

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM CIÊNCIAS ODONTOLÓGICAS**

**ESTUDO DAS PROPRIEDADES QUÍMICAS E  
ANTIMICROBIANAS DE SOLUÇÕES DE  
HIPOCLORITO DE SÓDIO EM DIFERENTES  
CONCENTRAÇÕES**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Gisele Tomasi**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2013**

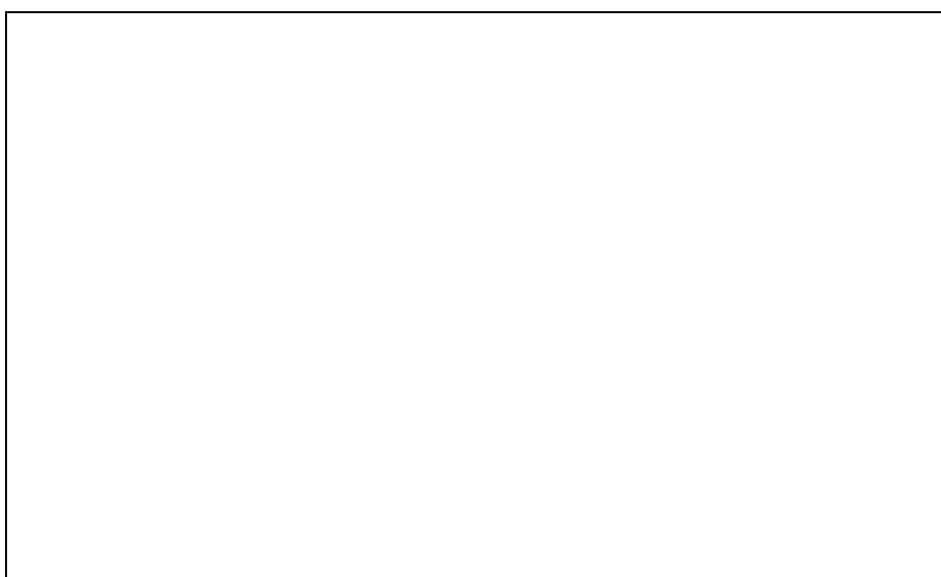
# **ESTUDO DAS PROPRIEDADES QUÍMICAS E ANTIMICROBIANAS DE SOLUÇÕES DE HIPOCLORITO DE SÓDIO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES**

**Gisele Tomasi**

Dissertação de mestrado apresentado ao Curso de Mestrado do Programa de Pós Graduação em Ciências Odontológicas, com ênfase em Endodontia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM/RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Odontológicas.**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marcia da Silva Schmitz**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2013**



Anexo C – Folha de ficha catalográfica/dados de direitos autorais  
Ficha catalográfica elaborada por  
Nome do(a) bibliotecário(a) e número do CRB.  
Biblioteca Central da UFSM (acrescentar quando for bibliotecário  
da instituição)

---

© 2013

Todos os direitos autorais reservados a Gisele Tomasi. A  
reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser  
feita mediante a citação da fonte.

Endereço: Rua Doze, n. 2010, Bairro da Luz, Santa Maria, RS. CEP: 97110-680  
Fone (0xx)55 32225678; Fax (0xx) 32251144; E-mail: [ufesme@ct.ufsm.br](mailto:ufesme@ct.ufsm.br)

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado

**ESTUDO DAS PROPRIEDADES QUÍMICAS E  
ANTIMICROBIANAS DE SOLUÇÕES DE HIPOCLORITO DE  
SÓDIO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES**

elaborado por

**GISELE TOMASI**

como requisito para obtenção do grau de  
**Mestre em Ciências Odontológicas**

**COMISSÃO EXAMINADORA**



**Marcia da Silva Schmitz, Dra. (UFSM)**

(Presidente/ Orientadora)



**Rosmari Horner, Dra. (UFSM)**



**Francisco Montagner, Dr. (UFRGS)**

Santa Maria, 21 de Agosto de 2013

## **AGRADECIMENTOS:**

**À Deus pela força e serenidade nas horas de dificuldade.**

**À minha Mãe Meri que sempre está ao meu lado mesmo à distância.**

**Ao meu Irmão Renan companheiro incondicional.**

**Ao meu namorado Rafael pela dedicação e compreensão.**

**À Professora Márcia da Silva Schmitz, minha referência pessoal e profissional, por me acolher nos momentos de alegria e angústia.**

**À Universidade Federal de Santa Maria a qual tenho a honra de levar o nome.**

**À Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela oportunidade de execução deste trabalho, em especial às Professoras Dras. Marisa Maltz e Clarissa C. F. Parollo que gentilmente cederam o espaço do laboratório LABIM.**

**Aos professores da Pós Graduação da Universidade Federal de Santa Maria, em especial ao coordenador Professor Luis Felipe Valandro, exemplos de dedicação, empenho e capacidade de transmitir o grande conhecimento aos iniciantes.**

**Ao Professor Francisco Montagner pelo apoio incansável todas as vezes que precisei.**

**Ao Professor Paulo Edelvar Correa Peres pela contribuição ao trabalho.**

**À Professora Rosmari Horner pela gentileza em aceitar o convite e engrandecer a banca deste trabalho.**

**Aos colegas pelo tempo de convivência.**

**À funcionária Jéssica Dalcin, sempre à disposição para as informações necessárias.**

**Agradeço**

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Curso de Pós Graduação em Ciências Odontológicas  
Universidade Federal de Santa Maria

# ESTUDO DAS PROPRIEDADES QUÍMICAS E ANTIMICROBIANAS DE SOLUÇÕES DE HIPOCLORITO DE SÓDIO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES

AUTORA: GISELE TOMASI  
ORIENTADORA: MARCIA DA SILVA SCHMITZ  
Santa Maria, 21 de Agosto de 2013

O objetivo deste estudo foi avaliar as propriedades químicas e antimicrobianas de soluções de hipoclorito de sódio em diferentes concentrações antes e após o contato com o *Enterococcus faecalis*. Diferentes concentrações de soluções de hipoclorito de sódio (0,5%, 1%, 2,5% e 5,25%) foram expostas ao microorganismo por 30min., 20 min., 10 min. e 15 segundos respectivamente. A ação antimicrobiana das soluções foi avaliada através do teste de difusão em ágar. Soluções de NaOCl recém manipuladas e resultantes foram colocadas no interior de poços preparados em placas de ágar. Após o período de incubação, os halos de inibição de crescimento bacteriano formados ao redor dos poços foram mensurados com auxílio de paquímetro digital. O potencial hidrogeniônico das soluções foi mensurado por pHmetro digital. Também foi realizada a quantificação do teor de cloro ativo e de cloraminas das soluções iniciais e resultantes. Constatou-se que as soluções residuais de hipoclorito não apresentaram diferença estatisticamente significante em relação a atividade antimicrobiana e pH. Em relação ao teor de cloro ativo, houve diminuição das soluções resultantes em todas as concentrações. Não foram encontradas cloraminas em nenhuma das soluções testadas. Concluiu-se que, nos intervalos de tempo testados, as propriedades físico-químicas do NaOCl residual não foram alteradas, com exceção à quantidade de cloro livre.

