

## **Concentração fungicida mínima das soluções de clorexidina e hipoclorito de sódio sobre *Candida albicans***

### **Minimal fungicidal concentration of chlorhexidine and sodium hypochlorite on *Candida albicans***

#### **Marcia Maciel MENEZES**

Doutora em Endodontia pela Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – Universidade Estadual Paulista – UNESP – São José dos Campos – SP – Brasil

#### **Luciane Dias de OLIVEIRA**

Pós-Doutoranda em Biopatologia Bucal pela Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – Universidade Estadual Paulista – UNESP – São José dos Campos – SP – Brasil

#### **Cristiane Yumi KOGA-ITO**

Professora Doutora da Disciplina de Microbiologia e Imunologia, do Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – Universidade Estadual Paulista – UNESP – São José dos Campos – SP – Brasil

#### **Antonio Olavo Cardoso JORGE**

Professor Titular da Disciplina de Microbiologia e Imunologia, do Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – Universidade Estadual Paulista – UNESP – São José dos Campos – SP – Brasil

#### **Marcia Carneiro VALERA**

Professora Adjunta da Disciplina de Endodontia, do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – Universidade Estadual Paulista – UNESP – São José dos Campos – SP – Brasil

---

### **RESUMO**

A clorexidina e o hipoclorito de sódio são agentes irrigantes comumente utilizados na Endodontia em diferentes concentrações. A concentração fungicida mínima destas soluções sobre leveduras do gênero *Candida*, que são microrganismos frequentemente associados a infecções endodônticas secundárias e/ou persistentes, é raramente discutida na literatura. Desta forma, a proposta deste estudo foi avaliar a concentração fungicida mínima das soluções irrigadoras clorexidina e hipoclorito de sódio sobre cepas de *C. albicans*. Foram avaliados 21 isolados clínicos e 1 cepa padrão de *C. albicans* frente às seguintes soluções: G1) NaOCl 5,25% e G2) clorexidina 2%, determinando-se a concentração fungicida mínima (CFM). Foram realizadas 12 diluições seriadas das soluções, em placas de microtitulação de 96 poços. Em seguida, foram acrescentados 100 µL de suspensão padronizada da levedura de cada cepa de *C. albicans* nos poços das placas. Os testes foram realizados em duplicata. As placas foram incubadas a 37°C por 24 h e, após, foram realizadas semeaduras em ágar Sabouraud dextrose para determinar a CFM. Os resultados demonstraram que no G1 (NaOCl), a CFM foi 0,04% para 68,2% das cepas e entre 0,02% e 0,01% para 22,7% das cepas. No grupo G2 (clorexidina), a CFM foi entre 0,0037% e 0,0018% para 72,72% das cepas. Assim, pôde-se concluir que ambas soluções apresentaram efetiva atividade fungicida sobre *C. albicans*, sendo que a CFM da solução de clorexidina foi menor que a do hipoclorito de sódio para todas as cepas avaliadas.

### **UNITERMOS**

Irrigantes do canal radicular; hipoclorito de sódio; gluconato de clorexidina; *candida albicans*.

---

## INTRODUÇÃO

A causa primária do insucesso na terapia endodôntica é a persistência da infecção no sistema de canais radiculares, que impede a cicatrização da região periapical (D'ARCANGELO et al.<sup>5</sup>, 1999). O grau de limpeza de um canal radicular após o preparo biomecânico depende não só da técnica de preparo utilizada, mas também do tipo de solução irrigadora empregada, considerando-se sua atividade antimicrobiana, capacidade de penetração nos túbulos dentinários, capacidade de dissolução de tecido orgânico, entre outras propriedades.

