

# Могућности примене хлорхексидина као средства за иригацију канала корена зуба – антимикуробна и СЕМ испитивања

Виолета Павловић, Славољуб Живковић

Клиника за болести зуба, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија

## КРАТАК САДРЖАЈ

**Увод** Избор одговарајућег средства за испирање канала корена може значајно утицати на исход ендодонтског лечења зуба.

**Циљ рада** Циљ рада је био да се тестом дифузије у агару провери антимикуробни ефекат двоцентног раствора хлорхексидин-диглуконата (CHX) на пет врста микроорганизама, те да се скенинг-електронмикроскопском (СЕМ) анализом испита његова ефикасност у чишћењу зидова канала корена зуба.

**Методе рада** Тестом дифузије у агару провераван је антимикуробни ефекат 5,25% раствора натријум-хипохлорита (NaOCl), 2,5% раствора NaOCl и 2% раствора CHX. Као тест-микроорганизми коришћени су *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* и *Candida albicans*. СЕМ испитивања су изведена на 12 екстрахованих хуманих једнокорених зуба. Препарација канала свих узорака је реализована тзв. *step-back* техником и К-турпијама. Током препарације узорци су испирани са по 1 ml одабраног ириганса (5,25% NaOCl, 2,5% NaOCl, 15% EDTA и 2% CHX) између примене сваког инструмента. Узорци су пресеци уздужно, а квалитет чишћења зидова је посматран на скенинг-електронском микроскопу. Добијени резултати су статистички обрађени применом Студентовог *t*-теста.

**Резултати** Најбољи антимикуробни ефекат на све испитане микроорганизме показало је 5,25% раствора NaOCl. Раствор NaOCl од 2,5% и CHX од 2% такође су показали антимикуробни ефекат на све испитане микроорганизме, али су зоне инхибиције њиховог раста биле мање. Најбољи ефекат чишћења зидова канала корена (оцена 2,33) постигнут је применом 15% EDTA. После примене 5,25% NaOCl, 2,5% NaOCl и 2% CHX на зидовима канала корена постојала је велика количина размазног слоја (оцене 4 и 5).

**Закључак** Двоцентни раствор CHX је показао снажно антимикуробно дејство на све испитане микроорганизме, али није био ефикасан у уклањању размазног слоја.

**Кључне речи:** иригација канала корена; NaOCl; хлорхексидин; размазни слој

## УВОД

Препарација канала корена зуба, осим механичког аспекта – инструментације, има и свој хемијски аспект – иригацију. Током ендодонтског лечења ириганси се примењују да физички уклоне дебрис из канала, да подмазивањем инструмената олакшају препарацију и да растворе органско и неорганско ткиво и дебрис у каналу корена. С обзиром на то да микроорганизми имају главну улогу у настанку и опстанку запаљењских реакција у пулпном и перирадикуларном ткиву, веома је важно да средства за иригацију имају и антимикуробна својства [1]. Инструментацијом се на зидовима канала корена зуба формира размазни слој, који прекрива зидове канала и затвара отворе дентинских тубула. Овај слој је претежно неорганског састава (пореклом од саструганог дентина), али садржи и витално, односно некротично ткиво пулпе, делове одонтбластних наставака, микроорганизме и ћелије крви. Стога је уклањање размазног слоја неопходно ради ослобађања од микроорганизама и њихових токсина у каналу корена, односно побољшања адхезије ендодонтских силера за дентин зидова канала корена и смањења коронарног и апикалног микроцуруња [2].

Најчешће коришћен ендодонтски ириганс данас је натријум-хипохлорит (NaOCl) због његовог снажног антимикуробног дејства [3-7] и способности растварања виталног и некротичног пулпног ткива [8]. За испирање канала корена користи се у концентрацијама од 0,5% до 5,25%.

За уклањање размазног слоја са зидова канала корена најчешће се користи етилендиаминететраацетна киселина (енгл. *ethylenediaminetetraacetic acid* – EDTA). Она припада групи хелатних агенса и олакшава препарацију канала корена зуба. Потврђено је и да ефикасно уклања размазни слој, због чега се користи и за чишћење инструментираних зидова канала [9, 10].