Palavras-chave: endodontia, hipoclorito de sódio, *Enterococcus faecalis*

## ABSTRACT

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós Graduação em Ciências Odontológicas  
Universidade Federal de Santa Maria

### **STUDY OF CHEMICAL AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF SOLUTIONS OF SODIUM HYPOCHLORITE AT DIFFERENT CONCENTRATION**

AUTORA: GISELE TOMASI  
ORIENTADORA: MARCIA DA SILVA SCHMITZ  
Santa Maria, Agosto de 2013

The aim of this study was to evaluate the chemical and antimicrobial properties of sodium hypochlorite solutions at different concentrations before and after contact with *Enterococcus faecalis*. Different concentrations of sodium hypochlorite solution (0.5%, 1%, 2.5% and 5.25%) were exposed to the pathogen for 30 minutes, 20 minutes, 10 minutes and 15 seconds respectively. The antimicrobial activity of the solutions was evaluated using the agar diffusion test. Freshly manipulated and resulting NaOCl solutions were placed inside wells prepared on agar plates. After the incubation period, the inhibition of bacterial growth formed around the wells were measured with the aid of digital calipers. The hydrogen potential of the solutions was measured by digital pH meter. Was also performed to quantify the amount of active chlorine and chloramines from initial and resulting solutions. It was found that the residual hypochlorite solutions showed no statistically significant difference in relation to antimicrobial activity and pH. Regarding the active chlorine content, the resulting solutions decreased at all concentrations. Chloramines were not found in any of the solutions tested. It was concluded that, at the time intervals tested, the physicochemical properties of the residual NaOCl were not changed, except the amount of free chlorine.

Key words: Endodontics, Sodium hypochlorite, *Enterococcus faecalis*

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>09</b>
<b>ARTIGO - ESTUDO DAS PROPRIEDADES QUÍMICAS E ANTIMICROBIANAS DE SOLUÇÕES DE HIPOCLORITO DE SÓDIO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES.....</b>	<b>11</b>
Resumo.....	12
Abstract.....	13
Introdução.....	14
Metodologia.....	15
Resultados.....	17
Discussão.....	18
Conclusão.....	20
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>21</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>24</b>



## INTRODUÇÃO

Apesar da vasta literatura existente sobre o uso das soluções de hipoclorito de sódio em diferentes concentrações no tratamento endodôntico, persiste ainda o dilema do real mecanismo de ação desta diante da complexidade anatômica do sistema de canais radiculares e a variada microbiota já identificada nos casos de necrose pulpar.

Os estudos relatam a ação multifatorial destas soluções: propriedade antimicrobiana de amplo espectro, não específica, sendo também esporicida e virucida, habilidade de dissolução de tecido orgânico necrótico ou vital devido à alta alcalinidade além de propriedades clareadoras e desodorizantes<sup>1-5</sup>.

A ação antimicrobiana ocorre quando o hidróxido de sódio (NaOH) presente na solução de hipoclorito de sódio, ao entrar em contato com o material orgânico, reage com os ácidos graxos transformando-os em sabão e glicerol. A presença de sabão reduz a tensão superficial do restante da solução. Simultaneamente, o NaOH neutraliza aminoácidos, resultando em sal e água. O ácido hipocloroso (HClO), produto da dissociação do NaOCl, reage também com aminoácidos formando água e cloraminas, as quais interferem no mecanismo bacteriano<sup>1,6</sup>.

Os *Enterococcus faecalis* são cocos gram-positivos anaeróbicos facultativos e têm demonstrado resistência aos procedimentos de desinfecção durante o preparo químico-mecânico, justificando desta forma o uso de irrigantes, não apenas para diminuir o número de microorganismos onde os instrumentos não são capazes de atingir, mas também com a finalidade de reduzir resíduos<sup>7,8</sup>.

Vianna et al. (2004) constataram que o tempo necessário para que haja a erradicação do *e. faecalis* varia de 30 minutos a 15 segundos de acordo com a concentração da solução de hipoclorito de sódio. Morari (2012) verificou que o processo de dissolução pulpar reduz a eficácia antimicrobiana do hipoclorito de sódio frente ao *Enterococcus faecalis*, e que após a dissolução do tecido pulpar bovino, há redução do potencial hidrogeniônico das soluções, sendo mais evidente para as de baixas concentrações (0,5 e 1,0%).

Com base nos trabalhos acima, o questionamento desse estudo visa elucidar qual o efeito do contato com o *Enterococcus faecalis* nas propriedades físico-químicas das diferentes concentrações de soluções de hipoclorito de sódio resultantes após os intervalos de tempo supracitados.

Esta dissertação apresenta, como forma de capítulo, o artigo científico resultante deste trabalho para posterior envio para a publicação. A revista escolhida foi o *Journal of Endodontics* cujas normas seguem em anexo.

Pesquisa Original – Endodontia

# **ESTUDO DAS PROPRIEDADES QUÍMICAS E ANTIMICROBIANAS DE SOLUÇÕES DE HIPOCLORITO DE SÓDIO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES**

\* Gisele Tomasi: (55)9933-4292 / [gisele.tomasi@yahoo.com.br](mailto:gisele.tomasi@yahoo.com.br)

\*\* Victor Hugo Carvalho Morari : (55) 9943-7605/ [victormorari@gmail.com](mailto:victormorari@gmail.com)

\*\*\* Francisco Montagner: (51) 81372933 / [francisco.montagner@ufrgs.br](mailto:francisco.montagner@ufrgs.br)

\*\*\*\* Marcia da Silva Schmitz: (55)99712388 / [msendo@terra.com.br](mailto:msendo@terra.com.br)

\* Mestranda do Programa de Pós Graduação em Ciências Odontológicas, Curso de Odontologia, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

\*\*Mestre em Ciências Odontológicas pelo Programa de Pós Graduação em Ciências Odontológicas, Curso de Odontologia, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

\*\*\* Professor Adjunto da Faculdade de Odontologia, Departamento de Odontologia Conservadora, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

\*\*\*\*Professora Adjunta do Curso de Odontologia, Departamento de Estomatologia, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

**Endereço para correspondência:**

**Gisele Tomasi: RuaDoutor Bozano, 88, apto. 401 / Bom Fim / Santa Maria – RS / CEP:  
97015-000 / (55)3317-1363/ (55)9933-4292 / [gisele.tomasi@yahoo.com.br](mailto:gisele.tomasi@yahoo.com.br)**

## RESUMO

**Introdução:** O presente estudo avaliou as propriedades químicas e antimicrobianas de soluções de hipoclorito de sódio em diferentes concentrações antes e após o contato com o *Enterococcus faecalis*.

