

O objetivo do presente trabalho foi avaliar, *in vitro*, a efetividade de dois irrigantes endodônticos e de sua associação na desinfecção de canais radiculares bovinos infectados com *Enterococcus faecalis* através da Microscopia de Varredura a Laser Confocal (MVLC). Foram selecionados 28 incisivos nos quais foi inoculada uma monocultura de *Enterococcus faecalis* por 21 dias. Após esse período, os dentes foram randomicamente divididos em três grupos testes (n=5) de acordo com a substância química irrigante utilizada para o preparo químico-mecânico dos canais radiculares. Grupo 1 (G1) – hipoclorito de sódio 2,5% (NaOCl), grupo 2 (G2) - clorexidina 2% gel (CX), grupo 3 (G3) - NaOCl 2,5% + CX 2% gel e dois grupos controles (GC) (n=5): grupo controle negativo (GCN) - sem preparo e estéril e grupo controle positivo (GCP) – irrigação com soro fisiológico. Finalizada essa etapa, as amostras foram coradas com SYTO9 e iodeto de propídeo e submetidas à análise por meio da MVLC. Para a tabulação dos resultados, foram padronizados escores segundo a viabilidade bacteriana: 0 = $\leq 25\%$ de bactérias viáveis, 1 = $>25\%$ e $< 50\%$, 2 = 50% , 3 = $> 50\%$ e $< 75\%$ e 4 = $\geq 75\%$. A análise estatística foi realizada através dos testes de Kruskal-Wallis and Mann-Whitney com significância de 5%. O GCP apresentou escore 4; o GCN exibiu escore 0 em todas as amostras (com bactérias não viáveis) (p=0,002); o G1 mostrou eficiência na remoção do biofilme, no entanto apresentou escore 4 pois as bactérias remanescentes se apresentaram viáveis, o G2 apresentou a maioria dos escores igual a 3 com um menor potencial de limpeza quando comparado ao G1; o G3 apresentou escores entre 2 e 3 tendo, este grupo teve mínima quantidade bacteriana sendo similar ao grupo 1 e menor número de bactérias viáveis. Porém, não houve diferença estatística significativa entre os grupos 1, 2 e 3. Os resultados mostraram que todas as soluções testadas foram efetivas contra o biofilme bacteriano *in vitro*. Porém, o efeito sobre a desorganização do biofilme variou conforme o irrigante.