, Love RM. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 1. Intracanal drugs and substances. **Int Endod J.** 2003, 36:75-85.
111. Heling I, Chandler NP. Antimicrobial effect of irrigant combinations within dentinal tubules. **Int Endod J.** 1998;31(1):8-14.
112. Heling I, Rotstein I, Dinur T, Szewc-Levine Y, Steinberg D. Bactericidal and cytotoxic effects of sodium hypochlorite and sodium dichloroisocyanurate solutions in vitro. **J Endod.** 2001;27(4):278-80.
113. 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;25(1):15-9.
114. Heling I, Steinberg D, Kenig S, Gavrilovich I, Sela MN, Friedman M. Efficacy of a sustained-release device containing chlorhexidine and Ca(OH)₂ in preventing secondary infection of dentinal tubules. **Int Endod J.** 1992;25(1):20-4.
115. Hems RS, Gulabilavala K, Ng Y-L, Ready D, Spratt DA. An *in vitro* evaluation of the ability of ozone to kill a strain of *Enterococcus faecalis*. **Int Endod J.** 2005, 38:22-29.
116. Hesselgren SG, Dahl GM, Larje O. In vitro experiments with chlorhexidine on pure bacterial and fungal cultures from the mouth. **Sven Tandlak Tidsskr.** 1971; 64(11):801-6.
117. Hesselgren SG, Dahl GM, Nedlich U. Chlorhexidine as an inhibitor of pure bacterial and fungal cultures and dental plaque micro-organisms in sterilized saliva. **Sven Tandlak Tidsskr.** 1972;65(3):155-60.
118. Holland R, Soares IJ, Soares IM. Influence of irrigation and intracanal dressing on the healing process of dogs' teeth with apical periodontitis. **Endod Dent Traumatol.** 1992; L8(6):223-9.
119. Huang J, Wong HL, Zhou Y, Wu XY, Grad H, Komorowski R, Friedman S. In vitro studies and modeling of a controlled-release device for root canal therapy. **J Control Release.** 2000 ;67(2-3):293-307.
120. Hugo WB, Russel AD. **Pharmaceutical Microbiology.** 5^a Ed. Oxford: Blackwell, 1992. p.245-99.
121. Jeansonne MJ, White RR. A comparison of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigant. **J Endod.** 1994;20(6):276-78.
122. Jenkins S, Addy M, Wade W. The mechanism of action of chlorhexidine. **J Clin Periodontol.** 1988; 15(7):415-24.
123. Jette LP, Lapierre S. Evaluation of a mechanical/chemical infectious waste disposal system. **Infect Control Hosp Epidemiol.** 1992;13(7):387-93.

124. Jha D, Guerrero A, Ngo T, Helfer A, Hasselgren G. Inability of laser and rotary instrumentation to eliminate root canal infection. **J Am Dent Assoc.** 2006;137(1):67-70.
125. Johnson EM, Flannagan SE, Sedgley CM. Coaggregation interactions between oral and endodontic *Enterococcus faecalis* and bacterial species isolated from persistent apical periodontitis. **J Endod.** 2006;32(10):946-50.
126. Kampf G, Hofer M, Wendt C. Efficacy of hand disinfectants against vancomycin-resistant enterococci in vitro. **J Hosp Infect.** 1999;42(2):143-50.
127. Kaufman AY, Henig EF. The microbiologic approach in endodontics. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.** 1976;42(6):810-6.
128. Kearns AM, Freeman R, Lightfoot NF. Nosocomial enterococci: resistance to heat and sodium hypochlorite. **J Hosp Infect.** 1995;30(3):193-9.
129. Kho P, Baumgartner JC. A comparison of the antimicrobial efficacy of NaOCl/Biopure MTAD versus NaOCl/EDTA against *Enterococcus faecalis*. **J Endod.** 2006;32(7):652-5.
130. Kim T, Konno S. Contamination of ultrasonic equipment for the hand disinfection by chlorhexidine-resistant *Alcaligenes faecalis* (author's transl). **Kansenshogaku Zasshi.** 1978;52(1):10-5.
131. Kirzioglu Z. An in vitro study of the diffusibility of intracanal medicaments. **Quintessence Int.** 1990;21(8):649-53.
132. Kjolen H, BM. Handwashing and disinfection of heavily contaminated hands--effective or ineffective? **J Hosp Infect.** 1992;21(1):61-71.
133. Koivunen J, Heinonen-Tanski H. Inactivation of enteric microorganisms with chemical disinfectants, UV irradiation and combined chemical/UV treatments. **Water Res.** 2005;39(8):1519-26.
134. Kojima K, Inamoto K, Nagamatsu K, Hara A, Nakata K, Morita I, Nakagaki H, Nakamura H. Success rate of endodontic treatment of teeth with vital and nonvital pulps. A meta-analysis. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2004;97(1):95-9.
135. Koljalg S, Naaber P, Mikelsaar M. Antibiotic resistance as an indicator of bacterial chlorhexidine susceptibility. **J Hosp Infect.** 2002;51(2):106-13.
136. Kolzet DJ. Endodontic therapy. **J Am Dent Assoc.** 2006;137(6):722, 724.
137. Komorowski R, Grad H, Wu XY, Friedman S. Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentin. **J Endod.** 2000;26(6):315-7.
138. Korner B, Kuhle P, Christensen SC. Laboratory experiments with uropathogenic bacteria and chlorhexidine. **Acta Chir Scand Suppl.** 1973;433:110-2.
139. Koski TA, Ortenzio LF, Stuart LS. Effect of algicidal quaternaries on the germicidal activity of chlorine on swimming pool water. **Appl Microbiol.** 1967;15(6):1291-5.

