

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA (PPGO) - MESTRADO



BRENDA MATSUNAGA LAURINDO

Água ozonizada como solução de limpeza dentinária: ação antibacteriana e análise da resistência de união

BRENDA MATSUNAGA LAURINDO

Água ozonizada como solução de limpeza dentinária: ação antibacteriana e

análise da resistência de união

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-

Graduação em Odontologia, Centro de Ciências

Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual do

Oeste do Paraná, como requisito parcial para

obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Área de concentração: Odontologia

Orientador: Profa. Dra. Veridiana Camilotti

Cascavel

2019

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Laurindo, Brenda

Água ozonizada como solução de limpeza dentinária: ação antibacteriana e análise da resistência de união / Brenda Laurindo; orientador(a), Veridiana Camilotti, 2019. 36 f.

Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, 2019.

1. Desinfetantes. 2. Resistência de união . 3. Ação antibacteriana. I. Camilotti, Veridiana . II. Título.





 Campus de Cascavel
 CNPJ 78680337/0002-65

 Rua Universitária, 2069 - Jardim Universitário - Cx. P. 000711 - CEP 85819-110

 Fone:(45)
 3220-3000 - Fax:(45)
 3324-4566 - Cascavel - Paraná

BRENDA MATSUNAGA LAURINDO

Água ozonizada como solução de limpeza dentinária: ação antibacteriana e análise da resistência de união

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestra em Odontologia, área de concentração Odontologia, linha de pesquisa Materiais Dentários Aplicados À Clínica Odontológica, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:

Orientador(a) - Veridiana Camilotti

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

Lilian Cristiane Baeza

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

Juliane Maria Bergamin Bocard

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ - MEDIANEIRA (UTFPR)

Cascavel, 8 de abril de 2019

DEDICATÓRIA

A **DEUS** que em sua infinita sabedoria guia meus caminhos. E, através de Sua graça, bondade e misericórdia, me proporcionou saúde e disposição para enfrentar essa árdua caminhada e concretizar este grande sonho.

AGRADECIMENTO

Aos meus pais, ANGELA APARECIDA MATSUNAGA LAURINDO e TOBIAS LAURINDO e irmãos CAIO FELIPE LAURINDO e VICTOR HUGO LAURINDO que não mediram esforços para que esse sonho se concretizasse. Agradeço toda a dedicação, carinho e incentivo que recebi ao longo da minha vida. Ao meu namorado JOAQUIM CIALDINE PORTELA NETO por todo companheirismo e paciência durante essa jornada.

Agradeço aos professores, contribuintes para a minha formação profissional, em especial minha orientadora VERIDIANA CAMILOTTI por sua generosidade e empenho para que a pesquisa fosse realizada com sucesso. Aos professores RAFAEL ANDRADE MENOLLI, NEREIDA MELLO DA ROSA GIOPPO e. MÁRCIO JOSÉ MENDONÇA pelos conhecimentos compartilhados, assim como pelas contribuições dadas para o enriquecimento do trabalho, tendo fundamental importância na conclusão dessa pesquisa.

As professoras LILIAN CRISTIANE BAEZA e JULIANE MARIA BERGAMIN BOCARDI por terem aceitado o convite para compor a banca de defesa desta dissertação.

Agradeço também a COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR-CAPES pela bolsa concedida.

"Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e os seus planos serão bem-sucedidos."

Provérbios 16:3

Água ozonizada como solução de limpeza dentinária: ação antibacteriana e análise da resistência de união

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antibacteriana da água ozonizada sobre os microrganismos *Streptococcus mutans* e *Enterococcus faecalis* e também verificar a sua influência sobre a resistência de união adesiva (RU), ambas as condições em comparação com EDTA Trissódico 17%; Hipoclorito de sódio 2,5%; Clorexidina 2% e Soro fisiológico. A avaliação antibacteriana foi realizada pelo Teste de Viabilidade Bacteriana (TVB) sobre os microrganismos *E. faecalis e S. mutans, n*os tempos: T0 (logo após a colocação do inóculo bacteriano); T10 (10min), T20 (20min), T30 (30min) e T60 (60min). Para RU foram seccionados 50 coroas de dentes bovinos e divididos de acordo com o material de limpeza cavitária. Foram confeccionados três cilindros de resina *bulk fill* para cada coroa bovina e realizado o teste após 24 horas. Os modos de falha foram avaliados com lupa estereoscópica com aumento de 40x. Os dados foram analisados estatisticamente pelo teste de ANOVA e pósteste de Tukey com nível de significância se p<0,05. Todas as soluções testadas apresentaram atividade antibacteriana, com exceção do SF. Para RU não houve diferenças significativas entre os grupos. Pode-se concluir que a água ozonizada pode ser uma opção como solução de limpeza dentinária sem interferir na resistência de união.

Palavras-chave: Desinfetantes, resistência de união e ação antibacteriana.

Ozonized water as a dentin cleaning solution: antibacterial action and bond strength analysis

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the antibacterial activity of ozonated water on the microorganisms Streptococcus mutans and Enterococcus faecalis and also to verify its influence on adhesive bond strength (RU), both conditions compared to 17% Trisodium EDTA; Sodium hypochlorite 2.5%; Chlorhexidine 2% and Saline. The antibacterial evaluation was carried out by the Bacterial Viability Test (TVB) on the microorganisms E. faecalis and S. mutans, in the times: T0 (soon after the bacterial inoculum placement); T10 (10min), T20 (20min), T30 (30min) and T60 (60min). For UK, 50 crowns of bovine teeth were divided and divided according to the cavity cleaning material. Three bulk fill resin cylinders were made for each bovine crown and the test was performed after 24 hours. The failure modes were evaluated with stereoscopic loupes with a 40x magnification. The data were analyzed statistically by the ANOVA test and Tukey's post-test with a significance level of p <0.05. All solutions tested showed antibacterial activity, except SF. For UK there were no significant differences between groups. It can be concluded that ozonated water may be an option as a dentin cleaning solution without interfering with bond strength.

Key-words: Disinfectants, bond strength and antibacterial action.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Tabela 1	Composição dos materiais utilizados na pesquisa11
Figura 1	Diagrama de distribuição dos grupos para avaliação da ação antibacteriana sobre o
	E. faecalis e o S. mutans
Figura 2	Diagrama de distribuição dos grupos para avaliação da resistência de união14
Tabela 2	Viabilidade do microrganismo frente as soluções
Figura 3	Gráfico tipo box plot dos grupos experimentais de acordo com a solução avaliada
	16
Figura 4	Gráfico de barras dos grupos experimentais de acordo com o tipo de fratura

SUMÁRIO

1 Introdução	10
2 Metodologia	11
3 Resultados	15
4 Discussão	17
5 Conclusão	20
6 Referências bibliográficas	21
7. Anexos	25
7.1 Normas do periódico Indian Journal of Dental Research	25

Introdução

A cárie dentária ainda é um importante problema de saúde pública em todo o mundo, com alta prevalência e impacto social significativo. Embora exista a participação de outras bactérias na patogênese da cárie dentária, o *Streptococcus mutans* desempenha papel central no desenvolvimento de biofilmes cariogênicos, principalmente devido às suas características acidogênicas. Este microrganismo usa sacarose dietética para sintetizar polissacarídeos extracelulares (EPS) que são estruturas funcionais que mediam sua aderência às superfícies dentárias. O processo de fermentação de carboidratos cria microambientes de baixo pH que favorecem a desmineralização do esmalte e dentina¹.

Outro microrganismo presente na cavidade oral é o *Enterococcus faecalis*, bactéria gram positiva anaerobia facultativa. A resistência ao tratamento do *Enterococcus faecalis*, é explicado pelo seu potencial de penetração nos túbulos dentinários e sua sobrevivência prolongada pode ser devida a sua capacidade de adesão à matriz de colágeno existente na dentina, bem como a sua resposta inadequada à irrigação com soluções antimicrobianas².

O pré-tratamento da superfície dental com um agente antibacteriano é indicado para eliminar os efeitos prejudiciais causados pela infiltração bacteriana³. Tal procedimento evitaria a recorrência de cáries e favoreceria a retenção dos materiais restauradores às estruturas dentais, diminuindo a microinfiltração nas restaurações⁴. Existem diferentes soluções para este fim, como o EDTA, hipoclorito de sódio, clorexidina e recentemente a água ozonizada.

