

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

CAMILA PAIVA PERIN

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA REMOÇÃO DA *SMEAR LAYER* NA
INFILTRAÇÃO APICAL**

**CURITIBA
2009**

CAMILA PAIVA PERIN

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA REMOÇÃO DA *SMEAR LAYER* NA
INFILTRAÇÃO APICAL**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de concentração: Endodontia.

Orientador: Prof. Dr. Ulisses Xavier da Silva Neto

CURITIBA

2009

Ao meu pai, **ZEFERINO**, meu melhor amigo, meu mestre e mentor, meu grande amor, meu grande exemplo. Um entusiasta nato que me ensinou a ser honesta e determinada e a ver o trabalho como instrumento para o exercício da dignidade e da cidadania. A você, que sempre esteve ao meu lado nos momentos difíceis que se apresentaram nesse período e em toda minha trajetória acadêmica e profissional. A você, que sempre vibrou com as minhas conquistas, que sempre participou de tudo. A você, que me ensinou que a felicidade está nas coisas mais simples e que o conhecimento é o grande bem que um ser humano pode ter. A você, meu grande incentivador e o maior responsável por esse feito. Em primeiro lugar, essa conquista é sua e para você.

À minha mãe e melhor amiga **JAIRA**, pelo cuidado carinhoso, pelos valores morais impecáveis que me ensinou ao longo da vida, pelo amor, pela amizade verdadeira, pela presença constante, pelo apoio incondicional, pela cumplicidade e confiança absoluta, pela paciência, incentivo, e alegria que sempre me proporcionou. A você, por compartilhar dos mesmos sonhos. Essa conquista também é sua.

À minha irmã e companheira **LAURA**, que sempre confiou em meu potencial, me apoiou durante esse período trabalhoso, colaborou efetivamente na logística deste trabalho e sempre me alegrou com seu carinho e humor inteligente.

Ao meu primo **RAFAEL**, grande coração em um ser tão pequenino, grande companheiro e amigo em uma criança tão especial. Sua presença infantil e alegre sempre me mostrou que o melhor caminho a ser seguido é o do coração.

Ao meu noivo **JULIO CEZAR**, que apareceu no final de tudo, no lugar certo, na hora certa, no momento crucial. De repente tudo fez sentido, em um momento em que eu pensava já não ter mais energia para continuar não só esse sonho, mas muitos outros. A você, que me cuidou, tratou, motivou e auxiliou. Meu amor, a você, que chega ao final dessa caminhada de mãos dadas comigo. Essa conquista é pra você também.

À família **FERNANDES**, pela cumplicidade, carinho, confiança, apoio, acolhida e pelos maravilhosos momentos de convivência.

Dedico especialmente esse trabalho.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. ULISSES XAVIER DA SILVA NETO**, excepcional colega, amigo e irmão. Sempre ao meu lado, paciente, presente, disponível. Uma mente brilhante que me acolheu, orientou, questionou e ensinou. Tenho muito orgulho de ter desenvolvido este trabalho em parceria contigo. Sempre serás o amigo que me ensinou a trilhar o caminho para a docência.

Agradeço de coração.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao diretor do Curso de Odontologia da PUCPR, **Prof. Dr. MONIR TACLA**, pelo exemplo de competência e pela seriedade com que dirige o Curso de Odontologia dessa Universidade.

Ao diretor de Pós-Graduação do Curso de Odontologia da PUCPR, **Prof. Dr. SÉRGIO VIEIRA**, pela habilidade e competência com que coordena a pós-graduação.

À coordenadora da Área de Endodontia do Curso de Odontologia da **PUCPR**, **Profª. Drª. VANIA PORTELA DIETZEL WESTPHALEN**, pela confiança em meu potencial, pelo constante estímulo e por oferecer, incondicionalmente, seu conhecimento em favor de minha formação.

Aos queridos professores da área de Endodontia do Curso de Odontologia da PUCPR, **Profª. Drª. VANIA PORTELA DIETZEL WESTPHALEN**, **Prof. Dr. ULISSES XAVIER DA SILVA NETO**, **Prof. Dr. EVERDAN CARNEIRO**, **Prof. Dr. LUIZ FERNANDO FARINIUK**, pela confiança, paciência, e disponibilidade para me orientar.

À turma de Mestrado em Endodontia, **VINICIO HIDEMITSU GOTO HIRAI**, **SANDRA JÓIA MIZRAHI JAKOBSON**, **LILIANE ROSKAMP**, **CAMILA MENDES FIGUEIREDO**, **ANA EGIDE COSTENARO CAVALI**, **JUAREZ SATRIO GARCIA JUNIOR** e **MARIA CLAUDIA BAGGIO GOMES** pela companhia, amizade, respeito, solidariedade e comunhão em todos os momentos.

Ao querido colega **VINICIO HIDEMITSU GOTO HIRAI**, agradeço especialmente por ter sido companheiro em todas as etapas do desenvolvimento desse trabalho, sempre presente, prestativo e disponível nos momentos de dúvida.

Ao colega de trabalho e amigo **ARNALDO ALVES DA SILVA**, Técnico em Higiene Dental da Prefeitura Municipal de Curitiba, que emprestou prontamente seu conhecimento para que este trabalho fosse desenvolvido não apenas com exatidão técnica, mas também com arte.

Aos amigos **LIRIAN YURI KASHIWAGI**, **TEREZINHA MILDA ALVES DA CRUZ** e **JANAINA ROA LEMES**, pelo apoio que sempre ofereceram, pela paciência, incentivo e pelos maravilhosos momentos de convivência.

À querida **GISELE ALVES**, por ter sido tão prestativa e competente no auxílio para a formatação desse trabalho.

À querida **ANGELA ALVES DE SOUZA**, minha sócia e amiga, pelo respeito, carinho, amizade e por suprir minha ausência no momento mais crucial e decisivo de nossa vida profissional.

Ao professor **Prof. Dr. SÉRGIO APARECIDO IGNÁCIO**, pela presteza e ajuda na execução e interpretação da análise estatística.

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização desse trabalho.

Avaliação da influência da remoção da *smear layer* na infiltração apical.

1 Camila Paiva Perin, Ms
2 Ulisses Xavier da Silva Neto, DDS, PhD
2 Vânia Portela Ditzel Westphalen DDS, PhD
1 Vinicio Hidemitsu Goto Hirai, Ms
2 Everdan Carneiro, DDS, PhD
2 Luiz Fernando Fariniuk, DDS, PhD

1- Departamento de Endodontia, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil
2- Professor de Endodontia, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil

Autor para correspondência: Professor Ulisses Xavier da Silva Neto

Travessa Percy Withers 50 apto 1501 Água Verde CEP 80240-190 Curitiba, Paraná Brasil

e-mail: ulix@terra.com.br

Tel/fax 55 41 3077-8747

RESUMO

O objetivo deste estudo foi analisar a influência de diferentes agentes irrigadores (hipoclorito de sódio isoladamente, hipoclorito de sódio + EDTA, hipoclorito de sódio + BioPure MTAD) utilizados para remoção da *smear layer*, na infiltração apical. Quarenta e nove pré-molares inferiores foram divididos em 3 grupos, de acordo com as soluções irrigadoras empregadas, preparados até o instrumento ProFile 45.04 e obturados com cones de guta percha e cimento AH Plus. Quatro espécimes formaram o grupo controle. O método de filtração de fluido foi utilizado para a avaliação quantitativa da infiltração apical após 2 semanas de armazenamento a 37° C e 100% de umidade e determinada como $\mu\text{L}/\text{min}^{-1} \cdot 10 \text{ psi}$. Os resultados foram submetidos à análise estatística pelo teste Tukey HSD, indicando que a associação hipoclorito de sódio + Biopure MTAD apresentou a maior média de infiltração, seguida da associação hipoclorito de sódio + EDTA. O hipoclorito de sódio empregado isoladamente apresentou a menor média de infiltração. Considerando as condições experimentais e os resultados observados, pode-se concluir que a remoção da *smear layer* parece não contribuir para uma redução da infiltração apical.

Palavras-chave: Filtração de fluido. BioPure MTAD. Infiltração.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

%	porcentagem
μL	microlitro
μL/min	microlitro por minuto
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
dp	desvio padrão
EDTA	ácido etileno diamino tetracético
g	grama
G	grupo
h	hora
mL	mililitro
mm	milímetro
n	número
NaOCl	hipoclorito de sódio
°C	graus Celsius
p	significância estatística
psi	pressão por polegada quadrada
PUCPR	Pontifícia Universidade Católica do Paraná
x	vezes

SUMÁRIO

ARTIGO EM PORTUGUÊS	11
1 INTRODUÇÃO	12
2 MATERIAL E MÉTODOS	14
2.1 INSTRUMENTAÇÃO E OBTURAÇÃO DOS CANAIS.....	14
2.2 TESTE DE INFILTRAÇÃO	16
3 RESULTADOS.....	17
4 DISCUSSÃO	18
5 CONCLUSÃO	21
6 REFERÊNCIAS.....	22
ARTIGO EM INGLÊS.....	27
1 INTRODUCTION.....	30
2 MATERIAL AND METHODS	32
2.1 CANAL INSTRUMENTATION AND FILLING	32
2.2 LEAKAGE TEST	34
3 RESULTS.....	36
4 DISCUSSION	37
5 REFERENCES.....	41
ANEXOS	49
1 MATERIAIS UTILIZADOS	50
2 MÉTODOS	52
3 RESULTADOS.....	59
4 REFERÊNCIAS.....	61
5 PARECER DO CEP	62
6 NORMAS DA REVISTA.....	64

ARTIGO EM PORTUGUÊS

1 INTRODUÇÃO

Um dos objetivos do tratamento endodôntico é a obturação hermética do sistema de canais radiculares. Isso é conseguido com o selamento completo e tridimensional do sistema de canais radiculares, impedindo assim o ingresso de microrganismos ou de seus produtos, tanto pela via coronária quanto apical¹⁻².

As contínuas pesquisas sobre materiais obturadores são baseadas no conceito de que o principal motivo para o fracasso do tratamento de canais radiculares é a migração apical de bactérias e seus subprodutos em obturações insuficientemente preenchidas, permitindo a infiltração³.

Preparos químico-mecânicos usualmente promovem canais radiculares livres de debris e que podem ser obturados com segurança. Entretanto, a completa limpeza do sistema de canais radiculares pode não ser obtida em função da deposição sobre as paredes dos canais de uma camada de material denominada *smear layer*, a qual é produzida pela ação de corte dos instrumentos endodônticos durante o preparo químico-mecânico⁴.

Embora as proporções dos componentes da *smear layer* ainda não tenham sido bem determinadas, exames em microscopia eletrônica de varredura mostram que a mesma consiste em uma porção orgânica (proteínas coaguladas, tecido pulpar necrótico e não necrótico, processos odontoblásticos, saliva, células sanguíneas e microrganismos) e uma inorgânica (minerais da estrutura dentinária)⁵. Em razão destas duas porções, a remoção da *smear layer* requer uma combinação de agentes irrigadores, visto que uma única solução dificilmente é capaz de dissolver tanto componentes orgânicos quanto inorgânicos⁶.

A permanência da *smear layer* antes da obturação endodôntica persiste como um tema controverso. Muitos autores consideram sua manutenção como favorável por preencher as entradas dos túbulos dentinários, reduzindo assim a permeabilidade dentinária⁷. Outros vêem dificuldades em sua permanência por impedir a penetração de medicamentos nas paredes dos canais radiculares e túbulos dentinários⁸ e por agir como barreira entre os materiais obturadores e as paredes dos canais radiculares, interferindo na formação de um selamento apropriado⁹. Além disso, quaisquer fatores que venham a influenciar na adaptação do material obturador à parede do canal radicular são de grande importância na

determinação da profundidade e extensão da infiltração e, finalmente, no prognóstico da terapia endodôntica².

O hipoclorito de sódio, em concentrações que variam de 1% a 5,25%, tem sido largamente utilizado como irrigante endodôntico, sendo eficiente na dissolução de matéria orgânica e na eliminação de microrganismos. Entretanto, é incapaz de remover completamente a *smear layer* das paredes dentinárias. Em contraste, o ácido etilenediaminotetracético (EDTA) utilizado como agente irrigador em endodontia, tem ação quelante eficiente, dissolvendo tecidos mineralizados¹⁰. De acordo com Yamada *et al.* (1983)¹¹, o uso de EDTA a 17% seguido por hipoclorito de sódio a 5,25% produz excelentes resultados na remoção da *smear layer*.