140. Koski TA, Stuart LS, Ortenzio LF. Comparison of chlorine, bromine, iodine as disinfectants for swimming pool water. **Appl Microbiol.** 1966;14(2):276-9.
141. Kvist t, Molander A, Dahlén G, Reit C. Microbiological evaluation of one- or two-visit of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a randomized, clinic trial. **J Endod.** 2004, 30:572-576.
142. Lan WH. Neutralization effect of some agents on the antimicrobial activity of ammoniacal silver nitrate. **Bull Tokyo Med Dent Univ.** 1978;25(1):71-6.
143. Laplace JM, Thuault M, Hartke A, Boutibonnes P, Auffray Y. Sodium hypochlorite stress in *Enterococcus faecalis*: influence of antecedent growth conditions and induced proteins. **Curr Microbiol.** 1997;34(5):284-9.
144. Law A, Messer H. An evidence-based analysis of the antibacterial effectiveness of intracanal medicaments. **J Endod.** 2004;30(10):689-94.
145. Lee MT, Bird PS, Walsh LJ. Photo-activated disinfection of the root canal: a new role for lasers in endodontics. **Aust Endod J.** 2004;30(3):93-8.
146. Lenet BJ, Komorowski R, Wu XY, Huang J, Grad H, Lawrence HP, Friedman S. Antimicrobial substantivity of bovine root dentin exposed to different chlorhexidine delivery vehicles. **J Endod.** 2000;26(11):652-5.
147. Leonardo MR, da Silva LA, Filho MT, Bonifacio KC, Ito IY. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of a castor oil-based irrigant. **J Endod.** 2001;27(12):717-9.
148. Lima KC, Fava LR, Siqueira JF Jr. Susceptibilities of *Enterococcus faecalis* biofilms to some antimicrobial medications. **J Endod.** 2001;27(10):616-9.
149. Lin S, Levin L, Weiss EI, Peled M, Fuss Z. In vitro antibacterial efficacy of a new chlorhexidine slow-release device. **Quintessence Int.** 2006;37(5):391-4.
150. Lin S, Tsesis I, Zukerman O, Weiss EI, Fuss Z. Effect of electrophoretically activated calcium hydroxide on bacterial viability in dentinal tubules--in vitro. **Dent Traumatol.** 2005;21(1):42-5.
151. Lin S, Zuckerman O, Weiss EI, Mazor Y, Fuss Z. Antibacterial efficacy of a new chlorhexidine slow release device to disinfect dentinal tubules. **J Endod.** 2003;29(6):416-8.
152. Lin YH, Mickel AK, Chogle S. Effectiveness of selected materials against *Enterococcus faecalis*: part 3. The antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*. **J Endod.** 2003;29(9):565-6.
153. Love RM. *Enterococcus faecalis* - a mechanism for its role in endodontic failure. **Int Endod J.** 2001, 34:399-405.
154. Lui JN, Sae-Lim V, Song KP, Chen NN. In vitro antimicrobial effect of chlorhexidine-impregnated gutta percha points on *Enterococcus faecalis*. **Int Endod J.** 2004;37(2):105-13.

155. Lyman GH; Kuderer NM. The strengths and limitations of meta-analyses based on aggregate data. **BMC Medical Research Methodology**. 2005;5(14):1-7.
156. Lynne RE, Liewehr FR, West LA, Patton WR, Buxton TB, McPherson JC. In vitro antimicrobial activity of various medication preparations on *Enterococcus faecalis* in root canal dentin. **J Endod**. 2003;29(3):187-90.
157. 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):114-118.
158. Marais JT, Williams WP. Antimicrobial effectiveness of electro-chemically activated water as an endodontic irrigation solution. **Int Endod J**. 2001;34(3):237-43.
159. Maris P. The in vitro activity of veterinary antiseptics. **Ann Rech Vet**. 1990;21(1):49-55.
160. McIntosh HM, Woolacoot NF, Bagnall AM. Assessing harmful effects in systematic Reviews. **BMC Medical Research Methodology**. 2004;4(19):1-6.
161. Mejare B. Streptococcus faecalis and Streptococcus faecium in infected dental root canals at filling and their susceptibility to azidocillin and some comparable antibiotics. **Odontol Revy**. 1975;26(3):193-204.
162. Menezes MM, Valera MC, Jorge AO, Koga-Ito CY, Camargo CH, Mancini MN. In vitro evaluation of the effectiveness of irrigants and intracanal medicaments on microorganisms within root canals. **Int Endod J**. 2004;37(5):311-9.
163. Menyhay SZ, Maki DG. Disinfection of needleless catheter connectors and access ports with alcohol may not prevent microbial entry: the promise of a novel antiseptic-barrier cap. **Infect Control Hosp Epidemiol**. 2006;27(1):23-7.
164. Messenger S, Goddard PA, Dettmar PW, Maillard JY. Determination of the antibacterial efficacy of several antiseptics tested on skin by an 'ex-vivo' test. **J Med Microbiol**. 2001;50(3):284-92.
165. Meurman JH, Jousimies-Somer H, Suomala P, Alaluusua S, Torkko H, Asikainen S. Activity of amine-stannous fluoride combination and chlorhexidine against some aerobic and anaerobic oral bacteria. **Oral Microbiol Immunol**. 1989;4(2):117-9.
166. Mickel AK, Sharma P, Chogle S. Effectiveness of stannous fluoride and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis*. **J Endod**. 2003;29(4):259-60.
167. Molander A, Reit C, Dahlén G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide in root canals pretreated with 5% iodine potassium iodide. **Endod Dent Traumatol**. 1999;15(5):205-9.