O hipoclorito de sódio (NaOCl) é um efetivo agente antimicrobiano, sendo as soluções de NaOCl 1% e 2,5% as mais utilizadas como irrigante de canais radiculares durante a terapia endodôntica (BYSTRÖN e SUNDQVIST<sup>2</sup>, 1983; D'ARCANGELO et al.<sup>5</sup>, 1999; ERCAN et al.<sup>7</sup>, 2004; SIQUEIRA JR et al.<sup>25</sup>, 2007, SAKAMOTO et al.<sup>21</sup>, 2007). De acordo com Siqueira Junior et al.<sup>24</sup> (1998), a ação antimicrobiana do hipoclorito de sódio, quando em contato com restos orgânicos, resulta da formação de ácido hipocloroso (HOCl), que contém cloro ativo, um forte agente oxidante, o qual exerce seu efeito pela oxidação irreversível dos sistemas enzimáticos bacterianos, rompendo as funções metabólicas do microrganismo.

Atualmente, a clorexidina é outro agente irrigante bastante estudado e utilizado em odontologia, apresentando importantes propriedades como amplo espectro de ação antimicrobiana (ZEHNDER<sup>30</sup>, 2006; RUFF et al.<sup>20</sup>, 2006; SENA et al.<sup>22</sup>, 2006; GOMES et al.<sup>13</sup>, 2006), substantividade (ROSENTHAL et al.<sup>19</sup>, 2004; DAMETTO et al.<sup>4</sup>, 2005) e baixa toxicidade (EL KARIM et al.<sup>6</sup>, 2007). Esta substância pode ser empregada como solução irrigadora ou como medicação intracanal na terapia endodôntica. A clorexidina é um agente catiônico que apresenta atividade antimicrobiana. A natureza catiônica da clorexidina promove conexão com o composto amônico da superfície bacteriana (grupos fosfato do ácido teicoico de bactérias Gram-positivas e lipopolissacarídeo nas Gram-negativas), sendo capaz de alterar a integridade bacteriana. A alteração da permeabilidade da membrana citoplasmática promove precipitação das proteínas citoplasmáticas, altera o balanço osmótico celular, interfere no metabolismo, crescimento e divisão celular, inibe a ATP-ase da membrana e inibe os processos anaeróbios (ESTRELA et al.<sup>8</sup>, 2003).

*Candida albicans* é um microrganismo encontrado na cavidade oral e comumente isolado de dentes

com necrose pulpar, estando também associado aos casos de insucesso do tratamento endodôntico (NAJZAR-FLEGER et al.<sup>17</sup>, 1969; KUBO et al.<sup>15</sup>, 1997; WALTIMO et al.<sup>29</sup>, 1997). Najzar-Fleger et al.<sup>17</sup> (1969) estudaram a prevalência de espécies do gênero *Candida* em diferentes locais da cavidade oral e verificaram que este gênero estava presente em 55% dos canais radiculares. Kubo et al.<sup>15</sup> (1997) verificaram isolamento de *Candida albicans* em 11,3% dos dentes com comprometimento pulpar. Waltimo et al.<sup>29</sup> (1997) analisaram os microrganismos dos canais radiculares de dentes com lesão apical, isolando um total de 48 espécies de fungos, sendo que a espécie mais comumente encontrada foi *Candida albicans*, que em 87% dos casos apresentava-se em forma de culturas associadas a outras bactérias, e em apenas 13% dos casos eram culturas isoladas.

Os mecanismos de virulência que poderiam levar à colonização do canal radicular por *C. albicans* têm sido identificados; entre eles está a atividade colagenolítica que pode possibilitar a este fungo a utilização da dentina como fonte de nutriente (FERGUNSON et al.<sup>10</sup>, 2002). Devido *C. albicans* ser um microrganismo comumente isolado de canais radiculares com infecção e também por estar associado à lesões persistentes, é importante a determinação de meios efetivos para sua eliminação do sistema de canais radiculares. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a concentração fungicida mínima (CFM) das soluções de clorexidina e NaOCl sobre diferentes cepas de *C. albicans*.

## Material e Método

Foram utilizados 21 isolados clínicos de *C. albicans* e uma cepa padrão ATCC 18804, as quais foram semeadas em ágar Sabouraud (Difco, Detroit, USA) e incubadas a 37°C por 24 horas. Em seguida, foram realizadas suspensões de cada cepa, contendo 10<sup>6</sup> céls/mL, sendo a contagem de células realizada em câmara de Neubauer, pelo método de exclusão com azul de tripan (Sigma, St Louis, USA).

