

**UNIVERSIDADE BRASIL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ENGENHARIA BIOMÉDICA
CAMPUS ITAQUERA**

KARINA GONZALEZ CAMARA FERNANDES

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÁGUA
OZONIZADA NA DESINFECÇÃO DE CANAIS RADICULARES
CONTAMINADOS: ESTUDO *IN VITRO***

**EVALUATION OF DIFFERENT CONCENTRATIONS OF OZONIZED
WATER IN DISINFECTION OF CONTAMINATED ROOT CANAL: *IN
VITRO* STUDY**

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA

KARINA GONZALEZ CAMARA FERNANDES

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÁGUA
OZONIZADA NA DESINFECÇÃO DE CANAIS RADICULARES
CONTAMINADOS: ESTUDO *IN VITRO***

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Doutor em Engenharia Biomédica.

Profa. Dra. Livia Assis Garcia
Orientadora

Profa. Dra. Carla Roberta Tim
Coorientadora

São Paulo - SP
2022

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da Universidade Brasil,
com os dados fornecidos pelo (a) autor (a).

F399a FERNANDES, Karina Gonzalez Camara.

Avaliação de diferentes concentrações de água ozonizada na desinfecção de canais radiculares contaminados: estudo *in vitro* / Karina Gonzalez Camara Fernandes. -- São Paulo: Universidade Brasil, 2022.

63 f.: il. color.

Tese de Doutorado defendida no Programa de Pós-graduação do Curso de Engenharia Biomédica da Universidade Brasil.

Orientação: Profa. Dra. Livia Assis Garcia.

Coorientação: Profa. Dra. Carla Roberta Tim.

1. Ozonioterapia. 2. Tratamento endodôntico. 3. *Enterococcus faecalis*. 4. Hipoclorito de sódio. 5. Irrigantes do canal radicular I. Garcia, Livia Assis. II. Tim, Carla Roberta. III. Título.

CDD 620.82



**UNIVERSIDADE
BRASIL**

TERMO DE APROVAÇÃO

KARINA GONZALEZ CAMARA FERNANDES

**“AVALIAÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÁGUA OZONIZADA NA
DESINFECÇÃO DE CANAIS RADICULARES CONTAMINADOS: ESTUDO IN VITRO”.**

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do título de **Doutor no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica** da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:

Livia Assis Garcia

Prof(a). Dr(a) Livia Assis Garcia (presidente-orientadora)

Luciana Estevam Simonato de Oliveira

Prof(a). Dr(a) Luciana Estevam Simonato de Oliveira (UNIVERSIDADE BRASIL)

Dora Inés Kozusny-Andreani

Prof(a). Dr(a) Dora Inés Kozusny-Andreani (UNIVERSIDADE BRASIL)

Hananiah Tardivo Quintana

Prof(a). Dr(a) Hananiah Tardivo Quintana (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO)

Cintia Cristina Santi Martignago

Prof(a). Dr(a) Cintia Cristina Santi Martignago (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS)

São Paulo, 09 de setembro de 2022.
Presidente da Banca Prof.(a) Dr.(a) Livia Assis Garcia

Houve alteração do Título: sim () não ():



**UNIVERSIDADE
BRASIL**

Termo de Autorização

Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página WWW do Respeetivo Programa da Universidade Brasil e no Banco de Teses da CAPES

Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(amos) a Universidade Brasil a disponibilizar através do site <http://www.universidadebrasil.edu.br>, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, bem como no Banco de Dissertações e Teses da CAPES, através do site <http://bancodeteses.capes.gov.br>, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira.

A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.

Título do Trabalho: **“AVALIAÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÁGUA OZONIZADA NA DESINFECÇÃO DE CANAIS RADICULARES CONTAMINADOS: ESTUDO IN VITRO”**

Autor(es):

Discente: **Karina Gonzalez Camara Fernandes**

Assinatura: Karina Gonzalez Camara Fernandes

Orientador(a): **Prof.(a) Dr.(a) Livia Assis Garcia**

Assinatura: Livia Assis Garcia

Coorientador(a): **Prof.(a) Dr.(a) Carla Roberta Tim**

Assinatura: Carla Roberta Tim

Houve alteração do Título: sim () não ():

Data: 09/09/2022

Campus Itaquera

Rua Carolina Fonseca, 584, Itaquera - São Paulo/SP | 08230-030

Central de Relacionamento com o Aluno - 08007807070

www.ub.edu.br

DEDICATÓRIA

Ao meu esposo, que sempre me apoiou e me auxiliou nas minhas decisões em busca dos meus sonhos.

Aos meus filhos que foram sacrificados por minha ausência e sempre compreenderam e apoiaram a minha luta.