168. Molinos AC, Abriouel H, Ben Omar N, Valdivia E, Lopez RL, Maqueda M, Canamero MM, Galvez A. Effect of immersion solutions containing enterocin AS-48 on *Listeria monocytogenes* in vegetable foods. **Appl Environ Microbiol.** 2005;71(12):7781-7.
169. Möller AJ, Fabricius L, Dahlén G, Sundqvist G, Happonen RP. Apical periodontitis development and bacterial response to endodontic treatment. Experimental root canal infections in monkeys with selected bacterial strains. **Eur J Oral Sci.** 2004;112(3):207-15.
170. Moreno Silva E, Aguirre Cacho S, Constante de Avelar L. An in vitro evaluation of the antimicrobial effect of auxiliary agents in the instrumentation of root canals. **Pract Odontol.** 1989;10(6):13-4, 16, 18-20.
171. Nagayoshi M, Kitamura C, Fukuizumi T, Nishihara T, Terashita M. Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. **J Endod.** 2004;30(11):778-81.
172. Nakajo K, Komori R, Ishikawa S, Ueno T, Suzuki Y, Iwami Y, Takahashi N. Resistance to acidic and alkaline environments in the endodontic pathogen *Enterococcus faecalis*. **Oral Microbiol Immunol.** 2006;21(5):283-8.
173. Nakajo K, Nakazawa F, Iwaku M, Hoshino E. Alkali-resistant bacteria in root canal systems. **Oral Microbiol Immunol.** 2004;19(6):390-4.
174. 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(1):38-41.
175. Oncaag O, Gogulu D, Uzel A. Efficacy of various intracanal medicaments against *Enterococcus faecalis* in primary teeth: an in vivo study. **J Clin Pediatr Dent.** 2006 Spring;30(3):233-7.
176. Oncag O, Cogulu D, Uzel A, Sorkun K. Efficacy of propolis as an intracanal medicament against *Enterococcus faecalis*. **Gen Dent** 2006;54(5):319-22.
177. Oncag O, Hosgor M, Hilmioglu S, Zekioglu O, Eronat C, Burhanoglu D. Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. **Int Endod J.** 2003;36(6):423-32.
178. Ørstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. **Endod Dent Traumatol.** 1990;6(4):142-9.
179. Owadally ID, Chong BS, Pitt Ford TR, Wilson RF. Biological properties of IRM with the addition of hydroxyapatite as a retrograde root filling material. **Endod Dent Traumatol.** 1994;10(5):228-32.
180. Oztan MD, Kiyani M, Gerceker D. Antimicrobial effect, in vitro, of gutta-percha points containing root canal medications against yeasts and *Enterococcus faecalis*. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2006;102(3):410-6.
181. Paisano AF, Spira B, Cai S, Bombana AC. In vitro antimicrobial effect of bacteriophages on human dentin infected with *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. **Oral Microbiol Immunol.** 2004;19(5):327-30.

182. Parsons GJ, Patterson SS, Miller CH, Katz S, Kafrawy AH, Newton CW. Uptake and release of chlorhexidine by bovine pulp and dentin specimens and their subsequent acquisition of antibacterial properties. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.** 1980;49(5):455-9.
183. Pataky L, Ivanyi I, Grigar A, Fazekas A. Antimicrobial efficacy of various root canal preparation techniques: an in vitro comparative study. **J Endod.** 2002;28(8):603-5.
184. Peciuliene V, Balciuniene I, Eriksen HM, Haapasalo M. Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root-filled canals in a Lithuanian population. **J Endod.** 2000;26(10):593-5.
185. Peciuliene V, Reynaud AH, Balciuniene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. **Int Endod J.** 2001;34(6):429-34.
186. Pécora JD, Estrela C. Hipoclorito de sódio. In: Estrela C. **Ciência Endodôntica.** São Paulo: Artes Médicas; 2004. p.415-55.
187. Pécora JD, Sousa-Neto MD, Saquy PC, Silva RG, Cruz-Filho AM. Effect of Dakin's and EDTA solutions on dentin permeability of root canals. **Braz Dent J.** 1993; 4(1):79-84.
188. Perin FM, Franca SC, Silva-Sousa YT, Alfredo E, Saquy PC, Estrela C, Sousa-Neto MD. Evaluation of the antimicrobial effect of Er:YAG laser irradiation versus 1% sodium hypochlorite irrigation for root canal disinfection. **Aust Endod J.** 2004;30(1):20-2.
189. Peters LB, Wesselink PR, Moorer WR. Penetration of bacteria in bovine root dentine in vitro. **Int Endod J.** 2000;33(1):28-36.
190. Piloni AP, Buttini G, Giordano B, Iovene MR, di Salvo R, Buommino E, Tufano MA. The in vitro effects of cetyltrimethylammonium naproxenate on oral and pharyngeal microorganisms of various ecological niches. **J Periodontal Res.** 1999;34(8):473-7.
191. Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, Sousa EL, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. **Int Endod J.** 2003;36(1):1-11.
192. Podbielski A, Boeckh C, Haller B. Growth inhibitory activity of gutta-percha points containing root canal medications on common endodontic bacterial pathogens as determined by an optimized quantitative in vitro assay. **J Endod.** 2000;26(7):398-403.
193. Podbielski A, Spahr A, Haller B. Additive antimicrobial activity of calcium hydroxide and chlorhexidine on common endodontic bacterial pathogens. **J Endod.** 2003;29(5):340-5.
194. Portenier I, Haapasalo H, Ørstavik D, Yamauchi M, Haapasalo M. Inactivation of the antibacterial activity of iodine potassium iodide and chlorhexidine digluconate against *Enterococcus faecalis* by dentin, dentin matrix, type-I collagen, and heat-killed microbial whole cells. **J Endod.** 2002;28(9):634-7.

195. Portenier I, Haapasalo H, Rye A, Waltimo T, Ørstavik D, Haapasalo M. Inactivation of root canal medicaments by dentine, hydroxylapatite and bovine serum albumin. **Int Endod J.** 2001;34(3):184-8.
196. Portenier I, Waltimo T, Haapasalo M. *Enterococcus faecalis* – The root canal survivor and “star” in post-treatment disease. **Endodontic Topics.** 2003; 6:135-159.
197. Portenier I, Waltimo T, Ørstavik D, Haapasalo M. Killing of *Enterococcus faecalis* by MTAD and chlorhexidine digluconate with or without cetrimide in the presence or absence of dentine powder or BSA. **J Endod.** 2006;32(2):138-41.
198. Portenier I, Waltimo T, Ørstavik D, Haapasalo M. The susceptibility of starved, stationary phase, and growing cells of *Enterococcus faecalis* to endodontic medicaments. **J Endod.** 2005;31(5):380-6.
199. Raahave D. Antisepsis of the operation site with aqueous cetrimide/chlorhexidine and chlorhexidine in alcohol. *Acta Chir Scand.* 1974;140(8):595-601.
200. Radcliffe CE, Potouridou L, Qureshi R, Habahbeh N, Qualtrough A, Worthington H, Drucker DB. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. **Int Endod J.** 2004;37(7):438-46.
201. Raphael D, Wong TA, Moodnik R, Borden BG. The effect of temperature on the bactericidal efficiency of sodium hypochlorite. **J Endod.** 1981;7(7):330-4.
202. Reverdy ME, Martra A, Fleurette J. Application of a micromethod to the study of the bactericidal activity of 2 antiseptics based on chlorhexidine gluconate. *Pathol Biol (Paris).* 1986;34(5 Pt 2):688-93.
203. Reynaud Af Geijersstam A, Sorsa T, Stackelberg S, Tervahartiala T, Haapasalo M. Effect of *Enterococcus faecalis* on the release of serine proteases elastase and cathepsin G, and collagenase-2 (MMP-8) by human polymorphonuclear leukocytes (PMNs). **Int Endod J.** 2005;38(9):667-77.
204. Reynaud Af Geijersstam AH, Ellington MJ, Warner M, Woodford N, Haapasalo M. Antimicrobial susceptibility and molecular analysis of *Enterococcus faecalis* originating from endodontic infections in Finland and Lithuania. **Oral Microbiol Immunol.** 2006;21(3):164-8.
205. Rigel AM, Patterson SS, Newton CW, Miller CH, Mulhern JM. In vivo evaluation of chlorhexidine gluconate solution and sodium hypochlorite solution as root canal irrigants. **J Endod.** 1982, 8(5):200-204.
206. Roach RP, Hatton JF, Gillespie MJ. Prevention of the ingress of a known virulent bacterium into the root canal system by intracanal medications. **J Endod.** 2001;27(11):657-60.

