



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
MESTRADO



**SINERGISMO ENTRE CLOREXIDINA E  
HIDRÓXIDO DE CÁLCIO SOBRE AS  
PROPRIEDADES MECÂNICAS DA  
DENTINA RADICULAR**



**SÃO LUÍS**

**2014**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
MESTRADO

**MICHAEL R. GARCIA RIBEIRO**

**SINERGISMO ENTRE CLOREXIDINA E  
HIDRÓXIDO DE CÁLCIO SOBRE AS  
PROPRIEDADES MECÂNICAS DA DENTINA  
RADICULAR**

**SÃO LUÍS  
2014**

**MICHAEL R. GARCIA RIBEIRO**

**SINERGISMO ENTRE CLOREXIDINA E HIDRÓXIDO DE CÁLCIO  
SOBRE AS PROPRIEDADES MECÂNICAS DA DENTINA RADICULAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia como parte dos requisitos para a obtenção do título de *Mestre em Odontologia*.

**Orientadora:** Prof. Dra. Soraia de Fátima Carvalho Souza

**SÃO LUÍS  
2014**

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Ribeiro, Michael.

SINERGISMO ENTRE CLOREXIDINA E HIDRÓXIDO DE CÁLCIO  
SOBRE AS PROPRIEDADES MECÂNICAS DA DENTINA RADICULAR /  
Michael Ribeiro. - 2014.

43 f.

Orientador(a): Soraia Souza.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em  
Odontologia/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, UFMA,  
2014.

1. Clorexidina. 2. Dentina. 3. Hidróxido de cálcio.  
4. Hipoclorito de sódio. I. Souza, Soraia. II. Título.

**Michael R. Garcia Ribeiro**

**SINERGISMO ENTRE CLOREXIDINA E HIDRÓXIDO DE CÁLCIO SOBRE AS PROPRIEDADES  
MECÂNICAS DA DENTINA RADICULAR**

A Comissão julgadora da Defesa do Trabalho Final de Mestrado em Odontologia, em sessão pública realizada no dia 24/01/2014, considerou o candidato.

APROVADO

REPROVADO

- 1) Examinador: Prof. Dr. Frederico Silva de Freitas Fernandes
- 2) Examinadora: Profa. Dra. Leily Macedo Firoozmand
- 3) Presidente (Orientadora): Profa. Dra. Soraia de Fátima Carvalho Souza

*A Isabel e Benjamim, que deram a nossa  
família a certeza da continuidade.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, fonte de inspiração e sabedoria. Pai maior, detentor de todo o saber.

À minha orientadora Soraia de Fátima Carvalho Souza, que NÃO MEDE ESFORÇOS para tornar seu orientando um professor capaz e responsável.

Ao meu amigo e professor, Darlon Martins Lima, por ter despertado em mim a vontade de ajudar através da docência.

Aos meus colegas da Turma V do Mestrado, que apontaram meus erros, me ajudaram a corrigir meus defeitos e entender que a docência é uma eterna e incompreensiva busca.

A todos meus amigos, representados por Ana Laíssa, Marcelo Victor, Lídia Burlamaqui, Luiz Amorim e Renan Rodrigues, que durante esses dois anos foram meu esteio, meu amparo, meu regozijo, minha alegria, minha razão, meu ouvido, meu riso, meu aprendizado, meu perdão. Vocês me ajudaram MUITO e às vezes, sem perceber.

Às minhas irmãs, avós e tias, pelo orgulho que sentem de mim.

E se eu cheguei aonde cheguei, foi inexorável e exclusivamente pelo apoio e exemplo da minha mãe, Léia Garcia, que enraizou em mim e nas minhas irmãs a importância de se estudar para amadurecer na vida como ser humano, como profissional e como cidadão. Sem dúvida, essa vitória é dela.

A todas essas pessoas, e àquelas que não foram citadas, mas com igual gratidão:

Meu muito obrigado!

## RESUMO

*Objetivo:* Avaliou-se o efeito sinérgico da solução de Clorexidina 2% (CHX) como irrigante endodôntico e da pasta de Hidróxido de Cálcio (HC) como material osteoindutor sobre as propriedades mecânicas da dentina radicular de RMF, E e *Off-set* 2% após 30, 90 e 180 dias.

*Metodologia:* Foram utilizados 90 incisivos bovinos para confecção das barras de dentina (BD's), divididos aleatoriamente em 3 grupos controles (n=10 por grupo) e 2 grupos experimentais (n=30 por grupo): Grupo Controle negativo (GCn= Água destilada e deionizada-[ADD]); Grupo Controle positivo 1 (GCp1=NaOCl 2,5%/EDTA 17%); Grupo Controle positivo 2 (GCp2=CHX 2,0%/ADD); Grupo Experimental 1 (GE1=NaOCl 2,5%/EDTA 17%+ HC) e Grupo Experimental 2 (GE2=CHX 2,0%/ADD + HC). Os GE's foram divididos em 3 subgrupos (n=10) conforme o tempo de exposição (T1=30, T2=90 e T3=180 dias). Os GC's foram considerados *baselines* (T0). As BD's foram submetidas ao ensaio de resistência flexural para obtenção dos valores médios da RMF, E e *Off-set* 2%. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística ( $\alpha=0,05$ ).

*Resultados:* Nos *baselines* as maiores médias de RMF, E e *Off-set* 2% foram observadas no GCn e GCp2 ( $P<0,05$ ). A RMF no GE2>GE1 em todos os tempos avaliados ( $P<0,05$ ). Para E, GE1=GE2 nos T1 e T3, GE2>GE1 nos T0 e T2. Para o *Off-set* 2% GE2>GE1 em todos os subgrupos, exceto no T2. Observou-se nas BD's maior frequência de fratura vertical no T3 para GE1 e oblíqua para GE2 ( $P<0,05$ ).

*Conclusão:* Os resultados sugerem tendência de sinergismo positivo da solução de CHX 2,0% ao HC, por preservar as propriedades mecânicas da dentina radicular testadas ao longo do tempo.

**Palavras-chave:** clorexidina; hidróxido de cálcio; hipoclorito de sódio; dentina



## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the synergistic effect of the solution of chlorhexidine 2 % (CHX) as endodontic irrigating and Calcium hydroxide (HC) filler as osteoinductive material on mechanical properties of root dentin RMF, E and *Off-set* 2 % after 30, 90 and 180 days.

**Methods:** 90 bovine incisors were used to make bars dentin (BD's) were randomly divided into 3 groups controls (n= 10 per group) and 2 experimental groups (n= 30 per group) : negative control group (GCN= Distilled and deionized water – [WDD]) ; positive control group 1 (GCp1= NaOCl 2.5%/EDTA 17 %), positive control group 2 (GCp2= 2.0% CHX/ADD), Experimental group 1 (EG1= NaOCl 2.5%/EDTA 17% + HC) and Experimental group 2 (GE2= CHX 2.0%/ADD + HC). The GE 's were divided into 3 groups (n = 10) as the exposure time (T1= 30, T2= 90 and T3= 180 days). The GC 's were considered baselines (T0). BD 's were tested as flexural strength to obtain the average values of RMF, E and *Off-set* 2 % . The data were subjected to statistical analysis ( $\alpha= 0.05$ ).

**Results:** In the highest averages of baselines RMF, E and *Off-set* 2 % were observed in the GCN and GCp2 ( $P < 0.05$ ) . The RMF in GE2>GE1 at all times evaluated ( $P < 0.05$ ). For E, GE1=GE2 in T1 and T3, GE2>GE1 in T0 and T2. To *Off-Set* 2% GE2>GE1 in all subgroups except in T2. It has been observed more frequently in BD's vertical fracture T3 for GE1 and GE2 to oblique ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The results suggest synergism positive trend solution of CHX 2.0% to HC for preserving the mechanical properties of the tested root canal over time.

**Clinical Relevance:** Within the limitations of this in vitro study may be speculated that , clinically, the CHX 2.0% solution is an agent of preservation of the mechanical properties of root dentin .

**Keywords :** chlorhexidine , calcium hydroxide , sodium hypochlorite ; dentin

## SUMÁRIO

RESUMO .....	<i>iv</i>
ABSTRACT .....	<i>v</i>
1.0 REFERENCIAL TEÓRICO.....	1
2.0 CAPÍTULO I: ARTIGO.....	3
3.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	24
4.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25
5.0 DIRETRIZES PARA PUBLICAÇÃO.....	28

## 1. REFERENCIAL TEÓRICO

O controle sobre a incidência das lesões traumáticas dos dentes ainda é um desafio para a Odontologia, haja vista que o maior índice de traumatismos dentais ocorre na dentição permanente, numa proporção de 4 a 33% em crianças na faixa etária de 8 a 10 anos de idade, com maior frequência nos dentes ântero-superiores. Na maioria das vezes, o impacto sobre o dente rompe a vascularização da polpa dental, interrompendo o processo fisiológico de formação radicular<sup>1</sup>. Tradicionalmente, esta condição clínica exige uma intervenção endodôntica que consiste em eliminar a infecção do sistema de canais radiculares (SCR) e no emprego de um material osteoindutor por um longo período, capaz de induzir a apicificação, isto é, a deposição de osteocemento ou de um tecido mineralizado similar ao cimento radicular na região apical<sup>2</sup>.

Para o preparo dos canais radiculares com mortificação pulpar, o hipoclorito de sódio (NaOCl) tem sido amplamente empregado em diferentes concentrações como irrigante endodôntico, com o objetivo de eliminar os microrganismos do SCR, graças à sua propriedade antimicrobiana e à capacidade de desnaturar toxinas e dissolver matéria orgânica<sup>3</sup>. Associado ao NaOCl, tem sido utilizado um agente quelante, o ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA), para complementar o procedimento de limpeza por meio da remoção da *smear layer*, uma massa amorfa que permanece aderida às paredes do canal radicular, constituída de microrganismos, matéria orgânica e partículas de dentina, produzida durante a instrumentação<sup>4</sup>.