A água ozonizada é conhecida como um agente antimicrobiano forte para bactérias, fungos, vírus e protozoários. Com ação antimicrobiana, o uso de ozônio é confirmado como uma nova alternativa de solução de limpeza. O ozônio na fase aquosa tem vantagens como, ser biocompatível as estruturas dentárias, antimicrobiano, falta de mutagenicidade e rapidez nos efeitos microbicidas⁵. Sua ação antimicrobiana pode eliminar os microrganismos orais resistentes. Uma das propriedades cruciais de ozônio aquoso é a sua não toxicidade para células orais *in vitro*. Contudo, não há um consenso na literatura sobre a influência da água ozonizada na resistência de união de materiais restauradores diretos^{6, 7}.

Além de satisfatórias propriedades microbicidas, soluções de limpeza dentinária adequadas para o processo restaurador deveriam potencializar ou serem inócuas a união entre dente e sistemas adesivos. Já que a união durável entre materiais restauradores poliméricos e as estruturas duras dentais é um importante parâmetro para o sucesso de restaurações dentais. Para determinar o desempenho de um sistema adesivo, sua resistência mecânica é usualmente

mensurada pela determinação da resistência de união ao cisalhamento⁸. Neste sentido, os ensaios de resistência de união são os mais frequentemente utilizados para avaliar a qualidade adesiva da interface estrutura dentinária e sistemas adesivos.

Desta forma, o presente estudo teve como objetivos comparar a influência da água ozonizada 16 ppm sobre os microrganismos *S. mutans e E. faecalis*, e sobre a resistência de união adesiva, em comparação as demais soluções existentes no mercado.

Metodologia

Cálculo amostral

O cálculo amostral foi feito baseado em distribuições de probabilidades da família F, com delineamento de famílias repetidas, com interação dentro e entre os fatores. O tamanho do efeito utilizado foi de 0,15, erro tipo $1(\alpha)$ de 0,05, poder de análise de 0,85 garantiu um mínimo de unidades amostrais de 50, sendo 10 amostras por grupo experimental, tanto para os testes de ação antimicrobiana como para o corpos de prova no teste de resistência de união por microcisalhamento. O cálculo amostral foi realizado no programa GPower (versão 3.1.9.2- Universidade de Düsseldorf, Düsseldorf - Alemanha).

Preparo das soluções

As soluções selecionadas foram utilizadas em estado liquido, exatamente como se encontra em sua embalagem de origem. A descrição dos materiais utilizados está na tabela 1.

Tabela 1- Origem dos materiais utilizados na pesquisa

Materiais (Siglas)	Composição	Fabricante
EDTA trissódico 17%	Ácido etilenodiaminotetracético trissódico; hidróxido de	Biodinâmica (Ibiporã,
(EDTA)	sódio; água destilada.	Paraná, Brazil)
Hipoclorito de sódio	Himaglarita da sádio, algalinizantes a água	Ciclo Forma (Serrana,
Cloro 2,5% (HP)	Hipoclorito de sódio, alcalinizantes e água	São Paulo, Brazil)
Digluconato de	Gluconato a 2%; água; glicerina; etanol; polisorbato20;	Maquira (Maringa,
clorexidina 2% (CHX)	sacarinato de sódio; FD&C Blue, nº1.	Paraná, Brazil)
Água ozonizada (AO)	Água destilada + 16ppm de ozônio	
Soro fisiológico (SF)	0,354g de Na ⁺ ; 0,546g de Cl ⁻ ; pH=6,0.	
Condac 37%	Ácido orto-fosfórico a 37%	FGM- (Joinville, Santa
Condac 5770	Acido otto-iosiofico a 5770	Catarina, Brazil)

	Monômeros metacrílicos; fotoiniciadores; co-iniciadores;	
Ambar Universal	estabilizante;	FGM- (Joinville, Santa
Ambar Universal	Ingredientes inativos: carga inerte: nanopartículas de sílica.	Catarina, Brazil)
	Veículo: etanol.	
	Ingredientes ativos: monômeros uretanadimetacrílicos,	
O D11- E31 E1	estabilizantes, canforoquinona e co-iniciador.	FGM- (Joinville, Santa
Opus Bulk Fill Flow	Ingredientes inativos: cargas inorgânicas de dióxido de	Catarina, Brazil)
	silício (sílica) silanizado, estabilizantes e pigmentos.	

Preparo da água Ozonizada

A solução AO foi preparada minutos antes da sua utilização por meio do aparelho gerador de ozônio (Ozone & Life Ltda, Modelo O&L1.5 RM,São José dos Campos, SP, Brasil). Utilizou-se de ozônio medicinal, associado a água destilada. O ozônio aquoso foi preparado passando ozônio gasoso através da água em um bequer, sendo uma extremidade do tubo de silício conectada à saída do gerador de ozônio e a outra extremidade foi colocada dentro do bequer contendo água. A concentração de ozônio foi de 16 ppm, confirmada pelo teste de titulação iodométrica⁶.

AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIBACTERIANA

Teste de viabilidade bacteriana (TVB)

O ensaio para avaliar a atividade antibacteriana das soluções EDTA, HP, CHX e A.O em diferentes concentrações sobre o *S. mutans* e o *E. faecalis* foi realizado no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário do Oeste do Paraná – HUOP – setor de Bacteriologia Clínica e no Laboratório de Pesquisa de Bacteriologia no campus de Cascavel-PR. A sensibilidade bacteriana foi avaliada por meio da formação da inibição de crescimento microbiano em placas de Petri estéreis, sendo placas de ágar Cromo para *E. faecalis* e placas de ágar sangue para *S. mutans*. Inicialmente, as cepas de *E. faecalis* e *S. mutans* foram reativadas em caldo *Trypticase Soy Broth (TSB)*, incubadas em estufa bacteriológica a 37°C (±1) durante 24 horas. Após a reativação, as cepas de *E. faecalis e de S. mutans* foram semeadas em placas de ágar nutriente e ágar sangue, respectivamente, e incubadas nas mesmas condições descritas acima. Após o crescimento das colônias, foram transferidas, de 3 a 4 colônias de cada microrganismo, para tubos contendo solução fisiológica a 0,9% de modo

a obter uma turvação correspondente a 0,5 da escala de McFarland, ou seja, aproximadamente 1,5 x 10 8 UFC/mL (unidades formadoras de colônias/mL). Em seguida, com auxilio de uma pipeta calibrada, 0,5mL do inóculo de *E. faecalis* e 0,5 mL de *S. mutans* foram adicionados a 0,5mL das soluções dentinárias EDTA, HP, CHX e AO, bem como 0,5mL do SF e plaqueados com o auxilio de uma alça calibrada estéril descartável com capacidade de 10 µl sobre a superfície de placas contendo ágar Cromo para *E. faecalis* e ágar sangue para *S. mutans* em diferentes tempos assim distribuídos: T0 (logo após a colocação do inóculo bacteriano); T10 (10min), T20 (20min), T30 (30min) e T60 (60min), sendo cada placa dividida em 10 áreas para cada solução e tempo analisados num total de 10 repetições para cada análise, conforme diagramas abaixo:

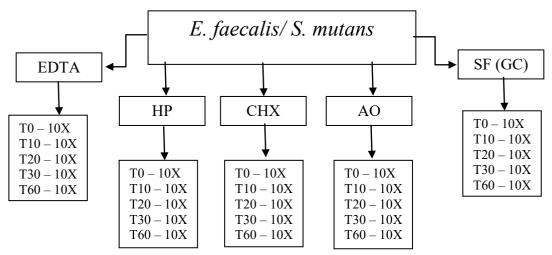


Figura 1: Diagrama de distribuição dos grupos para avaliação da ação antibacteriana sobre o *E. Faecalis* e *S. mutans*

Legenda: EDTA: EDTA Trissódico Líquido 17%; HP: Hipoclorito de sódio Cloro 2,5%; CHX: Clorexidina 2%; A.O.: Água ozonizada; SF (GC): Soro fisiológico (Grupo controle)

Após o plaqueamento as mesmas foram colocadas em estufa bacteriológica a $37^{\circ}\text{C} \pm 1$ por 48 horas para posterior análise do crescimento bacteriano.

AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE UNIÃO

Preparo dos corpos de prova (CPs)

Foram selecionados 50 dentes incisivos bovinos, recém extraídos e livres de tecido periodontal de sustentação e armazenados em solução de timol 1%.

Os dentes foram seccionados, em alta rotação sobre refrigeração abundante com ponta diamantada nº 4138 (KG Sorensen, São Paulo, SP- Brasil), para separar a coroa da raiz. Em seguida, as coroas foram incluídas em tubos de PVC com resina acrílica deixando a superfície vestibular livre. Foi realizado o desgaste do esmalte dental na face vestibular com recortador de gesso até atingir dentina, e em seguida os elementos foram armazenados em solução físiológica.