Torabinejad *et al.* (2003)¹⁴ investigaram o efeito de um irrigante endodôntico denominado MTAD. O produto é composto de um isômero da tetraciclina (doxiciclina), ácido cítrico e um detergente e tem a finalidade de, simultaneamente, remover a *smear layer* e promover a desinfecção das paredes dos canais radiculares instrumentados. Seus resultados demonstraram que o BioPure MTAD em associação ao emprego de hipoclorito de sódio foi efetivo como irrigante final para remoção da *smear layer*, promovendo mínimas alterações erosivas nas superfícies dentinárias.

O objetivo deste trabalho foi analisar a influência da remoção da *smear layer* na infiltração apical de canais radiculares tratados com hipoclorito de sódio isoladamente, hipoclorito de sódio + EDTA e hipoclorito de sódio + BioPure MTAD e obturados com guta percha e cimento resinoso AH Plus. A hipótese nula foi que não há diferença na média de valores de infiltração entre os grupos testados.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Após aprovação junto ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP-PUCPR), foram selecionados quarenta e nove dentes pré-molares inferiores humanos unirradiculados extraídos e com raízes retas, obtidos junto ao banco de dentes da PUCPR. Os dentes foram imediatamente armazenados em formol tamponado 10% e lavados em soro fisiológico no momento do uso. Raízes com fissuras, cáries extensas, ápices abertos ou reabsorções foram descartados.

2.1 INSTRUMENTAÇÃO E OBTURAÇÃO DOS CANAIS

As porções coronárias de todos os dentes foram removidas com disco diamantado dupla face, de modo que cada espécime foi padronizado com 15 mm de comprimento radicular.

Pontas diamantadas (KG Sorensen, Rio de Janeiro, Brasil) foram empregadas na obtenção do acesso direto aos canais radiculares. Instrumentos 15 K-Flexofile (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) foram utilizados para localização e exploração dos canais e, após, foram introduzidos até o forame apical. O comprimento de trabalho foi então determinado pela subtração de 1mm desta medida. A patência apical foi confirmada com a inserção de um instrumento 25 K-Flexofile através do forame apical antes e depois do preparo dos canais radiculares.

A instrumentação dos canais radiculares foi realizada por meio da técnica coroa-ápice, utilizando instrumentos ProFile (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) de conicidade 0.04 a 1mm aquém do comprimento real das raízes. Todos os espécimes foram modelados até o instrumento ProFile 45.04.

Os espécimes foram divididos aleatoriamente em 3 grupos experimentais de 15 dentes cada, de acordo com o agente irrigador empregado durante a instrumentação. Quatro dentes formaram o grupo controle.

A irrigação foi realizada por meio de seringa Luer-lock e agulha gauge 27, como se segue:

- **G1 (15):** 5mL de NaOCl 2,5% a cada troca de instrumento + 5mL de EDTA trissódico líquido a 17% por 3 minutos, ao final da instrumentação;

- **G2 (15):** 5mL de NaOCl 2,5% a cada troca de instrumento + 5mL de Biopure MTAD por 5 minutos, ao final da instrumentação;
- **G3 (15):** 5mL de NaOCl 2,5% a cada troca de instrumento.

Em todos os grupos realizou-se uma irrigação final com 5mL de água destilada para remoção de debris e agentes irrigadores remanescentes. Os canais foram secos por pontas de papel absorvente (Dentsply Latin América, Petrópolis, Brasil) e as raízes impermeabilizadas externamente com duas camadas de esmalte para unhas, exceto a 1mm ao redor do forame apical.

Quatro espécimes formaram o grupo controle, sendo 2 deles usados como controle positivo, nos quais a obturação foi realizada com cones de guta percha, sem cimento obturador. Os outros 2 foram utilizados como controle negativo, sendo totalmente impermeabilizados pela aplicação de esmalte para unhas, inclusive no forame apical.

Após a seleção do cone principal, de acordo com o diâmetro cirúrgico determinado pela instrumentação, efetuaram-se as manobras de obturação. Os canais foram obturados pela técnica da condensação lateral, utilizando-se cones de guta-percha standardizados (Dentsply Latin América, Petrópolis, Brasil) e cimento endodôntico AH Plus (Dentsply De Trey, Kontanz, Alemanha). O cimento foi manipulado de acordo com as instruções do fabricante e introduzido previamente nos canais com auxílio de espirais de Lentullo nº 4. Logo após, introduziu-se os cones principais n. 45.04 no comprimento de trabalho.

Calçadores aquecidos foram empregados na remoção da guta-percha da entrada dos canais, preservando 13mm de material obturador apicalmente.

Posteriormente, os espécimes foram armazenados em estufa a 37°C e 100% de umidade durante 15 dias para garantir a presa completa do cimento obturador.

2.2 TESTE DE INFILTRAÇÃO

O método de filtração de fluido foi empregado para determinar a infiltração^{1, 2, 15}. O ápice radicular foi conectado a uma agulha metálica tipo luer por meio de um tubo plástico^{2, 15}.

A infiltração permitida pelos grupos testados foi quantificada seguindo o movimento de uma pequena bolha de ar no interior de uma micropipeta de 25 μ L e 65mm (Microcaps, Fisher Scientific, Philadelphia, PA). O interior da pipeta e todo o sistema foram preenchidos com água destilada e submetidos a uma pressão de 10 psi. Após certificação de que não havia vazamento nas conexões, o sistema foi acionado e equilibrado durante 4 minutos.

O volume de fluido foi calculado pela observação do deslocamento da bolha de ar e expresso em $\mu\text{L}/\text{min}^{-1} \cdot 10 \text{ psi}$. As medições foram realizadas em intervalos de 2 minutos em períodos de 8 minutos para cada espécime.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste de Levene) e comparações múltiplas, empregando o teste Tukey-HSD. O intervalo de confiança utilizado foi de 95% ($p < 0,05$).

3 RESULTADOS

No teste de filtração de fluido nenhum movimento da bolha de ar foi detectado no grupo controle negativo, ao passo que no grupo controle positivo o deslocamento da bolha de ar ocorreu de forma rápida e ininterrupta.

Os valores globais (Média \pm dp) expressos em $\mu\text{L}/\text{min}^{-1} \cdot 10 \text{ psi}$ da infiltração permitida pelos três grupos testados encontram-se descritos na tabela 1.

Tabela 1 – Valores médios de infiltração, em $\mu\text{L}/\text{min}^{-1} \cdot 10 \text{ psi}$, proporcionados pelos diferentes agentes irrigadores.

Grupo	N	Média \pm dp
Hipoclorito de sódio + EDTA	15	0,603 \pm 0,295
Hipoclorito de sódio + BioPure MTAD	15	1,256 \pm 0,143
Hipoclorito de sódio isoladamente	15	0,356 \pm 0,232

Fonte: dados da pesquisa

O grupo irrigado com BioPure MTAD apresentou a maior média de infiltração, diferindo dos demais agentes que, por sua vez, diferem entre si, sendo que o hipoclorito de sódio a 2,5% empregado isoladamente apresentou a menor media de infiltração.

4 DISCUSSÃO

A hipótese nula do estudo foi rejeitada porque houve diferença na média de valores de infiltração entre os diferentes grupos testados.

A infiltração em canais radiculares tem sido definida como a passagem de bactérias, fluidos e substâncias químicas entre o dente e o material obturador do canal radicular, e representa o resultado da presença de espaços preenchidos por fluido na interface do material obturador com a parede do canal radicular. Esses espaços podem ser decorrentes de deficiências na adaptação do material obturador às paredes do canal radicular, da solubilidade dos cimentos, bem como de sua expansão ou contração. Existem duas possibilidades de infiltração: na interface entre a guta-percha e o cimento e entre o cimento e as paredes do canal radicular¹⁶.

Neste estudo, um modelo de filtração de fluido^{1, 2, 15} foi utilizado para avaliar a influência de diferentes agentes irrigadores para remoção da *smear layer*, na infiltração endodôntica. O método de filtração de fluido apresenta diversas vantagens sobre outros métodos utilizados para a avaliação da infiltração²⁵, sendo que as amostras não são destruídas, permitindo medições ao longo do tempo²⁶ e nenhum marcador é necessário, evitando problemas relacionados com o tamanho molecular, afinidade com a dentina, ou pH^{25, 27}. Não são necessários materiais específicos, como nos modelos de penetração bacteriana ou com marcadores radioativos^{27, 28}. Entretanto, Wu *et al.* (1993)²⁵ indicam padronizar comprimento e anatomia das amostras, bem como a patência e o diâmetro do forame após a instrumentação, para reduzir as variáveis desta metodologia.

Quando as paredes dos canais radiculares são instrumentadas mecanicamente, uma camada de resíduos se forma na superfície e se estende para o interior dos túbulos dentinários. Essa camada, conhecida como *smear layer*⁸, não é removida em sua totalidade pela irrigação com hipoclorito de sódio. O efeito que esta camada tem sobre o prognóstico no tratamento do canal radicular é desconhecido¹⁸, mas sabe-se que ela pode ser degradada por toxinas bacterianas e ácidos¹⁹, o que permitiria que se formasse um caminho pelo qual a infiltração pudesse ocorrer²⁰.

Recentemente, um grande número de pesquisas têm sido focadas nas propriedades do BioPure MTAD. A habilidade deste produto em remover a *smear*

layer de forma rápida e autolimitante tem sido relatada. Observou-se que, em comparação com EDTA e ácido cítrico, o BioPure MTAD promoveu mínima erosão da dentina intra-radicular²¹. Embora as reais conseqüências da destruição da matriz dentinária permaneçam indefinidas, Park, Torabinejad, Shabahang, 2004²² afirmaram que o aumento da infiltração em amostras tratadas com EDTA poderiam ser causadas por suas propriedades erosivas. O estudo de De Deus *et al.* (2008)²³, realizado pelo método da infiltração da glicose, não está de acordo com esses achados, visto que não encontrou diferença estatisticamente significativa na infiltração dos espécimes tratados com EDTA, BioPure MTAD ou hipoclorito de sódio a 5,25%. O presente estudo, por sua vez, obteve resultados demonstrando que hipoclorito de sódio + BioPure MTAD permitiu maior infiltração endodôntica, seguido de hipoclorito de sódio + EDTA e hipoclorito de sódio empregado isoladamente, resultados esses com diferença significativa.

Atualmente, tem havido muito interesse na investigação do possível efeito da *smear layer* na infiltração endodôntica. Entretanto, ainda não existe consenso sobre a sua real influência sobre o selamento efetivo do sistema de canais radiculares². Alguns pesquisadores afirmam que a presença ou a ausência da *smear layer* não tem efeito significativo no selamento de obturações de canais radiculares^{22, 23, 29, 49, 50}, ao passo que outros como Kont Çobankara, Adanir, Belli (2004)², Gençoglu, Samani, Gunday (1993)³⁰, Taylor, Jeansonne, Lemon (1997)³¹, Economides *et al.* (2004)³², Kokkas *et al.* (2004)³³ afirmam que a remoção produz um efeito positivo no selamento, pois possibilita que o cimento penetre nos túbulos dentinários, promovendo uma melhor adaptação dos materiais obturadores às paredes dos canais radiculares¹. Há ainda autores que relatam que a permanência da *smear layer* pode reduzir a infiltração^{16, 34}, corroborando assim com os resultados do presente estudo, por considerarem que a mesma pode diminuir a permeabilidade dentinária, impedindo a infiltração de bactérias na dentina. Michelich, Schuster, Pashley (1980)³⁵ e Drake *et al.* (1994)³⁴, demonstraram que a remoção da *smear layer* favoreceu o acesso de bactérias aos túbulos dentinários, sugerindo que sua permanência tem o potencial de bloquear a penetração de bactérias nos túbulos pela redução da permeabilidade dentinária.

Shahravan *et al.* (2007)³⁶, em estudo sistemático e de metanálise dos efeitos da *smear layer* na infiltração de canais radiculares, relataram que 7 das 65 comparações utilizaram o método da filtração de fluido. Todavia, 4 dos 7 estudos

que empregaram o método de filtração de fluido e 2 de 6 estudos que empregaram o método da penetração bacteriana indicaram significativa diferença em favor da remoção da *smear layer*, enquanto que apenas 1 estudo que empregou o método da filtração de fluido mostrou diferença significativa em favor da manutenção da mesma. Em decorrência das variações entre as metodologias, não foi possível combinar os resultados de todos os estudos, de maneira que apenas os resultados de estudos realizados com testes de infiltração de corantes foram combinados.

Esses resultados conflitantes não são novidades na literatura acerca da infiltração endodôntica e podem ser atribuídos às diferenças entre os tipos de cimentos, técnicas de obturação, espessura da camada de cimento, maneira pela qual a *smear layer* tenha sido produzida, uso de diferentes agentes irrigadores para a remoção da *smear layer* e às diferentes metodologias empregadas nos diversos estudos publicados, o que dificulta a comparação entre as pesquisas e a definição de uma conclusão final.