Entretanto, evidências científicas têm mostrado que o EDTA altera a composição química superficial da dentina radicular humana pela diminuição do teor de Fósforo/Cálcio (P/Ca)<sup>5</sup> e o NaOCl altera a matriz orgânica dentinária, modificando suas propriedades mecânicas<sup>6</sup>.

Para induzir a apicificação, após o preparo químico-mecânico do SCR, pastas à base de hidróxido de cálcio (HC) têm sido recomendadas devido à sua propriedade osteoindutora, por um período de 6 meses a 1 ano, ou até o completo fechamento fisiológico do ápice radicular<sup>7,8</sup>. Além disso, o HC possui propriedade antimicrobiana conferida pela dissociação e difusão dos íons  $\text{Ca}^{++}$  e  $\text{OH}^-$  para o interior dos túbulos dentinários<sup>9,10</sup>. Contudo, é sabido que a alta alcalinidade do HC ( $\text{pH}>12$ ) lhe confere ação proteolítica sobre a matriz orgânica dentinária, o que pode causar efeitos adversos quando usado a longo prazo, resultando na redução da resistência mecânica da raiz<sup>11</sup>.

Alguns estudos apontam que o uso seqüencial do NaOCl e HC apresentam um efeito sinérgico potencial de desintegração do substrato<sup>12,13,14</sup>, alterando negativamente as

propriedades mecânicas da dentina radicular, como Resistência Máxima à Flexão (RMF) Módulo de Elasticidade (E) e Microdureza Knoop (KHN)<sup>13,15,16,17</sup>, o que pode tornar dentes anteriores traumatizados e submetidos à apicificação, suscetíveis à fraturas radiculares catastróficas<sup>18</sup>.

O gluconato de Clorexidina (CHX), é uma substância alternativa que tem sido empregada como irrigante endodôntico em diferentes concentrações, por possuir ação antimicrobiana imediata e amplo espectro, relativa ausência de toxicidade, capacidade de adsorção pela dentina e lenta liberação da substância ativa, o que prolonga sua atividade antimicrobiana residual<sup>19</sup>. Além disso, possui efeito inibitório sobre as Metaloproteinases (MMP's) da matriz orgânica dentinária, enzimas que afetam os mecanismos da erosão<sup>20</sup> e degradação da camada híbrida dentinária<sup>21</sup>. No entanto, o efeito da CHX nas propriedades mecânicas de RMF, E e KHN da dentina radicular ainda não foi bem esclarecido<sup>13,22</sup>, principalmente quando a dentina é exposta a pasta de HC por longo tempo

Uma outra propriedade da dentina radicular que tem sido pouco estudada é o limite de escoamento ou *Off-set*. Tal propriedade é definida como a tensão necessária para produzir deformação permanente no substrato dentinário. O valor percentual médio de deformação plástica de um material é convencionado arbitrariamente em 0,1 ou 0,2%. É determinado traçando-se uma linha paralela e abaixo da curva tensão-deformação em sua parte constante, partindo do ponto de deformação pré-estabelecido. O ponto onde a linha intercepta a curva tensão-deformação é o limite de escoamento<sup>23,24,25,26</sup>.

A variação do *Off-set* da dentina radicular poderia ocorrer quando este substrato é exposto a ação de substâncias irrigantes e medicações intracanaís, uma vez que tais substâncias alteram sua porção orgânica e mineral, determinando alterações negativas no seu comportamento elástico. O efeito destes materiais produz pequenos espaços vazios no substrato que levam à formação de trincas, deixando-o mais friável e suscetível a fraturas<sup>25</sup>. Este fenômeno ratifica a teoria de Griffith que defendeu a hipótese de que todo material sólido possui espaços microscópicos intrínsecos, o que reduziria a resistência global do material já que qualquer espaço vazio em um sólido concentra tensões<sup>27</sup>.

Em razão disso, o objetivo deste estudo *in vitro* foi avaliar o efeito imediato da solução de CHX 2,0% como irrigante endodôntico e o efeito sinérgico com o HC sobre as propriedades mecânicas de RMF, E e *Off-set* da dentina radicular ao longo do tempo.

## 2. CAPÍTULO I – ARTIGO:

### *SINERGISMO ENTRE CLOREXIDINA E HIDRÓXIDO DE CÁLCIO SOBRE AS PROPRIEDADES MECÂNICAS DA DENTINA RADICULAR\**

*Short title:*

*Sinergismo entre Clorexidina e Hidróxido de Cálcio*

*Ribeiro, MRG<sup>a</sup>. Souza, SFC<sup>b</sup>.*

*\* Manuscrito a ser submetido ao Journal of Dentistry*

*<sup>a</sup>Estudante de pós-graduação, Curso de Odontologia, Universidade Federal do Maranhão; <sup>b</sup>Departamento de Endodontia, Curso de Odontologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luis, MA, Brasil.*

Autor de correspondência:

Soraia de Fátima Carvalho Souza

Faculdade de Odontologia

Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Av. dos Portugueses s/n, Bacanga, São Luis, MA

Cep – 65.085-580

Tel: +55 98 8109 8575

Email: endosoraia@gmail.com

## 2.1 RESUMO:

### **Sinergismo entre clorexidina e hidróxido de cálcio sobre as propriedades mecânicas da dentina radicular**

*Objetivo:* Avaliou-se o efeito sinérgico da solução de Clorexidina 2% (CHX) como irrigante endodôntico e da pasta de Hidróxido de Cálcio (HC) como material osteoindutor sobre as propriedades mecânicas da dentina radicular de RMF, E e *Off-set* 2% após 30, 90 e 180 dias. *Metodologia:* Foram utilizados 90 incisivos bovinos para confecção das barras de dentina (BD's), divididos aleatoriamente em 3 grupos controles (n=10 por grupo) e 2 grupos experimentais (n=30 por grupo): Grupo Controle negativo (GCn= Água destilada e deionizada-(ADD)); Grupo Controle positivo 1 (GCp1=NaOCl 2,5%/EDTA 17%); Grupo Controle positivo 2 (GCp2=CHX 2,0%/ADD); Grupo Experimental 1 (GE1=NaOCl 2,5%/EDTA 17%+ HC) e Grupo Experimental 2 (GE2=CHX 2,0%/ADD + HC). Os GE's foram divididos em 3 subgrupos (n=10) conforme o tempo de exposição (T1=30, T2=90 e T3=180 dias). Os GC's foram considerados *baselines* (T0). As BD's foram submetidas ao ensaio de resistência flexural para obtenção dos valores médios da RMF, E e *Off-set* 2%. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística ( $\alpha=0,05$ ).

*Resultados:* Nos *baselines* as maiores médias de RMF, E e *Off-set* 2% foram observadas no GCn e GCp2 ( $P<0,05$ ). A RMF no GE2>GE1 em todos os tempos avaliados ( $P<0,05$ ). Para E, GE1=GE2 nos T1 e T3, GE2>GE1 nos T0 e T2. Para o *Off-set* 2% GE2>GE1 em todos os subgrupos, exceto no T2. Observou-se nas BD's maior frequência de fratura vertical no T3 para GE1 e oblíqua para GE2 ( $P<0,05$ ).

*Conclusão:* Os resultados sugerem tendência de sinergismo positivo da solução de CHX 2,0% ao HC, por preservar as propriedades mecânicas da dentina radicular testadas ao longo do tempo.

*Relevância Clínica:* Dentro das limitações deste estudo *in vitro* pode ser especulado que, clinicamente, a solução de CHX 2,0% é um agente de preservação das propriedades mecânicas da dentina radicular.

**Palavras-chave:** clorexidina; hidróxido de cálcio; hipoclorito de sódio; dentina

## ABSTRACT

### **Synergism between endodontic irrigating solutions and calcium hydroxide on root dentin**

Objective: To evaluate the synergistic effect of the solution of chlorhexidine 2 % (CHX) as endodontic irrigating and calcium hydroxide (HC) filler as osteoinductive material on mechanical properties of root dentin RMF, E and *Off-set* 2 % after 30, 90 and 180 days. Methods: 90 bovine incisors were used to make bars dentin (BD's) were randomly divided into 3 groups controls (n= 10 per group) and 2 experimental groups (n= 30 per group) : negative control group (GCN= Distilled and deionized water – [WDD]) ; positive control group 1 (GCp1= NaOCl 2.5%/EDTA 17 %), positive control group 2 (GCp2= 2.0% CHX/ADD), Experimental group 1 (EG1= NaOCl 2.5%/EDTA 17% + HC) and Experimental group 2 (GE2= CHX 2.0%/ADD + HC). The GE 's were divided into 3 groups (n = 10) as the exposure time (T1= 30 , T2= 90 and T3= 180 days). The GC 's were considered baselines (T0). BD 's were tested as flexural strength to obtain the average values of RMF, E and *Off-set* 2 % . The data were subjected to statistical analysis ( $\alpha= 0.05$ ).

Results: In the highest averages of baselines RMF, E and *Off-set* 2 % were observed in the GCN and GCp2 ( $P < 0.05$ ) . The RMF in  $GE2 > GE1$  at all times evaluated ( $P < 0.05$ ). For E,  $GE1 = GE2$  in T1 and T3,  $GE2 > GE1$  in T0 and T2. To *Off-Set* 2%  $GE2 > GE1$  in all subgroups except in T2. It has been observed more frequently in BD's vertical fracture T3 for GE1 and GE2 to oblique ( $P < 0.05$ ). Conclusion: The results suggest synergism positive trend solution of CHX 2.0% to HC for preserving the mechanical properties of the tested root canal over time.