**Metodologia:** Diferentes concentrações de soluções de hipoclorito de sódio (0,5%, 1%, 2,5% e 5,25%) foram expostas ao microorganismo por 30min., 20 min., 10 min. e 15 segundos respectivamente. A ação antimicrobiana das soluções foi avaliada através do teste de difusão em ágar. Soluções de NaOCl recém manipuladas e resultantes foram colocadas no interior de poços preparados em placas de ágar. Após o período de incubação, os halos de inibição de crescimento bacteriano formados ao redor dos poços foram mensurados com auxílio de paquímetro digital. O potencial hidrogeniônico das soluções foi mensurado por pHmetro digital. Também foi realizada a quantificação do teor de cloro ativo e de cloraminas das soluções iniciais e resultantes. **Resultados:** Constatou-se que as soluções residuais de hipoclorito não apresentaram diferença estatisticamente significantes em relação a atividade antimicrobiana e pH. Em relação ao teor de cloro ativo, houve diminuição das soluções resultantes em todas as concentrações. Não foram encontradas cloraminas em nenhuma das soluções testadas. **Conclusão:** Concluiu-se que, nos intervalos de tempo testados, as propriedades físico-químicas do NaOCl residual não foram alteradas, com exceção à quantidade de cloro livre.

**Palavras-chave:** endodontia, hipoclorito de sódio, *Enterococcus faecalis*

## ABSTRACT

**Introduction:** This study evaluated the chemical and antimicrobial properties of sodium hypochlorite solutions at different concentrations before and after contact with *Enterococcus faecalis*. **Methodology:** Various concentrations of solutions of sodium hypochlorite (0.5%, 1%, 2.5% and 5.25%) were exposed to the pathogen for 30min. 20 min.; 10 min. and 15 seconds respectively. The antimicrobial activity of the solutions was evaluated using the agar diffusion test. NaOCl solutions were freshly resulting manipulated and placed inside wells prepared on agar plates. After the incubation period, the inhibition of bacterial growth formed around the wells were measured with the aid of digital calipers. The hydrogen potential of the solutions was measured by digital pH meter. Was also performed to quantify the amount of active chlorine and chloramines from initial and resulting solutions. **Results:** It was found that the residual hypochlorite solutions showed no statistically significant difference in relation to antimicrobial activity and pH. Regarding the active chlorine content, the resulting solutions decreased at all concentrations. Chloramines were not found in any of the solutions tested. **Conclusion:** It was concluded that, at the time intervals tested, the physicochemical properties of the residual NaOCl were not changed, except the amount of free chlorine.

**Key words:** Endodontics, Sodium hypochlorite, *Enterococcus faecalis*

## INTRODUÇÃO

Apesar da vasta literatura existente sobre o uso das soluções de hipoclorito de sódio em diferentes concentrações no tratamento endodôntico, persiste ainda o dilema do real mecanismo de ação desta diante da complexidade anatômica do sistema de canais radiculares e a variada microbiota já identificada nos casos de necrose pulpar.

Os estudos relatam a ação multifatorial destas soluções: propriedade antimicrobiana de amplo espectro, não específica, sendo também esporicida e virucida, habilidade de dissolução de tecido orgânico necrótico ou vital devido à alta alcalinidade além de propriedades clareadoras e desodorizantes<sup>1-5</sup>.

A ação antimicrobiana ocorre quando o hidróxido de sódio (NaOH) presente na solução de hipoclorito de sódio, ao entrar em contato com o material orgânico, reage com os ácidos graxos transformando-os em sabão e glicerol. A presença de sabão reduz a tensão superficial do restante da solução. Simultaneamente, o NaOH neutraliza aminoácidos, resultando em sal e água. O ácido hipocloroso (HClO), produto da dissociação do NaOCl, reage também com aminoácidos formando água e cloraminas, as quais interferem no mecanismo bacteriano<sup>1,6</sup>.

Os *Enterococcus faecalis* são cocos gram-positivos anaeróbicos facultativos e têm demonstrado resistência aos procedimentos de desinfecção durante o preparo químico-mecânico, justificando desta forma o uso de irrigantes, não apenas para diminuir o número de microorganismos onde os instrumentos não são capazes de atingir, mas também com a finalidade de reduzir resíduos<sup>7,8</sup>.

Vianna et al. (2004) constataram que o tempo necessário para que haja a erradicação do *e. faecalis* varia de 30 minutos a 15 segundos de acordo com a concentração da solução de hipoclorito de sódio. Morari (2012) verificou que o processo de dissolução pulpar reduz a eficácia antimicrobiana do hipoclorito de sódio frente ao *Enterococcus faecalis*, e que após a dissolução do tecido pulpar bovino, há redução do potencial hidrogeniônico das soluções, sendo mais evidente para as de baixas concentrações (0,5 e 1,0%).

Com base nos trabalhos acima, o questionamento desse estudo visa elucidar qual o efeito do contato com o *Enterococcus faecalis* nas propriedades físico-químicas das diferentes concentrações de soluções de hipoclorito de sódio resultantes após os intervalos de tempo supracitados.

## **METODOLOGIA**

### **Local de realização da pesquisa**

Laboratório de Bioquímica Oral e Microbiologia da Universidade Federal do Rio Grande do sul (UFRGS) localizada na cidade de Porto Alegre – RS.

### **Soluções analisadas**

As soluções de hipoclorito de sódio foram obtidas em farmácia de manipulação (Marcela, Porto Alegre, RS, Brasil), em menos de 12 horas antes das análises, tempo pelo qual foram mantidas em refrigeração (3,5°C). As concentrações utilizadas foram 0,5%; 1,0%, 2,5% e 5,25%, formando oito grupos com n=10 (Tabela 1).

### **Obtenção das cepas bacterianas**

As colônias do *Enterococcus faecalis*(ATCC 29212) foram subcultivadas em placas BHIA e incubadas por 18-24 h a 37°C (em atmosfera de 10% CO<sub>2</sub>). Após o crescimento em meio sólido, as colônias foram isoladas e suspensas em tubos contendo 5ml do meio de cultura líquido apropriado. Depois da agitação mecânica, a suspensão foi ajustada em espectrofotômetro com absorvância de 600 nm, até atingir a concentração equivalente a 0.5 da escala de McFarland ( $1,5 \times 10^8$  bactérias/mL).