Foram realizadas doze diluições seriadas (Quadro 1) das soluções irrigadoras (digluconato de clorexidina 2% e hipoclorito de sódio 5,25% - Aqua Marina Farmácia de Manipulação – São José dos Campos – SP, Brasil) em seis placas de polistireno de 96 poços (Costar, New York, USA), para cada irrigante, sendo colocados 100 µL da diluição em cada poço da placa. Após, foram acrescentados 100 µL da suspensão de cada cepa de *C. albicans* (10<sup>6</sup> céls/mL) nos poços das placas, sendo os testes realizados em duplicata.

**Quadro 1 – Concentração do agente irrigante após cada diluição seriada.**

DILUIÇÕES	NaOCl 5,25%	clorexidina 2%
1	2,62%	1%
2	1,31%	0,5%
3	0,65%	0,25%
4	0,32%	0,125%
5	0,16%	0,062%
6	0,08%	0,031%
7	0,04%	0,015%
8	0,02%	0,0075%
9	0,01%	0,0037%
10	0,005%	0,0018%
11	0,0025%	0,0009%
12	0,0012%	0,0004%

Em 22 poços, foram colocadas somente as suspensões de cada cepa de *C. albicans* (100 µL) acrescido de caldo Sabouraud (100 µL), para controle do crescimento das cepas.

As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. A seguir, todas as amostras foram semeadas, em duplicata, em ágar Sabouraud para determinação da CFM. Após incubação a 37°C por 48 horas, foi verificado o crescimento microbiano e determinada a CFM dos irrigantes para cada cepa.

## RESULTADOS

Os resultados da concentração fungicida mínima (CFM) dos agentes irrigantes para cada cepa de *C. albicans* estão apresentados na Tabela 1.

## DISCUSSÃO

Apesar do mecanismo exato de ação antimicrobiana do NaOCl não ter sido elucidado, sabe-se que na presença de água, forma-se o ácido hipocloroso que contém cloro ativo, um forte agente oxidante, que exerce efeito antibacteriano pela oxidação irreversível dos grupos sulfidril de enzimas essenciais, interrompendo as funções metabólicas da célula bacteriana. O cloro pode ainda se ligar aos componentes do citoplasma formando compostos N-cloro, altamente tóxicos, que destroem os microrganismos (SIQUEIRA JUNIOR et al.<sup>24</sup>, 1998).

Byströme Sundqvist<sup>2</sup> (1983) verificaram que o NaOCl 0,5% foi mais efetivo do que a solução salina como agente irrigante, comprovando as propriedades antibacterianas desta substância. Entretanto, quanto maior a concentração desta substância, maior será a efetividade e maior o efeito citotóxico. Por outro lado, a maior diluição implica em uma perda da efetividade antibacteriana e de dissolução de tecidos (SÓ et al.<sup>26</sup>, 1997). Embora alguns autores não tenham verificado a diminuição da efetividade antibacteriana com concentrações menores de NaOCl (BYSTRÖM e SUNDQVIST<sup>3</sup>, 1985; D'ARCANGELO et al.<sup>5</sup>, 1999; SIQUEIRA JUNIOR et al.<sup>23</sup>, 2000), outros verificaram que quanto maior a concentração desta substância, maior é seu efeito antimicrobiano (SIQUEIRA JUNIOR et al.<sup>24</sup>, 1998; GOMES et al.<sup>12</sup>, 2001; VIANNA et al.<sup>27</sup>, 2004; BERBER et al.<sup>1</sup>, 2006). Este efeito foi confirmado no presente estudo, pois a utilização de NaOCl 5,25% foi efetiva, resultando em MCF 0,04% para 68,2% das cepas e entre 0,02% e 0,01% para 22,7% das cepas.