207. Rocas IN, Jung IY, Lee CY, Siqueira JF Jr. Polymerase chain reaction identification of microorganisms in previously root-filled teeth in a South Korean population. **J Endod.** 2004;30(7):504-8.
208. Rocas IN, Siqueira JF Jr, Aboim MC, Rosado AS. Denaturing gradient gel electrophoresis analysis of bacterial communities associated with failed endodontic treatment. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2004;98(6):741-9.
209. Rolla G, Melsen B. On the mechanism of the plaque inhibition by chlorhexidine. *J Dent Res* 1975; 54:57-62.
210. Rosenthal S, Spangberg L, Safavi K. Chlorhexidine substantivity in root canal dentin. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2004;98(4):488-92.
211. Russell AD, Furr JR. The antibacterial activity of a new chloroxylenol preparation containing ethylenediamine tetraacetic acid. *J Appl Bacteriol.* 1977;43(2):253-60.
212. Salas Campos L, Gomez Ferrero O, Estudillo Perez V, Fernandez Mansilla M. Preventing nosocomial infections. Dressings soaked in polyhexamethylene biguanide (PHMB). **Rev Enferm.** 2006;29(6):43-8.
213. Saleh IM, Ruyter IE, Haapasalo M, Ørstavik D. Survival of *Enterococcus faecalis* in infected dentinal tubules after root canal filling with different root canal sealers in vitro. **Int Endod J.** 2004;37(3):193-8.
214. Sassone LM, Fidel R, Fidel S, Vieira M, Hirata R Jr. The influence of organic load on the antimicrobial activity of different concentrations of NaOCl and chlorhexidine in vitro. **Int Endod J.** 2003;36(12):848-52.
215. Sassone LM, Fidel RA, Fidel SR, Dias M, Hirata RJ. Antimicrobial activity of different concentrations of NaOCl and chlorhexidine using a contact test. **Braz Dent J.** 2003;14(2):99-102.
216. Sathorn C, Parashos P, Messer H. Antibacterial efficacy of calcium hydroxide intracanal dressing: a systematic review and meta-analysis. **Int Endod J.** 2007;40(1):2-10.
217. Schafer E, Bossmann K. Antimicrobial effect of camphorated chloroxylenol (ED 84) in the treatment of infected root canals. **J Endod.** 1999;25(8):547-51.]
218. Schafer E, Bossmann K. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine and two calcium hydroxide formulations against *Enterococcus faecalis*. **J Endod.** 2005;31(1):53-6.
219. Schoop U, Kluger W, Moritz A, Nedjelik N, Georgopoulos A, Sperr W. Bactericidal effect of different laser systems in the deep layers of dentin. **Lasers Surg Med.** 2004;35(2):111-6.
220. Sedgley CM, Molander A, Flannagan SE, Nagel AC, Appelbe OK, Clewell DB, Dahlén G. Virulence, phenotype and genotype characteristics of endodontic *Enterococcus* spp. **Oral Microbiol Immunol.** 2005;20(1):10-9.

221. Sedgley CM, Nagel AC, Shelburne CE, Clewell DB, Appelbe O, Molander A. Quantitative real-time PCR detection of oral *Enterococcus faecalis* in humans. **Arch Oral Biol.** 2005;50(6):575-83.
222. Sena NT, Gomes BP, Vianna ME, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against selected single-species biofilms. **Int Endod J.** 2006;39(11):878-85.
223. Shabahang S, Torabinejad M. Effect of MTAD on *Enterococcus faecalis*-contaminated root canals of extracted human teeth. **J Endod.** 2003;29(9):576-9.
224. Shimizu M, Okuzumi K, Yoneyama A, Kunisada T, Araake M, Ogawa H, Kimura S. In vitro antiseptic susceptibility of clinical isolates from nosocomial infections. **Dermatology.** 2002;204 Suppl 1:21-7.
225. Shurrab MY. Antimicrobial efficiency of some antiseptic products on endodontic microflora isolated from gangrenous pulp tissue. **J Contemp Dent Pract.** 2006 Sep 1;7(4):53-62.
226. Silva CAG. **Efetividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio e clorexidina como irrigantes endodônticos.** Dissertação de Mestrado. Faculdade de Odontologia da Universidade Luterana do Brasil, 1999. 101p.
227. Silva Garcez A, Nunez SC, Lage-Marques JL, Jorge AO, Ribeiro MS. Efficiency of NaOCl and laser-assisted photosensitization on the reduction of *Enterococcus faecalis* in vitro. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2006;102(4):e93-8.
228. Siqueira JF Jr, Batista MM, Fraga RC, de Uzeda M. Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gram-negative anaerobes and facultative bacteria. **J Endod.** 1998;24(6):414-6.
229. Siqueira JF Jr, De Uzeda M, Fonseca ME. A scanning electron microscopic evaluation of in vitro dentinal tubules penetration by selected anaerobic bacteria. **J Endod.** 1996;22(6):308-10.
230. Siqueira JF Jr, de Uzeda M. Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. **J Endod.** 1996;22(12):674-6.
231. Siqueira JF Jr, de Uzeda M. Influence of different vehicles on the antibacterial effects of calcium hydroxide. **J Endod.** 1998;24(10):663-5.
232. Siqueira JF Jr, Machado AG, Silveira RM, Lopes HP, de Uzeda M. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal, in vitro. **Int Endod J.** 1997;30(4):279-82.
233. Siqueira JF Jr, Rocas IN, Favieri A, Lima KC. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. **J Endod.** 2000;26(6):331-4.

