

ARTIGO CIENTÍFICO

Avaliação da capacidade de dissolução tecidual de diferentes soluções de hipoclorito de sódio em tecido conjuntivo e muscular de ratos

Evaluation of capacity of tissue dissolution of various solutions of sodium hypochlorite in connective and muscle tissue of rats

RESUMO

Objetivo: analisar a capacidade de dissolução tecidual de diferentes soluções de hipoclorito de sódio em tecido conjuntivo e muscular esquelético de ratos.

Metodologia: foram obtidos 60 fragmentos de tecido conjuntivo (dorso) e muscular esquelético (língua) de ratos da linhagem Wistar, que foram submetidos à ação solvente das soluções de hipoclorito de sódio comercializadas, prontas para uso, Hipoclor 1%, HW 1% e 2,5%, Limpa Bem 2,5% e soluções manipuladas nas mesmas concentrações. O tempo de dissolução foi cronometrado. O método de titulometria com iodo foi utilizado para confirmação do teor de cloro ativo das soluções utilizadas.

Resultados: a análise estatística revelou diferença não significativa entre os dois diferentes tecidos ($p > 0.05$) e apresentou diferença significativa ($p < 0.001$) entre as concentrações de 1% e 2,5%. O tempo médio de dissolução em minutos no tecido conjuntivo foi: Limpa Bem 2,5% (80,4); Manipulado 2,5% (100,2); Hipoclor 1% (164,2); HW 2,5% (205,6); Manipulado 1% (278,4). No tecido muscular esquelético o tempo médio foi: Limpa Bem 2,5% (111,6); Manipulado 2,5% (171,6); Hipoclor 1% (178,5); HW 2,5% (219); Manipulado 1% (289,6). O HW 1% não foi capaz de dissolver os tecidos. Os resultados da titulometria demonstraram que as soluções testadas apresentavam teor de cloro ativo aceitáveis, com exceção da marca HW nas concentrações de 1% e 2,5%.

Conclusão: ambos tecidos podem ser utilizados para a verificação da capacidade de dissolução tecidual do hipoclorito de sódio e que esta obedece uma relação diretamente proporcional a concentração do teor de cloro ativo.

Palavras-chave: Dissolução Tecidual; Hipoclorito de Sódio; Preparo do Canal Radicular.

ABSTRACT

Aim: the aim of this study was to analyze the ability of different solutions of sodium hypochlorite to dissolve connective and skeletal-muscle tissue of rats.

Methodology: it was obtained 60 pieces of connective tissue (back) and skeletal-muscle (tongue) of *Wistar* rats that were subjected to solvent action of sodium hypochlorite solutions marketed, ready to use, 1% Hipoclor, 1 and 2, 5% HW, 2.5% Limpa Bem and solutions manipulated at the same concentrations. The dissolution time was recorded. The method of titration with iodine was used to confirm the active chlorine content of solutions used.

Results: statistical analysis revealed no significant difference between the two different tissues ($p > 0.05$) and significantly difference ($p < 0.001$) between concentrations 1% and 2.5%. The average time in minutes to dissolve the connective tissue was: 2.5% Limpa Bem (80.4); 2.5% Manipulated (100.2); 1% Hipoclor (164.2), 2.5% HW (205.6); 1% Manipulated (278.4). In skeletal muscle the average time was: 2.5% Limpa Bem (111.6); 2.5% Manipulated (171.6); 1% Hipoclor (178.5), 2.5% HW (219); 1% Manipulated (289.6). The 1% HW was not able to dissolve the tissues. The results of titrations demonstrated that the solutions tested had acceptable levels of chlorine, with the exception of brand HW concentrations of 1% and 2.5%.

Conclusion: both tissues can be used for verifying the ability of tissue dissolution of sodium hypochlorite and that obeys a directly proportional to the concentration of active chlorine content.

Keywords: Tissue Dissolution; Sodium Hypochlorite; Root Canal Preparation.