Procedimento adesivo

Os dentes foram divididos aleatoriamente de acordo com o material de limpeza cavitária utilizado (n=10): EDTA; HP; CHX; AO e SF, conforme diagrama abaixo:

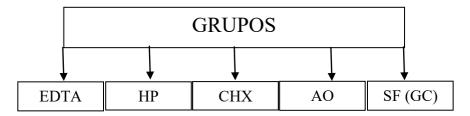


Figura 2: Diagrama de distribuição dos grupos para avaliação da resistência de união

Legenda: EDTA: EDTA Trissódico Líquido 17%; HP: Hipoclorito de sódio Cloro 2,5%; CHX: Clorexidina 2%; A.O.: Água ozonizada; SF (GC): Soro fisiológico (Grupo controle)

Os cilindros de resina composta *bulk fill flow* foram confeccionados utilizando uma matriz de Tygon (Tygontubing, TYG –030, Saint-Gobain Performance Plastic, MaimeLakes, FL,USA) com diâmetro interno de 1mm e 2mm de altura. O procedimento adesivo foi realizado de acordo com as instruções do fabricante.

Após a realização da técnica adesiva, a matriz foi posicionada com uma pinça clínica sobre a superfície e a resina Opus Bulk Fill Flow (FGM- Joinville, SC, Brasil) foi inserida.

A fotoativação foi feita com aparelho de luz Bluephase (Ivoclar Vivadent - Liechtenstein, Áustria) com 900 mW/cm² (Radiômetro Demetron-Demetron research Corporation,Danbury, CT, USA) por 40 segundos. Foram confeccionados 3 cilindros de resina composta *bulk fill* para cada coroa bovina, totalizando 30 CP para cada grupo avaliado. Em seguida, a matriz foi seccionada e removida com uma lâmina de bisturi nº 11 e os CP armazenados por 24 horas em soro fisiológico a 37°C ± 1

Teste de resistência de união por microcisalhamento

Os cilindros de cimento resinoso foram testados em uma máquina universal de ensaios (EMIC DL-200 MF). O carregamento de cisalhamento foi aplicado na base dos cilindros a uma velocidade de 0,5mm/min até o rompimento da união. A resistência de união ao microcisalhamento foi calculada e expressada em MPa.

Análise da fratura

Os modos de falha foram avaliados com uma lupa estereoscópica com aumento de 40× (Lambda LEB-3 n°18233 São Paulo-SP, Brasil) e a classificação seguiu os critérios preconizados pela International Organization for Standardization (TR 11405.18)⁹:

- Coesiva de Dentina (CD): falha exclusivamente dentro da dentina;
- Coesiva de Resina (CR): falha exclusivamente dentro da resina;
- Adesiva (A): falha na interface cimento/dentina;
- Mista (M): falhas na interface adesivo/dentina/cimento, que incluem falhas coesivas nos substratos vizinhos.

Análise Estatística

Os testes as análises estatísticas foram realizadas através do programa Bioestat 5.3 (Instituto Mamirauá, 2007). Os dados obtidos foram submetidos preliminarmente a avaliação do tipo de distribuição pelo teste de Shapiro-Wilk. Considerando que os dados aderiram a curva de normalidade, foi utilizado teste de ANOVA (one-way) para o teste de resistência de união e de atividade antibacteriana, p<0,05, para as comparações entre os grupos experimentais.

Resultados

Avaliação da ação antibacteriana

Constatou-se a ausência de crescimento bacteriano para todas as soluções nos dois meios de cultura utilizados para o teste de atividade bacteriana e em todos os tempos, com exceção do grupo controle, conforme Tabela2.

	<i>T0</i>	<i>T1</i>	<i>T2</i>	<i>T3</i>	<i>T4</i>
EDT A	0	0	0	0	0
HP	0	0	0	0	0
СНХ	0	0	0	0	0
A0	0	0	0	0	0
SF (GC)	>10 ³ UFC/mL				

Tabela 2 – Viabilidade do microrganismo frente as soluções

Legenda: EDTA: EDTATrissódico Líquido 17%; HP: Hipoclorito de sódio Cloro 2,5%; CHX: Clorexidina 2%; A.O.: Água ozonizada; SF (GC): Soro fisiológico (Grupo controle).

Avaliação da resistência de união

A figura 4 representa o resultado da análise estatística para a variável resistência de união, foi possível observar ausência de diferenças significativas entre os grupos avaliados, $p \ge 0.05$.

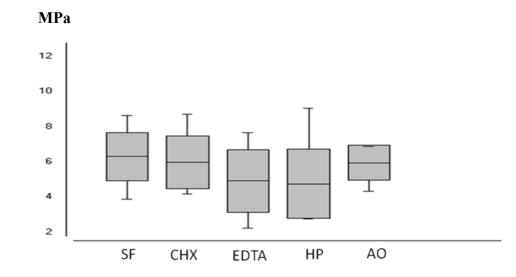


Figura 3: Gráfico tipo box plot dos grupos experimentais de acordo com a solução avaliada Ausência de diferenças significativas, p > 0,05

Legenda: SF (GC): Soro fisiológico (Grupo controle): Clorexidina 2%; EDTA: EDTA Trissódico Líquido 17%; HP: Hipoclorito de sódio Cloro 2,5%; A.O.: Água ozonizada.

Avaliação da análise de fratura:

Com relação à análise de fratura, observou-se maior incidência do rompimento das amostras em fratura mista, seguido de fratura adesiva. Os outros tipos de fraturas (coesiva em dentina e coesiva em resina) não foram encontrados.

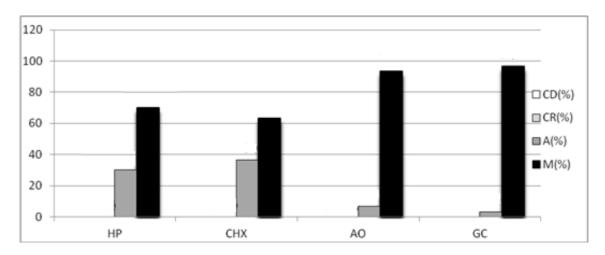


Figura 4: Gráfico de barras dos grupos experimentais de acordo com o tipo de fratura

Legenda: SF (GC): Soro fisiológico (Grupo controle) CHX: Clorexidina 2%; EDTA: EDTA Trissódico Líquido 17%; HP: Hipoclorito de sódio Cloro 2,5%; A.O.: Água ozonizada; Coesiva de Dentina (CD): falha exclusivamente dentro da dentina; Coesiva de Resina (CR): falha exclusivamente dentro da resina; Adesiva (A): falha na interface cimento/dentina; Mista (M): falhas na interface adesivo/dentina/cimento, que incluem falhas coesivas nos substratos vizinhos.

Discussão

Os resultados do presente estudo mostraram que para o teste de viabilidade bacteriana obteve-se resposta positiva para todas as soluções utilizadas. Provavelmente, pelas condições favoráveis para o uso do ozônio neste teste, como temperatura constante de 37°C ± 1 durante todas as etapas de análise (T0, T10, T20, T30 e T60), condições ideais de pH, temperatura e meia vida da solução.

Tal resultado, corrobora com os achados de Estrela et al. (2007)¹¹ e Ercan et al. (2009)¹², que comprovam a ação antimicrobiana, tanto do hipoclorito de sódio como da clorexidina. Estas soluções, assim como o ozônio, atuam por meio do alto poder oxidante, apresentando potente ação antimicrobiana, como demonstrada pelos estudos de Huth et al. (2009)¹³ e Kustarci et al. (2009)¹⁴. A atividade antibacteriana encontrada na água ozonizada pode ser resultado do seu potencial de oxidação capaz de destruir a parede celular e membrana citoplasmática de bactérias e fungos. O ozônio quando se dissocia em oxigênio cria um ambiente rico deste, perturbando assim o ecossistema normal da placa. O sistema de controle enzimático da célula é bloqueado pela inibição das glicoproteínas, glicolipídios e outros aminoácidos cujo resultado é o cessamento funcional e morte do microrganismo¹⁵.

Ebenezar et al. $(2015)^{16}$ verificaram em estudo *in vitro* que a água ozonizada inibiu completamente o crescimento do *S. mutans* e *E. faecalis* como encontrado no presente estudo.