Хлорхексидин (CHX) је раствор развијен четрдесетих година двадесетог века. Према хемијској формули, он је катјонски бисбигуанид. Најстабилнији је у форми соли и најчешће се припрема у облику CHX диглуконата (због добре растворљивости ове соли у води). У стоматологији се најпре користио за дезинфекцију руку, а данас се широко користи у превенцији каријеса и периодонталној терапији. Истраживања с краја прошлог века су показала да се CHX, захваљујући широком спектру антимикуробног деловања, минималној токсичности и продуженој анти-

## Correspondence to:

Violeta PAVLOVIĆ  
Antifašističke borbe 57  
11000 Beograd  
Srbija  
nemanja.petrovic@stav.rs

микробној активности, може применити и у области ендодонтске терапије [11]. За иригацију канала корена је препоручен у концентрацијама од 0,2% до 2%.

## ЦИЉ РАДА

Циљ рада је био да се тестом дифузије у агару провери антимикробно дејство двопроцентног раствора *CHX* и различитих концентрација раствора *NaOCl* на пет врста микроорганизама и да се скенинг-електронмикроскопском (СЕМ) анализом испита њихова ефикасност у чишћењу зидова канала корена зуба.

## МЕТОДЕ РАДА

Испитивања антимикробне активности ендодонтских ириганса обављена су у условима *in vitro*. Проверено је антимикробно дејство 5,25% раствора *NaOCl*, 2,5% раствора *NaOCl* и 2% раствора *CHX* диглуконата. Физиолошки раствор је коришћен као негативна контрола. Антимикробни ефекат испитаних раствора је провераван тестом дифузије у агару. Као тест-микроорганизми коришћени су: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus mutans* ATCC 35668, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Candida albicans* ATCC 10231. Бујонске културе микроорганизама старе 18 сати подешаване су на густину Мекфарландовог (*McFarland*) стандарда који је одговарао броју од  $10^6$  по милилитру микроорганизама, а потом су засејаване на одговарајуће хранљиве подлоге. *Staphylococcus aureus* је култивисан на крвном Милер-Хинтоновом (*Mueller-Hinton*) агару (Институт за имунологију и вирусологију „Торлак”, Београд), *Streptococcus mutans* на *TYC SB* агару [12], *Enterococcus faecalis* и *Escherichia coli* такође на крвном Милер-Хинтоновом агару и *Candida albicans* на *Sabouraud* агару (Институт за имунологију и вирусологију „Торлак”, Београд). Пре постављања испитаних раствора, свеже засејане културе микроорганизама су инкубирани 15 минута на 37°C у термостату. У припремљеним подлогама су стерилним, шупљим стакленим штапићем прављена удубљења пречника од 5 mm у које је пипетом укапавано по 1  $\mu$ l испитаног раствора. Сваки материјал (ириганс) је испитан на осам удубљења. У девето удубљење постављан је физиолошки раствор. Засејане плоче инкубирани су аеробно, односно анаеробно (*GAS-PAK* ( $CO_2-H_2$ )-систем) на 37°C током 24 часа. Резултати антимикробног деловања ириганса тумачени су на основу дужине пречника зоне инхибиције раста микроорганизама (изражен у mm). На свих осам удубљења мерења су изведена три пута. За утврђивање антимикробног ефекта испитаних ириганса узимана је средња вредност измерених зона инхибиције раста микроорганизама.

СЕМ испитивања су реализована у условима *in vitro* на 12 екстрахованих хуманих једнокорених зуба. Врх корена сваког узорка прекривен је розе воском, да би

се симулирао апикални контрапритисак и спречило истицање ириганса кроз апикални форамен током препарације канала корена. Узорак је подељен у четири групе према иригансу коришћеном током инструментације 5,25% раствора *NaOCl*, 2,5% раствора *NaOCl*, 2% раствора *CHX* диглуконата и 15% раствора *EDTA*. Препарација канала корена свих узорака изведена је инструментима типа К-турпија и *step-back* техником до димензије 30 на радној дужини. За испирање сваког канала корена коришћен је по 1 ml ириганса између сваког наредног инструмента. Узорци су испирани пластичним шприцевима запремине 2 ml и конвенционалном иглом величине 25 савијеном под углом од 30 степени. Након тога су уклоњене крунице зуба, корени су уздужно подељени и одабране полови не припремљене за посматрање на скенинг-електронском микроскопу *JEOL JSM-8440 A*. Фотографије су направљене у средњој трећини канала корена камером *Mammia* 6x9. Зид канала корена зуба анализиран је при увеличању од 300 и 1000 пута.