Aos meus pais e irmãos que acreditaram, incentivaram e me apoiaram no caminho da docência, auxiliando em todos os momentos.

Com dedicação e muito amor a minha família.

AGRADECIMENTOS

A Deus, força maior, que me guia e conduz em todos os momentos da minha vida. Ao meu marido Fabio, meus filhos Lucas e Heitor, meus pais, minha sogra Vera, a Mônica e a Rosângela pelo amor, incentivo e paciência.

A Professora Dra. Livia Garcia Assis, pela confiança, paciência e orientação para a execução deste trabalho, extremamente dedicada, organizada e competente.

A Professora Dra. Dora Inés Kozusny-Andreani responsável pelo Laboratório de Microbiologia da Universidade Brasil – Campus Fernandópolis, pela disponibilidade e auxílio na execução desta pesquisa. As técnicas do laboratório de microbiologia Evelin Joelma, Ana Célia e Rosimeire que estiveram ao meu lado durante toda a execução da pesquisa.

A oportunidade da amizade e da convivência com a amiga Professora Dra. Lucieni Moreti Trovati, compartilhamos conhecimentos favorecendo nosso crescimento intelectual e fortalecemos nosso vínculo.

Agradecimento especial à Universidade Brasil pelo Programa de bolsa Pró-mestre na qual sou bolsista.

RESUMO

Na prática clínica da Odontologia, é evidenciado que, apesar dos avanços tecnológicos, os agentes microbianos ainda são os principais responsáveis pelo insucesso endodôntico. O preparo químico mecânico, técnica utilizada na Endodontia, tem como objetivo a desinfecção e a remoção do tecido necrosado e seus subprodutos do sistema de canais radiculares. No entanto, o preparo, muitas vezes, não é suficiente para a limpeza satisfatória em virtude da complexidade anatômica do sistema de canais radiculares, podendo gerar a permanência de micro-organismos que poderão continuar viáveis e ativos, interferindo no processo de recuperação dos tecidos perirradiculares. Desta forma, se faz necessária a busca por soluções irrigadoras ideais que possam proporcionar melhores resultados no tratamento endodôntico. O objetivo do presente estudo foi avaliar e comparar, *in vitro*, a efetividade de diferentes concentrações de água ozonizada na desinfecção de canais radiculares inoculados com *Enterococcus Faecalis* (*E. Faecalis*). Foram utilizados 75 pré-molares humanos extraídos, apresentando único canal, aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa CEP, número da aprovação 26629619.9.0000.5494. Os dentes foram seccionados, contaminados com *E. Faecalis* e incubados por 21 dias a 37° C. Foram realizadas coletas iniciais com cone de papel absorvente para confirmação da contaminação. Posteriormente, foi realizado o preparo químico mecânico, utilizando instrumentação mecânica com lima endodôntica e as amostras foram divididas em 5 grupos de acordo com as soluções irrigadoras (n = 15): Grupo Solução Salina (SS): solução irrigadora foi a solução salina; Grupo Hipoclorito de sódio a 2,5% (NaOCl): solução irrigadora de hipoclorito de sódio a 2,5%; Grupo Ozônio 10 (O10): a solução irrigadora de água ozonizada na concentração de 10 µg/mL; Grupo Ozônio 20 (O20): solução irrigadora de água ozonizada na concentração de 20 µg/mL; Grupo Ozônio 30 (O30): solução irrigadora de água ozonizada na concentração de 30 µg/mL. Após instrumentação mecânica e irrigação foi realizada segunda coleta com cone de papel, as variáveis foram coletadas e analisadas antes e após preparo químico mecânico. Os principais resultados mostraram que a água ozonizada utilizada como solução irrigadora foi eficaz em reduzir o número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) em todas as concentrações (O10, 17,48% O20, 18,87% e O30, 32,87%) sendo que o maior porcentual de redução foi observado na concentração de 30 µg/mL. No entanto, não foi possível observar redução superior de UFC nos grupos O10 e O20

quando comparado ao irrigante NaOCl. Em conclusão, a água ozonizada utilizada como solução irrigadora, com destaque para a concentração de 30 µg/mL, promoveu ação antimicrobiana sobre *E. Faecalis*, um dos principais micro-organismos responsáveis por complicações críticas na Endodontia, podendo ser proposto como um coadjuvante em tratamentos endodônticos.

Palavras-chaves: Ozonioterapia. Tratamento endodôntico. *Enterococcus faecalis*. Hipoclorito de sódio. Irrigantes do canal radicular.

