

# Citotoxicidade de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio sobre osteoblastos humanos

*Cytotoxicity of different amounts of sodium hypochlorite on human cultured osteoblasts*

Tatiana Kelly da Silva FIDALGO<sup>1</sup>  
 Roberta BARCELOS<sup>2</sup>  
 Débora Barreiros PETRÓPOLIS<sup>3</sup>  
 Bruno Rocha AZEVEDO<sup>3</sup>  
 Laura Guimarães PRIMO<sup>1</sup>  
 Fernando Costa e SILVA FILHO<sup>3</sup>

## RESUMO

**Objetivo:** Avaliar o efeito citotóxico de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio sobre uma cultura de células de osteoblastos humanos (linhagem HOB).

**Métodos:** Culturas confluentes de osteoblastos humanos (linhagem HOB) foram obtidas em meio de Dulbecco modificado, suplementado com 10% de soro fetal bovino e submetidas a incubações com hipoclorito de sódio (concentrações de 0,5; 1,0; 2,5 e 5,25%) durante trinta segundos. O grupo controle foi representado por células incubadas em fosfato de potássio. A avaliação da viabilidade celular foi realizada através do teste de exclusão com azul de Trypan, em triplicata. Durante o período de incubação, imagens foram registradas através de um microscópio óptico invertido, para avaliação da morfologia celular.

**Resultados:** Verificou-se que no grupo controle havia 98,7% de células viáveis, morfológicamente normais, enquanto que nos grupos experimentais, células viáveis não foram observadas. A cinética de citotoxicidade seguiu tendência dependente da concentração.

**Conclusão:** O hipoclorito de sódio nas concentrações 0,5; 1,0; 2,5; 5,25%, incubado por trinta segundos em cultura de osteoblastos humanos é citotóxico.

**Termos de indexação:** hipoclorito de sódio; irrigantes do canal radicular; osteoblastos; toxicidade.

## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the cytotoxic effect of different amounts of sodium hypochlorite, on a culture of human osteoblasts (HOB) cells.

**Method:** Cultures of human osteoblasts (HOB) in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) supplemented with 10% of bovine fetal serum were incubated in sodium hypochlorite (concentrations of 0.5; 1.0; 2.5 and 5.25%) for thirty seconds. The control group was represented by cells incubated in phosphate buffered saline (PBS). Cell viability was assessed by means of 0.4% trypan blue dye exclusion test, in triplicate. During the incubation period, images were recorded through an inverted optic microscope to evaluate the cellular morphology.

**Results:** In the control group 98.7% of viable cells were verified, without morphology alterations, while no viable cells were observed in the experimental groups. The kinetics of cytotoxicity was concentration-dependent.

**Conclusion:** It was concluded that there was a cytotoxic effect on cultures of human osteoblasts incubated for thirty seconds in sodium hypochlorite in all concentrations (0.5; 1.0; 2.5 and 5.25%).

**Indexing terms:** sodium hypochlorite; root canal irrigants; osteoblasts; toxicity.

## INTRODUÇÃO

O sucesso da terapia endodôntica depende muito do procedimento de limpeza dos sistemas de canais radiculares, o qual, por sua vez, objetiva a redução de microorganismos presentes na luz dos canais e na porção mais superficial dos túbulos dentinários, no tratamento de dentes com polpas infectadas, ou a manutenção da assepsia durante o tratamento de dentes vitais,

bem como a remoção da *smear layer* e demais detritos, também presentes nos canais radiculares<sup>1</sup>. Entre as principais substâncias químicas auxiliares empregadas nesse procedimento, destaca-se o Hipoclorito de Sódio (NaClO). O NaClO tem sido amplamente utilizado, tanto no tratamento endodôntico de dentes deciduos como nos permanentes na etapa de limpeza dos canais<sup>2</sup>.

Dentre as ações do NaClO destacam-se sua capacidade de digerir matéria orgânica, ser bactericida, favorecer a remoção da *smear layer* e os detritos, remover

<sup>1</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro, Departamento de Ortodontia e Odontopediatria, Faculdade de Odontologia. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Salgado de Oliveira, Curso de Odontologia. Niterói, RJ, Brasil.