### **Contato das soluções ao microorganismo**

Um ml da suspensão bacteriana foi centrifugado em micro tubos do tipo *ependorf*. Cada solução de hipoclorito de sódio em suas devidas concentrações foi colocada em contato ao sedimento (*pellet*) do microorganismo de acordo com os tempos e concentrações sugeridos por

Vianna et al. (2004) (Tabela 1). Após o tempo específico de contato com o *E. faecalis*, as soluções foram removidas dos micro tubos e submetidas à avaliação da ação antimicrobiana.

### **Teste de difusão em ágar**

Foram utilizadas placas de Petri 140mm de diâmetro contendo 40 ml de Muller Hinton Agar (MHA) que serviram de base para a camada de inóculo, que foram preparadas a seguir.

Quarenta ml de Brain Heart Infusion Agar (BHIA) foram preparados e autoclavados em frascos de vidro com tampas rosqueáveis. Durante o processo de resfriamento, quando o BHIA atingiu 45°C ainda em estado líquido, foram adicionados 400µL do inóculo microbiano seguido da agitação uniforme do conjunto, passando o BHIA a ter, portanto, 1% do mesmo. Estes então foram distribuídos sobre a camada sólida de Muller Hinton Agar.

Após a solidificação do preparo das camadas de Agar e do inóculo, as amostras foram colocadas sobre a superfície do ágar em poços plásticos descartáveis autoclavados utilizando-se pinças estéreis no interior da câmara de fluxo laminar. As placas foram incubadas por 24 horas a 37°C a 10% de CO<sub>2</sub>.

Após esse intervalo de tempo foi realizada a leitura dos halos de inibição. As medidas das zonas de inibição de crescimento microbiano corresponderam à distância entre a superfície externa do poço contendo uma amostra devidamente identificada e o início da região de crescimento microbiano. Esta distância foi medida com o auxílio de um paquímetro digital (DIGIMESS Instrumentos de Precisão LTDA, São Paulo, SP, Brasil).

A avaliação da ação antimicrobiana foi realizada com as soluções de hipoclorito de sódio dos 8 grupos com n=10, ou seja, com as soluções recém manipuladas e as que foram submetidas ao contato com *E. faecalis*.

### **Aferição do pH**

O pHmetro digital (Quimis, Mod400A, Diadema, SP, Brasil) foi utilizado para aferir o pH das soluções iniciais e residuais após a exposição ao *E.*



*faecalis*. Após calibração, o eletrodo do aparelho foi introduzido em tubos de vidro de 10mL que receberam 4mL, cada um, da solução analisada. O potencial hidrogeniônico foi aferido 5 vezes para cada concentração da solução, tanto antes quanto após o contato com o microorganismo.

### **Verificação da quantidade de cloro ativo e cloraminas**

Uma amostra de cada grupo foi enviada ao Laboratório de Análises Químicas (LACHEM) da Universidade Federal de Santa Maria para a quantificação de cloro livre e cloraminas existentes nas soluções de hipoclorito de sódio antes e após a exposição à bactéria.

### **Análise estatística**

Os dados obtidos foram registrados em planilhas através do *software* Excel (*Microsoft Corporation*, EUA).

Devido ao teste de SHAPIRO-WILK mostrar não haver normalidade dos dados, foi utilizado o TESTE T para duas amostras pareadas para a comparação entre os halos de inibição.

Para a comparação dos valores de redução percentual do pH das soluções antes e após a exposição com dados com distribuição normal utilizou-se os testes ANOVA e POST HOC DE TUKEY.

## **RESULTADOS**

Os resultados estão apresentados na tabela 1.

Média Halos (mm)	Média pH	% Cloro ativo	Cloraminas
---------------------	----------	---------------	------------

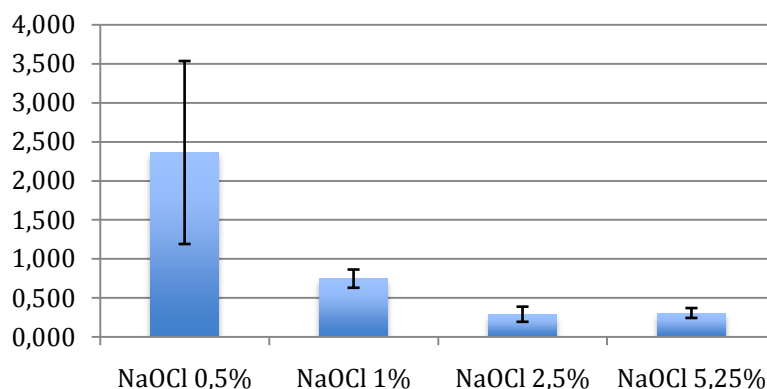
---

**Tabela 1:** Média dos resultados obtidos nos testes realizados.

% NaOCl	Tempo	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
0,5	30min.	0,630	0,790	12,10	11,81	0,5	0,25	0	0
1	20min.	1,092	0,834	12,46	12,37	1	0,44	0	0
2,5	10min.	2,244	1,685	12,67	12,63	2,5	0,97	0	0
5,25	15seg.	4,151	4,639	12,87	12,83	5,25	2,13	0	0

Não houve diferença estatisticamente significativa entre a ação antimicrobiana de uma solução de hipoclorito de sódio antes ou após a exposição ao microrganismo.

**Gráfico 1:** Percentual de variação do pH antes e após a exposição ao microrganismo.



A alteração do pH não foi estatisticamente significativa entre as soluções iniciais e residuais. Entretanto observa-se que o hipoclorito de sódio 0,5% foi mais afetado pela exposição ao microrganismo que os demais.

Em relação à quantidade de cloro livre, percebe-se diminuição em todas as concentrações de hipoclorito de sódio dentro dos tempos testados.

## DISCUSSÃO

O hipoclorito de sódio em suas diferentes concentrações ainda é a solução mais utilizada no tratamento dos canais radiculares<sup>11-18</sup>. Vianna et al. (2004) constataram que o tempo necessário para que essas soluções promovam a erradicação do *e. faecalis* varia de 30 minutos a 15 segundos de acordo com a sua concentração.

Morari (2012) verificou que o processo de dissolução pulpar reduz a eficácia antimicrobiana do hipoclorito de sódio frente ao *Enterococcus faecalis*, e que após a dissolução do tecido pulpar bovino, há redução do potencial hidrogeniônico das soluções, sendo mais evidente para as de baixas concentrações (0,5 e 1,0%).

Neste estudo foi possível verificar que o contato das soluções de hipoclorito de sódio com o microorganismo de escolha não alterou significativamente suas propriedades físico-químicas nas soluções resultantes, exceto o consumo de cloro livre.