Estes dados discordam do achado por Van Acker, et al. (2014)¹⁷, que encontraram ausência da atividade antibacteriana da água ozonizada, o que pode ser justificada pela diferença metodológica de tempo e temperatura de análise da solução, uma vez que quando submetido a altas temperaturas de armazenamento, permite acelerar o processo de decomposição do ozônio¹⁸. Além disso, quando usado como desinfetante, o ozônio tem efeito imediato, permitindo recontaminação, uma vez que o seu efeito residual é praticamente nulo, podendo ter ocorrido a decomposição da solução, incapacitando a ação antibacteriana. Na forma gasosa é um oxidante seletivo e afeta apenas certos compostos, mas a forma aquosa é altamente instável e se decompõe rapidamente através de uma série complexa de reações em cadeia resultando na formação de radicais hidroxila (OH) que estão entre as espécies reativas mais oxidantes¹⁹.

Para o teste de microcisalhamento foram utilizados dentes bovinos, baseado no trabalho de Reis et al. $(2004)^{20}$ que comprovaram desempenho similar nos testes de RU aos dentes humanos, tanto em esmalte como dentina. O que corrobora ainda com os achados de Munch et. al. $(2000)^{21}$ que afirmam haver semelhanças na morfologia geral e na matriz orgânica do colágeno, se comparados com a dentina humana, o que permite serem utilizados em testes de adesão.

Quanto as especificidades de cada solução, o presente trabalho concorda com o Sauro et al. (2010)²² que afirma que o uso do EDTA previamente ao condicionamento ácido foi estatisticamente similar às demais soluções testadas, não encontrando diferenças entre as soluções irrigadoras quando utilizados sistemas adesivos à base de água/etanol. Entretanto, tal comportamento se difere do trabalho realizado por Gu et al. (2009)²³, em que o EDTA apresentou valores estatisticamente mais elevados do que o grupo controle, diferença essa que pode ser atribuída a metodologia, uma vez que estes autores utilizaram dentina radicular e o presente estudo dentina coronária. O EDTA na dentina coronária promove apenas uma leve remoção da *smear layer*, sem aumentar a rugosidade de superfície não interferindo na retenção, diferentemente de quando aplicado em dentina radicular, que resulta em uma maior uniformidade de TAGs (prolongamentos de resina polimerizada nos tubulos dentinários), fazendo com que as fibras colágenas mantenham maior conteúdo mineral, se tornando mais estáveis e menos susceptíveis à desidratação, melhorando a infiltração dos monômeros resinosos, resultando em altos valores de resistência adesiva²⁴.

O efeito dos sistemas adesivos da CHX na resistência de união à dentina é um tema controverso. Alguns estudos, como Sharma et al. $(2011)^{25}$ e Reddy et al. $(2013)^{26}$ relataram que o pré-tratamento da superfície dentinária com 2% de CHX por 20s afetou adversamente a

resistência de união do sistema adesivo autocondicionante. Já Brackett et al. (2007)²⁷ mostraram que o uso da CHX previamente ao condicionamento ácido, como realizado no presente estudo, não interfere na resistência de união de sistemas adesivos convencionais.

A clorexidina tem um efeito bactericida imediato no interior da cavidade, capacidade de modificar a smear layer e ligação iônica com a superfície dentinária. Além do efeito antibacteriano, funciona como um inibidor da matriz de metaloproteinases (MMP). Este efeito adicional da clorexidina pode evitar a degradação de colágeno na interface adesiva ao longo do tempo (Loguercio et al., 2016)²⁸. Oznurhan et al. (2015)⁶ mostraram que o pré-tratamento com CHX (2%) aumentou a resistência adesiva do sistema adesivo autocondicionante. No presente estudo, o pré-tratamento com CHX não interferiu a resistência de união quando comparado aos demais grupos. Tais diferenças podem ser justificadas devido a diferença entre a dentina dos dentes utilizados, o tipo de adesivo utilizado, as regularizações de camada de dentina e a duração da desinfecção.

Quanto ao ozônio, corrobora com Schmidlin et al. $(2005)^{29}$ e Pithon & dos Santos $(2010)^{30}$ que não observaram redução na adesão entre o substrato dentário e a resina composta ao avaliarem os efeitos da aplicação de ozônio sobre a dentina e esmalte dos dentes bovinos na resistência de união pelo teste de microcisalhamento. Em um diferente estudo, Oznurhan et al. $(2015)^6$ constataram que o ozônio aquoso (3-4 ppm) aumentou a resistência de união do sistema adesivo autocondicionante. Tal dissimilaridade ocorreu por causa de seus métodos de estudo (menor ppm de ozônio aquoso, diferentes métodos de teste e uso de dentes decíduos), uma vez que o ozônio não pode alterar as propriedades físicas do esmalte e não afeta o módulo de elasticidade e a dureza vickers da dentina, além de não interferir na capacidade de vedação dos sistemas adesivos¹⁵, o que favorece seu uso quando comparado as demais soluções.

Com relação ao modo de falha, houve predominância das falhas mistas para todos os grupos. A ocorrência de falhas coesivas e mistas em testes de resistência de união com área adesiva reduzida indicam valores de resistência de união maiores que a interface adesiva causando danos no substrato dentinário e resinoso, corroborando com estudo de Dönmez et al. (2018)³¹.

Apesar das limitações deste estudo, foi possível verificar que a água ozonizada apresentou resultados similares às soluções de limpezas já consagradas na literatura tanto na ação antibacteriana imediata e resistência de união. Assim, a água ozonizada recém preparada

é uma antiséptico oral alternativo com alta atividade antibacteriana contra patógenos orais e preenche características biológicas celulares em termos de biocompatibilidade oral²¹. São necessários mais estudos sobre o uso da água ozonizada na Odontologia, para comprovação da sua eficácia e para a determinação de protocolos de utilização do ozônio.

Conclusão

Com base nos resultados encontrados foi possível concluir que a água ozonizada apresentou comportamento semelhante às demais soluções de limpeza dentinária tanto na ação antibacteriana como na resistência de união.

Referências bibliográficas

- De Luca MC, Freires IA, Gala-García A, Santos VR, Vale MP, Alencar SM, et al. The anti-caries activity and toxicity of an experimental propolis-containing varnish. Braz Oral Res 2017;31.
- Camacho-Alonso CF, Lozano SP, Beneyton, M.Y. Effects of photodynamic therapy, 2
 chlorhexidine, triantibiotic mixture, propolis and ozone on root canals experimentally infected with Enterococcus faecalis: an in vitro study. Odontology 2017;105: 338-46.
- 3. Ersin NK, Uzel A, Aykut A, Candan U, Eronat C. Inhibition of cultivable bacteria by chlorhexidine treatment of dentin lesions treated with the ART technique. Caries Res 2016;40:172-7.
- 4. Franco EB, Dos Santos PA, Mondelli RF. The effect of different light-curing units on tensile strength and microhardness of a composite resin. J Appl Oral Sci 2007;15:470-4.
- 5. Goztas Z, Onat H, Tosun G, Sener Y, Hadmili HH. Antimicrobial effect of ozonated water, sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in primary molar root canals. Eur J Dent;8:469-74.
- 6. Oznurhan F, Ozturk C, Ekci ES. Effects of different cavity-disinfectants and potassium titanyl phosphate laser on microtensile bond strength to primary dentin. Niger J Clin Pract 2015;18:400-4.
- 7. Mohammadi Z, Shalavi S, Soltani MK, Asgary S. A Review of the Properties and Applications of Ozone in Endodontics: An Update. Iran. Endod. J 2013;8:40-43.
- 8. Escribano NI, Del-Nero MO, Macorra JC. Inverse relationship between tensile bond strength and dimensions of bonded area. J. Biomed. Mater. Res 2003;66:419-424.

- 9. International Organization for Standardization (ISO). Guidance on testing of adhesion to tooth structure. ISO/TC 106/SC 1 N 236, resolution 6.1–CD TR 11405. Geneva, Switzerland: IOS; 1994.
- 10. Herrera DR, Tay LY, Rezende EC, Kozlowski VA, Santos EB. In vitro antimicrobial activity of phytotherapic Uncaria tomentosa against endodontic pathogens. J Oral Sci 2010;52:473-6.
- 11. Estrela C, Estrela CR, Decurcio DA, Hollanda AC, Silva JA. Antimicrobial efficacy of ozonated water, gaseous ozone, sodium hypochlorite and chlorhexidine in infected human root canals. Int Endod J 2007;4:85-93.
- 12. Ercan E, Erdemir A, Zorba YO, Eldeniz AU, Dalli M, Ince B. Effect of different cavity disinfectants on shear bond strength of composite resin to dentin. J Adhes Dent 2009;11:343-6.
- 13. Huth KC, Quirling M, Maier S, Kamereck K, Alkhayer M, Paschos E. Effectiveness of ozone against endodontopathogenic microorganisms in a root canal biofilm model. Int Endod J 2009;42:3-13.
- 14. Kuştarci A, Sümer Z, Altunbaş D, Koşum S. Bactericidal effect of KTP laser irradiation against Enterococcus faecalis compared with gaseous ozone: an ex vivo study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2009; 107:73-79.
- 15. Celiberti P, Pazera P, Lussi A. The impact of ozone treatment on enamel physical properties. Am J Dent 2006;19:67-72.
- 16. Ebenezer AV, Kaliappan S, Kumar SA, Yeom T, Banu R. Influence of deflocculation on microwave disintegration and anaerobic biodegradability of waste activated sludge. Bioresour Technol 2015;185:194-201.