ABSTRACT

In the clinical practice of dentistry, it is evident that despite technological advances, microbial agents are still the main responsible for endodontic failure. Mechanical chemical preparation, a technique used in endodontics, aims to remove necrotic tissue, microbial agents and their by-products from the root canal system. However, preparation is often not sufficient for satisfactory cleaning due to the anatomical complexity of the root canal system, which may lead to the permanence of microorganisms that may remain viable and active, interfering with the recovery process of periradicular tissues. In this way, it is necessary to search for ideal irrigating solutions that can provide better results in endodontic treatment. The aim of the present study was to evaluate and compare, *in vitro*, the effectiveness of different concentrations of ozonated water in the disinfection of root canals inoculated with *Enterococcus Faecalis* (*E. Faecalis*). We used 75 extracted human premolars, with a single canal, approved by the Research Ethics Committee (CEP), approval number 26629619.9.0000.5494. The teeth were sectioned and contaminated with *E. Faecalis* and incubated for 21 days at 37°C. Initial collections were performed with absorbent paper cones to confirm contamination. subsequently, PQM mechanical chemical preparation was performed, using mechanical instrumentation with a WaveOne® Primary file and the samples were divided into 5 groups according to the irrigating solutions (n = 15): Saline Solution Group (SS): irrigating solution was saline; 2.5% sodium hypochlorite group (NaOCl): 2.5% sodium hypochlorite irrigating solution; Ozone Group 10 (O10): the irrigating solution of ozonized water at a concentration of 10 µg/mL; Ozone Group 20 (O20): irrigating solution of ozonized water at a concentration of 20 µg/mL; Ozone Group 30 (O30): irrigating solution of ozonized water at a concentration of 30 µg/mL. After mechanical instrumentation and irrigation, a second collection was performed with a paper cone, so the variables analyzed were the collections before and after the PQM. The main results show that the ozonated water used as an irrigating solution in the mechanical chemical preparation was effective in reducing the number of CFU Colony Forming Units at all concentrations (O10, 17,48% O20, 18,87% and O30, 32,87%) and the highest percentage of reduction was observed at the concentration of 30 µg/mL. However, it was not possible to observe a higher reduction of CFU in the groups treated with ozonated water when compared to the irrigant NaOCl. In conclusion, the ozonated water used as an irrigating

solution, with emphasis on the concentration of 30 µg/mL, promoted antimicrobial action against *E. Faecalis*, one of the main microorganisms responsible for critical complications in endodontics, and can be proposed as an adjuvant in endodontic treatments.

Keywords: Ozone therapy. Endodontic treatment. *Enterococcus faecalis*. Sodium hypochlorite. Root canal irrigants.

DIVULGAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE CONHECIMENTO

A endodontia é o ramo da Odontologia que cuida do diagnóstico, prevenção e tratamento das alterações que ocorrem no interior do canal radicular e ao redor dele. A permanência de micro-organismos no canal radicular pode ocasionar insucesso no tratamento endodôntico. A realização desta pesquisa teve como objetivo avaliar meios que podem aprimorar a irrigação dos canais radiculares, a fim de promover uma melhor desinfecção. Durante a instrumentação, associou-se soluções irrigadoras como solução salina, hipoclorito de sódio (NaOCl) e água ozonizada (em diferentes concentrações), seguido da execução de avaliação microbiológica, para identificar possíveis efeitos antimicrobianos. Os resultados do trabalho mostraram que os irrigantes pesquisados contribuíram na diminuição da quantidade de bactérias no interior do canal radicular, com destaque para a água ozonizada na concentração de 30 µg/mL, podendo ser utilizada como um recurso coadjuvante na Endodontia. Atualmente, a ciência evolui a passos largos e novas tecnologias são desenvolvidas em ciclos cada vez menores, forçando constantes revisões de conceitos e fundamentos técnicos.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Elemento dental e estruturas.	23
Figura 2 - Sistema de canais radiculares.	24
Figura 3 - Imagem representativa de radiografia digital de três pré-molares inferiores para confirmar com canal único	32
Figura 4 - Imagem representativa da padronização das amostras em 16 mm de comprimento, com auxílio de paquímetro	33
Figura 5 - Imagem representativa das espécimes posicionadas em placa de poliestireno para inoculação e incubação	34
Figura 6 - Imagem representativa dos procedimentos realizados em câmara de fluxo laminar	35
Figura 7 - Imagem representativa da preparação da suspensão de <i>Enterococcus faecalis</i>	36
Figura 8 - Imagem representativa dos cinco grupos com 15 amostras, que foram contaminadas com a suspensão de <i>E. faecalis</i>	37
Figura 9 - Imagem representativa da coleta prévia com auxílio de cone de papel esterilizado	38
Figura 10 - <i>Eppendorf</i> ® agitado por trinta segundos em agitador de tubos.	38
Figura 11 - Imagem representativa da amostra espalhada de forma homogênea em placas de Petri contendo ágar BHI, com auxílio de uma alça de vidroestéril ³⁹	39
Figura 12 - Imagem representativa do contador de colônias (CP 600, Phoenix, Araraquara, SP/Brasil)	39
Figura 13 - Imagem representativa dos canais radiculares sendo instrumentados com sistema <i>WaveOne</i> ® <i>Primary</i>	40
Figura 14 - Imagem representativa do motor elétrico <i>X Smart Plus</i> ®	40
Figura 15 - Imagem representativa do gerador de ozônio <i>Ozone Life</i>	41
Figura 16 - Imagem representativa da câmara de fluxo laminar a água ozonizada 30 µg/mL e demais equipamentos para execução do PQM e irrigação dos canais.	42