5 CONCLUSÃO

Sob as condições do presente estudo *in vitro*, as associações testadas (hipoclorito de sódio 2,5% + EDTA e hipoclorito de sódio 2,5% + BioPure MTAD) influenciaram negativamente a infiltração apical. Sendo assim, pode-se concluir que a remoção da *smear layer* parece não contribuir para uma redução da infiltração apical.

6 REFERÊNCIAS

1. Silva-Neto UX, Moraes IG, Westphalen VPD, Menezes R, Carneiro E, Fariniuk LF. Leakage of 4 resin-based root-canal sealers used with a singlecone technique. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 104:53-57.
2. Kont-Çobankara F, Adanir N, Belli S. Evaluation of the influence of smear layer on the apical and coronal sealing ability of two sealers. *J Endod* 2004; 30:406-9.
3. Fisher M A, Berzins D W, Bahcall J K. An In Vitro Comparison of Bond Strength of Various Obturation Materials to Root Canal Dentin Using a Push-Out Test Design. *J Endod* 2007; 33:856-8.
4. SenBH, Wesselink PR, Turkun M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. *Int Endod J* 1995; 28: 141-8.
5. Mader CL, Baumgartner C, Peters DD. Scanning electron microscopic investigation of the smear layer on the root canal walls. *J Endod* 1984; 7: 477-83.
6. Fróes JAV, Horta HGP, Silveira AB. Smear layer influence on the apical seal of four different obturation techniques. *J Endod* 2000; 26: 351-4.
7. Pashley DH, Michelich V, Khel T. Dentin permeability: effects of smear layer removal. *J Prosthet Dent* 1981; 46: 531-7.
8. McComb D, Smith JC. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod* 1975; 1: 238-42.
9. White RR, Goldman M, Lin PS. The influence of the smeared layer upon dentinal tubule penetration by plastic filling materials. *J Endod* 1984; 10: 558-62.
10. Ciucchi B, Khettabi M, Holz J. The effectiveness of different endodontic irrigation procedures on the removal of the smear layer: a scanning electron microscopic study. *Int Endod J* 1989; 22: 21-8.

11. Yamada RS, Armas A, Goldman M, Peck SL. A scanning electron microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating solutions: part 3. *J Endod* 1983; 9: 137-42.
12. Ferraz CCR, Gomes BPFA, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the antimicrobial action and mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endod* 2001; 27: 452-5.
13. Kuruvilla JR, Kamath MP. Antimicrobial activity of 2,5% sodium hypochlorite and 0,2% chlorhexidine gluconate separately and combined, as endodontic irrigants. *J Endod* 1998; 24: 472-75.
14. Torabinejad M, Khademi AA, Babagoli J, Cho Y, Johnson WB, Bozhilov K, et al. A new solution for the removal of the smear layer. *J Endod* 2003; 29: 170-75.
15. Kont-Çobankara F, Adanir N, Belli S, Pashley DH. A quantitative evaluation of apical leakage of four root-canal sealers. *Int Endod J* 2002; 35:979-84.
16. Timpawat S, Vongsavan N, Messer H. Effect of removal of smear layer on apical microleakage. *J Endod* 2001; 27:351-3.
17. Miletic I. et al. Leakage of five endodontic sealers. *Int Endod J* 1999; 32: 415-8.
18. Czonstkowsky M, Wilson EG, Holstein FA. The smear layer in endodontics. *Dent Clin North Am* 1990; 34: 13-25.
19. Meryon SD, Brook AM. Penetration of dentine by three oral bacteria in vitro and their associated cytotoxicity. *Int Endod J* 1990; 23:196-202.
20. Pitt Ford TR, Roberts GJ. Tissue response to glass ionomer retrograde root fillings. *Int Endod J* 1990; 23:233-8.
21. Torabinejad M, Cho Y, Khademi AA, Bakland LK, Shabahang S. The effect of various concentrations of sodium hypochlorite on the ability of MTAD to remove the smear layer. *J Endod* 2003; 29: 233-39.
22. Park DS, Torabinejad M, Shabahang S. The effect of MTAD on the coronal leakage of obturated root canals. *J Endod* 2004; 30: 890-2.
23. De Deus G, Soares J, Leal F, Luna AS, Fidel S, Fidel RAS. Similar glucose leakage pattern on smear covered, EDTA-treated and BioPure MTAD-treated dentin. *J Endod* 2008; 34: 459-61.

24. Ferguson DB, Marley JT, Hartwell GR. The effect of chlorhexidine gluconate as an endodontic irrigant on the apical seal: long-term results. *J Endod* 2003; 29: 91-4.
25. Wu M-K, De Gee AJ, Wesselink PR, Moorer WR. Fluid transport and bacterial penetration along root canal fillings. *Int Endod J* 1993; 26:203– 8.
26. Paqué F, Sirtes G. Apical sealing ability of Resilon/Epiphany versus gutta-percha/AH Plus: immediate and 16-months leakage. *Int Endod J* 2007; 40:722–9.
27. Wu M-K, Wesselink PR. Endodontic leakage studies reconsidered. Part 1. Methodology, application and relevance. *Int Endod J* 1993; 26:37-43.
28. Pommel L, Camps J. Effects of pressure and measurement time on the fluid filtration method in Endodontics. *J Endod* 2001; 27:256-8.
29. Economides N, Liolios E, Kolokuris I, Beltes P. Long-term evaluation of the influence of smear layer on the sealing ability of different sealers. *J Endod* 1999; 25: 123-5.
30. Gençoğlu N, Samani S, Gunday M. Evaluation of sealing properties of thermafil and ultrafil techniques in the absence or presence of smear layer. *J Endod* 1993; 12: 599-03.
31. Taylor J, Jeansonne BG, Lemon RR. Coronal leakage: effects of smear layer, obturation technique, and sealer. *J Endod* 1997; 8: 508-12.
32. Economides N, Kokorikos I, Kolokouris I, Panagiotis B, Gogos C. Comparative study of apical sealing ability of a new resin-based root canal sealer. *J Endod* 2004; 6: 403-5.
33. Kokkas B, Boutsoukis AC, Vassiliadis LP, Stavrianos K. The influence of the smear layer on dentinal tubule penetration depth by three different root canal sealers: an in vitro study. *J Endod* 2004; 2: 100-2.
34. Drake DR, Wiemann AH, Rivera EM, Walton RE. Bacterial retention in canal walls in vitro: effect of smear layer. *J Endod* 1994; 2: 78-82.
35. Michelich VJ, Schuster GS, Pashley DH. Bacterial Penetration of human dentin in vitro. *J Den Res* 1980; 59:1398-1403.

36. Shahravan A, Haghdoost A, Adl A, Rabini H, Shadifar F. Effect of smear layer on sealing ability of canal obturation: a systematic review. *J Endod* 2007; 33: 96-104.
37. Baumgartner JC, Mader CL. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. *J Endod* 1987; 13: 147- 57.
38. Barkhordar RA, Watanabe LG, Marshall GW, Hussain MZ. Removal of intracanal smear by doxycycline in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Patol Oral Radiol Endod* 1997; 84: 420-3.
39. Silva Neto, UX. Infiltração coronária em obturações de canais radiculares realizadas com diferentes cimentos endodônticos resinosos: avaliação pelo método de filtração de fluido. Bauru, 2005. 116p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
40. Key J E, Rahemtulla F G, Eleazer P D. Cytotoxicity of a New Root Canal Filling Material on Human Gingival Fibroblasts. *J Endod* 2006; 32:756-8.
41. Kardon BP, Kuttler S, Hardigan P, Dorn S. An in vitro evaluation of the sealing ability of a new root-canal obturation system. *J Endod* 2003; 29:658-61.
42. Zmener O. et al. Sealing properties of a new resin based root canal sealer. *Int Endod J* 1997; 30: 332-4.
43. Vivacqua-Gomes N, Ferraz CCR, Gomes BPFA, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho F. Influence of irrigants on the coronal microleakage of laterally condensed gutta-percha root fillings. *Int Endod J* 2002; 35: 791-795.
44. Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland LK. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. *Oral Sur, Oral Med, Oral Patol, Oral Radiol, Endod* 2002; 94: 658-66.
45. Marley JT, Ferguson DB, Hartwell GR. Effects of chlorhexidine gluconate as an endodontic irrigant on the apical seal: short-term results. *J Endod* 2001; 27: 775-78.
46. Wuerch RMW, Apicella MJ, Mines P, Yancich PJ, Pashley DH. Effect of 2% chlorhexidine gel as an intracanal medication on the apical seal of the root-canal system. *J Endod* 2004; 30: 788-91.
47. Tay FR, Pashley DH, Loushine RJ, Doyle MD, Gillespie WT, Weller RN, King NM. Ultrastructure of smear layer-covered intraradicular dentin after irrigation with BioPure MTAD. *J Endod* 2006; 32: 218-21.

48. Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Silva LAB, Nelson Filho P, Bonifácio KC, Ito IY. In vitro antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigant solution. J Endod 1999; 25: 167-71.
49. Ghoddusi J, Rohani A, Rashed T, Ghaziani P, Akbari M. An evaluation of microbial leakage after using MTAD as a final irrigation. J Endod 2007; 33: 173-6.
50. Shemesh H, Wu MK, Wesselink PR. Leakage along apical root fillings with and without smear layer using two different leakage models: a two month longitudinal *ex vivo* study. Int Endod J 2006; 39: 968-76.

ARTIGO EM INGLÊS

Evaluation of the influence of smear layer removal on the apical leakage.

1 Camila Paiva Perin, Ms
2 Ulisses Xavier da Silva Neto, DDS, PhD
2 Vânia Portela Ditzel Westphalen DDS, PhD
1 Vinicio Hidemitsu Goto Hirai, Ms
2 Everdan Carneiro, DDS, PhD
2 Luiz Fernando Fariniuk, DDS, PhD

1- Department of Endodontics, Pontifical Catholic University of Paraná, Curitiba, Paraná Brazil
2- Professor of Endodontics, Pontifical Catholic University of Paraná, Curitiba, Paraná Brazil

Corresponding author: Professor Ulisses Xavier da Silva Neto

Travessa Percy Withers 50 apto 1501 Água Verde CEP 80240-190 Curitiba, Paraná Brazil
e-mail: ulix@terra.com.br
Tel/fax 55 41 3077-8747

ABSTRACT

Objective. The aim of this study was to evaluate the influence of different irrigant agents (sodium hypochlorite only, sodium hypochlorite + EDTA and sodium hypochlorite + BioPure MTAD) for *smear layer* removal, on apical leakage.

Study design. Three groups of premolars (n=49) were instrumented to size 45/.04 ProFile, according to the irrigant agent and filled with gutta-percha and AH Plus sealer. Four premolars formed the control group. Leakage was measured, and was determined as $\mu\text{L}/\text{min}^{-1}.10 \text{ psi}$, by means of the fluid filtration method after the specimens had been stored at 37°C and 100% humidity for 2 weeks. The data were submitted to Tukey HSD test.

Results. BioPure MTAD showed the highest leakage means, differing statistically from the other groups. The sodium hypochlorite group showed the lowest leakage values.

Conclusion. Considering the experimental conditions and results observed, it was concluded that the removal of the *smear layer* did not contribute to a reduction in apical leakage.

Key words: Fluid filtration. BioPure MTAD. Leakage.

1 INTRODUCTION

One of the objectives of endodontic treatment is hermetic filling of the root canal system. This is achieved by the complete, tridimensional sealing of the root canal system, thus preventing the entry of microorganisms or their products, both through the coronal and apical pathways¹⁻².

Continuous research into filling materials is based on the concept that the main reason for the failure of root canal treatment is the apical migration of bacteria and their byproducts into insufficiently filled obturations, allowing leakage³.

Chemical-mechanical preparations usually produce debris-free root canals that can be safely filled. Nevertheless, complete cleaning of the root canal system may not be obtained as a result of the deposition of a layer of material on the root canal walls, referred to as the *smear layer*, which is produced by the cutting action of endodontic instruments during chemical-mechanical preparation⁴.

Although the proportions of the *smear layer* components have not yet been clearly determined, scanning electronic microscopy exams have shown that it consists of an organic portion (coagulated proteins, necrotic and non-necrotic pulp tissue, odontoblastic processes, saliva, blood cells and microorganisms), and an inorganic portion (mineral components of the dentinal structure)⁵. Because of these two portions, *smear layer* removal requires a combination of irrigant agents, since a single solution would be unlikely to be capable of dissolving both the organic and inorganic components⁶.