Estrela et al.<sup>9</sup> (2003) verificaram que a mínima concentração inibitória (MIC) do NaOCl 1% foi 0,1% para *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *C. albicans* e de 1% para *Bacillus subtilis* e para a mistura destes microrganismos. As mínimas concentrações inibitórias (MIC) apresentadas por estes autores foram maiores do que as concentrações fungicidas mínimas (CFM) encontradas no presente estudo e isto pode ser explicado pela concentração inicial de NaOCl avaliada. No estudo de Estrela et al.<sup>9</sup> (2003) a concentração inicial foi de 1% e na presente pesquisa foi de 5,25%. Assim, os resultados sugerem o uso de baixas concentrações, como NaOCl 1%, pode ser recomendada, pois apresenta atividade antimicrobiana, dissolução de tecido e citotoxicidade aceitável.

A clorexidina é uma substância catiônica que age através da adsorção na membrana das células dos microrganismos, causando escoamento dos componentes intracelulares. Em baixas concentrações, moléculas de baixo peso molecular escoam, especialmente potássio e fósforo, resultando em um efeito bacteriostático. Em altas concentrações, a clorexidina atua de forma bactericida devido a precipitação e/ou coagulação do citoplasma, provavelmente causada pela ligação cruzada com as proteínas (FERRAZ et al.<sup>11</sup>, 2001; GOMES et al.<sup>12</sup>, 2001; VIANNA et al.<sup>28</sup>, 2006).

Vários estudos têm demonstrado que a clorexidina possui ação antimicrobiana (GOMES et al.<sup>12</sup>, 2001; ESTRELA et al.<sup>8</sup>, 2003; MENEZES et al.<sup>16</sup>, 2004;

**Tabela 1 – Resultados da concentração fungicida mínima (CFM) das soluções irrigadoras para cada cepa de *C. albicans***

Cepas	Clorexidina	NaOCl
T15	8 (0,0075%)	7 (0,04%)
T12	11 (0,0009%)	7 (0,04%)
ATCC	9 (0,0037%)	7 (0,04%)
T50	10 (0,0018%)	7 (0,04%)
T13	7 (0,015%)	8 (0,02%)
C7	9 (0,0037%)	8 (0,02%)
T22a	7 (0,015%)	7 (0,04%)
C4	9 (0,0037%)	7 (0,04%)
C16	10 (0,0018%)	7 (0,04%)
C2	10 (0,0018%)	9 (0,01%)
T39	9 (0,0037%)	8 (0,02%)
T10	9 (0,0037%)	7 (0,04%)
C38	9 (0,0037%)	7 (0,04%)
T30	9 (0,0037%)	7 (0,04%)
T33a	9 (0,0037%)	7 (0,04%)
T7	9 (0,0037%)	9 (0,01%)
T48	9 (0,0037%)	7 (0,04%)
C19	10 (0,0018%)	6 (0,08%)
T1	10 (0,0018%)	7 (0,04%)
C39	11 (0,0009%)	7 (0,04%)
T40	10 (0,0018%)	6 (0,08%)
C1	7 (0,015%)	7 (0,04%)

Com base nesta Tabela, pôde-se verificar que para NaOCl, a CFM foi 0,04% (diluição 7) para 68,2% das cepas e entre 0,02% (diluição 8) e 0,01% (diluição 9) para 22, 7% das cepas. Para a solução de clorexidina, a CFM foi entre 0,0037 (diluição 9) e 0,0018% (diluição 10) para 72,72% das cepas.

SENA et al.<sup>22</sup>, 2006; GOMES et al.<sup>13</sup>, 2006). Estrela et al.<sup>8</sup> (2003) demonstraram que *S. aureus*, *E. faecalis* e *C. albicans* foram altamente sensíveis à clorexidina. A MIC de clorexidina foi de 0,0000002% para *S. aureus* e de 0,02% para *E. faecalis* e *C. albicans*. Os resultados da presente pesquisa concordam com os estudos anteriores, pois a clorexidina foi eficiente na eliminação das 22 cepas de *C. albicans*, resultando em CFM entre 0,0037% e 0,0018% para 72,72% das cepas avaliadas.