<sup>3</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Laboratório de Biologia da Superfície Celular. Rua Gavião Peixoto, 343/803, Icaraí, 24230-093, Niterói, RJ, Brasil. Correspondência para / *Correspondence to:* R BARCELOS. E-mail: <rob.barcelos@gmail.com>.

gorduras através do processo de saponificação e reatividade a Cálcio<sup>1</sup>. Esta última propriedade promove desmineralização, facilitando a abertura dos túbulos dentinários<sup>3</sup>, clareamento do substrato dental e neutralização dos metabólitos bacterianos. Essas propriedades, somadas ao baixo custo da solução, fazem do NaClO o irrigador de primeira escolha durante o tratamento endodôntico. Contudo, não existe consenso sobre sua concentração ideal, principalmente considerando a efetividade na desinfecção dos canais radiculares e o potencial tóxico. O NaClO a 5,25% apresentou esterilização imediata<sup>4</sup> e dissolução de tecido necrótico<sup>5</sup>. Contudo, resultados negativos são apontados, no que tange à toxicidade, levando às recomendações para diluição a menores concentrações<sup>5</sup>. Clinicamente, a utilização do NaClO a 3%, como controlador da hemorragia em pulpotomias de dentes decíduos, apresentou resultados favoráveis, sem evidências de alteração pulpar<sup>6</sup>. Contudo, a diluição do NaClO reduz tanto a capacidade antimicrobiana<sup>5</sup> quanto a de diluição de tecido orgânico<sup>7</sup>. Outros estudos *in vitro* não encontraram diferenças na desinfecção obtida pelo NaClO nas concentrações de 1%, 2,5% e 5,2%<sup>8</sup> assim como entre 0,2% e 2%<sup>9</sup> e, clinicamente, entre o NaClO a 0,5% e a 5%<sup>10</sup>. De acordo com Siqueira et al.<sup>11</sup>, a frequência e o volume de irrigação podem compensar o efeito da concentração. Contudo, Briseño et al.<sup>12</sup> relataram maior eficácia na desinfecção após utilização do NaClO a 2%, quando comparado àquela que se obtém a 1%. Para estes autores, o efeito está relacionado à maior rapidez de dissolução tecidual, obtida pelas soluções mais concentradas. Outros estudos já haviam demonstrado que a capacidade antimicrobiana e de dissolução de matéria orgânica são concentração-dependente, ou seja, maior concentração maior desinfecção e dissolução<sup>5,7</sup>.

A determinação da concentração ideal seria, então, aquela que combina máximo efeito antimicrobiano e menor toxicidade<sup>10</sup>. Tanto em dentes vitais quanto não vitais, casos de extrusão da solução irrigadora ocorrem, ainda que o dente seja completamente maduro e com ápice intacto<sup>13</sup>. Assim, a avaliação do potencial de citotoxicidade é de grande relevância na seleção de um irrigante para os canais radiculares. Considerando que o tratamento endodôntico pode envolver dentes permanentes jovens, nos quais o forame não está completamente formado, ou dentes decíduos em que a região apical pode apresentar-se reabsorvida devido ao processo fisiológico de esfoliação, a avaliação do potencial citotóxico do NaClO é imperiosa para garantir a segurança do procedimento. Ante ao exposto, torna-se importante analisar os efeitos citotóxicos causados por diferentes concentrações de hipoclorito de sódio.

## MÉTODOS

### *Cultivo celular*

Para o ensaio de citotoxicidade, culturas confluentes de osteoblastos humanos (linhagem HOB)<sup>14</sup> foram obtidas em meio *Dulbecco's modified Eagle's medium* (DMEM) suplementado com 10% de soro fetal bovino<sup>15</sup>, em garrafas de plástico de 25cm<sup>2</sup> (Falcon, New Jersey, EUA). As células resultantes foram separadas por adição de 0,25% tripsina (Sigma, St. Louis, EUA) por cinco minutos a 37°C. Para inativação da tripsina, foram adicionadas gotas de soro às garrafas e as células em suspensão foram transferidas para um tubo de ensaio. Em seguida, as células foram centrifugadas por cinco minutos (300 g) a 4°C e o sobrenadante descartado. O precipitado foi ressuspenso em 2ml de DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino. Alíquotas de 100µl foram retiradas para avaliação da densidade e viabilidade celular. Para tanto, utilizou-se contagem em hemocitômetro, ajustando a densidade para 1x10<sup>6</sup> células/ml, que foram inoculadas em garrafas de cultura de células, acrescentando-se 7ml de DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino. As culturas foram mantidas em estufa a 37°C com 5% de CO<sub>2</sub> por 48 horas, até formarem monocamadas<sup>15</sup>.