За квантитативну процену застурљености размазног слоја на зидовима канала корена зуба након инструментације и иригације коришћени су критеријуми Хилсмана (*Hülsmann*) и сарадника [13]. Оцене од 1 до 5 су означавале следеће: 1 – нема размазног слоја, дентински тубули отворени; 2 – постоји мала количина размазног слоја, отворено неколико дентинских тубула; 3 – хомогени размазни слој прекрива зид канала корена, отворено само неколико дентинских тубула; 4 – читав зид канала корена прекривен хомогеним размазним слојем, дентински тубули нису отворени; 5 – обилан, нехомогени размазни слој прекрива цео зид канала корена.

Добијени резултати статистички су обрађени Студентовим *t*-тестом.

## РЕЗУЛТАТИ

Резултати испитивања антимикробних особина раствора за иригацију канала корена приказани су у табели 1. Најбољи антимикробни ефекат на све испитане врсте микроорганизама показао је 5,25% раствора *NaOCl*. Просечне вредности зона инхибиције раста биле су највеће за *C. albicans* (32,10 mm), а најмање за *E. coli* (23,20 mm). Најбољи антимикробни ефекат 2,5% раствора *NaOCl* показао је на *S. mutans* (13,41 mm), а најслабији на *E. faecalis* (8,90 mm). Најбољи антимикробни ефекат 2% раствора *CHX* показао је на *S. mutans* (20,10 mm), а најслабији на *S. aureus* (9,90 mm).

Статистичком анализом су утврђене значајне разлике у антимикробном деловању испитаних раствора на *S. aureus*, и то између 5,25% *NaOCl* и 2% *CHX* ( $p < 0,001$ ), те између 5,25% *NaOCl* и 2,5% *NaOCl* ( $p < 0,001$ ). Анализом антимикробног ефекта испитаних ириганса на *S. mutans* статистички значајна разлика је установљена између 5,25% *NaOCl* и 2,5% *NaOCl* ( $p < 0,001$ ), између 5,25% *NaOCl* и 2% *CHX* ( $p < 0,001$ ) и између 2% *CHX* и 2,5% *NaOCl* ( $p < 0,001$ ). Статистичком анализом утвр-

**Табела 1.** Антимикробна активност испитаних ириганса (просечне вредности зона инхибиције раста микроорганизама у mm)  
**Table 1.** Antimicrobial activity of the tested irrigants (mean zones of inhibition in mm)

Микроорганизам Microorganism	5.25% NaOCl			2.5% NaOCl			2% CHX		
	$\bar{X}$	SD	CV %	$\bar{X}$	SD	CV %	$\bar{X}$	SD	CV %
<i>S. aureus</i>	25.85	3.07	11.80	9.30	1.34	14.38	9.90	2.61	26.31
<i>S. mutans</i>	29.78	2.98	10.10	13.41	2.19	16.31	20.10	2.41	11.98
<i>E. faecalis</i>	24.30	2.64	10.88	8.90	1.30	14.56	11.20	1.72	15.36
<i>E. coli</i>	23.20	3.63	15.63	12.10	1.88	15.55	12.30	1.85	15.07
<i>C. albicans</i>	32.10	4.09	12.74	10.30	1.25	12.11	17.90	2.36	13.16

$\bar{X}$  – средња вредност; SD – стандардна девијација; CV % – коефицијент варијације  
 X – mean value; SD – standard deviation; CV % – coefficient of variation

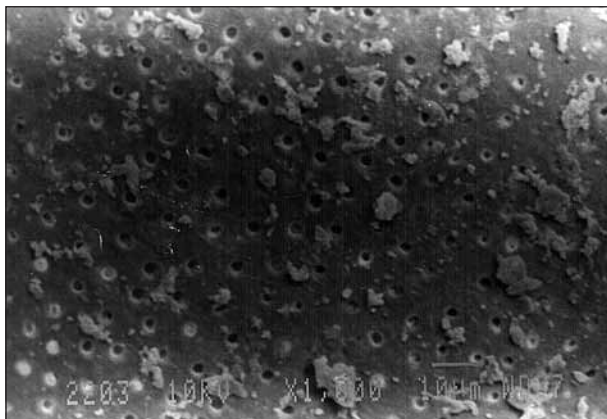
ђене су значајне разлике у антимикробном деловању испитаних ириганса на *E. faecalis*, и то између 5,25% NaOCl и 2,5% NaOCl ( $p < 0,001$ ), између 5,25% NaOCl и 2% CHX ( $p < 0,001$ ), те између 2% CHX и 2,5% NaOCl ( $p < 0,001$ ). Поређењем вредности зона инхибиције раста *E. coli* након примене раствора уочена је статистички значајна разлика између 5,25% NaOCl и 2,5% NaOCl ( $p < 0,001$ ) и између 5,25% NaOCl и 2% CHX ( $p < 0,001$ ). Статистички значајна разлика антимикробног деловања на *C. albicans* уочена је између свих испитаних раствора: 5,25% NaOCl и 2,5% NaOCl ( $p < 0,001$ ), између 2% CHX и 2,5% NaOCl ( $p < 0,001$ ) и између 5,25% NaOCl и 2% CHX ( $p < 0,001$ ).