234. Siqueira JF Jr, Rocas IN, Santos SR, Lima KC, Magalhaes FA, de Uzeda M. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals. **J Endod.** 2002a;28(3):181-4.
235. Siqueira JF Jr, Rocas IN, Souto R, de Uzeda M, Colombo AP. Actinomyces species, streptococci, and Enterococcus faecalis in primary root canal infections. **J Endod.** 2002b;28(3):168-72.
236. Siqueira JF Jr, Rocas IN. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2004;97(1):85-94.
237. Siren EK, Haapasalo MP, Ranta K, Salmi P, Kerosuo EN. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. **Int Endod J.** 1997;30(2):91-5.
238. Siren EK, Haapasalo MP, Waltimo TM, Ørstavik D. In vitro antibacterial effect of calcium hydroxide combined with chlorhexidine or iodine potassium iodide on Enterococcus faecalis. *Eur J Oral Sci.* 2004;112(4):326-31.
239. Sirtes G, Waltimo T, Schaetzle M, Zehnder M. The effects of temperature on sodium hypochlorite short-term stability, pulp dissolution capacity, and antimicrobial efficacy. **J Endod.** 2005;31(9):669-71.
240. Siwek, J.; Gourlay, M.L.; Slawson, D.C.; Shaughnessy, A.F. How to write an evidence-based clinical review article. *Am Fam Physician* 2002; 65:258-58.
241. Skoluda D, Pfeiffer E, Jurcovic K, Eisen M. The effect of standardised sodium hypochlorite solution on bacteria pathogenic for the urinary tract (author's transl). **Urologe A.** 1976;15(1):33-8.
242. Smith JJ, Wayman BE. An evaluation of the antimicrobial effectiveness of citric acid as a root canal irrigant. **J Endod.** 1986;12(2):54-8.
243. Snelling CF, Inman RJ, Germann E, Boyle JC, Foley B, Kester DA, Fitzpatrick DJ, Warren RJ, Courtemanche AD. Comparison of silver sulfadiazine 1% with chlorhexidine digluconate 0.2% to silver sulfadiazine 1% alone in the prophylactic topical antibacterial treatment of burns. **J Burn Care Rehabil.** 1991;12(1):13-8.
244. Snelling CF, Roberts FJ. Comparison of 1% silver sulfadiazine with and without 1% chlorhexidine digluconate for topical antibacterial effect in the burnt infected rat. **J Burn Care Rehabil.** 1988;9(1):35-40.
245. Sobrinho AP, Barros MH, Nicoli JR, Carvalho MA, Farias LM, Bambilra EA, Bahia MG, Vieira EC. Experimental root canal infections in conventional and germ-free mice. **J Endod.** 1998;24(6):405-8.
246. Spångberg L, Engstrom B, Langeland K. Biological effect of dental materials: 3 – toxicity and antimicrobial effects of endodontic antiseptics in vitro. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.** 1973; 36:856-71.

247. Spanó JCE, Barbin EL, Santos TC, Guimarães LF, Pécora JD. Solvent action of sodium hypochlorite on bovine pulp and physico-chemical properties of resulting liquid. **Braz Dent J.** 2001; 12:154-157.
248. Spijkervet FK, van Saene HK, Panders AK, Vermey A, van Saene JJ, Mehta DM, Fidler V. Effect of chlorhexidine rinsing on the oropharyngeal ecology in patients with head and neck cancer who have irradiation mucositis. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.** 1989;67(2):154-61.
249. Spratt DA, Pratten J, Wilson M, Gulabivala K. An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates. **Int Endod J.** 2001;34(4):300-7.
250. Steinberg D, Heling I, Daniel I, Ginsburg I. Antibacterial synergistic effect of chlorhexidine and hydrogen peroxide against *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*. **J Oral Rehabil.** 1999;26(2):151-6.
251. Stevens RH, Grossman LI. Evaluation of the antimicrobial potential of calcium hydroxide as an intracanal medicament. **J Endod.** 1983;9(9):372-4.
252. Stickler D, Hewett P. Activity of antiseptics against biofilms of mixed bacterial species growing on silicone surfaces. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis.** 1991;10(5):416-21.
253. Stickler D, Hewett P. Activity of antiseptics against biofilms of mixed bacterial species growing on silicone surfaces. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis.** 1991;10(3):157-62.
254. Stickler DJ, Clayton CL, Chawla JC. Assessment of antiseptic bladder washout procedures using a physical model of the catheterised bladder. **Br J Urol.** 1987;60(5):413-8.
255. Stickler DJ, Clayton CL, Chawla JC. The resistance of urinary tract pathogens to chlorhexidine bladder washouts. **J Hosp Infect.** 1987;10(1):28-39.
256. Stowe TJ, Sedgley CM, Stowe B, Fenno JC. The effects of chlorhexidine gluconate (0.12%) on the antimicrobial properties of tooth-colored ProRoot mineral trioxide aggregate. **J Endod.** 2004;30(6):429-31.
257. Strabelli TM, Cais DP, Zeigler R, Siciliano R, Rodrigues C, Carrara D, Neres S, Lessa S, Uip DE. Clustering of *Enterococcus faecalis* infections in a cardiology hospital neonatal intensive care unit. **Braz J Infect Dis.** 2006;10(2):113-6.
258. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. **J Endod.** 2006;32(2):93-8.
259. Sukawat C, Srisuwan T. A comparison of the antimicrobial efficacy of three calcium hydroxide formulations on human dentin infected with *Enterococcus faecalis*. **J Endod.** 2002;28(2):102-4.