### *Ensaio de citotoxicidade*

Decorridas as 48 horas de cultivo, o meio de cultura foi retirado, as células lavadas em 0,145M NaCl tamponado em 0,01M fosfato de potássio (PBS) e submetidas a incubações com NaClO (concentrações de 0,5; 1,0; 2,5 e 5,25%). Todas as soluções foram preparadas a partir de um estoque de NaClO a 6,5% (VETEC, São Paulo, Brasil), utilizando como diluente solução salina tamponada (PBS). As soluções foram usadas imediatamente após o preparo e titulação, para confirmação das concentrações de cada solução. Alíquotas de 1ml de cada solução de NaClO foram incubadas com as culturas de células por trinta segundos<sup>6</sup>. O grupo controle foi representado por células incubadas em tampão PBS.

Decorridos trinta segundos, realizou-se avaliação da viabilidade celular, através do teste de exclusão com azul de Trypan. Para tanto, as soluções foram aspiradas das garrafas de cultura e a elas foram acrescentados 4ml tripsina por cinco minutos a 37°C<sup>15</sup>. Em seguida, as células em suspensão foram transferidas para tubos de ensaio e centrifugadas por cinco minutos (800 g), a 4°C. O sobrenadante foi então descartado e o precipitado ressuspenso em 1ml de DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino. Alíquotas de 1ml desta solução foram transferidas para tubos de ensaio, aos quais se adicionou 500µl de solução de azul de Trypan (0,4%)<sup>16</sup> por cinco minutos. A contagem de células marcadas ou não com o corante foi realizada em triplicata.

*Microscopia óptica*

Durante o contato com as diferentes concentrações de NaClO e com a solução controle, imagens foram registradas através de um microscópio óptico invertido, acoplado a uma câmera fotográfica, sob aumento de 400x.

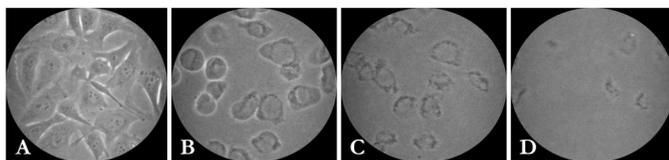
**RESULTADOS**

Os resultados demonstraram que a viabilidade celular das culturas tratadas com diferentes concentrações de NaClO foi diferente do controle. Assim, verificou-se que no grupo controle havia 98,7% de células viáveis, enquanto que nos experimentais, células viáveis não foram detectadas (Tabela 1). A cinética de citotoxicidade seguiu tendência dependente da concentração, ou seja, quanto maior a concentração mais rápida foi a morte celular.

A microscopia óptica revelou que, após incubação das células de osteoblastos humanos (linhagem HOB) com NaClO, se observou imediato desprendimento das células da garrafa de cultura, as quais não se apresentavam pleomórficas (Figura 1A), passando a assumir formato mais circular (Figuras 1B e 1C). Em seguida, constatou-se a progressiva lise celular, até sua completa dissolução (Figura 1D), pouco antes de trinta segundos. No grupo controle, as células observadas apresentavam-se morfológicamente normais.

**Tabela 1.** Viabilidade celular (%) frente a cada uma das concentrações de NaClO testadas durante trinta segundos de incubação.

Grupo	Células viáveis (%)
Controle	98,7
NaClO 0,5%	0
NaClO 1,0%	0
NaClO 2,5%	0
NaClO 5,25%	0



**Figura 1.** Efeito tóxico do tratamento de células HOB com 0,5% NaClO por trinta segundos. Fotomicrografias obtidas por microscopia óptica invertida (aumento original de 50x). A) Momento inicial antes do tratamento com NaClO; B) Início da alteração da morfologia celular; C) Início do desaparecimento das células e D) Completa dissolução celular.