Резултати СЕМ истраживања приказани су у табели 2 и на сликама 1, 2 и 3. Најбољи ефекат чишћења зидова канала корена (оцена 2,33) постигнут је применом 15% раствора EDTA, након чега је на зиду канала корена уочена мала количина размазног слоја с јасно видљивим отворима дентинских тубула. После примене 5,25% и 2,5% раствора NaOCl и 2% раствора CHX на зидовима канала корена уочена је велика ко-

**Табела 2.** Просечне оцене (три мерења) размазног слоја на зидовима канала корена зуба

**Table 2.** Mean score (three measures) of smear layer on the dentine walls

Ириганс Irrigant	Оцена / Score		
	$\bar{X}$	SD	CV %
5.25% NaOCl	4.67	0.58	12.42
2.5% NaOCl	5.00	0.00	0.00
2% CHX	4.00	1.00	25.00
15% EDTA	2.33	0.58	24.89



**Слика 1.** Површина зида канала узорка испираног са 15% EDTA (SEM,  $\times 300$ ). Постоји мала количина размазног слоја, уочавају се отвори дентинских тубула (оцена 2).

**Figure 1.** Canal wall surface of a sample irrigated with 15% EDTA (SEM,  $\times 300$ ). Small amount of smear layer, dentinal tubules open (score 2).

личина размазног слоја (оцене 4 и 5). Статистичком обрадом података утврђене су значајне разлике у ефикасности чишћења зидова канала између 15% EDTA и 2,5% NaOCl ( $p < 0,01$ ), између 15% EDTA и 5,25% NaOCl ( $p < 0,01$ ), између 15% EDTA и 2% CHX ( $p < 0,02$ ) и између 2% CHX и 2,5% NaOCl ( $p < 0,03$ ).

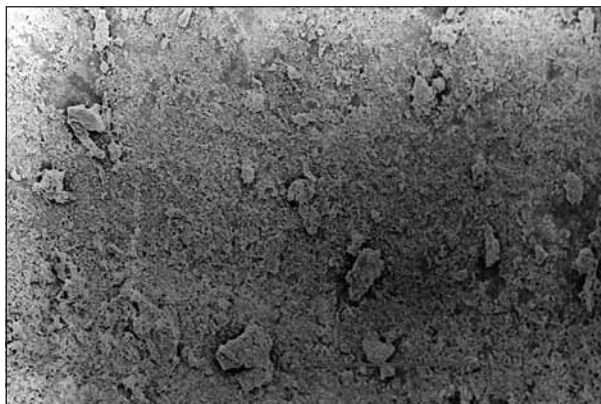
## ДИСКУСИЈА

О антимикробним ефектима ендодонтских ириганса објављен је велики број радова, а тест дифузије у агару



**Слика 2.** Површина зида канала узорка испираног са 2% CHX (SEM,  $\times 300$ ). Зид канала прекривен размазним слојем, дентински тубули нису отворени (оцена 4).

**Figure 2.** Canal wall surface of a sample irrigated with 2% CHX (SEM,  $\times 300$ ). Complete root canal wall covered by a smear layer, no open dentinal tubules (score 4).



**Слика 3.** Површина зида канала испираног са 2,5% NaOCl (SEM,  $\times 300$ ). Читав зид канала прекривен нехомогеним размазним слојем (оцена 5).

**Figure 3.** Canal wall surface of a sample irrigated with 2.5% NaOCl (SEM,  $\times 300$ ). Non-homogenous smear layer covers the complete canal wall (score 5).

је усвојен као основни експериментални модел за процену њихове антимикробне активности [3, 5, 6]. Антимикробна активност хемијских средстава у условима *in vitro* зависи, пре свега, од *pH* агара, осетљивости коришћеног агенса, броја бактерија, времена инкубације и метаболичке активности микроорганизама. Такође је значајна способност испитаног агенса да дифундује у агару [5]. Одабрани тест-микроорганизми за ово испитивање су саставни део флоре инфицираног канала корена зуба. Инфекција канала корена одликује доминација стриктних анаероба, с понеким анаеробима и ретким аеробним врстама [1]. Међу резистентне врсте најчешће се убрајају стрептококе, ентерококе, стафилококе, фузобактерије, пептострептококе и лактобацили [14].