260. Sundqvist, G. **Bacteriological studies of necrotic dental pulps.** (Dissertation Master). Umea: University of Umea, Sweden; 1976. 94p.
261. Sundqvist, G.; Figdor, D.; Persson, S.; Sjögren, U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol Oral Radiol. Endod.** 1998;85:86-93.
262. Sydney GB, Batista A, Estrela C, Pesce HF, de Melo LL. SEM analysis of smear layer removal after manual and automated handpiece root canal preparation. **Braz Dent J.** 1996; 7(1):19-26.
263. Tanriverdi F, Esener T, Erganis O, Belli S. An in vitro test model for investigation of disinfection of dentinal tubules infected with *Enterococcus faecalis*. **Braz Dent J.** 1997;8(2):67-72.
264. Tanriverdi, F.; Esner, T.; Erqanis, O.; Belli, S. An in vitro test model for investigation of disinfection of dentinal tubules infected with *Enterococcus faecalis*. **Braz Dent J.** 1997; 8:67-72.
265. Tay FR, Hiraishi N, Schuster GS, Pashley DH, Loushine RJ, Ounsi HF, Grandini S, Yau JY, Mazzoni A, Donnelly A, King NM. Reduction in antimicrobial substantivity of MTAD after initial sodium hypochlorite irrigation. **J Endod.** 2006;32(10):970-5.
266. The SD. Long-distance bactericidal and fungicidal effectiveness of parachlorophenol and Formalin on *Streptococcus faecalis* and *Candida albicans*. **J Endod.** 1975;1(9):300-2.
267. Torabinejad M, Khademi AA, Babagoli J, Cho Y, Johnson WB, Bozhilov K, Kim JS. A new solution for the removal of the smear layer. **J Endod.** 2003, 29(3):170-75.
268. Torabinejad M, Shabahang S, Aprecio RM, Kettering JD. The antimicrobial effect of MTAD: an in vitro investigation. **J Endod.** 2003;29(6):400-3.
269. Tree JA, Adams MR, Lees DN. Chlorination of indicator bacteria and viruses in primary sewage effluent. **Appl Environ Microbiol.** 2003;69(4):2038-43.
270. Tronstad, L.; Andreassen, J.O.; Hasselgren, G.; Kristerson, L.; Riis, I. pH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. **J Endod.** 1981; 7:17-21.
271. Turner SR, Love RM, Lyons KM. An in-vitro investigation of the antibacterial effect of nisin in root canals and canal wall radicular dentine. **Int Endod J.** 2004;37(10):664-71.
272. Vahdaty A, Pitt Ford TR, Wilson RF. Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules in vitro. **Endod Dent Traumatol.** 1993;9(6):243-8.
273. van Klingeren B, Pullen W, Reijnders HF. Quantitative suspension test for the evaluation of disinfectants for swimming pool water: experiences with sodium hypochlorite and sodium dichloroisocyanurate. **Zentralbl Bakteriol [B].** 1980;170(5-6):457-68.

274. van Mullem PJ, Wijnbergen M. Effect of disinfection on number and stainability of gram-positive bacteria. **Int Endod J.** 1989;22(6):278-82.
275. Vianna ME, Gomes BP, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza-Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2004;97(1):79-84.
276. Vianna ME, Horz HP, Gomes BPFA, Conrads G. In vivo evaluation of microbial reduction after chemo-mechanical preparation of human root canals containing necrotic pulp tissue. **Int Endod J.** 2006, 39:484-492.
277. Vivacqua-Gomes N, Gurgel-Filho ED, Gomes BP, Ferraz CC, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Recovery of *Enterococcus faecalis* after single- or multiple-visit root canal treatments carried out in infected teeth ex vivo. **Int Endod J.** 2005;38(10):697-704.
278. Walker EM, Lowes JA. An investigation into in vitro methods for the detection of chlorhexidine resistance. **J Hosp Infect.** 1985;6(4):389-97.
279. Waltimo TM, Siren EK, Ørstavik D, Haapasalo MP. Susceptibility of oral *Candida* species to calcium hydroxide in vitro. **Int Endod J.** 1999;32(2):94-8.
280. Wang ZM. The bactericidal efficiency of ultrasonic in the root canal. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* 1992;27(1):12-5, 61.
281. Washington BC, Villalba MR, Lauter CB, Colville J, Starnes R. Cefamandole-erythromycin-heparin peritoneal irrigation: an adjunct to the surgical treatment of diffuse bacterial peritonitis. **Surgery.** 1983;94(4):576-81.
282. Wijnbergen M, van Mullem PJ. The cumulative effect of disinfection, storage, histological fixation and demineralization on number and staining ability of gram-positive bacteria. **Int Endod J.** 1991;24(5):243-8.
283. Williams JM, Trope M, Caplan DJ, Shugars DC. Detection and quantitation of *Enterococcus faecalis* by real-time PCR (qPCR), reverse transcription-PCR (RT-PCR), and cultivation during endodontic treatment. **J Endod.** 2006;32(8):715-21.
284. Williams RJ, Hamilton-Miller JM, Brumfitt W. Microbiological studies on some bladder irrigation fluids. **Infection.** 1976;4(2):31-4.
285. Yamashita JC, Tanomaru-Filho M, Leonardo, MR, Rossi MA, Silva LAB. Scanning electrom microscopic study of the cleaning ability of chlorhexedine as a root-canal irrigant. **Int Endod J.** 2003; 36: 391-394.
286. Yanagiguchi K, Kawaguchi M, Egashira S, Oyama K, Yoshida H, Matsumoto H, Yamada T, Okabe H. Pathogenicity of bacteria using a simulated root canal system. **J Endod.** 1995;21(11):552-6.
287. Yang SE, Cha JH, Kim ES, Kum KY, Lee CY, Jung IY. Effect of smear layer and chlorhexidine treatment on the adhesion of *Enterococcus faecalis* to bovine dentin. **J Endod.** 2006;32(7):663-7.

288. Zamany A, Spangberg LS. An effective method of inactivating chlorhexidine. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2002;93(5):617-20.
289. Zamany A, Safavi K, Spangberg LS. The effect of chlorhexidine as an endodontic disinfectant. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2003;96(5):578-81.
290. Zehnder M, Grawehr M, Hasselgren G, Waltimo T. Tissue-dissolution capacity and dentin-disinfecting potential of calcium hydroxide mixed with irrigating solutions. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2003;96(5):608-13.
291. Zehnder M, Kosicki D, Luder H, Sener B, Waltimo T. Tissue-dissolving capacity and antibacterial effect of buffered and unbuffered hypochlorite solutions. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2002;94(6):756-62.
292. Zehnder M, Luder HU, Schatzle M, Kerosuo E, Waltimo T. A comparative study on the disinfection potentials of bioactive glass S53P4 and calcium hydroxide in contra-lateral human premolars ex vivo. **Int Endod J.** 2006;39(12):952-8.
293. Zehnder M, Schmidlin P, Sener B, Waltimo T. Chelation in root canal therapy reconsidered. **J Endod.** 2005;31(11):817-20.
294. Zehnder M, Soderling E, Salonen J, Waltimo T. Preliminary evaluation of bioactive glass S53P4 as an endodontic medication in vitro. **J Endod.** 2004;30(4):220-4.
295. Zehnder M. Root canal irrigants. **J Endod.** 2006, 32(5):389-398.
296. Zerella JA, Fouad AF, Spangberg LS. Effectiveness of a calcium hydroxide and chlorhexidine digluconate mixture as disinfectant during retreatment of failed endodontic cases. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2005;100(6):756-61.