**DISCUSSÃO**

Durante o tratamento endodôntico, a fase de preparo químico-mecânico é importante e combina a ação dos instrumentos e utilização de substâncias químicas auxiliares. Embora estas soluções devam se restringir ao canal radicular, podem alcançar os tecidos periapicais, o que torna imperioso o conhecimento dos processos biológicos que ocorrem entre os tecidos e os materiais utilizados.

A compreensão dos processos celulares é uma tarefa difícil e os modelos experimentais *in vitro*, como a cultura de células, representam importante meio para estudo do efeito tóxico dos materiais dentários<sup>17</sup>. Estes estudos representam os primeiros testes sobre a toxicidade de um material e contribuem para tornar as pesquisas, utilizando modelos animais, mais seguras, o que parece ser de grande utilidade, considerando os aspectos éticos da pesquisa. Ressalta-se que a limitação destes testes deve ser considerada no momento da interpretação dos resultados, e os experimentos desenvolvidos em cultura celular não substituem aqueles desenvolvidos com outros modelos experimentais. Indubitavelmente, a cultura celular é mais sensível aos efeitos tóxicos das drogas do que a região periapical. *In vivo*, as células fagocíticas, vasos sanguíneos e linfáticos diluem as substâncias e possibilitam sua eliminação, o que não ocorre nos testes de citotoxicidade<sup>18</sup>.

Diversas são as metodologias para testes de citotoxicidade, como redução do tetrazólio (MTT)<sup>19</sup>, incorporação do vermelho neutro<sup>20</sup>, incorporação da timidina tritiada<sup>21</sup>, dentre outras. A metodologia aplicada no presente estudo constitui uma técnica rápida e de fácil execução, que utilizou o teste de exclusão de células mortas com azul de Trypan. Células viáveis são impermeáveis a este corante, uma vez que sua penetração na célula indica a perda da integridade de sua membrana<sup>22</sup>. Esta metodologia tem sido empregada para avaliação do efeito tóxico de inúmeros materiais odontológicos<sup>23-24</sup>. A análise complementar das fotomicrografias permitiu a determinação da morfologia celular. Ambos os métodos são considerados simples e de fácil reprodutibilidade<sup>25</sup>.

O hipoclorito de sódio é uma solução irrigante bastante utilizada em Endodontia, tanto pela sua capacidade de dissolver tecidos orgânicos quanto pelo seu efeito bactericida<sup>1</sup>. Sobre as proteínas, ele exerce efeito desnaturante<sup>26</sup>, por isso, em contato com os osteoblastos e demais células, a primeira porção a sofrer os danos é a membrana citoplasmática, visto que esta é composta por proteínas dispostas entre a bicamada lipídica. Desta forma, quando há desnaturação proteica a camada de lipídeos é desfeita, desorganizando a membrana.

Os resultados obtidos corroboram os achados descritos na literatura, comprovando efeito tóxico acentuado do NaClO<sup>5,25</sup>. Pashley et al.<sup>27</sup> já haviam demonstrado a citotoxicidade de várias diluições da solução de NaClO a

5%, empregando três modelos de testes biológicos. Dentre os testes realizados, observou que injeções subcutâneas das diferentes concentrações do NaClO provocaram ulcerações de pele nos animais, promovendo intensa resposta inflamatória. Estudos também defendem que a diluição de NaClO a menores concentrações reduz sua ação sobre os tecidos, e conseqüentemente a citotoxicidade<sup>7</sup>. Outros estudos corroboram o presente trabalho, demonstrando que, até mesmo em pequenas concentrações como a 0,5%, o NaClO tem efeito tóxico sobre cultura de células eucariotas<sup>16</sup> e fibroblastos<sup>28</sup>. Como já ressaltado, a interpretação dos resultados de estudos *in vitro* deve ser cuidadosa, pois testes de contato celular direto são mais sensíveis que modelos *in vivo*. Pulpotomias realizadas em dentes decíduos de primatas<sup>29</sup> e humanos<sup>6</sup>, utilizando o NaClO a 3%, não apresentaram evidências de necrose pulpar ou outras alterações, levando à recomendação da utilização deste medicamento durante a amputação da polpa coronária em pulpotomias<sup>29</sup>.