A bactéria escolhida é um indicador biológico extensivamente estudado. O *Enterococcus faecalis* é um microorganismo anaeróbio facultativo, de fácil cultivo e de alta relevância clínica. É uma espécie bacteriana capaz de se estabelecer e sobreviver na ausência de outras bactérias. Possui uma considerável resistência a substâncias químicas auxiliares e antimicrobianos e são microorganismos associados à etiologia das infecções refratárias<sup>19-22,8</sup>.

O teste de difusão em ágar permitiu uma padronização da densidade do inóculo microbiano, garantindo o crescimento homogêneo dos microrganismos em toda a superfície e interior do ágar<sup>23</sup>. Os fatores limitantes da técnica são a capacidade de dissociação das substâncias e sua difusão através do Agar. No presente estudo foi utilizada a mesma solução em diferentes concentrações, dirimindo a inconveniência do método.

Neste trabalho, não houve precipitado de células bacterianas visível após o tempo de contato estipulado por Vianna et al. (2004) das soluções em todas as concentrações. As soluções residuais de hipoclorito de sódio em todas as concentrações apresentaram diminuição estatisticamente insignificante dos halos de inibição, provando sua capacidade antimicrobiana antes e após o contato com o microorganismo. Observou-se também uma relação diretamente proporcional entre a concentração da solução e a ação antimicrobiana concordando com os resultados obtidos por Estrela et al. (2008).

A determinação do potencial hidrogeniônico inicial e final foi

complementar ao teste de difusão em ágar. Assim, objetivou-se esclarecer como esta propriedade poderia influenciar na ação antimicrobiana das soluções de hipoclorito de sódio. Medir o pH inicial e após o contato da solução com o microorganismo permitiu analisar a intensidade de ocorrência das reações de saponificação e neutralização dos aminoácidos, as quais consomem hidroxilas do meio<sup>1</sup>.

A aferição do pH confirmou a alcalinidade inicial das soluções de hipoclorito de sódio, de acordo com a literatura<sup>1,6,24,25</sup>. Após serem submetidas ao *E. faecalis*, as soluções de hipoclorito de sódio sofreram insignificante redução de pH, sendo esta maior na solução de menor concentração, porém a variação não alterou a alcalinidade do NaOCl.

A molécula de hidróxido de sódio é alcalina, e o seu consumo reduz o pH da solução. Portanto, a maior quantidade de moléculas de hidróxido de sódio em soluções de hipoclorito de sódio mais concentradas justifica a relação diretamente proporcional entre velocidade e concentração da solução, além da manutenção da alta alcalinidade destas soluções<sup>1</sup>.

A formação de cloraminas é apontada na literature como determinante para capacidade antimicrobiana das soluções de NaOCl<sup>26,27</sup>. Neste trabalho não foi possível encontrar cloraminas nas soluções resultantes, concordando com os resultados de Morari (2012) que sugere um tempo superior de contato da material orgânica com o NaOCl para que haja sua formação.

O emprego de apenas uma bactéria, a ausência da complexidade anatômica de um sistema de canais radiculares e a impossibilidade de dimensionar o volume de material orgânico em contato com as soluções, são algumas das limitações deste estudo para sua inferência clínica.

## **CONCLUSÃO**

Nos intervalos de tempo testados, não houve alteração significativa das propriedades das soluções residuais de hipoclorito de sódio, apenas a diminuição do teor de cloro ativo contido nas mesmas. Esse fato porém não exclui a necessidade da constante renovação da solução utilizada, para que haja a remoção das sujidades geradas com o preparo químico mecânico dos

canais radiculares.

## AGRADECIMENTOS

Os autores não apresentam nenhum tipo de conflito de interesse relatado neste estudo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. SPANÓ, J.C.; BARBIN, E. L.; SANTOS, T. C.; GUIMARÃES, L. F.; PÉCORA, J D. Solvent action of sodium hypochlorite on bovine pulp and physico-chemical properties of resulting liquid. *Braz Dent J.*, v. 12, n.3, p.154-157, 2001.
2. BELTZ, R.E.; TORABINEJAD, M.; POURESMAIL, M. Quantitative analysis of the solubilizing action of MTAD, sodium hypochlorite and EDTA on bovine pulp and dentin. *J Endod* v.29, p.334-337,2003.
3. CLARKSON, R.M.; MOULE, A.J.; PODLICH, H.; MACFARLANE, R.; LEWIS, D.; ROWEL, J. Dissolution of porcine incisor pulps in sodium hypochlorite solution of varying compositions and concentrations. *Australian Dental Journal*, v.51, n.3, p.245-251, 2006.
4. ZEHNDER, M. Root canalirrigants. *J Endod*, v.32, n.5, p.389-398, 2006.
5. IRALA, L. E.; GRAZZIOTIN-SOARES, R.; SALLES, A. A.; MUNARI, A. Z.; PEREIRA, J. S. Dissolution of bovine pulp tissue in solutions consisting of varying NaOCl concentrations and combined with EDTA. *Braz Oral Res*, v.24, n.3, p.271-276, 2010.
6. ESTRELA, C.; ESTRELA, C. R.; BARBIN, E. L.; SPANÓ, J. C.; MARCHESAN, M. A.; PÉCORA, J. D. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz Dent J*, v.13, n.2, p.113-117, 2002.
7. SUNDQVIST, G.; FIGDOR, D.; PERSSON, S.; SJÖGREM, U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral RadiolEndod*, v.85, n.1, p.86-93, 1998.
8. SATO, T.; YAMAKI, K.; ISHIDA, N.; HASHIMOTO, K.; TAKEUCHI, Y.; SHOJI, M.; SATO, E.; MATSUYAMA, J.; SHIMAUCHI, H.; TAKAHASHI, N. Cultivable Anaerobic Microbiota of Infected Root Canals. *Int J of Dent*, p. 1-5, 2012.
9. VIANNA, M.E.; GOMES, B.P.; BERBER, V.B.; ZAIA, A.A.; FERRAZ, C.C.; SOUZA FILHO, F.J. *In Vitro* Evaluation Of Antimicrobial Activity Of Chlorhexidine And Sodium Hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral*

RadiolEndod, v. 91, n. 1, p. 79-84, 2004.

10. MORARI, V.H. Estudo das propriedades químicas e antimicrobianas de soluções de hipoclorito de sódio. Dissertação (Mestrado) – Curso de Odontologia. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

11. HAND, R. E.; SMITH, M. L.; HARRISON, J. W. Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. J Endod, v.4, n.2, p.60-64, 1978.