Apesar dos resultados conflitantes encontrados na literatura em relação à atividade antimicrobiana do NaOCl e da clorexidina, é importante enfatizar que o método experimental e o tempo de exposição podem influenciar na magnitude do efeito antimicrobiano da solução irrigante. Estrela et al.<sup>8</sup> (2003) verificaram a ação antimicrobiana do NaOCl 2% e clorexidina usando dois diferentes métodos. A ação antimicrobiana do NaOCl foi melhor no método de exposição direta enquanto a clorexidina foi mais eficiente no

método de difusão em ágar. A diferença entre as velocidades de difusão em ágar das substâncias testadas pode representar limitação importante considerando-se propósitos comparativos.

Segundo Ringel et al.<sup>18</sup> (1982) a vantagem mais importante do NaOCl em relação à clorexidina é sua propriedade de dissolução de tecido. Para Jeansonne e White<sup>14</sup> (1994), se a atividade antimicrobiana fosse a única característica de um agente irrigante ideal, a clorexidina seria o irrigante de escolha, pois é tão efetiva quanto o NaOCl e relativamente não tóxica. No entanto, o NaOCl possui outra importante característica, a dissolução de tecido orgânico. Assim, estes

autores consideram o NaOCl a solução irrigadora de escolha, ficando a clorexidina como segunda opção, especialmente em casos de hipersensibilidade ao NaOCl.

## CONCLUSÃO

As soluções de hipoclorito de sódio e clorexidina apresentaram efetiva atividade fungicida sobre diferentes cepas de *C. albicans*, sendo que a MCF da solução de clorexidina foi menor que a do hipoclorito de sódio para todas as cepas avaliadas.

---

## ABSTRACT

Chlorhexidine and sodium hypochlorite are irrigant agents commonly used in Endodontics at different concentrations. The study of their minimal fungicide concentration on *Candida* yeasts, that are microorganisms frequently associated to secondary and/or refractory endodontic infections, is rarely discussed in the literature. The aim of this study was to evaluate the minimal fungicide concentration of chlorhexidine and sodium hypochlorite on *C. albicans* isolates. Twenty-one isolates and standard strain were tested with G1) NaOCl and G2) chlorhexidine, determining the minimal fungicide concentration (MFC). Twelve serial dilutions of the solutions were obtained in 96-well microtitulation plates. Then, 100 µl of the standardized yeast suspension were added to each well of the plate. Tests were performed in duplicate. Plates were incubated at 37°C for 24 h and, then, plating on Sabouraud dextrose agar was performed to determine MFC. Results showed that in G1(NaOCl), MCF was 0.04% for 68.2% of the isolates, and between 0.02% and 0.01% for 22.7% of the isolates. In group G2 (chlorhexidine), MCF values were between 0.0037% and 0.0018% for 72.72% of the isolates. It could be concluded that both solutions presented effective fungicide activity on *C. albicans* and MFC of chlorhexidine was lower than the value of sodium hypochlorite for all the evaluated isolates.

## UNITERMS

Root canal irrigants; sodium hypochlorite; chlorhexidine; candida albicans.