Paola Cristina Valença*
Bruno Marques da Silva**
Juliana Aguiar Anele**
Gisele Aihara Haragushiku*
Flávia Sens Fagundes
Tomazinho*
Denise Piotto Leonardi***
Flares Baratto Filho***

* CD, Me, Departamento de Endodontia, Faculdade de Odontologia, Universidade Positivo

** CD, Aluno do Programa de Pós Graduação em Odontologia, Universidade Positivo

*** CD, Me, Dr, Professor, Departamento de Endodontia, Faculdade de Odontologia, Universidade Positivo

Endereço para correspondência:

Flares Baratto Filho
Universidade Positivo
Av. Prof. Pedro Viriato Parigot de Souza, 5300, Curitiba - PR, 81280-330, Brasil
E-mail: flares@up.edu.br

Enviado: 20/10/2009

Aceito: 17/02/2010

INTRODUÇÃO

O processo de limpeza do canal radicular é uma importante fase operatória do tratamento endodôntico, sendo um dos grandes fatores responsáveis pelo sucesso do tratamento. A sanificação, proporcionada durante o preparo do canal radicular, é obtida pela interação entre os fatores físico-químicos e antimicrobianos da solução irrigadora com a ação de alargamento mecânico desenvolvido durante a modelagem dos canais radiculares. O uso de soluções irrigadoras durante o preparo biomecânico é fundamental na desinfecção e limpeza dos canais radiculares¹.

A escolha de uma solução irrigadora para uso em canais radiculares infectados impõe prévio conhecimento dos microrganismos responsáveis pelo processo infeccioso, bem como as diferentes propriedades da substância irrigadora, anatomia interna, defesas do hospedeiro e virulência do microrganismo. Diversos estudos têm sido realizados na procura por irrigantes que reúnam melhores propriedades incluindo atividade antimicrobiana, baixa toxicidade para os tecidos periapicais, solubilidade em água e capacidade de dissolver matéria orgânica^{2,3}.

Devido à complexa anatomia do sistema de canais radiculares, microrganismos e restos de tecido pulpar podem permanecer no interior de túbulos dentinários ou outros espaços inacessíveis aos instrumentos endodônticos, como istmos, canais acessórios e canais laterais, mesmo após o preparo biomecânico. Quando esses microrganismos permanecem dentro de um ambiente propício eles podem se proliferar e reinfestar o sistema de canais radiculares⁴. Portanto, além da ação antimicrobiana, a capacidade de dissolver tecido pulpar e/ou necrótico é uma importante propriedade desejável das soluções irrigadoras.

O hipoclorito de sódio é a solução irrigadora mais utilizada na Endodontia, devido suas propriedades antimicrobianas, pois provoca alterações no metabolismo de biossíntese celular e destruição de fosfolípidios, pela formação de cloraminas que interferem no metabolismo celular das bactérias, pela ação oxidante, com inibição enzimática irreversível nas bactérias, e de lipídeos e degradação de ácidos graxos⁵. Além da capacidade de dissolução tecidual, essa dissolução do tecido acaba por ajudar na limpeza endodôntica pela transformação de substâncias insolúveis (tecido pulpar e restos necróticos) em substâncias solúveis como os sabões, cloraminas e sais de aminoácidos além da ação dos sabões produzidos na reação que mantém corpos gordurosos em suspensão (micelas) passíveis de serem aspirados⁶.

Okino *et al.*² avaliaram a capacidade de dissolução de tecido pulpar bovino, do hipoclorito de sódio a 0,5, 1,0 e 2,5%, da solução aquosa de clorexidina 2%, da clorexidina em gel 2% e da água destilada (controle). Fragmentos de polpa bovina foram pesados e colocados em contato com 20 ml das soluções testadas em centrífuga a 150 rpm até a dissolução total. A velocidade de dissolução foi calculada pela divisão do peso pelo tempo de dissolução da polpa. Nos resultados encontrados a água destilada e as soluções de clorexidina não dissolveram o tecido pulpar no prazo de 6 h e as velocidades de dissolução média das soluções de hipoclorito de sódio 0,5, 1,0 e 2,5% foram 0,31, 0,43 e 0,55 mg min, respectivamente. Os autores concluíram que ambas as preparações de clorexidina e água destilada não foram capazes de dissolver o tecido pulpar. Todas as soluções de hipoclorito de sódio foram eficientes na dissolução do tecido pulpar, e que a velocidade de dissolução variou com a concentração da solução.