Последњих година посебну пажњу заокупља *E. faecalis* због резистенције на антимикробне агенсе који се обично користе током ендодонтског лечења. *E. faecalis* је Грампозитивна анаеробна бактерија која се ретко налази у примарним ендодонтским инфекцијама, док се веома често открива у случајевима неуспешних ендодонтских лечења, што показује да може преживети процедуре дезинфекције канала. У примарним инфекцијама чешће се изолује из асимптоматских, него из симптоматских случајева, што упућује на то да ентерококе нису микроорганизми велике вируленције и да је њихова патогеност пре у вези с њиховом резистенцијом на антимикробне агенсе [15]. *E. faecalis* има неколико механизма који му омогућавају да преживи хемомеханичке процедуре. Пре свега, резистентност на висок *pH*, што је његова препознатљива особина. За његову елиминацију потребне су вредности *pH* веће од 11,5. Сматра се да је примарни фактор у резистенцији на висок *pH* протонска пумпа бактеријске ћелије која ацидификацијом цитоплазме одржава *pH* у физиолошким вредностима, обезбеђујући нормално функционисање ензима и протеина бактеријске ћелије. Занимљиво је да након излагања високом *pH* *E. faecalis* развија одговор на стрес, што доводи до његове заштите наспрам широког спектра других, штетних агенса [16]. За разлику од већине ендодонтских патогена, у каналу се може наћи и у монокултури, односно његово преживљавање не зависи од присуства других микроорганизама [15]. Ова бактерија може колонизовати дентинске тубуле до различите дубине, па често није доступна деловању инструмената и ириганса током извођења хемомеханичких поступака [6]. Због свега наведеног, када се једном нађе у каналу корена, *E. faecalis* показује екстремну отпорност на медикаментно лечење и може бити озбиљна препрека повољном исходу ендодонтског лечења, а нарочито поновног лечења. Савремена литература указује и на заступљеност гљивица у инфицираним каналима корена, најчешће *C. albicans*. Она, слично као и *E. faecalis*, показује резистенцију на неке медикаменте, па се стога последњих година повећало интересовање за њену улогу у перзистирајућим или секундарним инфекцијама канала корена зуба [4].

Најбољи антимикробни ефекат на све испитане врсте микроорганизама показао је раствор *NaOCl* од

5,25%. Нешто мање зоне инхибиције раста микроорганизама уочене су после примене 2% раствора *CHX*, односно 2,5% раствора *NaOCl*. Снажан антимикробни ефекат 5,25% раствора *NaOCl* на различите врсте микроорганизама приказан је у бројним, методолошки различитим, истраживањима *in vitro* [3, 5, 6, 7, 17]. Она су показала да раствор *NaOCl* од 5,25% задржава своју антимикробну ефикасност и у полимикробним каналним инфекцијама у условима сложене анатомије канала корена [18]. Претпоставља се да *NaOCl* своје бактерицидно деловање испољава иреверзибилном оксидацијом *SH* група бактеријских ензима, што доводи до смањења активности или потпуног инактивисања ћелијских ензима и прекидања метаболичке функција бактеријске ћелије. Такође, хлор са компонентама бактеријске цитоплазме формира токсичне комплексе (*NaCl* смесе) који уништавају микроорганизме [17].

У овом истраживању двоипроцентни раствор *NaOCl* је показао антимикробно деловање на све испитане микроорганизме, али су зоне њихове инхибиције раста биле мање него после примене 5,25% раствора *NaOCl*. Сикеира (*Siqueira*) и сарадници [6] су тестом дифузије у агару такође уочили смањење антимикробне активности раствора са смањењем његове концентрације. Према мишљењу ових аутора, и разблажени раствори (2,5% и 1%) задржавају задовољавајуће антимикробно деловање. Спрат (*Spratt*) и сарадници [14] су на бактеријским биофилмовима такође демонстрирали ефикасност разблаженог раствора *NaOCl* (2,25%) истовремено указујући на то да врста микроорганизама има утицаја на време потребно за његову елиминацију. Приликом одабира концентрације за клиничку примену треба имати у виду и то да реакција хипохлорита с органским дебрисом у каналу корена инактивира хипохлорит смањујући његов антибактеријски капацитет, што је нарочито изражено код слабијих раствора [19].