12. GUERISOLI, D.M.Z.; SILVA, R.S.; PÉCORÁ, J.D. Evaluation of some physico- chemical properties of different concentrations of sodium hypochlorite solutions. Braz. Endod. J, v.3, n.2, p.21-23, 1998.

13. SIQUEIRA JR, J. F.; BATISTA, M. M. D.; FRAGA, R. C.; UZEDA, M. Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented Gram-negative anaerobes and facultative bacteria. J Endod, v.24, n.6, p.414-416, 1998.

14. SANTOS, T.C. Estudo in vitro do efeito do aumento da temperatura das soluções de hipoclorito de sódio sobre suas propriedades físico-químicas anteriores e posteriores à dissolução do tecido pulpar bovino. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1999.

15. COBANKARA, F.K.; OZKAN, H.B; TERLEMEZ, A. Comparison of organic tissue dissolution capacities of sodium hypochlorite and chlorine dioxide. Journal of Endodontics v.36, p.272-274, 2010.

16. VIANNA, M. E.; GOMES, B. P. F. A. Efficacy of sodium hypochlorite combined with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* in vitro. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol and Endod. v.107,n.4, p. 585-589, 2009.

17. RETAMOZO, B.; SHABAHANG, S.; JOHNSON, N.; APRECIO, R. M.; TORABINEJAD, M. Minimum Contact Time and Concentration of Sodium Hypochlorite Required to Eliminate *Enterococcus faecalis*. Journal of Endodontics, v.36,n.3, p.520-523, 2010.

18. SÓ, M. V. R.; VIER-PELISSER, F. V.; DARCIE, M. S.; SMANIOTTO, D. G. R.; MONTAGNER, F.; KUGA, M. C. Pulp tissue dissolution when the use of sodium hypochlorite and EDTA alone or associated. Rev OdontoCiênc, v.26, n.2, p. 156- 160, 2011.

19. HANCOCK III HH.; SIGURDSON, A.; TROPE, M.; MOISEWITSCH, J. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. v. 91(5), p. 579-586, 2001.

20. LOVE, R.M. *Enterococcus Faecalis* – A Mechanism For Its Role In

Endodontic Failure. *IntEndod J*, v. 34, n. 5, p. 399-405, 2001.

21. PINHEIRO, E.T.; GOMES, B.P.F.A.; FERRAZ, C.C.R, SOUSA, E.L.R.; SOUZA-FILHO, F.J. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *IntEndod J*. v.36, n.1, p.1-11, 2003.

22. Hohscheidt, G.L.; Böttcher, D.E.; Fatturi Parolo, C.C.; Montagner, F, Grecca, F.S. Response of E. faecalis biofilm to different associations of auxiliary substances during root canal preparation: a confocal laser microscopy analysis. *Microsc Res Tech*.v.76n.6,p.658-62, 2013.

23. TOBIAS, R. S. Antibacterial properties of dental restorative materials: a review. *IntEndod J*, v.21, n.2, p.155-160, 1988.

24. GAMBARINI, G.; LUCA, M.; GEROSA, R. Chemical stability of heated sodium hypochlorite endodontic irrigants. *J Endod*, v. 24, n.6, p. 432-434, 1998.

25. CHRISTENSEN, C.E.; MCNEAL, S.F.; ELEAZER, P. Effect of Lowering the pH of Sodium Hypochlorite on Dissolving Tissue in Vitro. *Journal of Endodontics*, v.34, n4, p. 449-452, 2008.

26. BARBIN, E.L. Estudos in vitro do efeito da adição de lauril-dietilenoglicol éter sulfato de sódio nas soluções de hipoclorito de sódio sobre suas propriedades físico-químicas anteriores e posteriores à dissolução do tecido pulpar bovino. (Dissertação de Mestrado). Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 1999.

27. SPANÓ, J.C.E. Estudo in vitro das propriedades físico-químicas das Soluções de Hipoclorito de Sódio, antes e após a Dissolução de Tecido Pulpar Bovino. (Dissertação de Mestrado). Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; p.108, 1999.

## ANEXO 1

### NORMAS REVISTA

## Guidelines for Publishing Papers in the JOE

Writing an effective article is a challenging assignment. The following guidelines are provided to assist authors in submitting manuscripts.

The *JOE* publishes original and review articles related to the scientific and applied aspects of endodontics. Moreover, the *JOE* has a diverse readership that includes full-time clinicians, full-time academicians, residents, students and scientists. Effective communication with this diverse readership requires careful attention to writing style.

#### 1. General Points on Composition

- a. Authors are strongly encouraged to analyze their final draft with both software (e.g., spelling and grammar programs) and colleagues who have expertise in English grammar. References listed at the end of this section provide a more extensive review of rules of English grammar and guidelines for writing a scientific article. Always remember that clarity is the most important feature of scientific writing. Scientific articles must be clear and precise in their content and concise in their delivery since their purpose is to inform the reader. The Editor reserves the right to edit all manuscripts or to reject those manuscripts that lack clarity or precision, or have unacceptable grammar or syntax. The following list represents common errors in manuscripts submitted to the *JOE*.
- b. The paragraph is the ideal unit of organization. Paragraphs typically start with an introductory sentence that is followed by sentences that describe additional detail or examples. The last sentence of the paragraph provides conclusions and forms a transition to the next paragraph. Common problems include one-sentence paragraphs, sentences that do not develop the theme of the paragraph (see also section "c" below), or sentences with little to no transition within a paragraph.



- c. Keep to the point. The subject of the sentence should support the subject of the paragraph. For example, the introduction of authors' names in a sentence changes the subject and lengthens the text. In a paragraph on sodium hypochlorite, the sentence, "In 1983, Langeland et al., reported that sodium hypochlorite acts as a lubricating factor during instrumentation and helps to flush debris from the root canals" can be edited to: "Sodium hypochlorite acts as a lubricant during instrumentation and as a vehicle for flushing the generated debris (Langeland et al., 1983)." In this example, the paragraph's subject is sodium hypochlorite and sentences should focus on this subject.
- d. Sentences are stronger when written in the active voice, *i.e.*, the subject performs the action. Passive sentences are identified by the use of passive verbs such as "was," "were," "could," etc. For example: "Dexamethasone was found in this study to be a factor that was associated with reduced inflammation," can be edited to: "Our results demonstrated that dexamethasone reduced inflammation." Sentences written in a direct and active voice are generally more powerful and shorter than sentences written in the passive voice.
- e. Reduce verbiage. Short sentences are easier to understand. The inclusion of unnecessary words is often associated with the use of a passive voice, a lack of focus or run-on sentences. This is not to imply that all sentences need be short or even the same length. Indeed, variation in sentence structure and length often helps to maintain reader interest. However, make all words count. A more formal way of stating this point is that the use of subordinate clauses adds variety and information when constructing a paragraph. (This section was written deliberately with sentences of varying length to illustrate this point.)
- f. Use parallel construction to express related ideas. For example, the sentence, "Formerly, endodontics was taught by hand instrumentation, while now rotary instrumentation is the common method," can be edited to "Formerly, endodontics was taught using hand instrumentation; now it is commonly taught using rotary instrumentation." The use of parallel construction in sentences simply means that similar ideas are expressed in similar ways, and this helps the reader recognize that the ideas are related.
- g. Keep modifying phrases close to the word that they modify. This is a common problem in complex sentences that may confuse the reader. For example, the statement, "Accordingly, when conclusions are drawn from the results of this study, caution must be used," can be edited to "Caution must be used when conclusions are drawn from the results of this study."