Whether or not to allow the smear layer to remain before endodontic filling continues to be a controversial subject. Many authors consider it favorable to keep it as it fills the dentinal tubule entrances, thus reducing dentinal permeability⁷. Others foresee difficulties if it remains because it prevents medications from penetrating into

the root canal walls and dentinal tubules⁸ and because it acts as a barrier between the filling materials and root canal walls, interfering in the formation of appropriate sealing⁹. Furthermore, any factors that may influence the adaptation of the filling material to the root canal wall are of great importance in determining the depth and extent of leakage, and finally, the prognosis of endodontic therapy.

Sodium hypochlorite at concentrations ranging from 1% to 5.25%, have been widely used as endodontic irrigants, as they are efficient for dissolving organic matter and eliminating microorganisms. Nevertheless, it is incapable of completely removing the smear layer from dentinal walls. In contrast, ethylenediaminetetracetic acid (EDTA) used as an irrigant agent in endodontics, has an efficient chelating action, and dissolves mineralized tissues¹⁰. According to Yamada *et al.* (1983)¹¹, the use of EDTA at 17% followed by 5.25% sodium hypochlorite produces excellent results in *smear layer* removal.

Torabinejad *et al.* (2003)¹⁴ investigated the effect of an endodontic irrigant denominated MTAD. The product is composed of an isomer of tetracycline (doxycycline), citric acid and a detergent, with the purpose of simultaneously removing the *smear layer* and promoting disinfection of the instrumented root canal walls. Their demonstrated that BioPure MTAD in association with the use of sodium hypochlorite was effective as a final irrigant for *smear layer* removal, producing minimal erosive alterations on dentinal surfaces.

The aim of this study was to analyze the influence of *smear layer* removal on apical leakage in root canals treated with sodium hypochlorite alone, sodium hypochlorite + EDTA and sodium hypochlorite + BioPure MTAD, and filled with gutta percha and AH Plus resinous cement. The null hypothesis was that there is no difference in the mean leakage values among the tested groups.

2 MATERIAL AND METHODS

After obtaining approval from the Research Ethics Committee (CEP-PUCPR), forty-nine extracted human mandibular premolar teeth, with uniradicular, straight roots, obtained from the PUCPR tooth bank, were selected. The teeth were immediately stored in 10% buffered formol and washed in physiological solution at the time of use. Roots with fissures, extensive caries, open apices or resorptions were discarded.

2.1 CANAL INSTRUMENTATION AND FILLING

The coronal portions of all the teeth were removed with a double faced diamond disk, to standardize the root length of each specimen to 15 mm.

Diamond tips (KG Sorensen, Rio de Janeiro, Brazil) were used to obtain direct access to the root canals. Instruments of the 15 K-Flexofile type (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) were used to locate and explore the canals, and were afterwards introduced up to the apical foramen. Then the working length was determined by subtracting 1mm from this measurement. Apical patency was confirmed by the insertion of a 25 K-Flexofile instrument through the apical foramen before and after root canal preparation.

Root canal instrumentation was performed by the crown-apex technique, using ProFile instruments (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) with a 0.04 taper to 1mm short of the real length of the roots. All the specimens were shaped up to instrument ProFile 45.04.

The specimens were randomly divided into 3 experimental groups of 15 teeth in each, according to the irrigant agent used during instrumentation. Four specimens formed the control group.

Irrigation was performed with a Luer-lock syringe and gauge 27 needle, as follows:

- **G1 (15):** 5mL of 2.5% NaOCl at each change of instrument + 5mL of 17% liquid trisodium EDTA for 3 minutes, at the end of instrumentation;
- **G2 (15):** 5mL of 2.5% NaOCl at each change of instrument + 5mL of Biopure MTAD for 5 minutes, at the end of instrumentation;
- **G3 (15):** 5mL of 2.5% NaOCl at each change of instrument.

In all groups, final irrigation was performed with 5ml of distilled water to remove debris and remaining irrigant agents. The canals were dried with absorbent paper tips (Dentsply Latin America, Petrópolis, Brazil) and the roots externally sealed with two layers of nail varnish, except for 1mm around the apical foramen.

The control group consisted of 4 specimens; 2 being used as positive control, which were filled with gutta percha cones, without filling cement. The other 2 were used as negative control, being completely sealed by the application of nail varnish, including the apical foramen.

After selecting the main cone, according to the surgical diameter determined by instrumentation, the filling maneuvers were performed. The root canals were filled by the lateral condensation technique, using standardized gutta-percha cones (Dentsply Latin America, Petrópolis, Brazil) and AH Plus endodontic cement (Dentsply De Trey, Konstanz, Germany). The cement was manipulated according to the manufacturer's instructions and previously introduced into the canals with the aid

of No.4 Lentulo spirals. The main cones No. 45.04 were introduced immediately afterwards to the working length.

The lateral condensation technique was performed with the aid of a digital C spacer, used for laterally compacting the accessory cones that were introduced. The process was repeated until no more accessory cones could be inserted into the canal.

Heated shims were used for removing gutta percha from the canal entrances, preserving 13mm of filling material in the apical region.

Afterwards, the specimens were stored in an oven at 37°C and 100% humidity for 15 days to guarantee that the filling cement had set completely.

2.2 LEAKAGE TEST

The fluid filtration method was used to determine leakage^{1, 2, 15}. The root apex was connected to a metal needle of the Luer type by means of a plastic tube^{2, 15}.

The leakage allowed by the tested groups was quantified according to the movement of a small air bubble inside a 25 μ L micropipette 65mm long (Microcaps, Fisher Scientific, Philadelphia, PA). The inside of the pipette and the entire system were filled with distilled water and submitted to a pressure of 10 psi. After ensuring that there was no leakage at the connections, the system was activated and balanced for 4 minutes.

The volume of fluid was calculated by observing the displacement of the air bubble, and expressed in μ L/min⁻¹.10 psi. The measurements were performed at intervals of 2 minutes in periods of 8 minutes for each specimen. The data obtained

were submitted to the analysis of variance (Levene's Test) and multiple comparisons, using the Tukey-HSD test. The level of confidence used was 95% ($p < 0.05$).

3 RESULTS

In the fluid filtration test, no movement of the air bubble was detected in the negative control group, whereas in the positive control group, the air bubble was displaced rapidly and uninterruptedly.

The overall values (Mean \pm sd) expressed in $\mu\text{L}/\text{min}^{-1}.10$ psi of leakage allowed by the three tested groups, are described in Table 1.

Table 1: Mean leakage values in $\mu\text{L}/\text{min}^{-1}.10$ psi, produced by the different irrigant agents

Group	n	Mean \pm sd
Sodium hypochlorite + EDTA	15	0.603 \pm 0.295
Sodium hypochlorite + BioPure MTAD	15	1.256 \pm 0.143
Sodium hypochlorite only	15	0.356 \pm 0.232

Source: Research data.

The group irrigated with BioPure MTAD presented the highest mean leakage, differing from the other agents which, in turn, differed between them, since the 2.5% sodium hypochlorite used alone presented the lowest mean leakage.

4 DISCUSSION

The null hypothesis was rejected, because there was difference in the mean leakage values among the different groups tested.

Leakage in root canals has been defined as the passage of bacteria, fluids and chemical substances between the tooth and the root canal filling material, and represents the result of the presence of spaces filled by fluid at the interface of the filling material with the root canal wall. These spaces may result from deficient adaptation of the filling material to the root canal walls, solubility of the cements as well as their expansion or shrinkage. There are two possibilities of leakage: at the interface between the gutta-percha and the cement, and between the cement and root canal walls¹⁶.

In this study, a fluid filtration model^{1, 2, 15} was used to evaluate the influence of different irrigant agents for *smear layer* removal on endodontic leakage. The fluid filtration method has several advantages over the other methods used for evaluating leakage²⁵, as the models are not destroyed, allowing measurements over the course of time²⁶ and no marker is required, preventing problems related to molecular size, affinity for dentin, or pH^{25, 27}. No specific materials are required, as in the models of bacterial penetration or with radioactive markers^{27, 28}. Nevertheless, WU *et al.* (1993)²⁵ indicated that the length and anatomy of samples, as well as patency and the diameter of the foramen after instrumentation should be standardized, in order to reduce the variables of this methodology.

When root canal walls are mechanically instrumented, a layer of residues is formed on the surface and extends into the dentinal tubules. This layer, known as the *smear layer*⁸, is not completely removed by irrigation with sodium hypochlorite. The effect this layer has on the prognosis of root canal treatment is unknown¹⁸, but it is

known that it can be degraded by bacterial toxins and acids¹⁹, which allows a pathway to form, through which leakage could occur²⁰.

Recently, a large number of researches have focused on the properties of BioPure MTAD. The ability of this product to remove the smear layer quickly and in a self-limiting manner has been reported. It has been observed that in comparison with EDTA and citric acid, BioPure MTAD produced minimal erosion in intraradicular dentin²¹. Although the real consequences of destruction of the dentinal matrix remain undefined, Park, Torabinejad, Shabahang, 2004²² affirmed that the increased leakage in samples treated with EDTA could be caused by its erosive properties. The study of De Deus *et al.* (2008)²³, conducted by means of glucose leakage is not in agreement with these findings, since no statistically significant difference in leakage was found in the specimens treated with EDTA, BioPure MTAD or 5.25% sodium hypochlorite. Whereas, the present study obtained results demonstrating that sodium hypochlorite + BioPure MTAD allowed greater endodontic leakage, followed by sodium hypochlorite + EDTA and sodium hypochlorite used alone, these results showing significant difference.

At present there has been great interest in investigating the possible effect of smear layer removal on endodontic leakage. Nevertheless, as yet there is no consensus about its real influence on effective sealing of the root canal system². Some researchers have affirmed that the presence or absence of the *smear layer* has no significant effect on the sealing of root canal fillings^{22, 23, 29, 49, 50}, whereas others, such as Kont Çobankara, Adanir, Belli (2004)², Gençoglu, Samani, Gunday (1993)³⁰, Taylor, Jeansonne, Lemon (1997)³¹, Economides *et al.* (2004)³², Kokkas *et al.* (2004)³³ affirmed that its removal produces a positive effect on sealing, as it enables the cement to penetrate into the dentinal tubules, promoting better

adaptation of the filling materials to the root canal walls¹. Moreover, there are authors that have reported that allowing the smear layer to remain could reduce leakage^{16, 34}, thus corroborating the results of the present study, because they considered that the smear layer could diminish dentinal permeability, preventing the bacterial infiltration into the dentin. Michelich, Schuster, Pashley (1980)³⁵ and Drake *et al.* (1994)³⁴, demonstrated that smear layer removal favored the access of bacteria to the dentinal tubules, suggesting that allowing it to remain has the potential to block bacterial penetration into the tubules by reducing dentinal permeability.

Shahravan *et al.* (2007)³⁶, in a systematic and metanalysis study of the effects of the *smear layer* on root canal leakage, reported that 7 of the 65 comparisons used the fluid filtration method. Nevertheless, 4 of the 7 studies that used the fluid filtration method and 2 of 6 studies that used the bacterial penetration method indicated significant difference in favor of smear layer removal, while only 1 study that used the fluid filtration method showed significant difference in favor of keeping it. As a result of the variations among the methodologies, it was not possible to combine the results of all the studies, so that only the results of studies conducted with color infiltration tests were combined.

These conflicting results are not new in the literature about endodontic leakage, and could be attributed to the differences among the types of cements, filling techniques, cement layer thickness, manner in which the *smear layer* was produced, use of different irrigant agents for *smear layer* removal and the different methodologies used in the various published studies, which creates difficulties in making comparisons among the researches and defining a final conclusion.

Under the conditions of the present *in vitro* study, the associations tested (2.5% sodium hypochlorite + EDTA and 2.5% sodium hypochlorite + BioPure MTAD)

had a negative influence on apical leakage. Therefore, it could be concluded that removal of the smear layer does not appear to contribute to a reduction in apical leakage.

5 REFERENCES

1. Silva-Neto UX, Moraes IG, Westphalen VPD, Menezes R, Carneiro E, Fariniuk LF. Leakage of 4 resin-based root-canal sealers used with a single cone technique. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 104:53-57.
2. Kont-Çobankara F, Adanir N, Belli S. Evaluation of the influence of smear layer on the apical and coronal sealing ability of two sealers. *J Endod* 2004; 30:406-9.
3. Fisher M A, Berzins D W, Bahcall J K. An In Vitro Comparison of Bond Strength of Various Obturation Materials to Root Canal Dentin Using a Push-Out Test Design. *J Endod* 2007; 33:856-8.
4. SenBH, Wesselink PR, Turkun M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. *Int Endod J* 1995; 28: 141-8.
5. Mader CL, Baumgartner C, Peters DD. Scanning electron microscopic investigation of the smear layer on the root canal walls. *J Endod* 1984; 7: 477-83.
6. Fróes JAV, Horta HGP, Silveira AB. Smear layer influence on the apical seal of four different obturation techniques. *J Endod* 2000; 26: 351-4.