У овом истраживању проверавана су антимикробна својства двоцентног *CHX*. Иако су његове добре антимикробне особине потврђене и у растворима концентрација од 0,12%, 0,2%, 0,5% и 1% [3, 4, 20], за ово истраживање је одабран раствор од 2%, јер он при овој концентрацији има већи бактерицидни капацитет, који се одржава дуже време [21]. Осим тога, у овој концентрацији раствор испољава минималну токсичност, што његову клиничку примену чини безбедном [22]. Антимикробно деловање *CHX* је последица интеракције позитивно наелектрисаних молекула *CHX* и негативно наелектрисаних фосфатних група на зиду бактеријске ћелије. *CHX* у малим концентрацијама показује бактериостатски ефекат, док у већим концентрацијама, испољава бактерицидно дејство услед преципитације, односно коагулације протеина, што је вероватно изазвано њиховим унакрсним повезивањем [11]. Значајно је да је двоцентни раствор *CHX* показао антимикробно деловање на све микроорганизме испитане у овом истраживању. Добијени резултати су у складу с налазима Ајхана (*Ayhan*) и сарадника [5], који су такође након примене ове концентра-

ције *CHX* уочили велике зоне инхибиције раста *E. faecalis*, *S. aureus*, *S. salivarius*, *S. pyogenes*, *E. coli* и *C. albicans*. Џинсон (*Jeansonne*) и Вајт (*White*) [23] су у истраживању на екстрахованим зубима (са дијагнозом некрозе пулпе и периапексног обољења) уочили значајно смањење броја бактерија после примене двопрцентног раствора *CHX*, што потврђује антимикуробну ефикасност овога раствора и у условима сложене морфолошке структуре канала зуба.

Антимикуробна активност *CHX* у својству каналног ириганса потврђена је и у истраживањима *in vivo*. Леонардо (*Leonardo*) и сарадници [24] су на зубима с инфицираним пулпом и хроничним периапексним лезијама показали да је двопрцентни раствор *CHX* ефикасан антимикуробни агенс када се користи као ириганс канала корена зуба. Поменути аутори су још уочили одржавање антимикуробне активности *CHX* и 48 часова по завршетку биомеханичких процедура. Добијене налазе аутори објашњавају способношћу позитивно наелектрисаних молекула *CHX* да се апсорбују на површину дентина канала корена, одакле се постепено ослобађају. Ова особина *CHX* (резидуална или продужена антимикуробна активност) може бити значајна у клиничким условима у смислу спречавања поновне инфекције канала корена. Еркан (*Ercan*) и сарадници [18] су такође у истраживању *in vivo* на зубима с инфицираним каналима корена указали на значајно смањење броја микроорганизама (*E. faecalis*, *A. israeli*, *S. aureus* и *S. salivarius*) након инструментације и иригације двопрцентним раствором *CHX*. Филхо (*Filho*) и сарадници [25] су на зубима паса поредили смањење броја микроорганизама после инструментације и иригације са 2,5% раствора *NaOCl*, односно 2% раствора *CHX* након једномесечног периода посматрања. Запазили су значајно смањење микроорганизама после примене оба ириганса, с тим што је у зубима испираним двопрцентним раствором *CHX* смањење било нешто веће. Добијене резултате аутори су приписали продуженој антимикуробној активности *CHX*. На основу резултата овог истраживања запажа се да је антимикуробна ефикасност 2% раствора *CHX* врло слична 2,5% раствора *NaOCl*. Заправо, зоне инхибиције раста микроорганизама биле су веће после примене 2% раствора *CHX* код свих испитаних микроорганизама, али је статистички значајна разлика уочена код *E. faecalis*, *S. mutans* и *C. albicans*. Вадати (*Vahdady*) и сарадници [26] су такође уочили уједначене антибактеријске ефекте раствора *NaOCl* и *CHX* када се користе у сличним концентрацијама.

Ефикасно антимикуробно деловање *CHX*, уз минималну токсичност раствора по витално ткиво, препоручује га за примену током ендодонтског лечења у својству каналног ириганса. Међутим, *CHX* нема способност растварања органског ткива која је својствена *NaOCl*, због чега се тренутно може сматрати само његовом ефикасном алтернативом за испирање зуба с незавршеним растом корена и широко отвореним апексима, односно зуба с јатрогеним перфорацијама

[23]. Због продужене антимикуробне активности и ефикасног деловања на *E. faecalis* и *C. albicans*, савремена литература препоручује *CHX* и за интерсеансну медијацију канала корена [24].