Clinical Relevance: Within the limitations of this in vitro study may be speculated that , clinically, the CHX 2.0% solution is an agent of preservation of the mechanical properties of root dentin .

Keywords : chlorhexidine , calcium hydroxide , sodium hypochlorite ; dentin

## 2.2 INTRODUÇÃO

Nos países em desenvolvimento a incidência de lesões traumáticas dentárias em crianças e adolescentes tem despertado o interesse de clínicos e pesquisadores<sup>1</sup>, devido ao declínio da prevalência da cárie e doenças periodontais nestes grupos etários<sup>2</sup>.

O tratamento endodôntico em dentes permanentes jovens não-vitais em consequência de trauma dental consiste na eliminação da infecção do sistema de canais radiculares (SCR) e indução da formação de uma barreira apical biológica com uma substância osteoindutora, o hidróxido de cálcio (HC), por um período de tempo variável<sup>3,4,5</sup>. Este fenômeno ocorre graças à dissociação e difusão dos íons  $\text{Ca}^{++}$  e  $\text{OH}^-$  para o interior dos túbulos dentinários<sup>6,7</sup>. No entanto, alguns estudos apontam que seu uso prolongado reduz a resistência mecânica da dentina radicular<sup>8,9,10</sup>.

Várias soluções irrigantes, em diferentes concentrações, são utilizadas no preparo químico-mecânico do SCR. O hipoclorito de sódio (NaOCl) destaca-se como padrão-ouro por sua excelente propriedade antimicrobiana, desnaturação de toxinas, inativação de lipopolissacarídeos (LPS) bacterianos e dissolução de matéria orgânica<sup>11,12,13</sup>. Como substância auxiliar na remoção da *smear layer*, o ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA) é utilizado como agente quelante dos íons minerais<sup>14,15,16</sup>.

Evidências científicas têm mostrado que o EDTA altera a composição química superficial da dentina radicular humana pela diminuição do teor de Fósforo/Cálcio (P/Ca)<sup>15</sup> e o NaOCl altera a matriz orgânica dentinária modificando suas propriedades mecânicas<sup>17,18,19</sup>.

Considerando o exposto, a substância ideal para a irrigação do SCR seria aquela capaz de preservar as propriedades mecânicas de raízes fisiologicamente imaturas. Para tanto, o dígluconato de clorexidina (CHX) surge como substância alternativa<sup>13,17,20</sup> por possuir propriedade antimicrobiana imediata, alta substantividade e ausência de toxicidade<sup>21</sup>. Além disso, preserva a integridade da rede fibrilar colágena pela neutralização das Metaloproteinases (MMP's) da matriz orgânica dentinária<sup>22,23,24</sup>, o que pode contribuir para manter a propriedade mecânica de microdureza radicular<sup>25</sup>.

O efeito do uso da CHX como irrigante endodôntico seguido da manutenção prolongada do HC como medicação intracanal sobre as propriedades mecânicas da dentina radicular fisiologicamente imatura ainda não foi bem esclarecido. Portanto, o objetivo deste estudo *in vitro* foi avaliar o efeito imediato da solução de CHX 2,0%



como irrigante endodôntico seguido da exposição a pasta de HC sobre as propriedades mecânicas de RMF, E e *Off-set 2%* após 30, 90 e 180 dias.

As hipóteses nulas testadas foram que não ocorre alteração nas propriedades mecânicas de RMF, E e *Off-set 2%* da dentina radicular: (1) após o uso imediato de irrigação endodôntica com solução de CHX 2,0% e, (2) após irrigação endodôntica com solução de CHX 2,0% e exposição à pasta de HC nos períodos de 30, 90 e 180 dias.

## **2.3 MATERIAIS E MÉTODOS**

Foram selecionados 90 incisivos bovinos recém extraídos, com comprimento radicular padronizado em 25 mm ( $\pm 5$ mm) e ápices radiculares abertos. Foram armazenados em água destilada e deionizada (ADD) até o momento de uso.

### **2.3.1 Preparo e armazenagem das Barras de Dentina (BD's)**

Os dentes foram seccionados transversalmente na junção amelo-cementária empregando-se uma máquina de corte para tecido duro (Isomet 1000, Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, USA). Foram confeccionados tubos de 10 mm ( $\pm 2$  mm) de comprimento, descartando-se os terços médios e apicais. Os tubos de dentina receberam quatro cortes longitudinais, dois nas superfícies mesial e distal, e dois nas superfícies méso-pulpar e disto-pulpar, respectivamente. Obteve-se para cada raiz, duas placas de dentina de 1 mm de espessura. As placas foram seccionadas longitudinalmente a cada 1 mm ( $\pm 0,2$  mm), resultando em BD's com dimensões de 10x1x1 mm, mensuradas com paquímetro digital (Mitutoyo, MTI Corporative, Tokyo, Japan).

As BD's de cada raiz foram armazenadas em tubos de plástico individuais (*Eppendorf*) contendo 1,5 ml de ADD por 24 horas. Foram divididos aleatoriamente em 3 grupos controles (n=10 por grupo) e 2 grupos experimentais (n=30 por grupo): Grupo Controle negativo (GCn=ADD); Grupo Controle positivo 1 (GCp1=NaOCl 2,5%/EDTA 17%); Grupo Controle positivo 2 (GCp2=CHX 2,0%/ADD); Grupo Experimental 1 (GE1=NaOCl 2,5%/EDTA 17%+ HC) e Grupo Experimental 2 (GE2=CHX 2,0%/ADD+ HC). Os GE's foram divididos em 3 subgrupos (n=10) conforme o tempo de exposição (T1=30, T2=90 e T3=180 dias) ao hidróxido de cálcio (HC). Os GC's foram considerados *baselines* (T0).

Após armazenamento, as BD's receberam tratamento com as substâncias irrigantes de acordo com o grupo em que foram alocadas, respeitando-se os volumes e trocas das substâncias, e o tempo de agitação em cuba ultrasônica (Lavadora Ultrassônica Bio Free, Gnatus, Ribeirão Preto, SP, Brasil) pré-determinados (Quadro 1). O pH das substâncias foi aferido em pHmetro digital (DM22, Digimed, Campo Grande, SP, Brasil) em triplicatas, com valores de 8,4 para ADD; 11,1 para NaOCl 2,5%; 4,41 para EDTA 17% e 7,44 para CHX 2,0%.

As BD's de cada raiz dos GE's foram mantidas em estufa, acondicionadas em *Eppendorf* individuais com pasta de HC a 37°C e 100% de umidade relativa durante 30, 90 e 180 dias.

Quadro 1 – Distribuição dos GC's e GE's em função do tipo de tratamento, tempo de agitação [tempo de substituição da substância] e tempo de armazenagem das BD's

	Grupos				
	Controle			Experimental	
	GCn	GCp1	GCp2	GE1	GE2
Tratamento	1,5 ml de ADD	1,5 ml de NaOCl 2,5% + 1,5ml de EDTA 17%.	1,5 ml de CHX 2,0% + 1,5 ml de ADD	1,5ml de NaOCl 2,5% + 1,5ml de EDTA 17%.	1,5 ml de CHX 2,0% + 1,5 ml de ADD
Agitação/ Substituição	30'[5']	150'[30'] + 5'[1']	150'[30'] + 30'[5']	150'[30'] + 5'[1']	150'[30'] + 30'[5']
Armazenagem	24 h em ADD	24 h em ADD	24 h em ADD	T1=30 T2=90 T3=180 dias em HC	T1=30 T2=90 T3=180 dias em HC

GCn= Grupo Controle negativo; GCp1= Grupo Controle positivo 1; GCp2= Grupo Controle positivo 2; GE1=Grupo Experimental 1; GE2=Grupo Experimental 2; ADD= Água Destilada Deionizada; HC=Hidróxido de Cálcio (Calen<sup>®</sup>; SSWhite Artigos Dentários Ltda., Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Composição: 2,5 g de hidróxido de cálcio; 0,5 g de óxido de zinco; 0,05 g de colofônia hidrogenada; 1,75 mL de polietilenoglicol 400).

### 2.3.2 Ensaio de RMF

As BD's dos GC's foram submetidas ao ensaio de RMF imediatamente após o tratamento com as substâncias irrigantes. As BD's expostas à pasta de HC foram submetidas ao ensaio de RMF após decorrido cada tempo experimental. Foram lavadas em ADD sob constante agitação (3x de 10 min) para remoção da pasta de HC. Foram colocadas individualmente no dispositivo da máquina universal de ensaios mecânicos (Advanced Mechanical Testing Systems, Instron, Barueri-SP, Brasil) para o ensaio de resistência flexural de três pontos a uma velocidade de 0,5 mm/min até ocorrer a ruptura.

A tensão de flexão ( $\sigma_f$ ) da BD foi determinada por meio da razão entre três vezes a carga registrada no momento da fratura ( $F$ ) multiplicado pelo comprimento ( $L$ ) e a área ( $b.h^2$ ) da seção transversal da BD vezes dois:  $\sigma_f = \frac{3FL}{2b.h^2}$ , caracterizando a resistência coesiva do substrato (MPa).

### 2.3.3 Módulo de Elasticidade (E)

O Módulo de Elasticidade ou Módulo de Young (E) foi determinado pela fórmula:  $E = \frac{FLL^3}{4b.h^3.d}$ , onde  $FL$  é a carga registrada no momento da fratura,  $L$  é a distância entre os apoios,  $b$  e  $h$  são respectivamente a base e altura da BD (mm) e  $d$  é a deflexão (mm) correspondente a  $FL$ . Os valores obtidos foram transformados em GPa.