Sirtes *et al.*⁷ avaliaram a estabilidade, a capacidade de dissolução tecidual e ação antimicrobiana do pré-aquecimento de soluções de hipoclorito de sódio (NaOCl)

disponíveis comercialmente usando um dispositivo de aquecimento da seringa. A estabilidade das soluções de NaOCl 1,0, 2,62 e 5,25% foram avaliadas por 20 min nas temperaturas de 20, 45 e 60°C por meio de titulometria de iodo. A capacidade de dissolução tecidual do NaOCl 1% a 60°C foi comparada com a do NaOCl a 5,25% a 20°C. Além da ação antimicrobiana das soluções frente ao *Enterococcus faecalis* comparado 45°C e 20°C. Usando o dispositivo de aquecimento, uma solução de 20°C atingiu 45°C e 60°C em 7 e 20 min, respectivamente. Como resultado foi verificado que todas as soluções permaneceram estáveis durante o período de observação. Avaliando a capacidade de dissolução tecidual o NaOCl a 1% a 45°C foi tão eficaz quanto a solução de 5,25% a 20°C, enquanto a solução de NaOCl 1% a 60°C foi significativamente mais eficaz. Com relação à ação antimicrobiana um aumento de 100 vezes na eficácia foi observada entre as soluções de NaOCl correspondente a 20°C e 45°C.

Ludwig *et al.*⁸ analisaram o teor de cloro ativo e o pH em amostras da solução de hipoclorito de sódio a 1%, provenientes de 3 diferentes frascos onde estavam armazenadas (frasco Pet 1, Pet 2 e Pet 3). Uma amostra de cada frasco foi colhida imediatamente no momento da abertura das embalagens (tempo 0: T0), e as outras três (uma de cada frasco) foram deixadas expostas a luz e temperatura ambiente por aproximadamente 3 horas e posteriormente levadas para análise (tempo 1: T1). Concluiu-se que em todas as amostras houve diminuição do teor de cloro ativo de T0 para T1. Apenas nas amostras provenientes do primeiro frasco (Pet 1) o pH baixou de 12,0 para 11,5 (de T0 para T1). A porcentagem de teor de cloro ativo não condizia com o descrito no rótulo nas amostras provenientes dos três frascos.

O objetivo deste estudo foi avaliar o teor de cloro ativo das soluções de hipoclorito de sódio utilizadas e comparar a capacidade de dissolução tecidual de diferentes soluções de hipoclorito de sódio em tecido conjuntivo e muscular esquelético de ratos.

MATERIAL E MÉTODOS

Esse trabalho de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Positivo, Curitiba, Paraná (144/2008), onde foram analisados todos os conceitos éticos para o uso de animais em experimentos laboratoriais seguindo a declaração de Helsink.

Foram utilizadas soluções de hipoclorito de sódio nas seguintes concentrações: 0,5%, 1% e 2,5%, adquiridas em estabelecimentos comerciais: loja de produtos de limpeza – Mercado; loja de produtos odontológicos – Dental; e Farmácia de Manipulação. Todas as soluções foram armazenadas em local apropriado até o momento de sua utilização e submetidas ao teste de titulometria por iodo para verificar o teor de cloro ativo no momento do experimento (Tab. 1).

Foram utilizadas amostras de língua (tecido muscular – TM) e de tecido do dorso (tecido conjuntivo – TC) de ratos da espécie *Rattus norvegicus* da linhagem Wistar, obtidos no Biotério da Universidade Positivo (UP). Esses animais foram eutanasiados em câmara de gás carbônico. Após a constatação da morte do animal deu-se início a remoção do material experimental. O experimento foi desenvolvido no laboratório de Anátomo-patologia da UP. Sessenta amostras da língua (30) e do dorso

(30) dos ratos foram obtidas em tamanhos padronizados e pesadas em balança de precisão (0,0330 gramas \pm 0,005) para constituírem os espécimes.

Os espécimes foram distribuídos aleatoriamente em 12 grupos conforme o tipo de tecido e solução testada (n=5): 1. Tecido conjuntivo (Grupo I: Hipoclorito de sódio 1% Mercado; Grupo II: Hipoclorito de sódio 1% Dental; Grupo III: Hipoclorito de sódio 1% Manipulado; Grupo IV: Hipoclorito de sódio 2,5% Mercado; Grupo V: Hipoclorito de sódio 2,5% Dental; Grupo VI: Hipoclorito de sódio 2,5% Manipulado); 2. Tecido muscular (Grupo VII: Hipoclorito de sódio 1% Mercado; Grupo VIII: Hipoclorito de sódio 1% Dental; Grupo IX: Hipoclorito de sódio 1% Manipulado; Grupo X: Hipoclorito de sódio 2,5% Mercado; Grupo XI: Hipoclorito de sódio 2,5% Dental; Grupo XII: Hipoclorito de sódio 2,5% Manipulado).