Figura 17 - Gráfico representativo dos resultados da análise de UFC inicial	44
Figura 18 - Imagens representativas da UFC de <i>E. faecalis</i>	45
Figura 19 - Gráficos representativos dos resultados da análise comparativa de UFC em diferentes concentrações de água ozonizada	46

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ATCC	Coleção de micro-organismos norte americana
BHI	Brain heart infusion broth
C. albicans	Cândida albicans
cc	Centímetro cúbico
CFO	Conselho Federal de Odontologia
CO ₂	Gás carbônico
CT	Comprimento de trabalho
E. faecalis	Enterococcus faecalis
h	Horas
IL	interleucinas
K	Lima Kerr
L	Litro
LTA	Ácido lipoteicóico
ml	Mililitros
mm	Milímetros
MMPS	Metaloproteinases
NaOCl	Hipoclorito de sódio
O ₂	Oxigênio
O ₃	Ozônio
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PDT	Terapia fotodinâmica
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
PGE ₂	prostaglandinas do tipo 2
ppm	Parte por milhão
PQM	Preparo químico mecânico
PUI	Irrigação ultrassônica passiva
qPCR	Quantitativos reação em cadeia da polimerase
s	Segundos
SS	Solução salina

UFC

Unidades formadoras de colônia

USA

Estados Unidos da América

UV

Ultravioleta

LISTA DE SÍMBOLOS

µm	Micrômetro
°C	Grau Celsius
®	Direitos autorais
µg/mL	Micrograma por mililitro
µL	Micrograma por litro
%	Porcentagem
&	E
#	Número

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 OBJETIVOS	21
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3 REVISÃO DA LITERATURA	22
3.1 ENDODONTIA E MICROBIOTA	22
3.3 OZONIOTERAPIA	27
4 METODOLOGIA	31
4.1 TIPO E LOCAL DE ESTUDO	31
4.2 ASPECTOS ÉTICOS	31
4.3 AMOSTRA	31
4.4 DESENHO DO ESTUDO	32
4.4.1 Preparo dos dentes	33
4.4.2 Preparo da suspensão de <i>E. faecalis</i>	34
4.4.3 Contaminação dos dentes com <i>E. faecalis</i>	36
4.4.4 Contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) antes do preparo químico mecânico (PQM)	37
4.4.5 Tratamento endodôntico: PQM e preparação da água ozonizada .	39
4.4.6 Contagem das UFC após PQM	42
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	43
5 RESULTADOS	44
5.1 ANÁLISE DAS UFC INICIAL (APÓS INOCULAÇÃO)	44
5.2 ANÁLISE DA UFC APÓS TRATAMENTO	44
6 DISCUSSÃO	47
7 CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS	52
ANEXO A - Comitê de Ética em Pesquisas	62

1 INTRODUÇÃO

A cavidade oral possui uma das maiores taxas de micro-organismos existentes no corpo humano, ou seja, vírus, fungos, leveduras, protozoários e as bactérias (SIQUEIRA JÚNIOR e ROÇAS, 2009). Uma vez que os dentes fazem parte da cavidade oral, a anatomia fechada da polpa dentária associado à dentina (esmalte e cimento) fornecem uma barreira primária eficaz contra a colonização microbiana (GOMES e HERRERA, 2018). Entretanto, caso as barreiras físicas e/ou biológicas do canal radicular sejam rompidas, a microbiota oral normal poderá dar origem a patógenos oportunistas dentro do espaço pulpar, ocasionando uma infecção local (GOMES e HERRERA, 2018; BOCH et al., 2016).