### 2.3.4 Off-set 2%

Neste estudo o percentual de deformação plástica para o substrato dentinário foi estabelecido em 2%. Este dado foi obtido diretamente da máquina universal de ensaios mecânicos (MPa).

### 2.3.5 Análise do Padrão de fratura

O padrão de fratura das BD's foi dividido em dois tipos: (1) fratura vertical, quando a linha de fratura ocorreu paralela ao eixo de aplicação da força, e (2) fratura oblíqua, quando a linha de fratura ocorreu transversalmente ao eixo de aplicação da força. Para determinar a natureza das fraturas as BD's foram fotografadas por uma câmera digital (Q-

Color 5; Olympus) adaptada a uma lupa estereomicroscópica (SZ61;Olympus Latin America Inc., Center Valley, PA, USA) sob 20x de aumento.

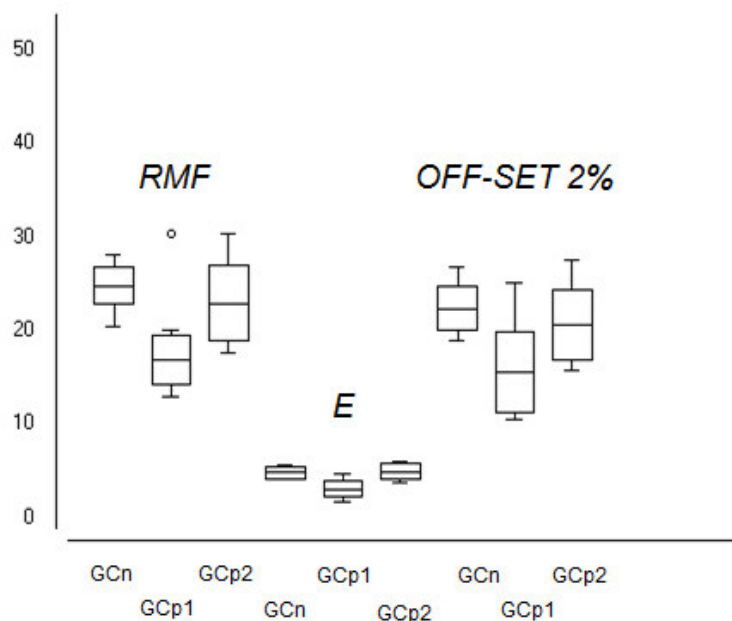
### **2.3.6 Análise estatística**

Foram imputados dados em 16 amostras para a variável *Off-set 2%*: 9 no GE1, 5 no GE2 e 2 no GCn, devido a impossibilidade da máquina registrar os valores da carga máxima no momento da fratura. Utilizou-se a técnica de regressão linear múltipla, considerando as variáveis: RMF, E, grupos de tratamento e tempo de avaliação.

Foi efetuado o teste de Shapiro-Wilk para avaliação da distribuição dos dados. Efetuou-se análise estatística descritiva estimando médias ( $\pm$ desvios-padrão) entre os grupos de tratamento e o tempo de avaliação. Os testes de Kruskal-Wallis seguido de Dunn e ANOVA pareado seguido de Tukey foram utilizados para testar diferenças dos parâmetros avaliados entre os períodos de avaliação. Adotaram-se os testes de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis seguido de Dunn para comparar as medianas entre os grupos, separadamente em cada tempo. Por fim, utilizou-se o teste ANOVA de dois critérios seguido de Tukey para avaliar diferenças nas médias entre os grupos nos diferentes tempos. Estimaram-se ainda diferenças nas frequências absolutas ( $f$ ) e percentuais (%) dos tipos de fratura das BD's em função do tipo de tratamento e do tempo avaliado. Foram utilizados os testes de  $\chi^2$  e  $\chi^2$  de tendência. Todas as análises foram realizadas nos *softwares* Stata (versão 11.0, StataCorp, Lakeway Drive, College Station, TX, USA) e BioEstat (versão 5.3, Instituto Mamirauá, Tefé, AM, Brasil). O nível de significância estabelecido foi de 5%.

## 2.4 RESULTADOS

Na Figura 1 observa-se que GCn e GCp2 obtiveram maiores médias de RMF, E e *Off-set 2%* quando comparados ao GCp1 ( $P<0,05$ ).



**Figura 1** - Box plot (média  $\pm$ desvio-padrão) da RMF (MPa), E (GPa) e *Off-set 2%* (MPa) nos grupos controles. RMF= Resistência Máxima à Flexão. E= Módulo de Elasticidade. *Off-set 2%* de deformação plástica. GCn= Grupo Controle negativo (ADD). GCp1: Grupo Controle positivo 1 (NaOCl 2,5% +EDTA 17%). GCp2: Grupo Controle positivo 2 (CHX 2% +ADD).

Para todos os testes efetuados os GCp1 e GCp2 foram considerados o T0 (*baseline*) para os GE1 e GE2, respectivamente.

Na tabela 1 observa-se que houve tendência de redução dos valores de RMF, independente do tipo de irrigante endodôntico utilizado ao longo do tempo ( $P<0,05$ ). A RMF em todos os tempos avaliados foi maior para o grupo GE2 do que para GE1 ( $P<0,05$ ). Os valores médios de E foram semelhantes entre os GE1 e GE2 no T1 ( $P=0,059$ ) e T3 ( $P=0,226$ ), mas diferiram no T0 ( $P<0,001$ ) e T2 ( $P=0,028$ ), sendo maiores para GE2 do que

**Tabela1** – Média ( $\pm$ dp) da RMF (MPa), E (GPa) e *Off-set* 2% (MPa) das BD's nos diferentes grupos ao longo do tempo

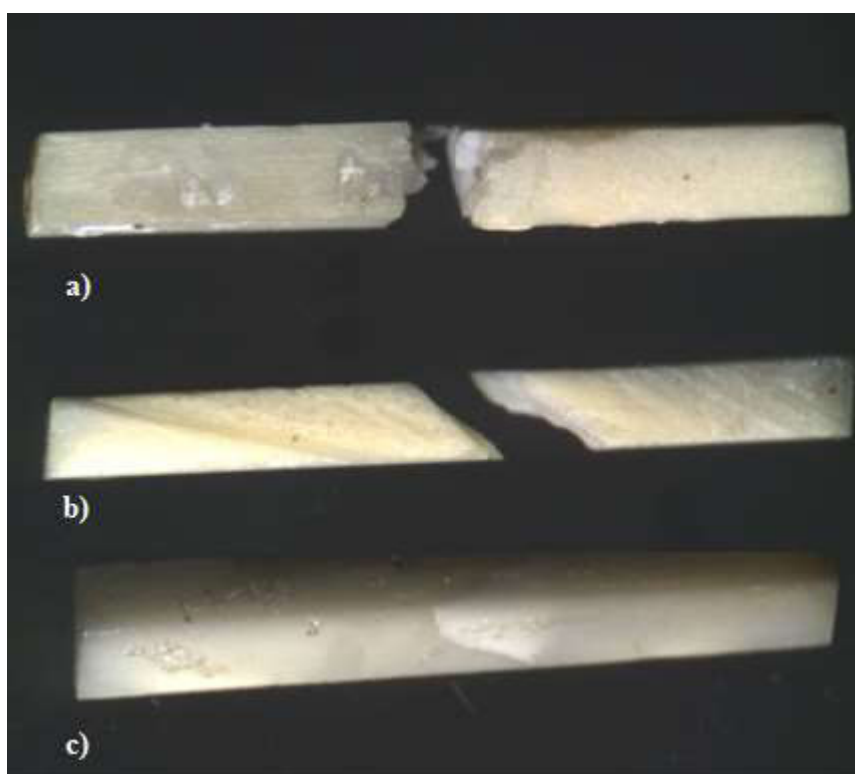
Grupo/ Variável	Tempo (dias)				P-valor	Redução T0-T3(%)
	T0	T1	T2	T3		
	$\mu \pm dp$	$\mu \pm dp$	$\mu \pm dp$	$\mu \pm dp$		
<b>GCn</b>						
RMF [A]	24,8 $\pm$ 2,1	-- --	-- --	-- --		
E [B]	4,8 $\pm$ 0,6	-- --	-- --	-- --		
<i>Off-set</i> 2% [A]	22,4 $\pm$ 2,4	-- --	-- --	-- --		
<b>GE1</b>						
RMF [B]	18,2 $\pm$ 4,9 <sup>a</sup>	9,0 $\pm$ 2,9 <sup>a,b</sup>	4,1 $\pm$ 1,4 <sup>b,c</sup>	3,2 $\pm$ 2,3 <sup>c</sup>	<b>&lt;0,001</b> <sup>1</sup>	82,41
E [C]	3,1 $\pm$ 0,8 <sup>c</sup>	5,6 $\pm$ 0,9 <sup>a†</sup>	4,9 $\pm$ 1,2 <sup>a,b</sup>	4,0 $\pm$ 1,4 <sup>b,c†</sup>	<b>0,006</b> <sup>2</sup>	----
<i>Off-set</i> 2% [C]	15,5 $\pm$ 4,2 <sup>a</sup>	7,0 $\pm$ 5,4 <sup>a,b</sup>	3,0 $\pm$ 0,8 <sup>b,c†</sup>	1,9 $\pm$ 0,4 <sup>c</sup>	<b>&lt;0,001</b> <sup>1</sup>	87,74
<b>GE2</b>						
RMF [A]	23,0 $\pm$ 4,1 <sup>a</sup>	13,4 $\pm$ 2,4 <sup>a,c</sup>	6,8 $\pm$ 2,9 <sup>b,c</sup>	7,7 $\pm$ 4,3 <sup>c</sup>	<b>&lt;0,001</b> <sup>1</sup>	66,52
E [A,B]	4,9 $\pm$ 0,9 <sup>a,b</sup>	4,9 $\pm$ 0,7 <sup>a,b†</sup>	6,2 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>	4,6 $\pm$ 1,4 <sup>b†</sup>	<b>0,021</b> <sup>1</sup>	----
<i>Off-set</i> 2% [A,B]	20,7 $\pm$ 3,7 <sup>a</sup>	12,2 $\pm$ 2,2 <sup>b</sup>	4,3 $\pm$ 3,9 <sup>d†</sup>	7,4 $\pm$ 4,0 <sup>c,b,d</sup>	<b>&lt;0,001</b> <sup>1</sup>	64,25
<b>P-valor</b>						
RMF	<b>0,002</b> <sup>1</sup>	<b>0,005</b> <sup>3</sup>	<b>0,016</b> <sup>3</sup>	<b>0,016</b> <sup>3</sup>	<b>&lt;0,001</b> <sup>4</sup>	
E	<b>&lt;0,001</b> <sup>1</sup>	0,059 <sup>3</sup>	<b>0,028</b> <sup>3</sup>	0,226 <sup>3</sup>	<b>&lt;0,001</b> <sup>4</sup>	
<i>Off-set</i> 2%	<b>0,002</b> <sup>1</sup>	<b>0,006</b> <sup>3</sup>	0,791 <sup>3</sup>	<b>&lt;0,001</b> <sup>3</sup>	<b>&lt;0,001</b> <sup>4</sup>	