Para cada grupo foram utilizados 5 espécimes, imersos individualmente em frascos com 6 ml da respectiva solução. Obedeceu-se a seguinte rotina: os espécimes de cada grupo foram colocados ao mesmo tempo nos frascos, a cada grupo dava-se início a contagem de tempo progressiva em cronômetro desde a colocação do espécime até sua total dissolução. O momento exato da completa dissolução foi detectado com o auxílio de uma lupa de 2,5X de aumento, operação esta que era continuamente monitorada por um observador que desconhecia o tipo de solução empregada.

Tabela 1. Procedência, nome, teor de cloro declarado pelo fabricante (FAB), fabricante, teor de cloro mensurado pela titulometria com iodo (TI).

Procedência	Nome	FAB	Fabricante	TI
Mercado	Hipoclor	1 %	Carillon Ind. Com. Prod. Higiene Ltda.	1,51%
Dental	HW	1%	HW products	0,33%
Farmácia de manipulação	Hipoclorito de sódio	1%	Farmadoctor	1,06%
Mercado	Limpa bem	2,5%	Ind. Com. Prod. Limpeza Limpa bem	2,44%
Dental	HW	2,5%	HW products	1,36%
Farmácia de manipulação	Hipoclorito de sódio	2,5%	Farmadoctor	2,39%

Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística no programa GraphPad InStat versão 3.06 (GraphPad Software Inc.).

RESULTADOS

A titulometria realizada antes dos testes de dissolução mostrou a porcentagem de perda do teor de cloro ativo nas soluções de hipoclorito de sódio em concentrações de 1% e 2,5% (Gráf. 1).

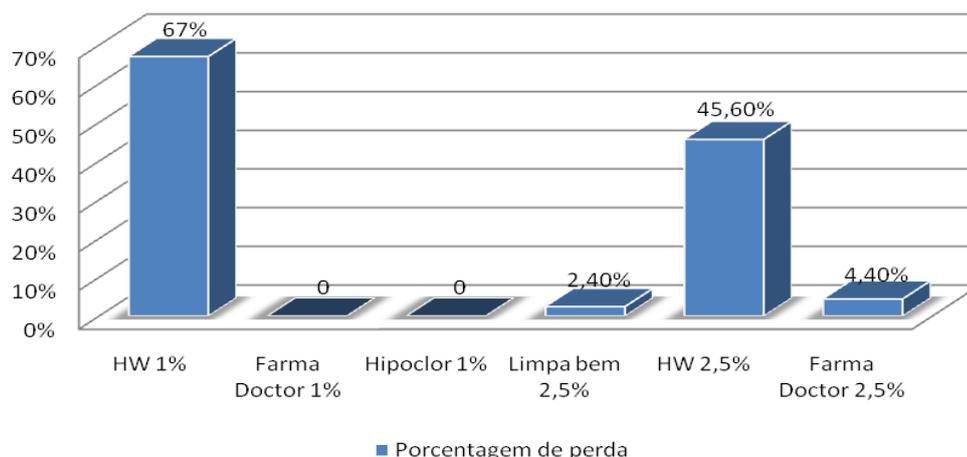


Gráfico 1. Porcentagem de perda de cloro ativo.

O tempo de dissolução dos tecidos muscular e conjuntivo de ratos, em minutos, apresentou-se entre 74 e 335 minutos, com exceção do produto HW 1% que não foi capaz de dissolver por completo os tecidos testados. Foram obtidos cinco valores e a média para cada grupo (Tab. 2).

Tabela 2. Tempo em minutos para dissolução completa dos tecidos.

	Hipoclorito de sódio a 1,0%			Hipoclorito de sódio a 2,5%		
	Mercado	Dental	Manipulado	Mercado	Dental	Manipulado
Tecido conjuntivo	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	Grupo V	Grupo VI
	195,92	X	335,50	75,00	151,75	91,00
	175,83	X	331,00	87,00	206,92	79,00
	163,00	X	292,50	83,00	301,67	116,00
	154,83	X	277,83	74,00	191,50	98,00
	131,52	X	155,00	83,00	176,42	117,00
	164,22 ±24,0	X	278,36 ±73,2	80,4 ±5,6	205,65 ±57,4	100,2 ±16,3
Tecido muscular	Grupo VII	Grupo VIII	Grupo IX	Grupo X	Grupo XI	Grupo XII
	202,75	X	321,35	89,00	188,50	197,00
	196,58	X	301,53	120,00	178,62	104,00
	192,57	X	292,08	131,00	232,55	170,00
	185,20	X	271,07	100,00	240,33	260,00
	115,22	X	261,90	118,00	255,00	127,00
	178,46 ±35,9	X	289,58 ±23,8	111,60 ±16,8	219,00 ±33,5	171,6±61,3

Os valores, com exceção dos grupos II e VIII, foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e posteriormente ao teste estatístico Tukey-Kramer.