- 17. Van Acker H, Van Dijck P, Coenye T. Molecular mechanisms of antimicrobial tolerance and resistance in bacterial and fungal biofilms. Trends Microbiol 2014;22:326-333.
- 18. Lapolli FR, Santos LF, Hássemer MEN, Aisse MM, Piveli RP. Desinfecção de efluentes sanitários por meio da ozonização. In: Desinfecção de Enfluentes Sanitários 2003:169-208.
- 19. Anumula L, Kumar KS, Krishna CM, Lakshmi KS. Antibacterial Activity of Freshly Prepared Ozonated Water and Chlorhexidine on Mutans Streptococcus When Used as an Oral Rinse A Randomised Clinical Study. J Clin Diagn Res 2017;11:05-08.
- 20. Reis AF, Giannini M, Kavaguchi A, Soares CJ, Line SR. Comparison of microtensile bond strength to enamel and dentin of human, bovine, and porcine teeth. J Adhes Dent 2004;6:117-21.
- 21. Munch A, Da Silva EM, Ballester RY. Influence of different dentinal substrates on the tensile bond strength of three adhesive systems. J Adhes Dent 2000;24:209-212.
- 22. Sauro S, Toledano M, Aguilera FS, Mannocci F, Pashley DH, Tay FR et al. Resindentin bonds to EDTA-treated vs. acid-etched dentin using ethanol wet-bonding. Dent Mater J 2010;26:.368-79.
- 23. Gu XH, Mao CY, Liang C, Wang HM, Kern M. Does endodontic post space irrigation affect smear layer removal and bonding effectiveness?. Eur J Oral Sci 2009;117:597-603.
- 24. Habelitz S, Balooch M, Marshall SJ, Balooch G, Marshall GWJR. In situ atomic force microscopy of partially demineralized human dentin collagen fibrils. J Struct Biol 2002;138:227-36.
- 25. Sharma V, Rampal P, Kumar S. Shear bond strength of composite resin to dentin after application of cavity disinfectants SEM study. Contemp Clin Dent 2011; 2:155-9.

- 26. Reddy MS, Mahesh MC, Bhandary S, Pramod J, Shetty A, Prashanth MB. Evaluation of effect of different cavity disinfectants on shear bond strength of composite resin to dentin using two-step self-etch and one-step self-etch bonding systems: a comparative in vitro study. J Contemp Dent Pract 2013;14:275-80.
- 27. Brackett WW, Tay FR, Brackett MG, Dib A, Sword RJ, Pashley DH. The effect of chlorhexidine on dentin hybrid layers *in vivo*. Oper Dent. 2007;32:107–11
- 28. Loguercio AD, Hass V, Gutierrez MF, Luque-Martinez IV, Szezs A, Stanislawczuk R et al. Five-year Effects of Chlorhexidine on the In Vitro Durability of Resin/Dentin Interfaces. J Adhes Dent. 2016; 18 (1): 35-42.
- 29. Schmidlin PR, Zimmermann J, Bindl A. Effect of ozone on enamel and dentin bond strength. J Adhes Dent 2005;7:29-32.
- 30. Pithon MM & Dos Santos RL. Does ozone water affect the bond strengths of orthodontic brackets?. AUST ORTHOD J 2010;26:73-7.
- 31. Dönmez N, Güngör AS, Karabulut B, Siso ŞH. Comparison of the micro-tensile bond strengths of four different universal adhesives to caries-affected dentin after ER:YAG laser irradiation. Dent Mater 2018.

1 Normas do periódico Indian Journal of Dental Research

<u>Instruções para os autores</u>

Os manuscritos devem ser preparados de acordo com os "Requisitos uniformes para manuscritos submetidos ao Biomedical Journal", desenvolvidos pelo <u>Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas</u> (outubro de 2001). Os requisitos uniformes e requisitos específicos do Indian Journal of Dental Research estão resumidos abaixo. Antes de enviar um manuscrito, solicita-se aos contribuintes que verifiquem as instruções mais recentes disponíveis.

O processo editorial

Os manuscritos serão revisados para possível publicação com o entendimento de que eles estão sendo submetidos a um periódico de cada vez e que não foram publicados, submetidos simultaneamente ou já aceitos para publicação em outro lugar.

Os editores revisam todos os manuscritos submetidos inicialmente. Manuscritos com originalidade insuficiente, falhas científicas graves ou ausência de importância da mensagem são rejeitados. A revista não retornará os manuscritos não aceitos.

Outros manuscritos são enviados para dois ou mais revisores especialistas sem revelar a identidade dos autores aos revisores. Dentro de um período de oito a dez semanas, os contribuintes serão informados sobre os comentários dos revisores e aceitação / rejeição do manuscrito. Os artigos aceitos seriam editados para gramática, pontuação, estilo de impressão e formato. As provas de página serão enviadas para o primeiro autor, que deve ser devolvido no prazo de cinco dias. Correção recebida após esse período não pode ser incluída. Todos os manuscritos recebidos são devidamente reconhecidos.

Tipos de manuscritos e limites de palavras

Artigos originais de pesquisa

Ensaios clínicos randomizados, estudos de intervenção, estudos de triagem e teste diagnóstico, estudos de resultados, análises de custo-efetividade, séries de casos-controle e pesquisas com alta taxa de resposta. Até 2500 palavras excluindo referências e resumo.

Comunicação Curta

Até 1000 palavras excluindo referências e abstract e até 8 referências. Uma breve comunicação contém apenas um breve relatório do caso (apenas detalhes pertinentes) e uma breve discussão e referências até um máximo de 8. OU uma breve pesquisa que NÃO requer confirmação adicional. O número de figuras deve ser restrito a no máximo 6.

Relatos de casos

Somente casos novos / interessantes / muito raros podem ser relatados. Casos com significância ou implicações clínicas terão prioridade, enquanto o mero relato de um caso raro pode não ser considerado. Até 2000 palavras excluindo referências e abstract e até 10

referências.

Artigos de revisão

Avaliações críticas sistêmicas da literatura e fontes de dados. Até 3500 palavras excluindo referências e resumo. Lacunas de Pesquisa em Políticas, Protocolos e Práticas: Esta seção abrangeria insights sobre as lacunas existentes nas políticas, protocolos e práticas relativas à saúde bucal e doenças. Os formatos de revisão devem destacar a necessidade de preencher a lacuna em um ou todos os aspectos, para que a melhor saúde bucal seja alcançada.

Carta ao Editor

Deve ser uma observação curta e decisiva. Eles não devem ser observações preliminares que precisam de um documento posterior para validação. Até 400 palavras e 4 referências.

Revisões / Revisões Sistemáticas / Meta-análise

Somente aqueles que fizeram um trabalho substancial em um determinado campo podem escrever um artigo de revisão. Um breve resumo do trabalho realizado pelo (s) autor (es) na área de revisão deve acompanhar o manuscrito. A revista espera que os autores forneçam atualizações pós-publicação sobre o assunto da revisão. A atualização deve ser breve, cobrindo os avanços no campo após a publicação do artigo e deve ser enviada como carta ao editor, como e quando ocorrem grandes desenvolvimentos no campo. Por favor Note: NARRATIVE REVIEWS são fortemente desencorajados. Revisão sistemática e Meta-análise, com hipóteses específicas e metodologia universalmente aceita (como as declarações do PRISMA), somente seriam consideradas.

Anúncios de **conferências**, **reuniões**, **cursos**, **prêmios** e outros itens que possam interessar aos leitores devem ser enviados com o nome e endereço da pessoa da qual informações adicionais podem ser obtidas. Até 100 palavras.

Critérios de autoria

Todas as pessoas designadas como autores devem se qualificar para a autoria, e todos aqueles que se qualificam devem ser listados. Cada autor deve ter participado suficientemente do trabalho para assumir responsabilidade pública por partes apropriadas do conteúdo. Um ou mais autores devem assumir a responsabilidade pela integridade do trabalho como um todo, desde o início até o artigo publicado. O nome e a ordem dos autores não podem ser alterados uma vez que o artigo seja aceito provisoriamente.