RMF= Resistência Máxima a Flexão; E= Módulo de Elasticidade; *Off-set* 2%= 2% de deformação plástica. GCn= Controle negativo; GE1= NaOCl 2,5%+EDTA 17%+HC; GE2= CHX 2,0%+H<sub>2</sub>O+HC.  $\mu$ =média; dp=desvio padrão. T0= *baseline* (sem HC); T1= 30 dias com HC; T2= 90 dias com HC; T3= 180 dias com HC. <sup>1</sup>Teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn; <sup>2</sup>ANOVA pareado seguido do teste de Tukey; <sup>3</sup>Teste de Mann-Whitney; <sup>4</sup>ANOVA dois critérios seguido do teste de Tukey. Letras minúsculas iguais na mesma linha significa que não há diferença significativa entre os grupos (P>0,05); Letras maiúsculas iguais entre parênteses na mesma coluna significa que não há diferença significativa entre os grupos (P>0,05). † símbolos iguais na mesma coluna significa que não há diferença entre os subgrupos (P>0,05).

para GE1. As médias de *Off-set 2%* também foram maiores no GE2 do que no GE1 em todos os tempos avaliados ( $P < 0,05$ ), exceto no T2 ( $P = 0,791$ )

Observou-se um percentual de redução nos valores médios do *Off-set 2%* e RMF para ambos os grupos. Comparando-se a variação de T0 (100%) para T3, no GE1 observou-se redução de 87,74% para *Off-set 2%* e 82,41% para RMF, e no GE2 de 64,25% e 66,52% respectivamente, indicando que o GE2 teve maior capacidade de absorver energia (23,49%=diferença do *Off-set 2%* do GE2 para o GE1) durante a deformação elástica (Tabela 1).

A tabela 2 mostra que o grupo GE1 apresentou maior frequência de fratura vertical e o GE2 de fratura oblíqua. No GE1 verificou-se tendência de aumento da frequência de fratura vertical e redução da frequência de fratura oblíqua com o tempo ( $P = 0,018$ ). No GE2 não houve tendência de alteração do padrão de fraturas com o tempo ( $P = 0,952$ ). Na análise entre os grupos, observou-se diferença no padrão de fraturas para os tempos de exposição à pasta de HC apenas no T3 ( $P = 0,031$ ).



**Figura 2** – Padrão de Fraturas (20x): a) fratura vertical; b) fratura oblíqua e c) fratura oblíqua sem ruptura dos fragmentos.

Foram excluídos da análise do padrão de fraturas as BD's em que não ocorreu a separação dos fragmentos no GCn (n=4), GE1 (n=19) e no GE2 (n=36).



Tabela 2 – Distribuição da frequência absoluta e percentual (*f*%) do padrão de fraturas coesiva das BD's entre grupos e tempos de tratamento

Tempo (dias)/ Tipo de Fratura	Grupos								
	GCn	GE1				GE2			
	T0	T0	T1	T2	T3 <sup>‡</sup>	T0	T1	T2	T3 <sup>‡</sup>
<b>Vertical</b>	20/35,1%	19/36,5%	24/50,0%	26/57,8%	44/72,1%	16/36,4%	22/48,9%	18/45,0%	17/50,0%
<b>Obliqua</b>	37/64,9%	33/63,5%	24/50,0%	19/42,2%	17/27,9%	28/63,6%	23/51,1%	22/55,0%	17/50,0%
<b>TOTAL</b>	57	52	48	45	61	44	45	40	34
<b>P-valor</b>			0,018 <sup>1</sup>				0,952 <sup>1</sup>		

CGn= Controle negativo=ADD; GE1= NaOCl 2,5%/EDTA 17%+HC; GE2= CHX 2,0%/ADD+HC. T0= *baseline* (sem HC); T1= 30 dias com HC; T2= 90 dias com HC; T3= 180 dias com HC. <sup>‡</sup>teste de  $\chi^2$  (P=0,031). <sup>1</sup>teste  $\chi^2$  de tendência.

## 2.5. DISCUSSÃO

Para todas as variáveis analisadas, a primeira hipótese nula testada neste estudo não foi rejeitada ( $P < 0,001$ ). Tais resultados encontram plausibilidade biológica no efeito imediato das soluções irrigantes sobre a dentina radicular. O GCp1 apresentou médias inferiores comparadas aos GCn e GCp2 para os três parâmetros mensurados (Fig.1;  $P < 0,05$ ). O NaOCl é um potente seqüestrador de íons minerais<sup>26,27</sup>. Essa substância também remove o conteúdo orgânico da dentina, desnaturando as fibras colágenas por fragmentação das cadeias longas de peptídeos e grupos terminais de proteínas cloradas<sup>28</sup>.

A segunda hipótese nula foi parcialmente rejeitada. A RMF foi maior para o grupo GE2 do que para o GE1, mostrando superioridade da CHX em manter ao longo do tempo a resistência coesiva das BD's expostas ao HC ( $P < 0,001$ ). No GE1, as variáveis E e *Off-set* 2% diminuíram significativamente, exceto no T1 e T3 e no T2, respectivamente. Pode ser especulado que esse comportamento das BD's deve-se a capacidade da CHX manter as propriedades mecânicas da dentina por inibir a atividade colagenolítica das MMP's<sup>29,30</sup>, não alterando a estrutura morfológica da matriz orgânica dentinária<sup>31</sup>.

Já o HC por neutralizar, dissolver e desnaturar proteínas ácidas e proteoglicanos diminui a resistência mecânica da dentina radicular<sup>8,10,32,33</sup>. A análise do efeito sinérgico do NaOCl/EDTA com a pasta de HC nos diferentes tempos experimentais indica que a desidratação da dentina pelo NaOCl e remoção de íons minerais pelo EDTA tem efeito negativo sobre o *Off-set* 2% e RMF ( $P < 0,001$ ).

A energia absorvida por um material antes da ruptura expressa sua rigidez<sup>34</sup>. Este estudo sugere que após 180 dias de exposição ao HC (T3) os espécimes do GE1 necessitaram de 12,26% e do GE2 de 35,75% (Tab. 1; diferença do percentual de redução do *Off set* 2% de T0 para T3) de absorção de energia para originar um defeito interno no substrato dentinário sugerindo que a solução de CHX 2,0%/ADD tem menor chance de alterar o comportamento elástico da dentina e causar fraturas de origem intrínseca comparada à solução de NaOCl 2,5%/EDTA 17%, quando submetidos às tensões uniaxiais.

A associação NaOCl/EDTA 17% degrada a matriz orgânica e facilita a perda de cristais minerais. A quantidade de captação de íons  $Ca^{++}$  do meio é diretamente proporcional à quantidade de desmineralização que a dentina tenha sofrido<sup>23</sup>. Para que ocorra a remineralização da dentina, é necessário que a rede de colágeno ainda consiga aderir os minerais que o HC libera no meio<sup>35,36</sup>. Tais assertivas podem justificar o súbito

aumento do E aos 30 dias com HC no GE1 (T1;  $P < 0,05$ ). O contrário acontece com a CHX, que mantém os valores de E aos 30 dias ( $P > 0,05$ ), fato que pode ser creditado à alta concentração da solução de CHX (2%) utilizada, influenciando positivamente na formação mineral<sup>23</sup>.

Curiosamente nos dois GE's ocorreu diminuição do E ao término de 180 dias (T3;  $P < 0,05$ ). Especula-se que, apesar da capacidade de proteção que a CHX confere a dentina radicular, o longo tempo de exposição à pasta de HC pode ser capaz de mudar sua estrutura interatômica.

Apesar do *Off-set 2%* ser um fenômeno pouco estudado, sua importância está relacionada à quantidade de energia absorvida por um material a 2% de deformação plástica. Extrapolando essa premissa para o presente estudo, quanto menor a distância entre *Off-set 2%* e RMF, mais frável tornou-se o substrato dentinário, portanto, mais suscetível à separação dos fragmentos quando submetido à solicitação mecânica. Ratificando isso, os valores médios de *Off-set 2%* em ambos os GE's mostraram-se inferiores aos de RMF, sinalizando que a dentina deformou-se plasticamente antes da ruptura, exceto no T2 do GE2, onde a diferença registrada foi desprezível, provavelmente expressando o efeito protetor da CHX, o que também poderia justificar a quantidade de espécimes que a máquina não registrou o valor de *Off-set 2%*.