7. Pashley DH, Michelich V, Khel T. Dentin permeability: effects of smear layer removal. *J Prosthet Dent* 1981; 46: 531-7.
8. McComb D, Smith JC. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod* 1975; 1: 238-42.
9. White RR, Goldman M, Lin PS. The influence of the smeared layer upon dentinal tubule penetration by plastic filling materials. *J Endod* 1984; 10: 558-62.
10. Ciucchi B, Khettabi M, Holz J. The effectiveness of different endodontic irrigation procedures on the removal of the smear layer: a scanning electron microscopic study. *Int Endod J* 1989; 22: 21-8.
11. Yamada RS, Armas A, Goldman M, Peck SL. A scanning electron microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating solutions: part 3. *J Endod* 1983; 9: 137-42.
12. Ferraz CCR, Gomes BPF, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the antimicrobial action and mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endod* 2001; 27: 452-5.
13. Kuruvilla JR, Kamath MP. Antimicrobial activity of 2.5% sodium hypochlorite and 0.2% chlorhexidine gluconate separately and combined, as endodontic irrigants. *J Endod* 1998; 24: 472-75.

14. Torabinejad M, Khademi AA, Babagoli J, Cho Y, Johnson WB, Bozhilov K, et al. A new solution for the removal of the smear layer. *J Endod* 2003; 29: 170-75.
15. Kont-Çobankara F, Adanir N, Belli S, Pashley DH. A quantitative evaluation of apical leakage of four root-canal sealers. *Int Endod J* 2002; 35:979-84.
16. Timpawat S, Vongsavan N, Messer H. Effect of removal of smear layer on apical microleakage. *J Endod* 2001; 27:351-3.
17. Miletic I. et al. Leakage of five endodontic sealers. *Int Endod J* 1999; 32: 415-8.
18. Czonstkowsky M, Wilson EG, Holstein FA. The smear layer in endodontics. *Dent Clin North Am* 1990; 34: 13-25.
19. Meryon SD, Brook AM. Penetration of dentine by three oral bacteria in vitro and their associated cytotoxicity. *Int Endod J* 1990; 23:196-202.
20. Pitt Ford TR, Roberts GJ. Tissue response to glass ionomer retrograde root fillings. *Int Endod J* 1990; 23:233-8.
21. Torabinejad M, Cho Y, Khademi AA, Bakland LK, Shabahang S. The effect of various concentrations of sodium hypochlorite on the ability of MTAD to remove the smear layer. *J Endod* 2003; 29: 233-39.

22. Park DS, Torabinejad M, Shabahang S. The effect of MTAD on the coronal leakage of obturated root canals. *J Endod* 2004; 30: 890-2.
23. De Deus G, Soares J, Leal F, Luna AS, Fidel S, Fidel RAS. Similar glucose leakage pattern on smear covered, EDTA-treated and BioPure MTAD-treated dentin. *J Endod* 2008; 34: 459-61.
24. Ferguson DB, Marley JT, Hartwell GR. The effect of chlorhexidine gluconate as an endodontic irrigant on the apical seal: long-term results. *J Endod* 2003; 29: 91-4.
25. Wu M-K, De Gee AJ, Wesselink PR, Moorer WR. Fluid transport and bacterial penetration along root canal fillings. *Int Endod J* 1993; 26:203– 8.
26. Paqué F, Sirtes G. Apical sealing ability of Resilon/Epiphany versus gutta-percha/AH Plus: immediate and 16-months leakage. *Int Endod J* 2007; 40:722–9.
27. Wu M-K, Wesselink PR. Endodontic leakage studies reconsidered. Part 1. Methodology, application and relevance. *Int Endod J* 1993; 26:37-43.
28. Pommel L, Camps J. Effects of pressure and measurement time on the fluid filtration method in Endodontics. *J Endod* 2001; 27:256-8.

29. Economides N, Liolios E, Kolokuris I, Beltes P. Long-term evaluation of the influence of smear layer on the sealing ability of different sealers. *J Endod* 1999; 25: 123-5.
30. Gençoğlu N, Samani S, Gunday M. Evaluation of sealing properties of thermafil and ultrafil techniques in the absence or presence of smear layer. *J Endod* 1993; 12: 599-03.
31. Taylor J, Jeansonne BG, Lemon RR. Coronal leakage: effects of smear layer, obturation technique, and sealer. *J Endod* 1997; 8: 508-12.
32. Economides N, Kokorikos I, Kolokouris I, Panagiotis B, Gogos C. Comparative study of apical sealing ability of a new resin-based root canal sealer. *J Endod* 2004; 6: 403-5.
33. Kokkas B, Boutsoukis AC, Vassiliadis LP, Stavrianos K. The influence of the smear layer on dentinal tubule penetration depth by three different root canal sealers: an in vitro study. *J Endod* 2004; 2: 100-2.
34. Drake DR, Wiemann AH, Rivera EM, Walton RE. Bacterial retention in canal walls in vitro: effect of smear layer. *J Endod* 1994; 2: 78-82.
35. Michelich VJ, Schuster GS, Pashley DH. Bacterial Penetration of human dentin in vitro. *J Den Res* 1980; 59:1398-1403.

36. Shahravan A, Haghdoost A, Adl A, Rabini H, Shadifar F. Effect of smear layer on sealing ability of canal obturation: a systematic review. *J Endod* 2007; 33: 96-104.
37. Baumgartner JC, Mader CL. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regiments. *J Endod* 1987; 13: 147- 57.
38. Barkhordar RA, Watanabe LG, Marshall GW, Hussain MZ. Removal of intracanal smear by doxycycline in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Patol Oral Radiol Endod* 1997; 84: 420-3.
39. Silva Neto, UX. Infiltração coronária em obturações de canais radiculares realizadas com diferentes cimentos endodônticos resinosos: avaliação pelo método de filtração de fluido. Bauru, 2005. 116p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
40. Key J E, Rahemtulla F G, Eleazer P D. Cytotoxicity of a New Root Canal Filling Material on Human Gingival Fibroblasts. *J Endod* 2006; 32:756-8.
41. Kardon BP, Kuttler S, Hardigan P, Dorn S. An in vitro evaluation of the sealing ability of a new root-canal obturation system. *J Endod* 2003; 29:658-61.
42. Zmener O. et al. Sealing properties of a new resin based root canal sealer. *Int Endod J* 1997; 30: 332-4.

43. Vivacqua-Gomes N, Ferraz CCR, Gomes BPFA, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho F. Influence of irrigants on the coronal microleakage of laterally condensed gutta-percha root fillings. *Int Endod J* 2002; 35: 791-795.
44. Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland LK. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. *Oral Sur, Oral Med, Oral Patol, Oral Radiol, Endod* 2002; 94: 658-66.
45. Marley JT, Ferguson DB, Hartwell GR. Effects of chlorhexidine gluconate as an endodontic irrigant on the apical seal: short-term results. *J Endod* 2001; 27: 775-78.
46. Wuerch RMW, Apicella MJ, Mines P, Yancich PJ, Pashley DH. Effect of 2% chlorhexidine gel as an intracanal medication on the apical seal of the root-canal system. *J Endod* 2004; 30: 788-91.
47. Tay FR, Pashley DH, Loushine RJ, Doyle MD, Gillespie WT, Weller RN, King NM. Ultrastructure of smear layer-covered intraradicular dentin after irrigation with BioPure MTAD. *J Endod* 2006; 32: 218-21.
48. Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Silva LAB, Nelson Filho P, Bonifácio KC, Ito IY. In vitro antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigant solution. *J Endod* 1999; 25: 167-71.

49. Ghoddusi J, Rohani A, Rashed T, Ghaziani P, Akbari M. An evaluation of microbial leakage after using MTAD as a final irrigation. *J Endod* 2007; 33: 173-6.

50. Shemesh H, Wu MK, Wesselink PR. Leakage along apical root fillings with and without smear layer using two different leakage models: a two month longitudinal *ex vivo* study. *Int Endod J* 2006; 39: 968-76.

ANEXOS

1 MATERIAIS UTILIZADOS

1.1 Biopure MTAD[®] - (Dentsply Tulsa Dental, Oklahoma, EUA). Apresenta embalagem composta por um frasco contendo pó e uma seringa contendo líquido. A sua fórmula apresenta a seguinte composição química:

1.1.1 Parte A – líquido: ácido cítrico 4,25%, detergente polissorbato 80 a 0,5%

1.1.2 Parte B – pó: doxiciclina 3%

As partes A e B foram misturadas de acordo com as recomendações do fabricante, resultando em uma solução aquosa pronta para uso.

1.3 Cimento AH Plus[®] - (Dentsply DeTrey, Kontanz, Alemanha). Apresenta embalagem composta por duas bisnagas contendo uma pasta base e uma catalisadora. A sua fórmula apresenta a seguinte composição química:

1.3.1 Pasta Epóxi: resinas epóxicas, tungstato de cálcio, óxido de zircônio, sílica, pigmentos de óxido de ferro.

1.3.2 Pasta Amina: aminas, tungstato de cálcio, óxido de zircônio, sílica, óleo de silicone.

Foram proporcionadas quantidades iguais de pasta base e catalisadora sobre uma placa de vidro. As pastas foram manipuladas e espatuladas com auxílio de uma espátula nº 24, até se obter uma pasta homogênea.

1.4 Cones de guta-percha nº 45 de conicidade. 04 – (Dentsply – Maillefer, Petrópolis, Brasil).

1.5 Disco diamantado dupla face (KG Sorensen Ind. E Com. Ltda., Barueri, Brasil).

1.6 Limas tipo K 1º série (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça).

1.7 Instrumentos ProFile.04 nº 45, 60 e 90 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça).

1.8 EDTA 17% (Biodinâmica Química e Farmacêutica Ltda., Ibioporã, Brasil).

1.9 Esmalte para unhas (Colorama Ceil Coml. Exp Ind. Ltda., São Paulo Brasil).

1.10 Cones de papel absorvente (Dentsply Ind. e com. Ltda., Petrópolis, Brasil).

1.11 Espiral Lentulo nº 4 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça).

1.12 Cilindro de oxigênio (White Martins, São Paulo, Brasil).

1.13 Câmara de pressão (Millipore Corporation, Bedford, Massachusetts, USA).

1.14 Sistema capilar de polietileno (CPL Medical's Produtos Médicos Ltda., São Paulo, Brasil).

1.15 Capilar de vidro Drummond Microcaps (Fischer Scientific Company, Pittsburgh, USA).

1.16 Micro-seringa com êmbolo de pressão (BD Cornwall, New York, USA).

1.17 Agulha descartável 20 x 40 gauge 18 (BD Indústrias Cirúrgica Ltda., Curitiba, Brasil).

1.18 Adesivo instantâneo Super Bonder (Loctite Henkel Ltda., Itapevi, Brasil).

1.19 Hipoclorito de sódio 2,5% (Myako do Brasil ind. e com. Ltda., São Paulo, Brasil).

2 MÉTODOS

Visando a padronização dos espécimes, foram utilizados 49 (quarenta e nove) dentes pré-molares inferiores humanos unirradiculados, com canais únicos e retos, obtidos junto ao banco de dentes da PUCPR (critérios de inclusão).

Dentes com canais calcificados, com tratamento endodôntico prévio, com obstruções no interior do conduto radicular, com reabsorções, que apresentassem mais de um canal e com presença de curvaturas, não foram utilizados (critérios de exclusão).

Posteriormente, os dentes foram imersos em um frasco contendo hipoclorito de sódio 2,5% por 24 horas para a desinfecção dos mesmos. Os tecidos moles e cálculos aderidos à superfície radicular foram eliminados com auxílio de curetas periodontais. Os dentes foram lavados em água corrente para remoção da solução de hipoclorito de sódio e mantidos em solução de formol tamponado 10% até o momento da utilização.