O crédito de autoria deve basear-se apenas em:

- 1. Contribuições substanciais para a concepção ou desenho do trabalho; ou a aquisição, análise ou interpretação de dados para o trabalho; E
- 2. Elaborar o trabalho ou revisá-lo criticamente para conteúdo intelectual importante; E
- 3. Aprovação final da versão a ser publicada; E

4. Acordo para prestar contas de todos os aspectos do trabalho, garantindo que as questões relacionadas à precisão ou integridade de qualquer parte do trabalho sejam devidamente investigadas e resolvidas.

As condições 1, 2, 3 e 4 devem ser cumpridas. A aquisição de financiamento, a coleta de dados, o download de referências ou a supervisão geral do grupo de pesquisa, por si só, não justificam a autoria. Por favor, leia as diretrizes do ICMJE em detalhes em http://www.icmje.org/recommendations/browse/roles-and-responsibilities/defining-the-role-of-authors-and-contributors.html

A ordem de autoria na assinatura deve ser uma decisão conjunta dos co-autores. Os autores devem estar preparados para explicar a ordem em que os autores estão listados. Uma vez submetido, o pedido não pode ser alterado sem o consentimento por escrito de todos os autores.

A menos que todos os autores tenham lido, revisado e aprovado o manuscrito, ele NÃO seria processado.

Para um estudo realizado em um <u>único</u> instituto, o número de autores não deve exceder seis. Para um relato de caso e para um artigo de revisão, o número de autores não deve exceder quatro. Para uma comunicação curta, o número de autores não deve ser superior a três. Uma justificativa deve ser incluída, se o número de autores exceder esses limites, mesmo que de uma unidade Multicêntrica.

Se os dados são publicados a partir de Dissertações / Tese, então deve ser declarado na carta de apresentação - com detalhes da universidade; ano; título; Guia e Co-guia SOMENTE com o consentimento da Instituição

POR FAVOR GARANTIR QUE TODOS OS DETALHES DO AUTOR ESTÃO INCLUÍDOS NO ENDEREÇO DE CORRESPONDÊNCIA. POR FAVOR NÃO DIRECIONE TODOS OS CORRELOS PARA O ENDEREÇO ÚNICO OU BLOCO TODO O EMAIL AOS AUTORES. Isto foi incluído para aumentar e indicar a transparência do processo de apresentação

Envio do manuscrito ao periódico

Os artigos devem ser enviados on-line em http://www.journalonweb.com/ijdr . Novos autores terão que se registrar como autor, o que é um procedimento simples de dois passos.

- 1. **Primeiro Arquivo de Página:** Prepare a página de título, cobrindo carta, confirmação, etc., usando um programa de processador de texto. Todas as informações que podem revelar sua identidade devem estar aqui. Não feche os arquivos.
- 2. **Arquivo de artigo:** O texto principal do artigo, começando de Resumo até Referências (incluindo tabelas), deve estar neste arquivo. Não inclua informações como confirmação, seus nomes nos cabeçalhos das páginas, etc., neste arquivo. Não feche os arquivos. Limite o tamanho do arquivo para 400 kb. Não incorpore imagens

- no arquivo. Se o tamanho do arquivo for grande, os gráficos podem ser enviados como imagens separadamente sem incorporá-los ao arquivo de artigo para reduzir o tamanho do arquivo.
- 3. **Imagens:** Envie imagens coloridas de boa qualidade. Cada imagem deve ter menos de 400 kb de tamanho. O tamanho da imagem pode ser reduzido diminuindo a altura e a largura real das imagens (mantenha MÍNIMO DE 1024x760 pixels). Todos os formatos de imagem (jpeg, tiff, gif, bmp, png, eps, etc.) são aceitáveis; **JPG é o mais adequado.** Não feche os arquivos
- 4. **Legendas:** Legendas para figuras / imagens devem ser incluídas no final do arquivo do artigo.
- 5. Por favor, mantenha todos os seguintes formulários obrigatórios em formato PDF / JPG apenas prontos antes de iniciar o processo de submissão
 - o Formulário de declaração de papel de autoria (em formato prescrito)
 - o Formulário de transferência de direitos autorais (em formato prescrito
 - Formulário de consentimento de liberação de imagem / foto do paciente (em formato prescrito)
 - o NOTA: APENAS formato PDF / JPG aceito

O formulário de autores e o formulário de transferência de direitos autorais devem ser enviados ao escritório editorial pelo correio, no original com as assinaturas de todos os autores no prazo de duas semanas após a submissão on-line.

Escritório editorial

Dr. Anil Kohli BDS, MDS (Lko.), FDSRCS (Eng.) DNBE (EUA) Clínica dentária do Dr. Soni 28, Feroze Gandhi Road, Lajpat Nagar 3, Nova Deli - 110284

Tel: 011 - 29844474/75 / 29845500

Fax: 011 - 29845555

Email: editor [ponto] indiajdr [arroba] gmail [ponto] com

Preparação do Manuscrito

Fornecemos modelos prontos para escrever artigos de pesquisa originais, relatórios de casos e artigos de revisão. Estes podem ser utilizados para escrever os artigos conforme as instruções. Os modelos podem ser baixados no link fornecido no topo desta página.

O texto dos artigos observacionais e experimentais deve ser dividido em seções com os títulos: Introdução, Métodos, Resultados, Discussão, Referências, Tabelas, Figuras, Legendas das figuras e Agradecimentos. Não faça subtítulos nestas seções.

Os manuscritos devem ser digitados em papel de tamanho A4 (212 × 297 mm), com margens de 25 mm (1 polegada) de todos os quatro lados. Use espaçamento 1,5 por toda parte. Numere as páginas consecutivamente, começando pela página de título.

O idioma deve ser inglês britânico.

A fonte será preferencialmente Times New Roman

Folha de rosto

A página de título deve conter

- 1. Tipo de manuscrito
- 2. O título do artigo, que deve ser conciso, mas informativo;
- 3. Título em execução ou título curto não superior a 50 caracteres;
- 4. Nome dos autores (o modo como deve aparecer na revista), com seu (s) grau (s) acadêmico (s) mais alto (s) e afiliação institucional;
- 5. O nome do (s) departamento (s) e instituição (ões) a que o trabalho deve ser atribuído;
- 6. O nome, endereço, números de telefone, números de fac-símile e endereço de e-mail do colaborador responsável pela correspondência sobre o manuscrito;
- 7. O número total de páginas, número total de fotografías e contagens de palavras separadamente para resumo e para o texto (excluindo as referências e resumo).
- 8. Fonte (s) de apoio na forma de subvenções, equipamentos, drogas ou todos estes; e
- 9. Se o manuscrito foi apresentado como parte de uma reunião, a organização, local e data exata em que foi lido.
- 10. Conflito de Interesse, se houver algum em detalhes
- 11. Agradecimentos em detalhes

Página abstrata

A segunda página deve conter o título completo do manuscrito e um resumo (de no máximo 150 palavras para relatos de casos, relatórios breves e 250 palavras para artigos originais). O resumo deve ser estruturado e indicar o Contexto (Background), Objetivos, Configurações e Design, Métodos e Materiais, Análise estatística utilizada, Resultados e Conclusões. Abaixo o resumo deve fornecer de 3 a 10 palavras-chave.

Introdução

Declare o propósito do artigo e resuma as razões para o estudo ou observação.

Métodos

Descreva a seleção dos sujeitos observacionais ou experimentais (pacientes ou animais de laboratório, incluindo controles) claramente. Identifique a idade, o sexo e outras características importantes dos sujeitos. Identifique os métodos, o aparato (indique o nome e o endereço do fabricante entre parênteses) e os procedimentos com detalhes suficientes. Dar referências a métodos estabelecidos, incluindo métodos estatísticos; fornecer referências e breves descrições de métodos que foram publicados, mas não são bem conhecidos; descreva métodos novos ou substancialmente modificados, dê razões para usá-los e avalie suas limitações. Identifique precisamente todos os medicamentos e produtos químicos usados, incluindo nome (s) genérico (s), dose (s) e via (s) de administração.

Os relatos de ensaios clínicos randomizados devem apresentar informações sobre todos os principais elementos do estudo, incluindo o protocolo, atribuição de intervenções (métodos de randomização, ocultação de alocação para grupos de tratamento) e o método de mascaramento (cegamento), baseado na declaração CONSORT (Moher D, Schulz KF, Altman DG: A Declaração CONSORT: Recomendações Revisadas para Melhorar a Qualidade dos Relatórios

de Ensaios Aleatórios do Grupo Paralelo Ann Ann Med. 2001; 134: 657-662, também disponível em http://www.consort-statement.org/).