За процену ефикасности чишћења зидова канала корена после примене различитих ендодонтских ириганса изведена су СЕМ испитивања. СЕМ анализе су валидна метода за процену изгледа површине зида канала корена након различитих ендодонтских поступака. СЕМ техника омогућава добијање слике високе резолуције и великих увеличања, што омогућава детаљно испитивање морфолошких детаља на површини зидова канала [9, 27]. Резултати овог истраживања указују на разлике у изгледу површине зидова канала корена након испирања различитим иригансима. Најчистији зидови добијени су након примене хелатног агенса, 15% раствора *EDTA*, што је у складу с подацима из литературе [9, 27]. Ефикасност раствора *EDTA* у чишћењу зидова канала корена долази од његове способности да хелирањем јона калцијума раствори неоргански материјал, односно размазни слој [9]. Иако је применом 15% раствора *EDTA* постигнуто ефикасније чишћење канала у односу на друге испитане иригансе, потпуно чишћење није постигнуто ни у једном узорку. Овакав налаз би се могао објаснити чињеницом да је ефекат чишћења процењиван након појединачне примене раствора у количини од 1 ml између сваког инструмента. Према подацима из литературе, најефикасније чишћење канала се постиже применом комбинације раствора, односно и органских и неорганских растварача, као и употребом веће количине раствора [17, 27].

Квалитет чишћења зидова канала корена након примене двопрцентног раствора *CHX* мањи је у односу на петнаестопроцентни раствор *EDTA*, али већи у односу на обе испитане концентрације *NaOCl*. У доступној литератури нема много података о ефикасности *CHX* у уклањању размазног слоја. Ферас (*Ferraz*) и сарадници [28] су процењивали способност *CHX* да уклони размазни слој и такође уочили да је он ефикаснији у чишћењу канала корена од 5,25% раствора *NaOCl*. У узорцима који су испирани с *NaOCl* уочили су обилан размазни слој, док су након испирања са *CHX* запазили тањи размазни слој испресецан пукотинама. *CHX* је катјонски детерџент, те низак површински напон и добро продирање раствора могу бити разлог за овакав налаз. Исти аутори су испитали и својства *CHX* у облику гела и закључили да је тада још ефикаснији. Гел, због своје вискозности, задржава дебрис у суспензији, чиме одржава дентинске тубуле отвореним; оваква вискозност доприноси механичком чишћењу каналног система.

Раствор *NaOCl* у обе испитане концентрације није показао ефикасност у уклањању размазног слоја са зидова канала корена. Овакав налаз у складу је с подацима из литературе који указују на то да уклањање размазног слоја, пре свега, зависи од деловања хелатних агенса [9, 27].

## ЗАКЉУЧАК

Најбољи антимикробни ефекат је постигнут применом 5,25% раствора *NaOCl*, док је 2% раствора *CHX* показао снажно антимикробно деловање на све испита-

не микроорганизме. У уклањању размазног слоја нај-ефикаснији је био раствор *EDTA* од 15%, док 2% раствора *CHX* није показао задовољавајућу ефикасност у овом погледу.