A
N
E
X
O
S

Anexo 1

Tabela 5 – Distribuição de artigos científicos publicados em revistas de impacto em endodontia, analisados de acordo com o modelo biológico *in vivo* e solução irrigadora utilizada (1966/2007)

Periódico	Humanos	Animais	Solução Irrigadora			
			NaOCl	CLX	NI	outra
Dental Traumatology	1	-	1	-	1	1
International Endodontic Journal	5	1	2	1	2	2
Journal of Endodontics	4	3	2	-	4	2
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiology and Endodontology	5	-	1	-	1	3
Outros	14	8	-	1	10	12
Total	29	12	6	2	18	20

Legenda:

NaOCl = Hipoclorito de Sódio

CLX = Clorexidina

NI = Não identificado

Anexo 2

Tabela 6 - Distribuição de artigos científicos publicados em revistas de impacto em endodontia, analisados de acordo com o delineamento experimental *in vitro* (1966 / 2007)

Periódicos	<i>In vitro</i>								
	DA	CD	DC	UFC	CIM	DO	Ctx	MEV	Outro
Dental Traumatology	1	-	3	2	-	-	1	1	-
International Endodontic Journal	3	10	22	12	1	4	1	1	5
Journal of Endodontics	9	15	30	12	2	2	2	3	2
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiology and Endodontology	2	7	10	5	1	3	-	-	3
Outros	9	14	11	12	9	-	1	1	18
Total	24	46	76	43	13	10	5	6	28

Legenda:

DA	Teste de difusão em Ágar
CD	Teste por contato direto
UFC	Unidade formadora de colônia
DC	Dentina contaminada
CIM	Concentração inibitória mínima
DO	Análise por densidade óptica - Spectrofotometro
Ctx	Citotoxicidade
MEV	Microscopia eletrônica de varredura

Anexo 3

Quadro 1 - Passos recomendados pela Colaboração Cochrane para a realização de uma revisão sistemática.

1) formulação da pergunta - questões mal formuladas levam a decisões obscuras sobre o que deve ou não ser incluído na revisão. Assim uma pergunta bem formulada, onde são definidos os pacientes/doença e a intervenção é o passo inicial na realização da revisão sistemática.

2) localização e seleção dos estudos - não existe uma única fonte de busca de estudos. Para identificar todos os estudos relevantes teremos que utilizar as bases de dados eletrônicas (Medline, Embase, Lilacs, *Cochrane Controlled Trials Database*, *SciSearch*), verificar as referências bibliográficas dos estudos relevantes, solicitar estudos de especialistas, e pesquisar manualmente algumas revistas e anais de congressos. Para cada uma das fontes utilizadas deve ser detalhado o método utilizado.

3) avaliação crítica dos estudos - são critérios para determinar a validade dos estudos selecionados e qual a probabilidade de suas conclusões estarem baseadas em dados viciados. Com a avaliação crítica determinamos quais são os estudos válidos que irão ser utilizados na revisão; e os que não preenchem os critérios de validade são citados e explicados o porquê de sua exclusão.

4) coleta de dados - todas as variáveis estudadas devem ser observadas nos estudos e resumidas, além das características do método, dos participantes e dos desfechos clínicos, que permitirão determinar a possibilidade de comparar ou não os estudos selecionados. Algumas vezes será necessário entrar em contato com o autor do estudo para pedir-lhe informações mais detalhadas.

5) análise e apresentação dos dados - baseado na semelhança entre os estudos, estes serão agrupados para a meta-análise. Cada um desses agrupamentos deverão ser preestabelecidos no projeto, assim como a forma de apresentação gráfica e numérica, para facilitar o entendimento do leitor.

6) interpretação dos dados - é determinada a força da evidência encontrada, a aplicabilidade dos resultados, informações sobre custo e a prática corrente que sejam relevantes, e determinados claramente os limites entre os benefícios e os riscos.

7) aprimoramento e atualização da revisão - uma vez publicada a revisão sofrerá críticas e receberá sugestões que devem ser incorporadas às edições subseqüentes, caracterizando uma publicação viva, e ainda ser atualizada cada vez que surjam novos estudos sobre o tema.

(<http://www.cochrane.org>)

Anexo 4

Tabela 7 - Distribuição de artigos científicos com estudos *in vivo* publicados de acordo com a solução irrigadora avaliada (1966 / 2007).

	Solução Irrigadora	
	Hipoclorito de sódio	Clorexidina
AUTORES	Willians <i>et al.</i> , 2006 Zerella <i>et al.</i> , 2005 Ferrari <i>et al.</i> , 2005 Oncag <i>et al.</i> , 2003 Peciulliene <i>et al.</i> , 2001 Peciulliene <i>et al.</i> , 2000 Molander <i>et al.</i> , 1999	Oncag <i>et al.</i> , 2003 Goebel <i>et al.</i> , 1994 Kjolen & Andersen <i>et al.</i> , 1992 Gray <i>et al.</i> , 1991 Snelling <i>et al.</i> , 1991 Spijkervet <i>et al.</i> , 1989 Barbeyrac <i>et al.</i> , 1985
Total	07	07

Anexo 5

Tabela 8 - Distribuição de artigos científicos com estudos *in vitro* publicados de acordo com a solução irrigadora avaliada (1966 / 2007).