Outro aspecto relevante neste estudo é que ao longo do tempo os valores de *Off-set 2%* para ambos os GE's aproximaram-se dos valores de RMF, possivelmente pela perda de elasticidade da dentina, atribuída à ação superficial do HC, que provoca ressecamento e trincas em todas as faces das BD's. Entretanto, há de se considerar que foi criado um ambiente crítico, em que as BD's foram expostas ao desafio alcalino, tanto no que diz respeito ao tempo quanto à exposição de todas as suas superfícies ao HC.

Vale ressaltar que as BD's foram obtidas no sentido longitudinal da região cervical das raízes, de forma a padronizar a orientação dos túbulos dentinários. Entretanto, devido à variedade de orientação das tensões no ambiente bucal buscou-se não padronizar o posicionamento das BD's no dispositivo do ensaio de RMF. Foram considerados os valores médios obtidos por raiz para cada parâmetro avaliado, levando-se em conta a não padronização da posição dos túbulos dentinários nas BD's. Este cuidado foi tomado porque não há efeito calculável da orientação dos túbulos dentinários no comportamento elástico da dentina natural<sup>36,37</sup>. Sendo assim, acredita-se que a disposição dos túbulos dentinários não interferiu nos resultados deste estudo.

Na análise do padrão de fratura, GE1 apresentou maior frequência de fratura vertical e o GE2 de fratura oblíqua (Tab. 2, Fig. 2). Estes resultados corroboram com o mecanismo de ação das soluções irrigantes empregadas neste experimento<sup>23,38</sup>. A tendência de fratura vertical demonstra o aumento da rigidez do substrato com o tempo de exposição ao HC (P=0,018). A manutenção da integridade da rede fibrilar de colágeno caracterizando a elasticidade da dentina tratada com CHX<sup>9</sup> funcionou como fator de proteção para a fratura das BD's, demonstrando um padrão de fratura oblíquo ou transversal em todos os tempos experimentais para GE2 (P=0,952), inclusive com fratura sem rompimento dos fragmentos (Fig. 2c).

No GE2 observou-se um padrão de fratura oblíquo assemelhando-se a “fratura em galho-verde” demonstrando a justaposição da rede fibrilar colágena e sua tendência em permanecer unida<sup>9</sup>. Além disso, o GE2 apresentou maior quantidade de BD's (n=36) que fraturaram sem separação de fragmentos, supondo-se que a CHX auxilia na manutenção da integridade fibrilar.

Nesse contexto, torna-se necessário uma reflexão sobre o que se deseja após a realização do tratamento endodôntico em dentes permanentes jovens não-vitais, principalmente no que tange ao conhecimento de que o aumento da concentração, volume e tempo de uso de certas substâncias irrigantes podem causar efeitos deletérios às propriedades mecânicas da dentina radicular.

Até o momento não há evidências científicas que comprovem que as propriedades da solução de NaOCl supera as da CHX para o tratamento endodôntico, quando da avaliação dos desfechos controle da dor e reparo tecidual<sup>39</sup>. No entanto, há fortes evidências que mostram que o NaOCl degrada mais a dentina radicular do que a CHX, levando a diminuição de suas propriedades mecânicas, desajustes de pinos intrarradiculares e dificuldade de adesão de cimentos resinosos ao conduto radicular<sup>40,41</sup>.

## **2.6. CONCLUSÃO**

Dentro das limitações deste estudo concluiu-se que a solução de CHX 2,0%: (1) preservou as propriedades de RMF, E e *Off-set 2%* após irrigação imediata e, (2) preservou as propriedades de E e apresentou maiores valores médios para *Off-set 2%* e RMF após exposição ao HC ao longo do tempo. Clinicamente, pode ser especulado que a CHX 2,0%/ADD e HC apresentam sinergismo positivo pela tendência em preservar a resistência coesiva da dentina radicular.

## **2.7. AGRADECIMENTOS**

Agradecemos a FAPEMA (Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão) pelo auxílio financeiro (edital INFRA N° 18/2011), a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de estudo e ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia (UFMA), pelo apoio durante todas as fases da pesquisa.

## 2.8. REFERÊNCIAS

1. Andreasen JO, Lauridsen E, Andreasen FM. Contradictions in the treatment of traumatic dental injuries and ways to proceed in dental trauma research. *Dental Traumatology* 2010; **26** (1): 16-22.
2. Francisco SS, Filho FJ, Pinheiro ET, Murrer RD, de Jesus Soares A. Prevalence of traumatic dental injuries and associated factors among Brazilian schoolchildren. *Oral Health and Preventive Dentistry*, 2013; **11** (1): 31-8.
3. Frank AL. Therapy for the divergent pulpless teeth by continued apical formation. *Journal of the American Dental Association* 1966; **72**: 87-93.
4. Freeman K, Ludington JR, Svec TA, Pinero GJ, Hoover J. Continuously infused calcium hydroxide: its influence on hard tissue repair. *Journal of Endodontics*, 1994; **20**: 272-5.
5. Chala S, Abougal R, Rida S. Apexification of immature teeth with calcium hydroxide or mineral trioxide aggregate: systematic review and metanalysis. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics*, 2011; **112** (4): 36-42.
6. Tronstad L, Andreassen JO, Hasselgren G, Kristerson L, Riis I. pH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. *Journal of Endodontics* 1981; **7**(1): 17-21.
7. Siqueira JF, Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *International Endodontic Journal* 1999; **32**: 361-9.
8. Kawamoto R, Kurokawa H, Takubo C, Shimamura Y, Yoshida T, Miyazaki M. Change in elastic modulus of bovine dentine with exposure to a calcium hydroxide paste. *Journal of Dentistry* 2008; **36**: 959-64.
9. Grigoratos D, Knowles J, Ng YL, Gulabivala K. Effect of exposing to sodium hypochlorite and calcium hydroxide on its flexural strength and elastic modulus. *International Endodontic Journal* 2001; **34**: 113-9.
10. Yassen GH, Platt JA. The effect of nonsetting calcium hydroxide on root fracture and mechanical properties of radicular dentine: a systematic review. *International Endodontic Journal* 2013; **46**: 112-18.
11. Byström A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *International Endodontic Journal* 1985; **18**: 35-40.

12. Becker TD, Woollard GW. Endodontic irrigation. *General Dentistry* 2001; **49** (3): 272-6
13. Gomes BPF, Vianna ME, Zaia AA, Almeida JF, Souza-Filho FJ, Ferraz CCR. Chlorhexidine in endodontics. *Brazilian Dental Journal* 2013; **24**(2): 89-102.
14. Torabinejad M, Handysides R, Khademi A, Bakland L. Clinical implications of the smear layer in endodontics; A review. *Oral surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics* 2002; **94**: 658-66.
15. Dogan H, Calt S. Effects of chelating agents and sodium hypochlorite on mineral content of root dentin. *Journal of Endodontics* 2001; **27**: 578-80.
16. Marending M, Paqué F, Fisher J, Zehnder M. Impact of irrigant sequence on mechanical properties of human root dentin. *Journal of Endodontics*, 2007; **33** (11): 1325-8.
17. Pascon FM, Kantovitz KR, Sacramento PA, Nobre-dos-Santos M, Puppini-Rontani RM. Effect of sodium hypochlorite on dentine mechanical properties. A review. *Journal of Dentistry* 2009; **37**: 903-98.
18. Cehreli ZC, Uyanik MO, Nagas E, Tuncel B, Er N, Comert FD. A comparison of residual smear layer and erosion following different endodontic irrigation protocols tested under clinical and laboratory conditions. *Acta Odontologica Scandinavica*, 2013; **71** (5): 1261-6.
19. Ximenes M, Trinchês TC, Beltrame AP, Hilgert LA, Cardoso M. Effect of endodontic irrigation with 1% sodium hypochlorite and 17% EDTA on primary teeth: a scanning electron microscope analysis. *General Dentistry*, 2013; **61**(2): 24-7.
20. Slutzky-Goldberg I, Hanut A, Matalon S, Baev V, Slutzky H. The effect of dentin on the pulp tissue dissolution capacity of sodium hypochlorite and calcium hydroxide. *Journal of Endodontics*, 2013; **39**(8): 980-3.
21. Gomes BPF, Souza SFC, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, et al. Effectiveness of 2% Chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine *in vitro*. *International Endodontic Journal* 2003; **36**: 267-75.
22. Buzalaf MAR, Kato MT, Hannas AR. The role of matrix metalloproteinases in dental erosion. *Advances in Dental Research* 2012; **24**(2):72-76.