O comprimento dos espécimes foi padronizado em 15 mm por meio da secção de suas coroas, utilizando-se disco diamantado dupla-face em baixa rotação. O canal radicular foi localizado por meio de um instrumento tipo K #15 e, então, o comprimento real da raiz foi determinado. Os forames apicais foram padronizados com instrumentos manuais tipo K #25. Quando o diâmetro do forame apical apresentou-se maior que o instrumento tipo K #25, o dente foi descartado. A instrumentação dos canais radiculares foi realizada por meio da técnica coroa-ápice, utilizando instrumentos ProFile (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) de conicidade 0.04 a 1mm aquém do comprimento real das raízes. Todos os espécimes foram modelados até o instrumento ProFile 45.04. Cada instrumento foi utilizado por 10 vezes, ou seja, em apenas 10 espécimes. Ao final, o instrumento tipo K #25 foi introduzido no comprimento real da raiz para remoção das raspas de dentina oriundas do preparo biomecânico, promovendo assim, a limpeza do forame apical.

Os espécimes foram divididos aleatoriamente em 3 grupos experimentais de 15 dentes cada, de acordo com o agente irrigador empregado durante a instrumentação.

A irrigação foi realizada por meio de seringa Luer-lock e agulha gauge 27, como se segue:

- **G1 (15):** 5 mL de NaOCl 2,5% a cada troca de instrumento + 5mL de EDTA 17% por 3 minutos, ao final da instrumentação;
- **G2 (15):** 5mL de NaOCl 2,5% a cada troca de instrumento + 5mL de Biopure MTAD por 5 minutos, ao final da instrumentação;
- **G3 (15):** 5mL de NaOCl 2,5% a cada troca de instrumento.

Em todos os grupos realizou-se uma irrigação final com 5mL de água destilada para remoção de debris e agentes irrigadores remanescentes. Os canais foram secos por pontas de papel absorvente (Dentsply Latin América, Petrópolis, Brasil) e as raízes impermeabilizadas externamente com duas camadas de esmalte para unhas, exceto a 1mm ao redor do forame apical.

Quatro espécimes formaram o grupo controle, sendo 2 deles usados como controle positivo, nos quais a obturação foi realizada com cones de guta percha, sem cimento obturador. Os outros 2 foram utilizados como controle negativo, sendo totalmente impermeabilizados pela aplicação de esmalte para unhas, inclusive no forame apical.

Após a seleção do cone principal, de acordo com o diâmetro cirúrgico observado na instrumentação, efetuou-se as manobras de obturação, por meio da técnica da condensação lateral, a 14 mm da borda cervical, utilizando o cone principal 45.04.

Os espécimes foram armazenados em estufa a 37° C com 100% de umidade por 15 dias, para permitir o endurecimento dos cimentos.

Em 1993, Wu *et al.*, adaptaram a metodologia da filtração de fluido, preconizada por Derkson, Pashley, Derkson (1986) para utilização em pesquisas endodônticas. Esse método tem ganhado popularidade na avaliação do selamento apical ou coronário de obturações de canais radiculares, pois apresenta inúmeras vantagens em relação a outras metodologias, como registro do volume da infiltração, precisão dos resultados, preservação dos espécimes e a possibilidade de realização de avaliações longitudinais, é facilmente reproduzível, além de ser o método mais aceito na comunidade científica.

2.1 Sistema de Medição da Filtração de Fluido

O dispositivo que foi utilizado para a realização das medições de filtração de fluidos consiste de um aparato, formado por várias partes que se interligam formando um único sistema (Figura 1).

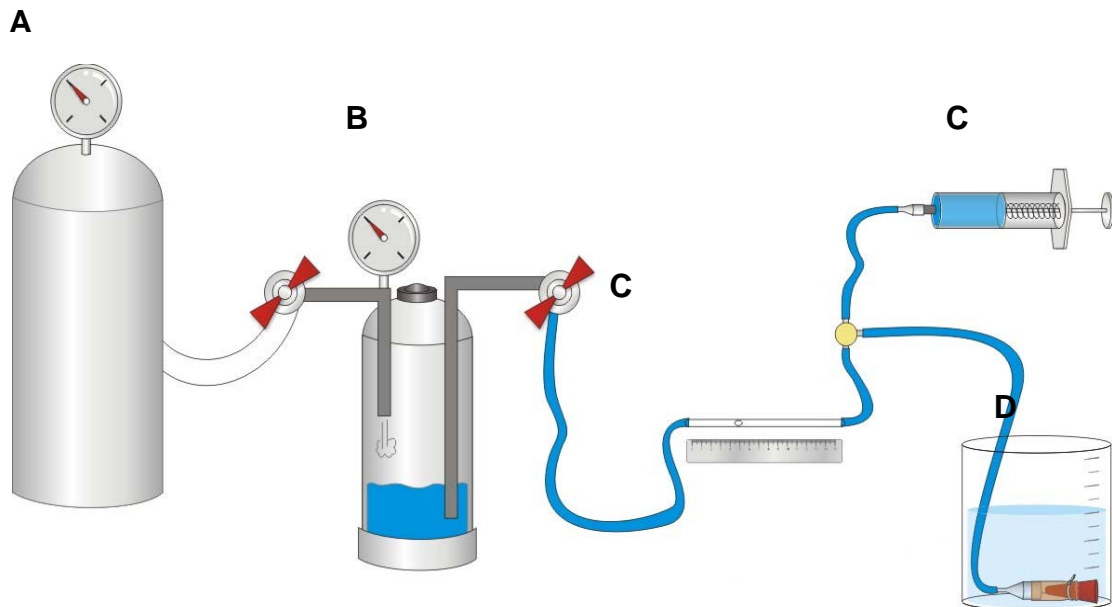


Figura 1 – Desenho esquemático do sistema para medição da filtração de fluido com seus componentes: A) cilindro de oxigênio, B) câmara de pressão, C) micro-seringa e capilar de vidro com bolha de ar, D) dispositivo para adaptação dos espécimes

a) Cilindro de Oxigênio

O oxigênio utilizado para pressurização do sistema é acondicionado em um cilindro de metal, que possui uma válvula para liberação do oxigênio e um manômetro, para determinar a pressão de trabalho, utilizada para forçar o líquido através de todo o circuito.

O sistema começa a funcionar quando a válvula é aberta e libera o oxigênio do cilindro. A partir daí, o manômetro é regulado para determinar a pressão de trabalho em 10 psi ou 703,1 cmH₂O, ou 68,94 Kpa ou ainda 0,68 atm. Essa pressão se manterá constante durante todo o experimento.

b) Câmara de Pressão

A câmara de pressão é ligada ao cilindro por meio de um tubo de polietileno para receber o oxigênio pressurizado. Possui em seu interior um reservatório para armazenar a água destilada. Do interior do reservatório projeta-se um capilar de

polietileno, que através de um dispositivo de acoplamento, comunica-se com o sistema capilar externo, destinado a conduzir a água destilada sob a pressão do oxigênio. O volume de água destilada é repostado periodicamente durante o procedimento de filtração. Na parte superior da câmara de pressão, existe uma válvula de segurança que permite a descompressão quando necessária. A câmara de pressão, sendo hermeticamente fechada, possibilita uma pressão constante de 10 psi através de todo o sistema capilar abastecido com água destilada.

c) Sistema Capilar de Polietileno e Componentes para Leitura

O sistema de capilares funciona como elo entre a câmara de pressão e o aparato para adaptação dos espécimes, sendo que neste percurso, encontram-se os componentes responsáveis pela leitura da infiltração por filtração de fluido: o capilar de vidro (micropipeta), que possui 65 mm de comprimento e capacidade de 25 μ L, está justaposto a uma escala de medição em milímetros, a qual serve para medir o deslocamento do líquido numa fração de tempo, conforme a velocidade de filtração do fluido nas obturações dos canais radiculares (Figura 2).

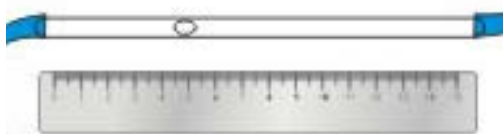


Figura 2 - Componentes para leitura do deslocamento do líquido (capilar de vidro e escala em milímetros)

O movimento da água destilada é monitorado pelo deslocamento de uma bolha de ar, produzida pela micro-seringa, sobre uma régua milimetrada. A micro-seringa, acoplada a uma extensão do tubo capilar de polietileno situada entre o capilar de vidro e a câmara de filtração, é composta por um reservatório com água destilada e um cursor. Tem as funções de formar a bolha de ar e de posicioná-la adequadamente no capilar, ajustando-a na escala milimetrada, injetando ou retirando a quantidade apropriada de água.

O deslocamento linear da bolha de ar representa o deslocamento volumétrico de líquido por minuto (μ L/min⁻¹.10 psi), através da obturação do canal radicular. Realizou-se medições da movimentação de fluido a cada 2 minutos em um intervalo de 8 minutos.

d) Adaptação dos espécimes

Para este teste, os espécimes receberam uma adaptação para serem ligados ao sistema de filtração de fluido. Utilizou-se tubos de látex com diâmetro externo de 5 mm e diâmetro interno de 3 mm, cortados em segmentos de 1,5 cm de comprimento. Dentro de cada um desses segmentos de tubos de látex, colocou-se uma raiz, introduzindo sua porção apical sob pressão, deixando cerca de 1 a 2 mm da porção coronária para fora do mesmo. Para fixação, evitando que a expulsividade das raízes possibilitasse o deslocamento do tubo de látex, utilizou-se abraçadeiras de plástico com 10 mm de comprimento por 2,5 mm de largura, as quais travam após serem apertadas sob os tubos de látex, mantendo-os em posição ao redor das raízes (Figura 3). Ainda, para certificarmos do selamento na interface tubo de látex/raiz, utilizou-se adesivo instantâneo (Super Bonder, Loctite®) no colar cervical que permaneceu desnudo, criando uma impermeabilização dessa interface.

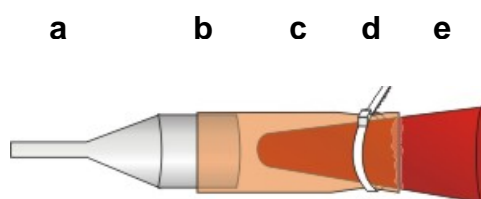


Figura 3 – conexão espécime/sistema de filtração de fluido

- a) mangueira com água pressurizada;
- b) agulha metálica Luer adaptada;
- c) segmento de tubo de látex;
- d) abraçadeira de plástico;
- e) raiz com o canal obturado.

Os espécimes foram levados individualmente ao sistema de filtração de fluido, conectando a porção livre dos tubos de látex à extremidade livre da agulha metálica tipo Luer adaptada. Essa conexão foi realizada estirando-se o tubo de látex que, após o ajuste, mantém a conexão totalmente selada pela pressão de sua parede interna contra a superfície metálica da agulha. Esse aparato raiz/tubo de látex/agulha metálica adaptada foi imerso no bequer com água destilada, mantendo a porção coronária sempre imersa em água, evitando-se a ação de capilaridade durante toda a medição.

Após a realização da conexão, uma bolha de ar foi criada e posicionada no tubo capilar de vidro (fixado sobre a régua) com o auxílio da seringa de vidro com

êmbolo rosqueável. Essa bolha foi colocada na posição correspondente a 0 mm. O movimento da bolha foi medido durante 2 minutos, realizando-se 4 medições, totalizando 8 minutos para cada espécime. O movimento da bolha é proporcionado pelo volume da água que é forçada, sob pressão de 10 psi, através dos espécimes que conseguiu penetrar nos espaços da obturação dos canais. Todas as medições foram realizadas em milímetros inteiros ou metade de milímetros, sendo tabuladas, para posterior cálculo do deslocamento total da bolha.

Durante a realização do experimento, os espécimes foram mantidos imersos em um recipiente contendo água destilada, em estufa, para prevenir a evaporação da água através da dentina radicular e a absorção de água causada pelo ressecamento da dentina.

A pressão constante de 10 psi forçou a água destilada a penetrar nas falhas da obturação dos canais radiculares, promovendo a leitura do índice de filtração de fluido.

Entre a troca dos espécimes o sistema de filtração de fluido foi mantido pressurizado ocluindo-se a mangueira logo antes da agulha, com uma pinça hemostática com sua ponta revestida por borracha, evitando o seccionamento da mangueira.

2.2 Cálculo do índice de filtração de fluido

O deslocamento da bolha de ar é diretamente proporcional à quantidade de filtração de fluido e é medida em milímetros. Com todas as medições concluídas e tendo em mãos a distância percorrida pela bolha e o tempo gasto para tal, são realizado os cálculos da filtração de fluido. Como o capilar utilizado para medir o índice de filtração (Q) tem o diâmetro constante, dividindo o volume do capilar (25µL) pelo seu comprimento (65 mm), obtém-se uma proporcionalidade constante, que relacionada com a distância percorrida pela bolha (x mm) e o tempo gasto para tal (y minutos), converte o deslocamento linear em volume deslocado. O índice de filtração de fluido na obturação é expresso em $\mu\text{L}/\text{min}^{-1} \cdot 10 \text{ psi}$.