Os autores que submetem os manuscritos de revisão devem incluir uma seção descrevendo os métodos usados para localizar, selecionar, extrair e sintetizar os dados. Esses métodos também devem ser resumidos no resumo.

Ética

Ao relatar experimentos em seres humanos, indique se os procedimentos seguidos estavam de acordo com os padrões éticos do comitê responsável de experimentação humana (institucional ou regional) e com a Declaração de Helsinque de 1975, revisada em 2000 (disponível em http://www.wma.net/e/policy/17-c_e.html). Não use nomes de pacientes, iniciais ou números de hospitais, especialmente em material ilustrativo. Ao relatar experimentos em animais, indique se o guia do conselho de pesquisa da instituição ou nacional, ou qualquer lei nacional sobre o cuidado e uso de animais de laboratório foi seguido.

MUITO IMPORTANTE:

Observe que, de acordo com as regulamentações da Notificação do Governo da Índia por meio da publicação de seu boletim datada de 8 de fevereiro de 2013, todos os ensaios (humanos ou aplicáveis) precisam ser registrados no Registro de ensaios clínicos da Índia. O IRB / IEC precisa ser registrado com as autoridades apropriadas.

Supõe-se que o trabalho de pesquisa de todos os autores indianos está em conformidade com esta política / regras e regulamentos do governo. Todos os manuscritos são publicados de boa fé que todas as regras e regulamentos foram cumpridos.

Estatisticas

Quando possível, quantifique os achados e apresente-os com indicadores apropriados de erro de medição ou incerteza (como intervalos de confiança). Relatar perdas à observação (como desistências de um ensaio clínico). Coloque uma descrição geral dos métodos na seção Métodos. Quando os dados são resumidos na seção Resultados, especifique os métodos estatísticos usados para analisá-los. Evite usos não técnicos de termos técnicos em estatística, como 'aleatório' (que implica um dispositivo de randomização), 'normal', 'significativo', 'correlações' e 'amostra'. Definir termos estatísticos, abreviaturas e a maioria dos símbolos. Use o itálico superior (P <0,05).

Resultados

Apresentar os resultados em seqüência lógica no texto, tabelas e ilustrações. Não repita no texto todos os dados nas tabelas ou ilustrações; enfatize ou resuma apenas observações importantes.

Discussão

Enfatize os aspectos novos e importantes do estudo e as conclusões que se seguem. Não repita dados detalhados ou outro material fornecido na seção Introdução ou Resultados. Inclua na

seção Discussão as implicações dos resultados e suas limitações, incluindo implicações para pesquisas futuras. Relacione as observações com outros estudos relevantes.

Em particular, os contribuintes devem evitar declarações sobre os benefícios e custos econômicos, a menos que seu manuscrito inclua dados e análises econômicas. Evite reivindicar prioridade e aludir ao trabalho que não foi concluído. Indique novas hipóteses quando justificado, mas claramente as rotule como tal. Recomendações, quando apropriado, podem ser incluídas.

Agradecimentos (somente no arquivo de primeira página: Não no arquivo de manuscrito)

- 1. contribuições que precisam ser reconhecidas, mas não justificam a autoria, como o apoio geral de um chefe de departamento;
- 2. agradecimentos de ajuda técnica; e
- 3. reconhecimentos de apoio financeiro e material, que deve especificar a natureza do apoio. Esta deve ser a última página do manuscrito.

Referências

As referências devem ser numeradas consecutivamente na ordem em que são mencionadas pela primeira vez no texto (não em ordem alfabética). Identifique referências em texto, tabelas e legendas por algarismos arábicos em sobrescrito. As referências citadas apenas em tabelas ou legendas de figuras devem ser numeradas de acordo com a sequência estabelecida pela primeira identificação no texto da tabela ou figura específica. Use o estilo dos exemplos abaixo, que são baseados nos formatos usados pelo NLM no Index Medicus. Os títulos dos periódicos devem ser abreviados de acordo com o estilo usado no Index Medicus. Use o nome completo do periódico para diários não indexados. Evite usar resumos como referências. Informações de manuscritos submetidos mas não aceitos devem ser citadas no texto como "observações não publicadas" com permissão por escrito da fonte. Evite citar uma "comunicação pessoal", a menos que ela forneça informações essenciais não disponíveis em uma fonte pública; nesse caso, o nome da pessoa e a data da comunicação devem ser citadas entre parênteses no texto. Para artigos científicos, os contribuidores devem obter permissão por escrito e confirmação de precisão da fonte de uma comunicação pessoal. Se o número de autores for maior que seis, liste os seis primeiros autores seguidos de et al.

Referências de revistas

Artigo de periódico padrão

Kulkarni SB, Chitre RG, Satoskar RS. Proteínas séricas em tuberculose. J Postgrad Med 1960; 6: 113-120.

Volume com suplemento

Shen HM, Zhang QF. Avaliação de risco de carcinogenicidade do níquel e câncer de pulmão ocupacional. Environ Health Perspect 1994; 102 Suplemento 1: 275-282.

Emissão com suplemento

Payne DK, Sullivan MD, Massie MJ. Reações psicológicas das mulheres ao câncer de mama. Semin Oncol 1996; 23 (1, Suppl 2): 89-97.

Livros e outras monografias

Autor (es) pessoal (s)

Ringsven MK, Bond D. Gerontologia e habilidades de liderança para enfermeiros. 2ª ed. Albany (NY): Delmar Publishers; 1996.

Editor (s), compilador (s) como autor

Norman IJ, Redfern SJ, editores. Cuidados de saúde mental para pessoas idosas. Nova Iorque: Churchill Livingstone; 1996.

Capítulo em um livro

Phillips SJ, Whisnant JP. Hipertensão e acidente vascular cerebral. In: Laragh JH, Brenner BM, editores. Hipertensão: fisiopatologia, diagnóstico e manejo. 2ª ed. Nova Iorque: Raven Press; 1995. pp 465-478.

Faça o download de uma <u>apresentação do PowerPoint</u> em estilos de referência comuns e use o recurso de verificação de referências no site de submissão do manuscrito.

Tabelas

As tabelas devem ser auto-explicativas e não devem duplicar material textual.

- Tabelas com mais de 10 colunas e 25 linhas não são aceitáveis.
- Digite ou imprima cada tabela com espaçamento duplo em uma folha de papel separada. Se a mesa tiver que continuar, repita o título em uma segunda folha, seguida de "(cont.)".
- Numere as tabelas, em algarismos arábicos, consecutivamente na ordem de sua primeira citação no texto e forneça um breve título para cada uma.
- Coloque o assunto explicativo em notas de rodapé, não no cabeçalho.
- Explique em notas de rodapé todas as abreviaturas não padrão usadas em cada tabela.
- Obtenha permissão para todas as tabelas totalmente emprestadas, adaptadas e modificadas e forneça uma linha de crédito na nota de rodapé.
- Para notas de rodapé, use os seguintes símbolos, nesta seqüência: *, †, ‡, §, |, *, *, ††,
 ‡‡

Ilustrações (figuras)

- As figuras devem ser numeradas consecutivamente de acordo com a ordem em que foram citadas pela primeira vez no texto.
- Símbolos, setas ou letras usadas em fotomicrografias devem contrastar com o plano de fundo e devem ser marcados nitidamente com o tipo de transferência ou por sobreposição de tecido e não por caneta.
- Títulos e explicações detalhadas pertencem às legendas para ilustrações que não estão nas ilustrações em si.
- Quando gráficos, diagramas de dispersão ou histogramas são enviados, os dados numéricos nos quais eles são baseados também devem ser fornecidos.
- As fotografias e figuras devem ser aparadas para remover todas as áreas indesejáveis. IMAGENS COMPOSTAS PRECISAM SER CRIADAS APENAS POR AUTORES

- CERTIFIQUE-SE DE QUE A IMAGEM APRESENTADO UM TAMANHO MÍNIMO DE 1024X760 PIXELS.
- Se forem usadas fotografias de pessoas, os sujeitos não devem ser identificáveis ou suas fotos devem ser acompanhadas por permissão por escrito para usar a fotografia.
- Se uma figura tiver sido publicada, confirme a fonte original e envie permissão por escrito do detentor dos direitos autorais para reproduzir o material. Uma linha de crédito deve aparecer na legenda de figuras para tais números.
- O Jornal reserva o direito de cortar, girar, reduzir ou ampliar as fotografias para um tamanho aceitável.
- Formulário de liberação de imagem do paciente essencial.