De acordo com Torneck<sup>30</sup>, a magnitude das reações teciduais, frente às substâncias utilizadas durante a terapia endodôntica, é influenciada por alguns fatores como: a) tipo, concentração e apresentação; b) quantidade ou volume da solução empregada; c) método para levar a solução ao canal; d) tamanho do forame apical, e) condições do periodonto; f) tempo de contato com a substância e, g) suscetibilidade do hospedeiro à injúria. Assim, a ampla utilização do NaClO durante a terapia endodôntica, tanto em dentes decíduos como em dentes permanentes, requer alguns cuidados, como a concentração, volume e forma de utilização. Em dentes decíduos, esses cuidados devem ser redobrados no momento da irrigação<sup>3</sup>, pois nesses dentes a região apical pode se apresentar aumentada, devido ao processo fisiológico de reabsorção, facilitando o extravasamento da solução irrigadora. Além disso, o germe do sucessor permanente localiza-se<sup>28</sup> intimamente na região de ápice do decíduo, sendo protegido apenas, em certos estágios, por uma delgada camada de osso.

Sabe-se ainda que nesta região ocorre constante remodelação óssea, com concomitante reabsorção, com os osteoclastos e formação óssea e com os osteoblastos.

Assim, o extravasamento de NaClO pelo ápice pode interferir no processo de neoformação óssea, ao agir diretamente sobre osteoblastos responsáveis pela formação óssea, podendo ocorrer também descalcificação de uma eventual barreira de osso delgado, permitindo que o germe dentário permanente seja exposto a essa substância e sofra alterações na sua formação e maturação. Ao extravasar pelo ápice, além dos osteoblastos, fibroblastos e células sanguíneas presentes na região periapical também podem ser afetadas.

Dessa forma, apesar da ampla utilização do NaClO como principal solução irrigadora durante o preparo químico-mecânico dos canais radiculares, os cuidados recomendados na literatura científica devem ser adotados durante a sua utilização, tais como: irrigação lenta com simultânea aspiração e irrigação final com solução fisiológica, a fim de minimizar a ocorrência de extravasamento e de danos aos tecidos periapicais, uma vez que o potencial tóxico destas soluções foi demonstrado.

## CONCLUSÃO

Considerando as limitações deste trabalho quanto à linhagem celular utilizada e metodologia empregada, pode-se concluir que o NaClO, nas concentrações 0,5; 1,0; 2,5; 5,25%, incubado por trinta segundos em cultura de osteoblastos humanos é citotóxico, apresentando efeito rápido e direto sobre as células.

## Colaboradores

TKS FIDALGO, R BARCELOS, DB PETRÓPOLIS, BR AZEVEDO, LG PRIMO e FC SILVA FILHO participaram de todo o processo de produção do artigo, a saber: parte experimental, interpretação dos dados e elaboração do texto.

## REFERÊNCIAS

- Guida A. Mechanism of action of sodium hypochlorite and its effects on dentin. *Minerva Stomatol.* 2006;55(9):471-82.
- Siqueira JF Jr, Magalhães KM, Rôcas IN. Bacterial reduction in infected root canals treated with 2.5% NaOCl as an irrigant and calcium hydroxide/camphorated paramonochlorophenol paste as an intracanal dressing. *J Endod.* 2007;33(6):667-72.
- Correr GM, Alonso RC, Grando MF, Borges AF, Puppim-Rontani RM. Effect of sodium hypochlorite on primary dentin--a scanning electron microscopy (SEM) evaluation. *J Dent.* 2006;34(7):454-9.
- Shih M, Marshall FJ, Rosen S. The bactericidal efficiency of sodium hypochlorite as an endodontic irrigant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1970;29(4):613-9.
- Hand RE, Smith ML, Harrison JW. Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. *J Endod.* 1978;4(2):60-4.