Isto é,

$$Q = \frac{25\mu\text{L} \cdot (x)\text{mm}}{y}$$

65mm · (y)min

2.3 Análise estatística dos dados

Visando comparar se existia diferença estatística significativa entre os valores médios de infiltração segundo diferentes agentes irrigadores, testou-se inicialmente os pressupostos de normalidade dos dados para cada grupo e homogeneidade de variância entre os grupos. Utilizou-se teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e teste de homogeneidade de variância de Levene.

Todos os grupos apresentaram normalidade à um nível de probabilidade $p > 0,05$. Houve homogeneidade de variância entre os grupos, uma vez que $p > 0,05$.

Uma vez que houve homogeneidade de variância entre grupos, a comparação dos mesmos será feita utilizando o teste de comparações múltiplas de Tukey HSD.

3 RESULTADOS

Os valores globais (média e desvio padrão) da infiltração expressos em $\mu\text{L}/\text{min}^{-1} \cdot 10 \text{ psi}$, segundo os diferentes agentes irrigadores encontram-se descritos na Tabela 1.

Tabela 1 – Estatística descritiva da variável infiltração, em $\mu\text{L}/\text{min}^{-1} \cdot 10 \text{ psi}$, segundo os diferentes agentes irrigadores

Agentes irrigadores	n	Média	Mediana	Desvio Padrão
Hipoclorito de sódio + EDTA	15	0,603	0,577	0,295
Hipoclorito de sódio + MTAD	15	1,256	1,202	0,143
Hipoclorito de sódio	15	0,356	0,377	0,232

Fonte: dados da pesquisa

Tabela 2 – Teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov

Grupos	estatística	graus de liberdade	valor p
Hipoclorito de sódio + EDTA	0,1267	15	0,2000
Hipoclorito de sódio + MTAD	0,1853	15	0,1758
Hipoclorito de sódio	0,1997	15	0,1102

Fonte: dados da pesquisa

Tabela 3 – Teste de homogeneidade de variância de Levene

Estatística de Levene	graus de liberdade	graus de liberdade	valor p
2,322249298	3	56	0,084901921

Fonte: dados da pesquisa

Na tabela 2 realizou-se a aplicação do teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov, mostrando que os grupos experimentais apresentaram distribuição normal ($p < 0,05$). Analisando a tabela 3, o teste de homogeneidade de variância de Levene mostrou que os grupos são homogêneos ($p > 0,05$), razão pela qual optou-se pela utilização do teste de Tukey-HSD para comparar se existia diferença estatística entre os valores médios de infiltração.

Tabela 4 – Teste de Tukey-HSD para comparações múltiplas

Intervalo de confiança 95%				
Grupo	Grupos	Valor p	Limite inferior	Limite superior
NaOCI + EDTA	NaOCI + MTAD	0,000000	-0,89288985	- 0,41482297
	NaOCI	0,040511	0,00776143	0,48582831
NaOCI + MTAD	NaOCI + EDTA	0,000000	0,41482297	0,89288985
	NaOCI	0,000000	0,66161784	1,13968472
NaOCI	NaOCI + EDTA	0,040511	-0,48582831	- 0,00776143
	NaOCI + MTAD	0,000000	1,13968472	- 0,66161784

Fonte: dados da pesquisa

A utilização do teste de Tukey-HSD mostrou que o grupo irrigado com BioPure MTAD apresentou o maior índice de infiltração, diferindo dos demais agentes que, por sua vez, diferem entre si, sendo que o hipoclorito de sódio a 2,5% empregado isoladamente apresentou a menor media de infiltração.

Tabela 6 – valores globais do volume de infiltração expressos em $\mu\text{L}/\text{min}^{-1} \cdot 10 \text{ psi}$

Hipoclorito de sódio + EDTA		Hipoclorito de sódio + BioPure MTAD		Hipoclorito de sódio isoladamente	
espécime	volume	Espécime	volume	espécime	Volume
1	0,63	1	0,53	1	0,34
2	0,14	2	0,53	2	0,24
3	0,43	3	1,01	3	0,14
4	1,11	4	1,20	4	0,24
5	0,29	5	1,30	5	0,19
6	0,29	6	1,15	6	0,14
7	0,91	7	1,15	7	1,06
8	0,72	8	1,15	8	0,29
9	0,48	9	1,54	9	0,43
10	0,48	10	1,39	10	0,53
11	0,91	11	1,30	11	0,38
12	1,01	12	1,20	12	0,34
13	0,29	13	1,25	13	0,53
14	0,77	14	1,25	14	0,14
15	0,58	15	1,54	15	0,34

4 REFERÊNCIAS

1. Wu MK, De Gee AJ, Wesselink PR, Moorer WR. Fluid transport and bacterial penetration along root canal fillings. *Int Endod J* 1993; 26: 203-8.
2. Derkson GD, Pashley DH, Derkson, ME. Microleakage measurements of selected restorative materials: a new in vitro method. *J Prosth Dent*, 1986; 56: 435-40.
3. 435-40.

5 PARECER DO CEP



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
Núcleo de Bioética
Comitê de Ética em Pesquisa

PARECER CONSUBSTANCIADO DE PROTOCOLO DE PESQUISA

Parecer Nº **0001438/08**

Protocolo CEP Nº **2231**

Título do projeto **Avaliação da influência da smear layer na capacidade de selamento de canais radiculares obturados com cimento endodôntico resinoso AH plus em função de diferentes agentes irrigadores**

Grupo **III**
Versão **1**

Protocolo CONEP **0036.0.084.000-08**

Pesquisador responsável **Ulisses Xavier da Silva Neto**

Instituição

Objetivos

Avaliar, in vitro, por meio do método de filtração de fluido, a influência dos agentes irrigantes EDTA a 17%, Biopure MTAD e gel de clorexidina a 2% na capacidade de selamento do cimento endodôntico resinoso AH Plus.

Comentários

O projeto está bem definido e claro em relação à pesquisa a ser realizada.

Considerações

Atende aos procedimentos éticos da pesquisa.

Termo de consentimento livre e esclarecido

Material adequado e devidamente encaminhado.

Recomendações

Projeto muito bem organizado e coerente para a pesquisa a ser realizada.

Conclusões

O projeto está aprovado.

Devido ao exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa da PUCPR, de acordo com as exigências das Resoluções Nacionais 196/96 e demais relacionadas a pesquisas envolvendo seres humanos, em reunião realizada no dia: **09/04/2008**, manifesta-se por considerar o projeto **Aprovado**.

Parecer Nº **0001438/08**

Protocolo CEP Nº **2231**

Título do projeto **Avaliação da influência da smear layer na capacidade de selamento de canais radiculares obturados com cimento endodôntico resinoso AH plus em função de diferentes agentes irrigadores**

Grupo **III**
Versão **1**

Protocolo CONEP **0036.0.084.000-08**

Pesquisador responsável **Ulisses Xavier da Silva Neto**

Instituição

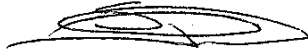
Situação Aprovado

Lembramos aos senhores pesquisadores que, no cumprimento da Resolução 196/96, o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) deverá receber relatórios anuais sobre o andamento do estudo, bem como a qualquer tempo e a critério do pesquisador nos casos de relevância, além do envio dos relatos de eventos adversos, para conhecimento deste Comitê. Salientamos ainda, a necessidade de relatório completo ao final do estudo.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP-PUCPR de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas.

Se a pesquisa, ou parte dela for realizada em outras instituições, cabe ao pesquisador não iniciá-la antes de receber a autorização formal para a sua realização. O documento que autoriza o início da pesquisa deve ser carimbado e assinado pelo responsável da instituição e deve ser mantido em poder do pesquisador responsável, podendo ser requerido por este CEP em qualquer tempo.

Curitiba, 09 de Abril de 2008.



Prof. Dr. Sergio Surugi de Siqueira
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
PUCPR

6 NORMAS DA REVISTA



<http://www.elsevier.com>

ORAL SURGERY, ORAL MEDICINE, ORAL PATHOLOGY, ORAL RADIOLOGY AND ENDODONTOLOGY

The Official Publication for the American College of Oral and Maxillofacial Surgery, American Academy of Oral and Maxillofacial Radiology, American Academy of Oral Medicine, American Academy of Oral and Maxillofacial Pathology, and the Organization of Teachers of Oral Diagnosis

For Authors

[Submit your article](#)
[Artwork instructions](#)
[Track your accepted article](#)

Guide for Authors

Editorial Office

Dr James R. Hupp, Editor-in-Chief, School of Dentistry,
The University of Mississippi Medical Center, Rm D216-
08, 2500 North State St, Jackson, MS 39216-4504;
telephone: (601)815-1952; fax: (601)984-4949; e-mail:
tripleo@sod.umsmed.edu

Publisher

ELSEVIER INC., 11830 Westline Industrial Dr, St
Louis, MO 63146-3318

Issue Manager, Jill Shepherd. Telephone: (352)483-
8113; fax: (352)483-3417; e-mail: shepherdja@aol.com

Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology On-Line Manuscript Submission

Submission of Manuscripts. *Oral Surgery, Oral*

Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology uses an online, electronic submission system. By accessing the website <http://ees.elsevier.com/tripleo> authors are stepwise through the creation and uploading of the various files. When submitting a manuscript to the Elsevier Editorial System (EES), authors must provide an electronic version of their manuscript. For this purpose original source files, not PDF files, are required. The author should specify an article type for the manuscript (full length article, review article, case report, etc.), choose a set of classifications from the prescribed list provided online, and suggest the appropriate Journal section. Authors may send queries concerning the submission process, manuscript status, or Journal procedures to the Editorial Office. Once the submission files are uploaded, the system automatically generates an electronic (PDF) proof, which is then used for reviewing. All correspondence, including the Editor's decision and request for revisions will be communicated by e-mail.

International authors who are not completely fluent in the English language should seek help in the preparation of their manuscripts. Such assistance will enhance the review, improve the chance of acceptance, and greatly reduce the time until publication if the article is accepted.

If your manuscript is accepted, the Editors reserve the right to determine whether it will be published in the print edition or solely in the Internet edition of the Journal. Articles accepted for publication are subject to editorial revision.

Statements and opinions expressed in the articles and communications herein are those of the author(s) and not necessarily those of the Editor(s) or publisher, and the Editor(s) and publisher disclaim any responsibility or liability for such material. Neither the Editor(s) nor the publisher guarantees, warrants, or endorses any product or service advertised in this publication. Neither do they guarantee any claim made by the manufacturer of such product or service.

Duality of Interests. Any commercial or other associations that might create a duality of interests in connection with a submitted manuscript must be disclosed. All sources of external funds supporting the work must be indicated in a footnote, as should all corporate affiliations of the authors including author(s) relationship with a corporate entity involved with the

subject of the research or product being espoused in the submission. A cover letter at the time of submission should inform the Editor of pertinent consultancies, stock ownership or other equity interests, or patent licensing arrangements. All information will remain confidential while the paper is being reviewed and will not influence the editorial decision. If the manuscript is accepted, the Editor will communicate with the authors how best to disclose the relevant information.

Publication Standards of Ethical Conduct. Submitting manuscripts for publication that contain elements of fabrication, falsification, or plagiarism constitutes a major violation of the universally accepted standards of ethical and scientific conduct.

Articles falling into the following categories are invited for submission:

Review manuscripts. Manuscripts that review the current status of a given topic, diagnosis, or treatment are encouraged. These manuscripts should not be an exhaustive review of the literature, but rather should be a review of contemporary thought with respect to the topic. Likewise, the bibliography should not necessarily be all-inclusive but rather include only seminal, pertinent, and contemporary references deemed to be most important by the author.

Clinicopathologic Conference. Papers submitted for the Clinicopathologic Conference (CPC) should present interesting, challenging, or unusual cases. The presentation should simulate clinical work-up, including a differential diagnosis. The complete diagnostic evaluation, management, and follow-up must be included. CPC articles will be organized into five parts: *Clinical presentation*-describe the clinical and imaging characteristics of the lesion. Use clinical photographs and radiographs as appropriate. *Differential diagnosis*-list and discuss lesions to be considered as reasonable diagnostic possibilities. *Diagnosis*-histopathologic findings illustrated with photomicrographs. *Management*-describe the treatment of the patient and response to treatment. *Discussion*-concentrate on the most interesting aspect(s) of the case.