Para envio online

- Envie imagens coloridas de boa qualidade.
- Cada imagem deve ter menos de 100 kb de tamanho. O tamanho da imagem pode ser reduzido diminuindo a altura e largura reais das imagens (mantenha até 400 pixels ou 3 polegadas).
- Todos os formatos de imagem (jpeg, tiff, gif, bmp, png, eps, etc.) são aceitáveis; jpeg é o mais adequado.
- As imagens devem ser digitalizadas a 72 dpi, tamanho não superior a 3x4 polegadas (ou 300x400 pixels), com apenas a parte necessária das fotografias. Sempre que necessário, digitalize em escala de cinzentos (por exemplo, raios X, ECGs). Para cópias impressas (a ser submetido somente após a aceitação do manuscrito)
- Envie impressões fotográficas coloridas nítidas, brilhantes e não montadas, com altura de 4 polegadas e largura de 6 polegadas.
- Cada figura deve ter uma etiqueta colada (evite o uso de chiclete líquido para colar) nas costas, indicando o número da figura, o título em execução, o topo da figura e as legendas da figura. Não escreva o / s nome / s do contribuidor. Não escreva no verso das figuras, risque-as ou marque-as usando clipes de papel.
- Etiquetas, números e símbolos devem ser claros e de tamanho uniforme. As letras para figuras devem ser grandes o suficiente para serem legíveis após a redução para se ajustarem à largura de uma coluna impressa.
- Para cópias em papel (para ser submetido somente após a aceitação do manuscrito)
- Use um CD. Não deve haver nenhum outro documento, arquivo ou material no disco além das imagens.
- Rotule o disco com o nome dos primeiros autores, título curto do artigo, tipo de imagem (por exemplo, Jpeg, tiff) e nome do arquivo.

Lendas para Ilustrações

- Digite ou imprima legendas (máximo de 40 palavras, excluindo a linha de crédito) para ilustrações usando espaçamento duplo, com algarismos arábicos correspondentes às ilustrações.
- Quando símbolos, setas, números ou letras são usados para identificar partes das ilustrações, identifique e explique cada uma claramente na legenda.
- Explique a escala interna e identifique o método de coloração em fotomicrografias.

Proteção dos direitos dos pacientes à privacidade

As informações de identificação não devem ser publicadas em descrições escritas, fotografias, ultrassonografias, tomografia computadorizada, etc. e pedigrees, a menos que a informação seja essencial para propósitos científicos e o paciente (ou pai ou responsável, onde aplicável) forneça consentimento informado para publicação. Os autores devem remover os nomes dos pacientes das figuras, a menos que tenham obtido o consentimento informado dos pacientes. A revista segue as diretrizes do ICMJE:

- 1) Os autores, não os periódicos nem o editor, precisam obter o consentimento do paciente antes da publicação e ter o formulário devidamente arquivado. Os formulários de consentimento não devem ser enviados com a carta de apresentação ou enviados por e-mail para escritórios editoriais ou editores.
- 2) Se o manuscrito contiver imagens de pacientes que excluam o anonimato, ou uma descrição que tenha uma indicação óbvia da identidade do paciente, uma declaração sobre a obtenção do consentimento informado do paciente deve ser indicada no manuscrito.

Envio de um manuscrito revisado

Ao enviar um manuscrito revisado, os contribuidores devem incluir, juntamente com uma única cópia do manuscrito revisado final, uma fotocópia do manuscrito revisado com as alterações sublinhadas em vermelho e uma cópia dos comentários com o esclarecimento ponto a ponto para cada comentário. O número do manuscrito deve ser mencionado sem falta.

O formulário dos autores e o formulário de transferência de direitos autorais devem ser enviados no original com as assinaturas de todos os contribuintes no momento da submissão da cópia revisada.

Taxas de impressão de artigos

Olhando para o alto custo da impressão e a necessidade de manter os altos padrões desta revista indexada, é política editorial cobrar pelo custo de publicação do artigo do (s) autor (es). Os detalhes das taxas de impressão são os seguintes: **Para autores indianos:**

Para Revisão, Pesquisa Original e Relatos de Casos

- INR 5000 / para impressão.
- INR 500 / para 25 reimpressões (opcional).

Para comunicação breve

- INR 3000 / para impressão.
- INR 500 / para 25 reimpressões (opcional).

Para autores estrangeiros:

Para Revisão, Pesquisa Original e Relatos de Casos

- US \$ 150 ou Euro 110 ou equivalente para impressão.
- US \$ 20 ou 15 euros ou equivalente para 25 reimpressões (opcional).

Para comunicação breve

- US \$ 100 ou Euro 80 ou equivalente para impressão.
- equivalente a US \$ 20 ou 15 euros para 25 reimpressões (opcional).

Reimpressões

Vinte e cinco reimpressões impressas e reimpressão eletrônica estarão disponíveis mediante o pagamento de Rs. 500 / - apenas

Copyrights

Toda a matéria literária é de direito autoral do Conselho Editorial. O Journal, entretanto, concede a todos os usuários um direito de acesso gratuito, irrevogável e perpétuo em todo o mundo a uma licença para copiar, usar, distribuir, executar e exibir o trabalho (seja em formato pré-impresso ou pós-impressão) publicamente. e para fazer e distribuir trabalhos derivados em qualquer meio digital para qualquer finalidade não comercial razoável, sujeito à devida atribuição de autoria e propriedade dos direitos. A revista também concede o direito de fazer um pequeno número de cópias impressas para seu uso pessoal e não comercial. O formulário de copyright devidamente assinado por todos os autores deve ser submetido juntamente com o manuscrito.

Formulário dos contribuidores

Por favor, baixe o formulário abaixo. <u>Também contém o formulário de declaração de função do Colaborador; Formulário de liberação da imagem do paciente</u>

POR FAVOR, NOTE QUE TODOS OS AUTORES TÊM DE COLOCAR AS SUAS ASSINATURAS NO FORMULÁRIO DE DIREITOS AUTORAIS E NO FORMULÁRIO DE DECLARAÇÃO DE PAPEL DA AUTORIA (INICIAIS).

A SUBSTITUIÇÃO DE ASSINATURAS PODE LEVAR À REJEIÇÃO IMEDIATA.

Lista de controle

((a ser marcada, con	forme aplicáve	l e uma cópia	anexa ao man	uscrito)	
_	Título do manuscrit	to				
						-

Carta de apresentação

- Publicações / apresentações relacionadas anteriormente. Nota: Nem todas as publicações; Somente aqueles que representam um conflito ou conflito em potencial
- Fonte de financiamento mencionada
- Conflitos de interesse divulgados detalhadamente

Autores

- Iniciais do nome do meio fornecidas
- Autor para correspondência, com endereço de e-mail fornecido
- Número de colaboradores restritos de acordo com as instruções
- Identidade não revelada em papel, exceto página de título (por exemplo, nome do instituto em material e métodos, citando estudo anterior como 'nosso estudo', nomes em etiquetas de figuras, nome do instituto em fotografias, etc.)
- CERTIFIQUE-SE DE COPIAR TODAS AS FASES PARA TODOS OS AUTORES GARANTIR A TRANSPARÊNCIA E A RESPONSABILIZAÇÃO.

Apresentação e formato

- Espaçamento duplo
- Fonte Times New Roman 12 tamanho
- Margens 2,5 cm de todos os quatro lados
- Página de título contém todas as informações desejadas (vide supra)
- Título em execução fornecido (não mais que 50 caracteres)
- Página abstrata contém o título completo do manuscrito
- Resumo fornecido (não mais de 150 palavras para relatos de casos e 250 palavras para artigos originais)
- Resumo estruturado fornecido para um artigo original
- Palavras-chave fornecidas (três ou mais)
- Mensagens-chave fornecidas
- Introdução de 75-100 palavras
- Cabeçalhos no caso do título (não TODAS AS CAPITAIS)
- Referências citadas em sobrescrito no texto sem parênteses
- Referências de acordo com as instruções da revista, sinais de pontuação marcados

Linguagem e gramática

- Inglês Britânico Uniforme
- Abreviações soletradas na íntegra pela primeira vez
- Numerais de 1 a 10 soletrados
- Numerais no início da frase enunciados

Tabelas e Figuras

- Nenhuma repetição de dados em tabelas e gráficos e no texto
- Números reais dos gráficos desenhados, desde
- Figuras necessárias e de boa qualidade (cor)
- Números de tabela e figura em letras árabes (não romanas)
- Etiquetas coladas no verso das fotografias (sem nomes escritos)
- Legendas de figuras fornecidas (não mais do que 40 palavras)
- Privacidade dos pacientes mantida (se não for dada permissão)
- Nota de crédito para figuras emprestadas / tabelas fornecidas