6. Tunc ES, Saroglu I, Sari S, Gunhan O. The effect of sodium hypochlorite application on the success of calcium hydroxide pulpotomy in primary teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;102(2):e22-6.
7. 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.
8. Siqueira JF Jr, Rôcas IN, Santos SR, Lima KC, Magalhães FA, Uzeda M. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals. *J Endod.* 2002;28(3):181-4.
9. Vahdaty A, Pitt Ford TR, Wilson RF. Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dental tubules in vitro. *Endod Dent Traumatol.* 1993;9(6):243-8.
10. Bystrom 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.
11. Siqueira JF Jr, Lima KC, Magalhães FA, Lopes HP, Uzeda M. Mechanical reduction of the bacterial population in the root canal by three instrumentation techniques. *J Endod.* 1999;25(5):332-5.
12. Briseno BM, Wirth R, Hamm G, Standhartinger W. Efficacy of different irrigation methods and concentrations of root canal irrigation solutions on bacteria in the root canal. *Endod Dent Traumatol.* 1992;8(1):6-11.
13. Salzgeber RM, Brilliant JD. An in vivo evaluation of the penetration of an irrigating solution in root canals. *J Endod.* 1977;3(10):394-8.
14. Silva Filho FC, Conde Menezes G. Osteoblasts attachment and adhesion: how bone cells fit fibronectin-coated surfaces. *Materials Science and Engineering C.* 2004;24(1):637-41.
15. Barnhart BD, Chuang A, Lucca JJ, Roberts S, Liewehr F, Joyce AP. An in vitro evaluation of the cytotoxicity of various endodontic irrigants on human gingival fibroblasts. *J Endod.* 2005;31(8):613-5.
16. Sura H, Shelton RM, Walmsley AD. Osteoblast viability and detachment following exposure to ultrasound in vitro. *J Mater Sci Mater Med.* 2001;12(10-12):997-1000.
17. Schmalz G. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials--advantages and limitations. *J Dent.* 1994;22(Suppl 2):S6-11.
18. Wall GL, Dowson J, Shipman C, Jr. Antibacterial efficacy and cytotoxicity of three endodontic drugs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1972;33(2):230-1.
19. Susini G, About I, Tran-Hung L, Camps J. Cytotoxicity of epiphany and resilon with a root model. *Int Endod J.* 2006;39(12):940-4.
20. Lonroth EC, Dahl JE. Cytotoxicity of liquids and powders of chemically different dental materials evaluated using dimethylthiazol diphenyltetrazolium and neutral red tests. *Acta Odontol Scand.* 2003;61(1):52-6.
21. Jontell M, Hanks CT, Bratel J, Bergenholtz G. Effects of unpolymerized resin components on the function of accessory cells derived from the rat incisor pulp. *J Dent Res.* 1995;74(5):1162-7.
22. Kaldahl WB, Johnson GK, Patil KD, Kalkwarf KL. Levels of cigarette consumption and response to periodontal therapy. *J Periodontol.* 1996;67(7):675-81.
23. George S, Kishen A. Advanced noninvasive light-activated disinfection: assessment of cytotoxicity on fibroblast versus antimicrobial activity against *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2007;33(5):599-602.
24. Chandra RV, Bhat KM, Jagetia GC. Trypan blue exclusion principle in the evaluation of fibroblast attachment in vitro using V79 cells on the conditioned root surface. *Quintessence Int.* 2005;36(9):702-6.
25. Maines J, Khurana NR, Roman K, Knaup D, Ahmad M. Cytotoxic effects of activated bromine on human fetal osteoblasts in vitro. *J Endod.* 2006;32(9):886-9.
26. Kamburis JJ, Barker TH, Barfield RD, Eleazer PD. Removal of organic debris from bovine dentin shavings. *J Endod.* 2003;29(9):559-61.
27. Pashley EL, Birdsong NL, Bowman K, Pashley DH. Cytotoxic effects of NaOCl on vital tissue. *J Endod.* 1985;11(12):525-8.
28. Lineaweaver W, McMorris S, Soucy D, Howard R. Cellular and bacterial toxicities of topical antimicrobials. *Plast Reconstr Surg.* 1985;75(3):394-6.
29. Hafez AA, Cox CF, Tarim B, Otsuki M, Akimoto N. An in vivo evaluation of hemorrhage control using sodium hypochlorite and direct capping with a one- or two-component adhesive system in exposed nonhuman primate pulps. *Quintessence Int.* 2002;33(4):261-72.
30. Torneck CD. Reaction of hamster tissue to drugs used in sterilization of the root canal. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1961;14:730-47.

Recebido em: 18/1/2008

Versão final reapresentada em: 19/5/2008

Aprovado em: 16/6/2008