23. Kim DS, Kim J, Choi K, Kim S. The influence of chlorhexidine on the remineralization of demineralized dentine. *Journal of Dentistry* 2011; **39**: 855-62.
24. Kim J, Uchiyama T, Carrilho M, Agee KA, Mazzoni A, Breschi L, et al. Chlorhexidine binding to mineralized versus demineralized dentin powder. *Dental Materials*, 2010; **26**(8): 771-8.
25. Ari H, Erdemir A, Belli S. Evaluation of the effect of endodontic irrigation solutions on the microhardness and the roughness of root canal dentin. *Journal of Endodontics* 2004; **30** (11): 792-95.
26. Shellis RP. Structural organization of calcospherites in normal and rachitic human dentin. *Archives of Oral Biology* 1983; **28**: 85–95.
27. Butler WT. Dentin extracellular matrix and dentinogenesis. *Operative Dentistry* 1992; **5**: 18-23.
28. Davies JM, Hortwitz DA, Davies KJ. Potential roles of hypochlorous acid and N-chloramines in collagen breakdown by phagocytic cells in synovitis. *Free Radical Biology and Medicine* 1993; **15**: 637–43.
29. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, Ito S. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *Journal of Dental Research* 2004; **83**(3):216-221.
30. Carrilho MR, Carvalho RM, de Goes MF, di Hipolito V, Geraldini S, Tay FR, et al. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. *Journal of Dental Research*, 2007; **86**: 90-4. Callister Jr., W.D. *Materials Science and Engineering*. 7<sup>o</sup> ed. New York: John Wiley & Sons, Inc, 2007.
31. Moreira DM, Almeida JF, Ferraz CC, Gomes BP, Line SR, Zaia AA. Structural analysis of bovine root dentin after use of different endodontics auxiliary chemical substances. *Journal of Endodontics* 2009; **35**:1023-27.
32. Andreassen JO, Farik B, Munksgaard EC. Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase risk for root fracture. *Dental Traumatology* 2002; **18**: 134-7.
33. Tatsuta CT, Morgan LA, Baumgartner Adey JD. Effect of calcium hydroxide and four irrigation regimens on instrumented and un-instrumented canal wall topography. *Journal of Endodontics* 1999; **25**: 93-8.



34. Huang TJ, Shilder H, Nathanson D. Effects of moisture content and endodontic treatment on some mechanical properties of human dentin. *Journal of Endodontics*, 1992; **18**(5): 209-215.
35. Bertassoni LE, Habelitz S, Kinney JH, Marshall SJ, Marshall Jr GW. Biomechanical perspective on the remineralization of dentin. *Caries Research* 2009; **43**: 70-7.
36. Kinney JH, Habelitz S, Marshall SJ, Marshall GW. The importance of intrafibrillar mineralization of collagen on the mechanical properties of dentin. *Journal of Dental Research* 2003; **82**: 957-61.
37. Manocci F, Pilecki P, Berteli E, Watson TF. Density of dentinal tubules affects the tensile strength of root dentin. *Dental Materials* 2004; **20**: 293-96.
38. Clarkson RM, Moule AJ. Sodium hypochlorite and its use as an endodontic irrigant. *Australian Dental Journal* 1998; **43**(4): 250-6.
39. Fedorowicz Z, Nasser M, Sequeira-Byron P, de Souza RF, Carter B. et al. Irrigants for non-surgical root treatment in mature permanente teeth. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2013; **6**.
40. Soares JC, Santana FR, Silva NR, Pereira JC, Pereira CA. Influence of the endodontic treatment on mechanical properties of root dentin. *Journal of Endodontics* 2007; **33**(5): 603-6.
41. Marending M, Zehnder M. Influence of mechanical dentine properties on chemical root canal treatment. *Endodontic Practice Today* 2008; **2**(1): 21-32.

### **3.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A CHX 2,0%/ADD possui mecanismos que auxiliam na manutenção do E, e preservação das propriedades mecânicas de resistência flexural e *Off-set* 2% da dentina, mesmo após longa exposição ao HC.

Assim, torna-se necessário que o clínico entenda os mecanismos de ação da CHX 2,0% que auxiliam na preservação das propriedades mecânicas da dentina radicular, e na prevenção dos agravos causados pelo longo tempo de exposição ao HC, principalmente no que diz respeito à possibilidade de fraturas radiculares catastróficas, o que implicaria no insucesso do tratamento.

#### 4.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andreassen JO, Andreassen FM. Abordagem endodôntica de dentes permanentes jovens. Porto Alegre: In: Texto e Atlas de traumatismo dental, Porto Alegre: *Artmed* 2001. cap 14, 517-85.
2. Frank AL. Therapy for the divergent pulpless teeth by continued apical formation. *Journal of the American Dental Association* 1966; **72**: 87-93.
3. Byström A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *International Endodontic Journal* 1985; **18**: 35-40.
4. Torabinejad M, Handysides R, Khademi A, Bakland L. Clinical implications of the smear layer in endodontics; A review. *Oral surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics* 2002; **94**: 658-66.
5. Dogan H, Calt S. Effects of chelating agents and sodium hypochlorite on mineral content of root dentin. *Journal of Endodontics* 2001; **27**: 578-80.
6. Pascon FM, Kantovitz KR, Sacramento PA, Nobre-dos-Santos M, Puppini-Rontani RM. Effect of sodium hypochlorite on dentine mechanical properties. A review. *Journal of Dentistry* 2009; **37**: 903-98.
7. Tronstad L. Root resorption etiology, terminology and clinical manifestations. *Endodontics and Dental Traumatology* 1988; **4**:241-52.
8. Morse DR, O'Larnic J, Yesilsoy C. Apexification: review of the literature. *Quintessence International* 1990; **21**: 589-95.
9. Tronstad L, Andreassen JO, Hasselgren G, Kristerson L, Riis I. pH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. *Journal of Endodontics* 1981; **7**(1): 17-21.
10. Siqueira JF, Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *International Endodontic Journal* 1999; **32**: 361-9.
11. Andreassen JO, Farik B, Munksgaard EC. Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase risk for root fracture. *Dental Traumatology* 2002; **18**: 134-7.
12. White JD, Lacefield WR, Chavers LS, Eleazer PD. The effect of three commonly used endodontic materials on the strength and hardness of root dentin. *Journal of Endodontics* 2002; **28**(12): 828-30.

13. Grigoratos D, Knowles J, Ng YL, Gulabivala K. Effect of exposing to sodium hypochlorite and calcium hydroxide on its flexural strength and elastic modulus. *International Endodontic Journal* 2001; **34**: 113-9.
14. Tatsuta CT, Morgan LA, Baumgartner Adey JD. Effect of calcium hydroxide and four irrigation regimens on instrumented and un-instrumented canal wall topography. *Journal of Endodontics* 1999; **25**: 93-8.
15. Sim TPC, Knowles J, Ng YL, Shelton J, Gulabivala K. Effect of sodium hypochlorite on mechanical properties of dentine and tooth surface strain. *International Endodontic Journal* 2001; **34**: 120-32.
16. Marending M, Zehnder M. Influence of mechanical dentine properties on chemical root canal treatment. *Endodontic Practice Today* 2008; **2**(1): 21-32.
17. Saghiri AM, Delvarani A, Mehrvarzfar P, Malganji G, Lotfi M, Dadresanfar B, et al. A study of the relation between erosion and microhardness of root canal dentin. *Oral Surgery, Oral Medicine Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics* 2009; **108**: 29-34
18. Cvek M. Prognosis of luxated non-vital maxillary incisors treated with calcium hydroxide and filled with gutta-percha. A retrospective clinical study. *Endodontics and Dental Traumatology* 1992; **8**: 45-55.
19. Heling M, Steinberg M, Kenig S, Gavrilovich I, Sela MN, Friedman M. Efficacy of a sustained-release device containing chlorhexidine and Ca(OH)<sub>2</sub> in preventing secondary infection of dentinal tubules. *International Endodontic Journal* 1992b; **25**: 20-4.
20. Buzalaf MAR, Kato MT, Hannas AR. The role of matrix metalloproteinases in dental erosion. *Advances in Dental Research* 2012; **24**(2):72-76.
21. Kim DS, Kim J, Choi K, Kim S. The influence of chlorhexidine on the remineralization of demineralized dentine. *Journal of Dentistry* 2011; **39**: 855-62.
22. Ari H, Erdemir A, Belli S. Evaluation of the effect of endodontic irrigation solutions on the microhardness and the roughness of root canal dentin. *Journal of Endodontics* 2004; **30** (11): 792-95.
23. Elias CN, Lopes HP. *Materiais dentários, Ensaios Mecânicos*. 1ª Ed. 2007, Editora Santos.
24. Chain MC. *Materiais Dentários*. São Paulo Artes Médicas 2013. Cap 1- Materiais dentários: histórico, classificação e propriedades pg 11-26

25. Anusavice KJ, Shen C, Rawls HR. Phillips, Materiais Dentários. 12ª Ed. 2013, Editora Elsevier.
26. Web page acessada em 13/01/2014 :[www.ndt-ed.org/educationresources/communitycollege/materials/mechanical/tensile.htm](http://www.ndt-ed.org/educationresources/communitycollege/materials/mechanical/tensile.htm)
27. Noort RV. Introdução aos Materiais Dentários. 2ª Ed. 2004, Editora Artmed.

## 5.0. DIRETRIZES PARA PUBLICAÇÃO

### Guide for Authors: Journal of Dentistry

#### Editor-in-Chief

Christopher D. Lynch  
School of Dentistry  
Cardiff University  
Heath Park, Cardiff,  
CF14 4NQ, UK  
Email: lynchcd@cardiff.ac.uk

#### Editorial Office

Elsevier Ltd  
Stover Court  
Bampfylde Street  
Exeter  
EX1 2AH, UK  
Tel: +44 (0) 1392 285879  
Fax: +44 (0) 1865 853132  
E-mail: JOD@elsevier.com

The *Journal of Dentistry* is the leading international dental journal within the field of Restorative Dentistry. Placing an emphasis on publishing novel and high-quality research papers, the Journal aims to influence the practice of dentistry at clinician, research, industry and policy-maker level on an international basis.

Topics covered include the management of dental disease, periodontology, endodontology, operative dentistry, fixed and removable prosthodontics, and dental biomaterials science, long-term clinical trials including epidemiology and oral health, dental education, technology transfer of new scientific instrumentation or procedures, as well clinically relevant oral biology and translational research. Submissions are welcomed from other clinically relevant areas, however, the Journal places an emphasis on publishing high-quality and novel research.

Queries in relation to manuscript content should be directed to the Journal Editorial Office in the first instance.

#### Submissions

The requirements for submission are in accordance with the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals," *Annals of Internal Medicine*, 1977, **126**, 36-47.