A dissolução do tecido conjuntivo apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) entre os grupos: GI (178,46 ±35,9) e GIII (289,59 ±23,8); GIV (111,60 ±16,8) e GV (219,00 ±33,5). As outras marcas e concentrações não apresentaram diferença estatisticamente significante.

A dissolução do tecido muscular apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos: GVII (178,46 ±35,9) e GIX (289,58 ±23,8); e diferença significativa ($p < 0,001$; $p < 0,01$) respectivamente: GX (111,60±16,8) e GXI (219,00 ±33,5); GXI (219,00

$\pm 33,5$) e GXII (171,6 $\pm 61,3$). As outras marcas e concentrações não apresentaram diferença estatisticamente significativa.

A comparação entre o tempo de dissolução dos tecidos conjuntivo e muscular mostrou-se diferente estatisticamente ($p < 0,05$), com menores valores, ou seja, dissolução mais rápida do tecido conjuntivo, quando comparadas as soluções provenientes do mesmo local. Em ordem crescente de minutos: GIV, GVI, GX, GI, GXII, GVII, GV, GXI, GIII, GIX.

As soluções adquiridas em lojas de produtos de limpeza – mercado – apresentaram tempo mais rápido em ambas as concentrações. Ao contrário das soluções adquiridas em lojas de produtos odontológicos – dental - e ainda, a concentração de 2,5% apresentou-se com menor capacidade de dissolução do que as soluções de mercado a 1%. As soluções manipuladas em farmácia apresentaram tempos intermediários.

DISCUSSÃO

O poder de solvência da solução de hipoclorito de sódio sobre tecidos orgânicos ilustra a sua capacidade de limpeza no tratamento dos canais radiculares. A completa eliminação de restos de tecidos pulpares e/ou necróticos, principalmente em regiões de difícil acesso às limas, é objetivo da ação química e física das soluções, considerando-se também o volume utilizado e o tempo que a solução entra em contato com os tecidos^{2,9}.

Disponíveis em diferentes locais, marcas e concentrações, o hipoclorito de sódio é amplamente utilizado sem que haja uma atenção mais cuidadosa com relação a sua viabilidade. Este estudo, assim como outros, mostrou que existe uma relação direta entre perda do teor de cloro ativo e a diminuição da capacidade de dissolução. A marca comercial HW mostrou-se ineficaz para dissolver os tecidos na concentração de 1%, e na titulometria apresentou teor de cloro ativo menor que 0,33%, valor abaixo do recomendado para utilização em tratamentos endodônticos¹⁰.

Alguns fatores podem contribuir para a perda do teor de cloro ativo, como o armazenamento inadequado, embalagens defeituosas, falta de controle de qualidade na manipulação, alteração de temperatura, luminosidade, pH e prazo de validade^{8,10}. Com base na comparação realizada neste estudo, mesmo as soluções manipuladas em farmácias de manipulação perdem rapidamente o teor de cloro ativo. Por outro lado, as soluções adquiridas em mercado apresentaram maior concentração do que a descrita na embalagem, provavelmente porque o fabricante prevê esta perda ou são adicionadas outras substâncias para que a solução permaneça viável por maior tempo.

Não existe ainda consenso sobre qual concentração do hipoclorito de sódio é mais indicada para o tratamento endodôntico. As vantagens proporcionadas pela alta concentração, no que concerne ao efeito antimicrobiano e de solvência dos tecidos, por outro lado, pode ocasionar reações biológicas adversas¹¹. Assim, as concentrações de cloro 0,5%, 1%, 2,5% e 5% são as mais amplamente utilizadas e sua indicação varia conforme o grau da infecção, preferência do operador ou padronização em universidades. Esta pesquisa utilizou concentrações intermediárias, 1% e 2,5%, pois são encontradas facilmente em diferentes estabelecimentos. A disponibilidade de matéria-prima e os recursos simplificados de manipulação possibilitam que a indústria produza o hipoclorito de sódio em larga escala sem controle rigoroso da qualidade dos mesmos. Além do baixo custo, da competitividade no comércio e da falta de exigência por parte dos consumidores.