					Solução Irrigadora				
					Hipoclorito de sódio		Clorexidina		
AUTORES	Zehnder <i>et al.</i> , 2006	Sena <i>et al.</i> , 2006	Sena <i>et al.</i> , 2006	Shurrab <i>et al.</i> , 2006					
	Garcez <i>et al.</i> , 2006	Tay <i>et al.</i> , 2006	Buxbaum <i>et al.</i> , 2006	Dunavant <i>et al.</i> , 2006					
	Kho <i>et al.</i> , 2006	Dunavant <i>et al.</i> , 2006	Portenier <i>et al.</i> , 2006	Stuart <i>et al.</i> , 2006					
	Jha <i>et al.</i> , 2006	Stuart <i>et al.</i> , 2006	Gomes <i>et al.</i> , 2005	Vivacqua-Gomes <i>et al.</i> , 2005					
	Berger <i>et al.</i> , 2006	Zehnder <i>et al.</i> , 2005	Foud & Barry, 2005	Portenier <i>et al.</i> , 2005					
	Gomes <i>et al.</i> , 2005	Sirtes <i>et al.</i> , 2005	Dametto <i>et al.</i> , 2005	Amorin <i>et al.</i> , 2004					
	Foud & Barry, 2005	Dametto <i>et al.</i> , 2005	Abdullah <i>et al.</i> , 2005	Rosenthal <i>et al.</i> , 2004					
	Koivunen <i>et al.</i> , 2005	Portenier <i>et al.</i> , 2005	Bhende & Spangler, 2004	Evanov <i>et al.</i> , 2004					
	Abdullah <i>et al.</i> , 2005	Hems <i>et al.</i> , 2005	Stowe <i>et al.</i> , 2004	Aarestrup & Hasmal, 2004					
	Nagayoshi <i>et al.</i> , 2004	Rosenthal <i>et al.</i> , 2004	Menezes <i>et al.</i> , 2004	Estrela <i>et al.</i> , 2003a,b					
	Evanov <i>et al.</i> , 2004	Radcliffe <i>et al.</i> , 2004	Vianna <i>et al.</i> , 2004	Fraser <i>et al.</i> , 2004					
	Perin <i>et al.</i> , 2004	Menezes <i>et al.</i> , 2004	Sassone <i>et al.</i> , 2003a,b	Basrani <i>et al.</i> , 2003					
	Estrela <i>et al.</i> , 2003a,b	Saleh <i>et al.</i> , 2004	Gaonkar <i>et al.</i> , 2003	Lin <i>et al.</i> , 2003					
	Vianna <i>et al.</i> , 2004	Sassone <i>et al.</i> , 2003a,b	Oncag <i>et al.</i> , 2003	Lynne <i>et al.</i> , 2003					
	Shabahang <i>et al.</i> , 2003	Souza <i>et al.</i> , 2003	Haenni <i>et al.</i> , 2003	Portenier <i>et al.</i> , 2002					
	Torabinejad <i>et al.</i> , 2003	Oncag <i>et al.</i> , 2003	Basrani <i>et al.</i> , 2002	Portenier <i>et al.</i> , 2001					
	Grawehr <i>et al.</i> , 2003	Tree <i>et al.</i> , 2003	Kolgalg <i>et al.</i> , 2002	Zamany & Spangberg, 2002					
	Haenni <i>et al.</i> , 2003	Zehnder <i>et al.</i> , 2002	Siqueira Jr <i>et al.</i> , 2002	Shimizu <i>et al.</i> , 2002					
	Marais & Williams, 2001	Coldero <i>et al.</i> , 2002	Leonardo <i>et al.</i> , 2001	Lima <i>et al.</i> , 2001					
	Siqueira Jr <i>et al.</i> , 2002	Leonardo <i>et al.</i> , 2001	Gomes <i>et al.</i> , 2001	Ferraz <i>et al.</i> , 2001					
	Gomes <i>et al.</i> , 2001	Ferraz <i>et al.</i> , 2001	Buck <i>et al.</i> , 2001	Spratt <i>et al.</i> , 2001					
	Buck <i>et al.</i> , 2001	Spratt <i>et al.</i> , 2001	Haapasalo <i>et al.</i> , 2000	Komorowski <i>et al.</i> , 2000					
	Peters <i>et al.</i> , 2000	Siqueira Jr <i>et al.</i> , 2000	Block <i>et al.</i> , 2000	Huang <i>et al.</i> , 2000					
	Komorowski <i>et al.</i> , 2000	Ayhan <i>et al.</i> , 1999	D'Arcangelo <i>et al.</i> , 1999	Kampf <i>et al.</i> , 1999					
	D'Arcangelo <i>et al.</i> , 1999	Heling & Chandler, 1998	Ayhan <i>et al.</i> , 1999	Heling & Chandler, 1998					
	Hartke <i>et al.</i> , 1998	Siqueira Jr <i>et al.</i> , 1998	Siqueira Jr <i>et al.</i> , 1998	Vahdaty <i>et al.</i> , 1993					
	Berutti <i>et al.</i> , 1997	Siqueira Jr <i>et al.</i> , 1997	Heling <i>et al.</i> , 1992	Heling <i>et al.</i> , 1992					
	Laplace <i>et al.</i> , 1997	Kearns <i>et al.</i> , 1995	Wijnbergen & van Mullem, 1991	Stikler & Hewett, 1991					

Solução Irrigadora				
Hipoclorito de sódio		Clorexidina		
AUTORES	Vahdaty <i>et al.</i> , 1993 Ørstavik & Haapasalo, 1991 Gorgul <i>et al.</i> , 1987 Raphael <i>et al.</i> , 1981 van Klingerem <i>et al.</i> , 1980 Skoluda <i>et al.</i> , 1976	Jette & Lapierre <i>et al.</i> , 1992 Harrison <i>et al.</i> , 1990 Haapasalo & Ørstavik, 1987 Harrison & Hand, 1981 Lan, 1978	van Mullen & Wijnbergen, 1989 Stickler <i>et al.</i> , 1987a,b Reverdy <i>et al.</i> , 1986 Harper, 1983 Kin & Konno, 1978 Raahave, 1974 Hesselgrem <i>et al.</i> , 1972 Harold <i>et al.</i> , 1969	Meurman <i>et al.</i> , 1989 Harper & Epis, 1987 Walker & Lowes, 1985 Parsons <i>et al.</i> , 1980 Willians <i>et al.</i> , 1976 Korner <i>et al.</i> , 1973 Hesselgrem <i>et al.</i> , 1971
	Total	67	71	