## ЛИТЕРАТУРА

- Walton RE, Rivera E. Cleaning and shaping. In: Walton RE, Torabinejad M. Principles and Practice of Endodontics. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders; 1996. p.201-33.
- Živković S, Brkanić T, Dačić D, Opačić V, Pavlović V, Medojević M. Razmazni sloj u endodonciji. Stomatološki glasnik Srbije. 2005; 52:7-19.
- Yesilsoy C, Whitaker E, Cleveland D, Phillips E, Trope M. Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. J Endod. 1995; 21:513-5.
- Waltimo TMT, Ørstavik D, Siren EK, Haapasalo MPP. In vitro susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations. Int Endod J. 1999; 32:421-9.
- Ayhan H, Sultan N, Çirak M, Ruhi M, Bodur H. Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. Int Endod J. 1999; 32:99-102.
- Siqueira JF Jr, Roças 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; 26:331-4.
- 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; 34:424-8.
- Senia ES, Marshal FJ, Rosen S. The solvent action of sodium hypochlorite on pulp tissue of extracted teeth. Oral Surg. 1971; 31:96-103.
- McComb D, Smith DC. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. J Endod. 1975; 1:238-42.
- Mitić A, Mitić N, Živković S, Tošić G, Savić V, Dačić S, et al. Efikasnost sredstava za završnu irigaciju kanala korena zuba u uklanjanju razmaznog sloja. Srp Arh Celok Lek. 2009; 137(9-10):482-9.
- Samec T, Jan J. Klorheksidin v endodontiji. Zobozdrav Vestn. 2007; 62:85-8.
- Van Palenstein Helderma WH, Ijsseldijk M, Huis in't Veld JHJ. A selective medium for the two major subgroups of the bacterium streptococcus mutans isolated from human dental plaque and saliva. Arch Oral Biol. 1983; 28:599-603.
- Hülsmann M, Rummelin C, Schäfers F. Root canal cleanliness after preparation with different endodontic handpieces and hand instruments. A comparative investigation. J Endod. 1997; 23:301-6.
- 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; 34:300-7.
- Roças IN, Siqueira JF Jr, Santos KRN. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. J Endod. 2004; 30:315-20.
- Evans M, Davies JK, Sudquist G, Figor D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. Int Endod J. 2002; 35:221-8.
- Siqueira JF Jr, Roças IN, Santos SRL, Lima KC, Magalhães FAC, Uzeda M. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals. J Endod. 2001; 28:181-4.
- Ercan E, Özekinci T, Atacul F, Gül K. Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite in infected root canal: in vivo study. J Endod. 2004; 30:84-7.
- Byström A, Sundquist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. Int Endod J. 1985; 18:35-40.
- Ferguson JW, Hatton JF, Gillespie MJ. Effectiveness of intracanal irrigants and medication against the Yeast *Candida albicans*. J Endod. 2002; 28:68-71.
- Sassone LM, Fidel RAS, Fidel RS, Dias M, Hirata R Jr. Antimicrobial activity of different concentrations of NaOCl and Chlorhexidine using contact test. Braz Dent J. 2003; 14:99-102.
- Filho MT, Leonardo MR, Silva LAB, Anibal FF, Faccioli LH. Inflammatory response to different endodontic irrigating solutions. Int Endod J. 2002; 35:735-9.
- Jeansonne MJ, White RR. A comparison of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. J Endod. 1994; 20:276-8.
- Leonardo MR, Filho MT, Silva LAB, Filho PN, Bonifácio KC, Ito IY. In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution. J Endod. 1999; 25:167-71.
- Filho MT, Yamashita JC, Leonardo MR, Silva LAB, Tanomaru JMG, Ito IY. In vivo microbiological evaluation of the effect of biomechanical preparation of root canals using different irrigating solutions. J Appl Oral Sci. 2006; 14:105-10.
- Vahdaty A, Pitt Ford TR, Wilson RF. Efficacy of chlorhexidine in disinfected dentinal tubules in vitro. Endod Dent Traumatol. 1993; 9:243-8.
- Baumgartner JC, Mader CL. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. J Endod. 1987; 13:147-57.
- Ferraz CCR, Gomes BPFA, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. J Endod. 2001; 27:452-5.

## Chlorhexidine as a Root Canal Irrigant – Antimicrobial and Scanning Electron Microscopic Evaluation

Violeta Pavlović, Slavoljub Živković

Clinic for Restorative Dentistry and Endodontics, Faculty of Dentistry, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

### SUMMARY

**Introduction** Selection of irrigant is very important for long-term success of root canal therapy.

**Objective** This study was undertaken to evaluate the antimicrobial effects of 2% chlorhexidine digluconate solution (CHX) against five selected microorganisms and to evaluate its efficacy in root canal cleaning.

**Methods** In this study, by agar diffusion test, were evaluated antimicrobial effects of three root canal irrigants: 5.25% NaOCl, 2.5% NaOCl and 2% CHX. The microorganisms tested in this study were *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. A scanning electron microscope was used to evaluate root canal cleaning ability of 5.25% NaOCl, 2.5% NaOCl, 2% CHX and 15% EDTA. Twelve extracted single-root human teeth were divided into four groups depending on the irrigant used during

instrumentation. Mechanical preparation was performed with Step back technique and K files. Data were analysed statistically by Student's t-test.

**Results** 5.25% NaOCl was the most effective against all tested microorganisms. 2.5% NaOCl and 2% CHX showed antimicrobial effects against all tested microorganisms but zones of inhibition were smaller. The best results in root canal walls cleaning were obtained in the group where the irrigant was 15% EDTA (score 2.33). In 5.25% NaOCl, 2.5% NaOCl and 2% CHX groups, there was more smear layer (score 4 and 5).

**Conclusion** 2% chlorhexidine digluconate showed strong antimicrobial effect on the tested microorganisms, but was not effective in cleaning root canal walls.

**Keywords:** root canal irrigation; NaOCl; chlorhexidine; smear layer

Примљен • Received: 30/04/2009

Прихваћен • Accepted: 20/05/2009