- h. To summarize these points, effective sentences are clear and precise, and often are short, simple and focused on one key point that supports the paragraph's theme.
- i. Authors should be aware that the *JOE* uses iThenticate, plagiarism detection software, to assure originality and integrity of material published in the *Journal*. The use of copied sentences, even when present within quotation marks, is highly discouraged. Instead, the information of the original research should be expressed by new manuscript author's own words, and a proper citation given at the end of the sentence. Plagiarism will not be tolerated and manuscripts will be rejected, or papers withdrawn after publication based on unethical actions by the authors. In addition, authors may be sanctioned for future publication.

## 2. Organization of Original Research Manuscripts

**Please Note:** All abstracts should be organized into sections that start with a one-word title (in bold), i.e., *Introduction, Methods, Results, Conclusions, etc.*, and should not exceed more than 250 words in length.

- a. **Title Page:** The title should describe the major emphasis of the paper. It should be as short as possible without loss of clarity. Remember that the title is your advertising billboard—it represents your major opportunity to solicit readers to spend the time to read your paper. It is best not to use abbreviations in the title since this may lead to imprecise coding by electronic citation programs such as PubMed (e.g., use "sodium hypochlorite" rather than NaOCl). The author list must conform to published standards on authorship (see authorship criteria in the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals at [www.icmje.org](http://www.icmje.org)). The manuscript title, name and address (including email) of one author designated as the corresponding author. This author will be responsible for editing proofs and ordering reprints when applicable. The contribution of each author should also be highlighted in the cover letter.
- b. **Abstract:** The abstract should concisely describe the purpose of the study, the hypothesis, methods, major findings and conclusions. The abstract should describe the new contributions made by this study. The word limitations (250 words) and the wide distribution of the abstract (e.g., PubMed) make this section challenging to write clearly. This section often is written last by many authors since they can draw on the rest of the manuscript. Write the abstract in past tense since the study has been completed. Three to ten keywords should be listed below the abstract.
- c. **Introduction:** The introduction should briefly review the pertinent literature in order to identify the gap in knowledge that the study is intended to address and the limitations of previous studies in the area. The purpose of the study, the tested hypothesis and its scope should be clearly described. Authors should realize that this section of the paper is their primary opportunity to establish communication with the diverse readership of the *JOE*. Readers who are not expert in the topic of the manuscript are likely to skip the paper if the introduction fails to succinctly summarize the gap in knowledge that the study addresses. It is important to note that many

successful manuscripts require no more than a few paragraphs to accomplish these goals. Therefore, authors should refrain from performing extensive review of the literature, and discussing the results of the study in this section.

- d. **Materials and Methods:** The objective of the materials and methods section is to permit other investigators to repeat your experiments. The four components to this section are the detailed description of the materials used and their components, the experimental design, the procedures employed, and the statistical tests used to analyze the results. The vast majority of manuscripts should cite prior studies using similar methods and succinctly describe the essential aspects used in the present study. Thus, the reader should still be able to understand the method used in the experimental approach and concentration of the main reagents (*e.g.*, antibodies, drugs, etc.) even when citing a previously published method. The inclusion of a "methods figure" will be rejected unless the procedure is novel and requires an illustration for comprehension. If the method is novel, then the authors should carefully describe the method and include validation experiments. If the study utilized a **commercial product**, the manuscript must state that they either followed manufacturer's protocol *or* specify any changes made to the protocol. If the study used an ***in vitro* model** to simulate a clinical outcome, the authors must describe experiments made to validate the model, or previous literature that proved the clinical relevance of the model. Studies on **humans** must conform to the Helsinki Declaration of 1975 and state that the institutional IRB/equivalent committee(s) approved the protocol and that informed consent was obtained after the risks and benefits of participation were described to the subjects or patients recruited. Studies involving **animals** must state that the institutional animal care and use committee approved the protocol. The statistical analysis section should describe which tests were used to analyze which dependent measures; p-values should be specified. Additional details may include randomization scheme, stratification (if any), power analysis as a basis for sample size computation, drop-outs from clinical trials, the effects of important confounding variables, and bivariate versus multivariate analysis.
- e. **Results:** Only experimental results are appropriate in this section (*i.e.*, neither methods, discussion, nor conclusions should be in this section). Include only those data that are critical for the study, as defined by the aim (s). Do not include all available data without justification; any repetitive findings will be rejected from publication. All Figures, Charts and Tables should be described in their order of numbering with a brief description of the major findings. Author may consider the use of supplemental figures, tables or video clips that will be published online. Supplemental material is often used to provide additional information or control experiments that

- support the results section (*e.g.*, microarray data).
- f. **Figures:** There are two general types of figures. The first type of figures includes photographs, radiographs or micrographs. Include only essential figures, and even if essential, the use of composite figures containing several panels of photographs is encouraged. For example, most photo-, radio- or micrographs take up one column-width, or about 185 mm wide X 185 mm tall. If instead, you construct a two columns-width figure (*i.e.*, about 175 mm wide X 125 mm high when published in the *JOE*), you would be able to place about 12 panels of photomicrographs (or radiographs, etc.) as an array of four columns across and three rows down (with each panel about 40 X 40 mm). This will require some editing to emphasize the most important feature of each photomicrograph, but it greatly increases the total number of illustrations that you can present in your paper. Remember that each panel must be clearly identified with a letter (*e.g.*, "A," "B," etc.), in order for the reader to understand each individual panel. Several nice examples of composite figures are seen in recent articles by Jeger et al (*J Endod* 2012;38:884-888); Olivieri et al., (*J Endod* 2012;38:1007-1011); Tsai et al (*J Endod* 2012;38:965-970). Please note that color figures may be published at no cost to the authors and authors are encouraged to use color to enhance the value of the illustration. Please note that a multipanel, composite figure only counts as one figure when considering the total number of figures in a manuscript (see section 3, below, for maximum number of allowable figures).