Medical Management and Pharmacology Update. The Medical Management and Pharmacology Update (MMPU) is intended to provide concise, current reviews of medical problems and how they relate to dentistry. Manuscripts

should include a good review of the clinical aspects of the disease, stressing the impact of the disease on the dental management and dental treatment of the patient. Emphasis should be placed on new developments, new research, or new approaches to therapy or management. Manuscripts should not be an exhaustive review of the literature, but rather a review of contemporary thought with respect to the topic. Likewise, the bibliography need not be all inclusive but rather should include only seminal, contemporary references deemed by the author to be most pertinent. The desired format for manuscripts submitted for the MMPU would include: an abstract; topic introduction/overview; epidemiology/demographics; etiology and pathogenesis; clinical presentation/physical findings; diagnosis (laboratory tests, diagnostic imaging, etc.); medical management and treatment; complications; prognosis; oral manifestations/dental implications and significance; and dental management (of patients with the disease). Manuscripts should not exceed 12 pages in 12 point, double-spaced Times New Roman (Tables and Figures count toward the 12-page limit).

Pharmacology Update is a component section of MMPU that offers the reader the opportunity to obtain concise information regarding drugs used in the practice of medicine, clinical dentistry and dental specialties. Papers submitted should present clearly and concisely background information regarding the disease or condition that is managed, the indications, rational and approved uses of the specific drugs or class of drugs, the advantages and benefits of the drug or drug class over previous drugs, mechanism of action, criteria for selection, usual dosage, pharmacokinetics, adverse effects, drug interactions, and oral health and dental management considerations. Emphasis should be placed on new developments, effectiveness in clinical trials, therapeutic outcomes and safety. Manuscripts should reflect the contemporary thought with respect to the topic. Use of figures to illustrate the mechanism of action, and tables to presents therapeutic outcomes, drug interactions, and adverse effects are encouraged. Manuscripts should utilize the above mentioned categories for formatting the paper. Papers should not exceed 3000 words. The recommended font is 12 point, double spaced Times New Roman. A maximum of 50 references is recommended.

Clinical Notes.The Clinical Notes feature is intended to provide a forum for brief communications of a technical nature.They are not scientific papers; they may report a new instrument, technique, procedure, or, in rare

situations, an interesting case report.

Copyright statement. The specified copyright statement that follows the Information for Authors in each issue of the Journal must be completed, **signed by all authors**, and faxed to the Editorial Office at (601)984-4949. If not completed in full, it will be returned to the author for completion. The copyright statement may be photocopied for submission or scanned and e-mailed.

Copyright statement. The copyright-transfer document must be downloaded, completed, signed by the responsible author, scanned and attached as a file in the submission process.

Preparation of manuscripts. Only original manuscripts that have not been published in other forms will be considered for publication. Correct preparation of the manuscript by the author will expedite the reviewing and publication procedures. Manuscripts should be word processed double-spaced. Please note the following requirements and the instructions for online submission at <http://ees.elsevier.com/tripleo>.

The article, including all tables, should be formatted in the latest version of Microsoft Word. The use of appropriate subheadings throughout the body of the text (Methods, Results, and Discussion sections) is required. Legends for figures and tables should appear after the reference list. If an illustration has been taken from published material, the legend must give full credit to the original source. Illustrations must also be submitted electronically as separate files (not embedded). File specifications are listed below in "Illustrations." Tables should be submitted as separate files (in Microsoft Word (*.doc) format.)

Routine case reports add little to our knowledge, but good case reports may occasionally be published if they meet certain criteria: (1) are of rare or unusual lesions that need documentation, (2) are well documented cases showing unusual or "atypical" clinical or microscopic features or behavior, or (3) are cases showing good long-term follow-up information, particularly in areas in which good statistics on results of treatment are needed.

Title Page. The title page of the manuscript should include the title of the article, the full name of the author(s), academic degrees, positions, and institutional affiliations. Listed authors should include only those individuals who have made a significant creative contribution. The

corresponding author's address, business and home telephone numbers, fax number and e-mail address should be given.

Authorship. All persons who are identified as authors must have made substantial contribution to the manuscript through significantly contributing to the conception, design, analysis or interpretation of data; drafting or significantly revising the manuscript; and providing final approval of the manuscript. All three of these conditions must be met by each author. Persons who contribute to the effort in supporting roles should not be included as authors; rather they should be acknowledged at the end of the paper.

Abstract. An abstract of no more than 150 words, typewritten double-spaced, should precede the introduction to the article and must accompany each manuscript.

Structured abstract. A structured abstract limited to 150 words must be used for data-based research articles. The structured abstract is to contain the following major headings: *Objective(s)*; *Study Design*; *Results*; and *Conclusion(s)*. The *Objective(s)* reflects the purpose of the study, that is, the hypothesis that is being tested. The *Study Design* should include the setting for the study, the subjects (number and type), the treatment or intervention, and the type of statistical analysis. The *Results* include the outcome of the study and statistical significance if appropriate. The *Conclusion(s)* states the significance of the results.

Methods. The methods section should describe in adequate detail the experimental subjects, their important characteristics, and the methods, apparatus, and procedures used so that other researchers can reproduce the experiment. When the paper reports experiments on human subjects, the methods section must indicate that the protocol was reviewed by the appropriate institutional review board (IRB) and that each subject in the project signed a detailed informed consent form.

Animals. Please indicate that protocols were reviewed by the appropriate institutional committee with respect to the humane care and treatment of animals used in the study.

References. References should be cited selectively. Personal communications and unpublished data are not to be cited as references; instead, are to be cited in

parentheses at the appropriate place in the text. Make sure all references have been verified and are cited consecutively in the text (not including tables) by superscript numbers. Reference list format must conform to that set forth in "Uniform Requirement for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" (Ann Intern Med 1997;126:36-47). A copy of these Requirements may be viewed/printed online at www.icmje.org. References to articles in press must include authors' surnames and initials, title of article, and name of journal. The reference list should be typed double-spaced on a separate page and numbered in order as the reference citations appear in the text. For journal citations, include surnames and initials of authors, complete title of article, name of journal (abbreviated according to the Cumulated Index Medicus), year of publication, volume, number, and inclusive page numbers. For book citations, surnames and initials of authors, chapter title (if applicable), editors' surnames and initials, book title, volume number (if applicable), edition number (if applicable), city and full name of publisher, year of publication, and inclusive page numbers of citation.

EXAMPLES (if six or fewer authors, list all; if seven or more list first six and add *et al*):

Format for periodical references: Pullon PA, McGivney J. Computer utilization in an oral biopsy service. Int J Oral Surg 1977;6:251-5.

Format for book references: Seakins J, Saunders R, editors. Treatment of inborn errors of metabolism. London: Churchill Livingstone: 1973; p. 51-6.

Format for chapter references: Hudson FB, Hawcroft J. Duration of treatment in phenylketonuria. In: Seakins J, Saunders R, editors. Treatment of inborn errors of metabolism. London: Churchill Livingstone; 1973. p. 51-6.

Journal article on the Internet: Abood S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. Am J Nurs [serial on the Internet]. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12];102(6):[about 3 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>

Illustrations. Illustrations should be numbered and provided with suitable legends.

A reasonable number of halftone illustrations or line drawings will be reproduced at no cost to the author, but special arrangements must be made with the Editor-in-Chief for color plates, elaborate tables, or extra illustrations. Typewritten or freehand lettering on illustrations is not acceptable. All lettering must be done professionally, and letters should be in proportion to the drawings or photographs on which they appears.

Illustrations must be submitted in electronic format. All images should be at least 5 inches wide. Images should be provided in TIF or EPS format, per the instruction for online submission at <http://ees.elsevier.com/tripleo> . Macintosh or PC is acceptable. Graphics software such as Photoshop and Illustrator (not presentation software such as PowerPoint, CorelDraw, or Harvard Graphics) should be used in the creation of the art. Color images need to be CMYK, at least 300 DPI, and be accompanied by a digital color proof, not a color laser print or color photocopy. Note: This proof will be used at press for color reproduction. Gray scale images should be at least 300 DPI accompanied by a proof. Combinations of gray scale and line art should be at least 1200 DPI accompanied by a proof. Line art (black and white or color) should be at least 1200 DPI with a proof.

For best possible reproduction, avoid using shading or dotted patterns; if unavoidable, submit this type of illustration in the form of a glossy photograph for best results. Use thick, solid lines and bold, solid type. Place lettering on a white background; avoid reverse type (white lettering on a dark background). Typewritten or freehand lettering is unacceptable. All lettering must be done professionally and should be in proportion to the drawing graph, or photograph. Do not send original art work, radiograph films, or electrocardiographic strips. Any special instructions regarding sizing should be clearly noted.

Legends to illustrations. Each illustration must be accompanied by a legend. These should be typed double-spaced on a separate page. If an illustration has been taken from published material, the legend must give full credit to the original source.

Tables. The tables should be typewritten double-spaced, including column heads, data and footnotes, and submitted on separate pages. Tables should be self-explanatory and should supplement, not duplicate, the text. All table reference citations should be repeats of numbers assigned

within the text, not initial citations. A concise title should be supplied for each table. All columns should carry concise headings describing the data therein. Type all footnotes immediately below the table and define abbreviations. If a table or any data therein have been previously published, a footnote to the table must give full credit to the original source.

Video and Computer Graphics. Authors are encouraged to submit videos and computer-generated graphics; eg, a slide presentation with or without animation and sound. An author who wishes to supply such material should notify the editors in the cover letter and note this intention in the Author Comments area of the online submission. Although the publisher will not edit any video or computer graphic, editors and reviewers may suggest changes. All patient-identifying information must be removed or masked.

The maximum length of a video or computer graphic is 8 minutes. Longer submissions may be divided into smaller clips, each of which should be identified at the beginning of the section (eg, Video Clip 1, Graphic 1). A concise legend for each video clip or computer graphic presentation must be included with the manuscript. Videos are to be submitted in MPEG-1 or MPEG-2 (*.mpg) or QuickTime (*.mov) format. More detailed instructions can be found at <http://www.elsevier.com/artwork>. Videos and computer graphics accompanying a manuscript declined for publication will not be accepted separately. If the manuscript is accepted for publication, the presentation will be archived at www.mosby.com/tripleo.

Permissions. Direct quotations, tables, or illustrations that have appeared in copyrighted material must be accompanied by **written permission** for their use from the copyright owner and original author along with complete information with respect to source. Photographs of identifiable persons must be accompanied by signed releases showing informed consent. Articles appear in both the print and online versions of the journal, and wording should specify permission in all forms and media. Failure to obtain electronic permission rights may result in the images not appearing in the the print or online versions.

NOTE: FOLLOW INSTRUCTIONS FOR ONLINE SUBMISSION AT [↗](http://ees.elsevier.com/tripleo)

[HTTP://EES.ELSEVIER.COM/TRIPLEO](http://ees.elsevier.com/tripleo)

Announcements. Announcements must be received by the Editorial Office at least ten weeks before the desired month of publication. Items published at no charge include those received from a sponsoring society of the Journal; courses and conferences sponsored by state, regional, or national dental organizations; and programs for the dental profession sponsored by government agencies. All other announcements selected for publication by the Editor carry a charge of \$60 US, and the fee must accompany the request to publish.

Reprints. Because of the extremely high cost of preparing color articles, author reprints for articles containing color illustrations have to be prepared as overprints (overrun pages). Order forms will be sent to the **corresponding author** of articles containing color illustrations, so that overprints of those articles can be ordered the month of publication. No complimentary overprints or reprints will be provided.

Checklist for authors

- Signed copyright transfer statement (signed by all authors) (FAXED to Editorial Office)
- Letter of submission
- Title page
 - Title of article
 - Full names(s), academic degree(s), affiliation(s) and titles of author(s)
 - Author to whom correspondence, galleys, and reprint request are to be sent, including address and business and home telephone numbers, fax number, and e-mail address
- Structured abstract (double-spaced)
- Article proper (double-spaced)
(Figures and tables should not be part of the text of the manuscript but added as separate files)
- Statement of IRB review (stated in manuscript)
- References (double-spaced on a separate page)
- Reprint requests line (on a separate page)
- Tables (double-spaced, on separate pages)
- Legends (double-spaced, on a separate page)
- Illustrations, properly formatted (as separate files)
- Video/computer graphics, properly formatted (as separate files)
- Acknowledgments (on a separate page)
- Source of funding for research (on a separate page)
- Signed permission to reproduce previously published material, in all forms and media (scanned in as a file)
- Signed permission to publish photographs of

identifiable persons from the individual specifying
permission in all forms and media (scanned in as a file)
__Financial interest disclosure, if applicable (on a separate
page)
__If this paper was presented at a meeting identification of
organization, city, and year (on a separate page)

Updated June 2008