---

## REFERENCES

- Berber VB, Gomes BP, Sena NT, Vianna ME, Ferraz CC, Zaia AA, et al. 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.
- Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0,5 percent hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg.* 1983;55(3):307-11.
- Byström A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J.* 1985;18(1):35-40.
- Dametto FR, Ferraz CC, Gomes BPA, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FL. 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.
- D'arcangelo C, Varvara G, De Fazio P. An evaluation of the action of different root canal irrigants of facultative aerobic-anaerobic, obligate anaerobic, and microaerophilic bacteria. *J Endod.* 1999 May;25(5):351-3.
- El-Karim I, Kennedy J, Hussey D. The antimicrobial effects of root canal irrigation and medication. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007;103(4):560-9.
- 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 Feb;30(2):84-7.
- Estrela C, Ribeiro RG, Estrela CR, Pecora JD, Sousa-Neto MD. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. *Braz Dent J.* 2003;14(1):58-62. Epub 2003 Jul 31.
- Estrela CR, Estrela C, Reis C, Bammann LL, Pecora JD. Control of microorganisms *in vitro* by endodontic irrigants. *Braz Dent J.* 2003;14(3):187-92. Epub 2004 Mar 29.
- Ferguson JW, Hatton JF, Gillespie MJ. Effectiveness of intracanal irrigants and medications against the yeast *Candida albicans*. *J Endod.* 2002 Feb;28(2):68-71.
- 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 Jul;27(7):452-5.

12. Gomes BP, Ferraz CC, 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 Sep;34(6):424-8.
13. Gomes BPF, Vianna ME, Sena NT, Zaia AA, Ferraz CC, 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 Radiol and Endod*. 2006;102(4):544-50.
14. Jeanson MJ, White RR. A comparison of 2,0% chlorhexidine gluconate and 5,25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. *J Endod*. 1994 June; 20(6):275-8.
15. Kubo CH, Gomes AP, Jorge AOC. Isolamento de Candida de canais radiculares e verificação de sua sensibilidade a medicamentos utilizados na prática endodôntica. *Rev Odontol Unid. 1997 jul./dez.*; 9(2):119-30.
16. 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 May;37(5):311-9.
17. Najzar-Fleger D. The incidence of Candida and Rhodotorula in the root canal. *Acta Stomatol Croat*. 1969;4(4):174-80.
18. Ringel 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 May;8(5):200-4.
19. Rosenthal S, Spangberg L, Safavi K. Chlorhexidine substantivity in root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol Endod*. 2004;98(4):488-92.
20. Ruff ML, McClanahan SB, Babel BS. In vitro antifungal efficacy of four irrigants as a final rinse. *J Endod*. 2006;32(4):331-3.
21. Sakamoto M, Siqueira Jr JF, Rôças IN, Benno Y. Bacterial reduction and persistence after endodontic treatment procedures. *Oral Microbiol Immunol*. 2007;22(1):19-23.
22. Sena NT, Gomes BP, Vianna ME, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC et al. In vitro antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against selected single-species biofilms. *Int Endod J*. 2006;39(11):878-85.
23. Siqueira Junior JF, Rôças 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 Jun;26(6):331-4.
24. Siqueira Junior JF, Batista MM, Fraga RC, de Uzeda M. Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gram-negative anaerobes and facultative bacteria. *J Endod*. 1998 Jun;24(6):414-6.
25. Siqueira Junior JF, Guimarães-Pinto T, Rôças IN. Effects of chemomechanical preparation with 2.5% sodium hypochlorite and intracanal medication with calcium hydroxide on cultivable bacteria in infected root canals. *J Endod*. 2007;33(7):800-5.
26. Só MV, Cemin A, Pereira EP, Irala LED, et al. Tissue dissolution ability of sodium hypochlorite from different manufacturers. *Braz Endod J*. 1997;2(2):33-5.
27. 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 Jan;97(1):79-84.
28. Vianna ME, Horz HP, Gomes BP, Conrado G. In vivo evaluation of microbial reduction after chemo-mechanical preparation of human root canals containing necrotic pulp tissue. *Int Endod J*. 2006;39(6):484-92.
29. Waltimo TM, Siren EK, Torkko HL, Olsen I, Haapasalo MP. Fungi in therapy-resistant apical periodontitis. *Int Endod J*. 1997 Mar;30(2):96-101.
30. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod*. 2006;32(5):389-98.

Recebido em 19/09/05

Aprovado em 28/03/08

Correspondência:

Marcia Maciel MENEZES

Av. Cassiano Ricardo, 71/101, Jd Alvorada

São José dos Campos – SP. Cep: 12240-540.

E-mail: mamaci2000@yahoo.com.br