The second type of figures are graphs (*i.e.*, line drawings including bar graphs) that plot a dependent measure (on the Y axis) as a function of an independent measure (usually plotted on the X axis). Examples include a graph depicting pain scores over time, etc. Graphs should be used when the overall trend of the results are more important than the exact numerical values of the results. For example, a graph is a convenient way of reporting that an ibuprofen-treated group reported less pain than a placebo group over the first 24 hours, but was the same as the placebo group for the next 96 hours. In this case, the trend of the results is the primary finding; the actual pain scores are not as critical as the relative differences between the NSAID and placebo groups.

- g. **Tables:** Tables are appropriate when it is critical to present exact numerical values. However, not all results need be placed in either a table or figure. For example, the following table may not be necessary:

<b>% NaOCl</b>	<b>N/Group</b>	<b>% Inhibition of Growth</b>
0.001	5	0
0.003	5	0
0.01	5	0

0.1	5	100
0.3	5	100
1	5	100
3	5	100

Instead, the results could simply state that there was no inhibition of growth from 0.001–0.03% NaOCl, and a 100% inhibition of growth from 0.03–3% NaOCl (N=5/group). Similarly, if the results are not significant, then it is probably not necessary to include the results in either a table or as a figure. These and many other suggestions on figure and table construction are described in additional detail in Day (1998).

- h. **Discussion:** This section should be used to interpret and explain the results. Both the strengths and weaknesses of the observations should be discussed. How do these findings compare to the published literature? What are the clinical implications? Although this last section might be tentative given the nature of a particular study, the authors should realize that even preliminary clinical implications might have value for the clinical readership. Ideally, a review of the potential clinical significance is the last section of the discussion. What are the major conclusions of the study? How does the data support these conclusions
- i. **Acknowledgments:** All authors must affirm that they have no financial affiliation (e.g., employment, direct payment, stock holdings, retainers, consultants, patent licensing arrangements or honoraria), or involvement with any commercial organization with direct financial interest in the subject or materials discussed in this manuscript, nor have any such arrangements existed in the past three years. Any other potential conflict of interest should be disclosed. Any author for whom this statement is not true must append a paragraph to the manuscript that fully discloses any financial or other interest that poses a conflict. Likewise the sources and correct attributions of all other grants, contracts or donations that funded the study must be disclosed
- j. **References:** The reference style follows Index Medicus and can be easily learned from reading past issues of the *JOE*. The *JOE* uses the Vancouver reference style, which can be found in most citation management software products. Citations are placed in parentheses at the end of a sentence or at the end of a clause that requires a literature citation. Do not use superscript for references. Original reports are limited to 35 references. There are no limits in the number of references for review articles.
3. **Manuscripts Category Classifications and Requirements**  
 Manuscripts submitted to the *JOE* must fall into one of the following categories. The abstracts for all these categories would have a maximum word count of 250 words:

- A. CONSORT Randomized Clinical Trial–Manuscripts in this category must strictly adhere to the Consolidated Standards of Reporting Trials–CONSORT–minimum guidelines for the publication of randomized clinical trials. These guidelines can be found at [www.consort-statement.org/](http://www.consort-statement.org/). These manuscripts have a limit of 3,500 words, [including abstract, introduction, materials and methods, results, discussion and acknowledgments; excluding figure legends and references]. In addition, there is a limit of a total of 4 figures and 4 tables\*.
- B. Review Article–Manuscripts in this category are either narrative articles, or systematic reviews/meta–analyses. Case report/Clinical Technique articles even when followed by extensive review of the literature will should be categorized as “Case Report/Clinical Technique”. These manuscripts have a limit of 3,500 words, [including abstract, introduction, discussion and acknowledgments; excluding figure legends and references]. In addition, there is a limit of a total of 4 figures and 4 tables\*.
- C. Clinical Research (e.g., prospective or retrospective studies on patients or patient records, or research on biopsies, excluding the use of human teeth for technique studies). These manuscripts have a limit of 3,500 words [including abstract, introduction, materials and methods, results, discussion and acknowledgments; excluding figure legends and references]. In addition, there is a limit of a total of 4 figures and 4 tables\*.
- D. Basic Research Biology (animal or culture studies on biological research on physiology, development, stem cell differentiation, inflammation or pathology). Manuscripts that have a primary focus on biology should be submitted in this category while manuscripts that have a primary focus on materials should be submitted in the Basic Research Technology category. For example, a study on cytotoxicity of a material should be submitted in the Basic Research Technology category, even if it was performed in animals with histological analyses. These manuscripts have a limit of 2,500 words [including abstract, introduction, materials and methods, results, discussion and acknowledgments; excluding figure legends and references]. In addition, there is a limit of a total of 4 figures or 4 tables\*.
- E. Basic Research Technology (Manuscripts submitted in this category focus primarily on research related to techniques and materials used, or with potential clinical use, in endodontics). These manuscripts have a limit of 2,500 words [including abstract, introduction, materials and methods, results, discussion and acknowledgments; excluding figure legends and references]. In addition, there is a limit of a total of 3 figures and tables\*.
- F. Case Report/Clinical Technique (e.g., report of an unusual clinical case or the use of cutting–edge technology in a clinical case). These manuscripts have a limit of 2,500 words [including abstract, introduction, materials and methods, results, discussion and acknowledgments; excluding figure

legends and references]. In addition, there is a limit of a total of 4 figures or tables\*.

\* Figures, if submitted as multipanel figures must not exceed 1 page length. Manuscripts submitted with more than the allowed number of figures or tables will require approval of the *JOE* Editor or associate editors. If you are not sure whether your manuscript falls within one of the categories above, or would like to request preapproval for submission of additional figures please contact the Editor by email at [jendodontics@uthscsa.edu](mailto:jendodontics@uthscsa.edu).

Importantly, adhering to the general writing methods described in these guidelines (and in the resources listed below) will help to reduce the size of the manuscript while maintaining its focus and significance. Authors are encouraged to focus on only the essential aspects of the study and to avoid inclusion of extraneous text and figures. The Editor may reject manuscripts that exceed these limitations.

**Available Resources:**

Strunk W, White EB. *The Elements of Style*. Allyn & Bacon, 4th ed, 2000, ISBN 020530902X.

Day R. *How to Write and Publish a Scientific Paper*. Oryx Press, 5th ed. 1998. ISBN 1-57356-164-9.

Woods G. *English Grammar for Dummies*. Hungry Minds:NY, 2001 (an entertaining review of grammar).

Alley M. *The Craft of Scientific Writing*. Springer, 3rd edition 1996 SBN 0-387-94766-3.

Alley M. *The Craft of Editing*. Springer, 2000 SBN 0-387-98964-1.