Authors are requested to submit their original manuscript and figures via the online submission and editorial system for *Journal of Dentistry*. Using this online system, authors may submit manuscripts and track their progress through the system to publication. Reviewers can download manuscripts and submit their opinions to the editor. Editors can manage the whole submission/review/revise/publish process. Please register at: <http://ees.elsevier.com/jjod>

Authors unable to submit online should contact the Editorial office: Matt Walmsley, Journal Manager, *Journal of Dentistry*, Elsevier, Bampfylde Street, Exeter, UK, EX1 2AH. m.walmsley@elsevier.com TEL: +44 (0)1392 285879 Fax: +44 (0)1865 853132.

Contributions falling into the following categories will be considered for publication:

- Original Research Reports: maximum length 6 printed pages approximately 20 typescript pages, including illustrations and tables.
- Review articles: maximum length 10 printed pages, approximately 33 typescript pages, including illustrations and tables.
- Short communication for rapid publication: maximum length 2 printed pages, approximately 7 typescript pages, including illustrations.
- Letters providing informed comment and constructive criticism of material previously published in the Journal.

All typescripts must be accompanied by a Permission Note. This is a letter signed by each author (not just the corresponding author), affirming that the paper has been submitted solely to *Journal of Dentistry* and that it is not concurrently under consideration for publication in another journal. Prospective authors should confirm that the submitted work, including images, are original. Authors are reminded that if included images (e.g. Tables and Figures) have been previously published may require copyright permission.

**Authorship:** Only those persons who have made a significant contribution to the manuscript submitted should be listed as authors. The Editor-in-Chief expects that a manuscript should normally have no more than 6 authors, unless a case is made by the corresponding author within the article cover letter to include other authors. All of the named authors should have been involved in the work leading to the publication of the paper and should have read the paper before it is submitted for publication.

### **Notes for Typescript Preparation**

The **title page** should contain the following information:

- Title of paper
- Short title
- Name(s), job titles and address(es) of author(s) (no academic degrees necessary)
- Name, address, telephone, fax and e-mail of the corresponding author
- Up to 6 keywords

Spelling: International English.

Authors are urged to write as concisely as possible.

The house style of *Journal of Dentistry* requires that articles should be arranged in the following order: Title, Abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, Tables, Figures. A **cover letter** should accompany the new manuscript submission, within which the authors should indicate the significance of the work being submitted in a statement no more than 100 words. A signed **permission note** (details below) must also be included.

**Abstract:** should not exceed 250 words and should be presented under the following subheadings: Objectives, Methods; Results; Conclusions (For Reviews: Objectives; Data; Sources; Study selection; Conclusions). A 50 word 'Clinical Significance' statement should appear at the end of the abstract advising readers of the clinical

importance and relevance of their work. These subheadings should appear in the text of the abstract. Please repeat the title of the article at the top of the abstract page.

**Introduction:** must be presented in a structured format, covering the following subjects, although not under subheadings: succinct statements of the issue in question, and the essence of existing knowledge and understanding pertinent to the issue. In keeping with the house style of *Journal of Dentistry*, the final paragraph of the introduction should clearly state the aims and/or objective of the work being reported. Prospective authors may find the following form of words to be helpful: "The aim of this paper is to ..." Where appropriate, a hypothesis (e.g. null or a priori) should then be stated.

**Keywords:** up to 6 keywords should be supplied.

**Abbreviations and acronyms:** terms and names to be referred to in the form of abbreviations or acronyms must be given in full when first mentioned.

**Units:** SI units should be used throughout. If non-SI units must be quoted, the SI equivalent must immediately follow in parentheses.

The complete names of individual teeth must be given in the text. In tables and legends for illustrations individual teeth should be identified using the FDI two-digit system.

### **Statistics**

Statistical methods should be described with enough detail to enable a knowledgeable reader with access to the original data to verify the reported results. When possible, findings should be quantified and appropriate measures of error or uncertainty (such as confidence intervals) given. Details about eligibility criteria for subjects, randomization and the number of observations should be included. The computer software and the statistical method(s) used should be specified with references to standard works when possible (with pages specified). See [http://www.icmje.org/manuscript\\_1prepare.html](http://www.icmje.org/manuscript_1prepare.html) for more detailed guidelines.

**References:** These should appear in the text in numerical order and should follow a modified form of the Vancouver Reference system (details may be found at <http://www.icmje.org/index.html#reference>). Please note that the house style of the *Journal of Dentistry* is different from the standard Vancouver reference style in that it includes a requirement:

- to refer to the name of the Journal in full
- to put the name of the Journal in Italics
- to put the volume number in bold

Examples as follows:

Journal articles

Lynch CD, Frazier KB, McConnell RJ, Blum IR, Wilson NHF. State-of-the-art techniques in Operative Dentistry: contemporary teaching of posterior composites in UK and Irish dental schools. *British Dental Journal* 2010; **209**: 129 - 36.

Wilson NHF, Mjör I. The teaching of class I and class II direct composite restorations in European dental schools. *Journal of Dentistry* 2000; **28**: 15-21.

Please note that in-press/ accepted articles that are awaiting assignment of page numbers should be cited including their DOI number (Digital Object Identifier), for example:



## Books

Lynch CD. Successful posterior composites. London: Quintessence Publishing Co., 2008.

## Book chapters

Phillips SJ, Whisnant JP. The role of dentine under restorations. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. The science of restorative dentistry. 2nd ed. Oxford: Elsevier; 2003. p.266-78.

If there are seven or more authors please list the first six and et al., otherwise list all authors. Journal titles should be given in full. If websites are used as references, the full URL should be cited, along with the date on which it was accessed.

**Illustrations:** should be submitted electronically using appropriate commercial software. Prospective authors should follow the relevant guidelines (available from: <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>). In addition, it is noted that while authors sometimes need to manipulate images for clarity, manipulation for purposes of deception or fraud will be seen as scientific ethical abuse and will be dealt with accordingly. For graphical images, journals published by Elsevier apply the following policy: no specific feature within an image may be enhanced, obscured, moved, removed, or introduced. Adjustments of brightness, contrast, or color balance are acceptable if and as long as they do not obscure or eliminate any information present in the original. Nonlinear adjustments (e.g. changes to gamma settings) must be disclosed in the figure legend.

**Offprints and page charges:** no page charges are levied on articles published in *Journal of Dentistry*. The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use.

The Editor and Publisher reserve the right to make such corrections to typescripts as may be necessary for clarity of expression, or to conform to the style required.

**Randomised controlled trials:** All randomised controlled trials submitted for publication in *Journal of Dentistry* should include a completed Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT) flow chart. Submitted manuscripts that do not include this flow chart, where appropriate, will be rejected without entering the review process. Please refer to the CONSORT statement website at <http://www.consort-statement.org> for more information. *Journal of Dentistry* has adopted the proposal from the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) which require, as a condition of consideration for publication of clinical trials, registration in a public trials registry. Trials must register at or before the onset of patient enrolment. The clinical trial registration number should be included at the end of the abstract of the article. For this purpose, a clinical trial is defined as any research study that prospectively assigns human participants or groups of humans to one or more health-related interventions to evaluate the effects of health outcomes. Health-related interventions include any intervention used to modify a biomedical or health-related outcome (for example drugs, surgical procedures, devices, behavioural treatments, dietary interventions, and process-of-care changes). Health outcomes include any biomedical or health-related measures obtained in patients or participants, including pharmacokinetic measures and adverse events. Purely observational studies (those in which the assignment of the medical

intervention is not at the discretion of the investigator) will not require registration. Further information can be found at <http://www.icmje.org>

**Disclosure of Clinical Trial Results:** In line with the position of the International Committee of Medical Journal Editors, the journal will not consider results posted in the same clinical trials registry in which primary registration resides to be prior publication if the results posted are presented in the form of a brief structured (less than 500 words) abstract or table. However, divulging results in other circumstances (eg, investors' meetings) is discouraged and may jeopardise consideration of the manuscript. Authors should fully disclose all posting in registries of results of the same or closely related work.

**Patient consent:** Studies on patients or volunteers require ethics committee approval and informed consent which should be documented in your paper. Patients have a right to privacy. Therefore identifying information, including patients images, names, initials, or hospital numbers, should not be included in videos, recordings, written descriptions, photographs, and pedigrees unless the information is essential for scientific purposes and you have obtained written informed consent for publication in print and electronic form from the patient (or parent, guardian or next of kin where applicable). If such consent is made subject to any conditions, Elsevier must be made aware of all such conditions. Written consents must be provided to Elsevier on request. Even where consent has been given, identifying details should be omitted if they are not essential. If identifying characteristics are altered to protect anonymity, such as in genetic pedigrees, authors should provide assurance that alterations do not distort scientific meaning and editors should so note. If such consent has not been obtained, personal details of patients included in any part of the paper and in any supplementary materials (including all illustrations and videos) must be removed before submission.

**Proofs:** Proofs will be sent to the author (first-named author if no corresponding author is identified on multi-authored papers) by PDF wherever possible and should be returned within 48 hours of receipt, preferably by e-mail. Corrections should be restricted to typesetting errors; any other amendments made may be charged to the author. Any queries should be answered in full. Elsevier will do everything possible to get your article corrected and published as quickly and accurately as possible. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are returned to us in one all-inclusive e-mail or fax. Subsequent additional corrections will not be possible, so please ensure that your first communication is complete.

Should you choose to mail your corrections, please return them to: Log-in Department, Elsevier, Stover Court, Bampfylde Street, Exeter, Devon EX1 2AH, UK.

#### **Funding body agreements and policies**

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>

**The decision of the Editor-in-Chief is final in relation to all manuscript submissions.**

*Updated September 2011*