O efeito do hipoclorito de sódio nos tecidos orgânicos dos canais radiculares não é visível, e, portanto o conjunto de ações pertinentes ao tratamento endodôntico, como a ação mecânica das limas, fazem o sucesso clínico da maioria dos casos.

Não se pode ignorar a importância das soluções irrigadoras como auxiliares no tratamento endodôntico, então, aspectos da fabricação, da aquisição, utilização e armazenamento das soluções, devem ser estudados.

O tecido pulpar é um tecido conjuntivo frouxo bastante suscetível à ação de solvência do hipoclorito de sódio se comparado aos tecidos utilizados nesta pesquisa. Mesmo com a padronização do tamanho e peso dos fragmentos provenientes dos ratos, obteve-se um espécime maior em volume do que a polpa dentária. Mas, para efeito de comparação entre os tecidos e avaliação do efeito das soluções, os espécimes utilizados apresentaram-se viáveis e estáveis.

A comparação entre o tempo de dissolução dos diferentes tecidos foi diretamente proporcional à concentração de cloro ativo das soluções, mesmo sendo os tempos considerados não praticáveis *in vivo*, devido ao tipo de tecido utilizado nesta pesquisa.

Houve estabilidade nos resultados com relação aos diferentes tecidos, assim, o tecido conjuntivo extraído do dorso do rato foi mais facilmente dissolvido nas diferentes marcas e concentrações do que o tecido muscular-esquelético da língua.

CONCLUSÃO

- Os tecidos extraídos do dorso e da língua do rato podem ser considerados espécimes confiáveis para testar a capacidade de solvência das soluções de hipoclorito de sódio. Estas soluções encontram-se com teor de cloro ativo alterado com relação ao que é comercialmente divulgado. Embora as soluções manipuladas em farmácia sejam mais confiáveis, não apresentam melhor capacidade de dissolução de tecidos orgânicos do que as soluções encontradas em mercados. E por outro lado, as soluções vendidas em lojas de produtos odontológicos apresentaram resultados insatisfatórios que merecem atenção por parte dos consumidores diretos, os cirurgiões-dentistas.

REFERÊNCIAS

1. Siqueira JRJ, Batista M, Fraga R, Uzeda M. Antibacterial effects of endodontic irrigants on Black-pigmented Gram-negative anaerobes and facultative bacteria. *J Endod* 1998; 24(6):414-16.
2. Okino LA, Siqueira EL, Santos M, Bombana AC, Figueiredo JAP. Dissolution of pulp tissue by aqueous solution of chlorhexidine digluconate gel. *Int Endod J* 2004; 37(1):38-41.
3. Tanomaru JMG, Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Bonetti Filho I, Silva LA. Effect of different irrigation solution and calcium hydroxide on bacterial LPS. *Int Endod J* 2003; 36(11):733-9.
4. Sassone LM, Fidel R, Fidel S, Vieira M, Hirata Jr R. 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.
5. Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spanó JC, Marchesan MA, Pécora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz Dent J* 2002; 13(2):113-7.

6. Pécora JD, Guimarães LF, Savioli RN. Surface tension of several drugs used in endodontics. *Braz Dent J* 1992; 2(2):123-29.
7. 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.
8. Ludwig A, Hoffmeister MK, Irala LED, Salles AA, Limongi O, Soares RG. Análise da concentração de cloro ativo e pH em amostras de hipoclorito de sódio 1%. *Rev Sul-bras Odontol* 2007; 4(1):29-36.
9. Barbin G, Becker AN, Oliveira EPM. A história do hipoclorito de sódio e a sua importância como substância auxiliar no preparo químico-mecânico de canais radiculares. *Rev Endod Pesq Ens On line* 2007; 3(5):1-5.
10. Pécora JD, Murgel CAF, Savioli RN, Costa WF, Vansan LP. Estudo sobre o *shelf life* da solução de Dakin. *Rev Odont Univ São Paulo* 1987; 1(1):3-7.
11. Ercan E, Özekinci T, Atakul 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(2):84-87.