Na terapia endodôntica, o sucesso está intimamente ligado à eliminação de micro-organismos, da dentina infectada, tecidos necrosados e subprodutos presentes no canal radicular (NOGALES, 2016). Para isso, faz-se necessário a modelagem do canal, o preparo químico mecânico, utilizando solução irrigadora e limas endodônticas (ESTRELA et al., 2014). Durante tal procedimento, muitas vezes, uma porcentagem significativa da superfície interna do canal radicular não é alcançada, devido à complexidade anatômica do local, favorecendo a permanência e crescimento de micro-organismos que poderão intensificar a lesão das estruturas locais (GOMES e HERRERA, 2018; SILVA et al., 2020).

Dentre os micro-organismos mais prevalentes, destaca-se o *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*), responsável por ocasionar diversas doenças que acometem a polpa e a região perirradicular (GOMES e HERRERA, 2018). Estudos têm indicado que o *E. faecalis* está diretamente associado a reação inflamatória intensa, reabsorção de tecidos mineralizados, à sintomatologia clínica e aos casos de insucesso do tratamento endodôntico (MOLANDER e DAHLÉN, 2003; SEDGLEY et al., 2005). Estudo de Sjögren et al. (1997) ressaltou a importância da completa eliminação de bactérias do sistema de canais radiculares antes da obturação, uma vez que a presença de micro-organismos após o tratamento endodôntico exerce um papel significativo no seu insucesso.

Diversos estudos demonstraram que, até o momento, nenhum protocolo utilizado para desinfecção dos sistemas de canais radiculares proporciona eliminação

completa de micro-organismos (SIQUEIRA JÚNIOR et al., 2018; SILVA et al., 2020). O hipoclorito de sódio (NaOCl) é o irrigante de canal radicular mais comumente utilizado na prática clínica mundial em endodontia devido a sua atividade antimicrobiana de redução significativa nos níveis de endotoxinas (ZEHNDER, 2006; FIDALGO et al., 2010; NEELAKANTAN et al., 2019). De maneira similar, a clorexidina, uma outra opção de solução irrigadora, por apresentar potencial antimicrobiano, possui efeito de substantividade, ou seja, efeito residual de ação prolongada (NOITES et al., 2014). Além disso, tem sido demonstrado que a eficácia desses irrigantes dependem de sua concentração, temperatura, solução de pH e condições de armazenamento. Quanto maior a concentração desses irrigantes, mais grave é a reação potencial que pode ocorrer se esse for levado inadvertidamente aos tecidos periapicais, além de possíveis micro-organismos resistentes (PLOTINO et al., 2016; DING et al., 2019).

Desta forma, técnicas mais inovadoras precisam ser desenvolvidas e testadas com objetivo de promover uma desinfecção adicional do sistema de canais radiculares (SILVA et al., 2020; DIOGUARDI et al., 2018; ESLAMI et al., 2019; DANTAS et al., 2020; DIOGUARDI et al., 2018; ESLAMI et al., 2019; SILVA et al., 2020).

A ozonioterapia é baseada na utilização do ozônio, um gás natural, que possui a capacidade de se dissociar rapidamente e oxidar estruturas celulares como proteínas e lipídeos insaturadas, formando subprodutos denominados de ozonídeos, aldeídos e peróxidos de hidrogênio, capazes de produzir efeitos antimicrobianos (DING et al., 2019; SCHWARTZ e SÁNCHEZ, 2012; BOCH et al., 2016; CASE et al., 2012). Na Endodontia, considera-se que a ozonioterapia é um coadjuvante promissor na desinfecção do sistema de canais radiculares, uma vez que a terapêutica mostra efeitos positivos na eliminação de alguns micro-organismos (NAGAYOSHI et al., 2004; NOITES et al., 2014; HUBBEZOGLU et al., 2014; NOGALES et al., 2014).

Desta forma, embora haja trabalhos sugerindo a ozonioterapia como uma técnica de desinfecção emergente e promissora, há uma carência de estudos na literatura investigando o efeito deste recurso, especialmente o uso do gás administrado através de água no preparo químico mecânico, assim como a melhor dosimetria a ser utilizado nos tratamentos endodônticos. Diante disto, foi levantada a hipótese de que a água ozonizada poderia inativar os micro-organismos mais prevalentes e responsáveis por ocasionar o insucesso do tratamento endodôntico, constituindo-se um tratamento adequado e eficaz a ser utilizado na prática clínica.

2 OBJETIVOS

O objetivo do presente estudo foi avaliar e comparar, *in vitro*, a efetividade da água ozonizada em diferentes concentrações na desinfecção de canais radiculares inoculados com *E. Faecalis*.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar se a água ozonizada, em diferentes concentrações, foi eficiente em proporcionar efeito antimicrobiano.
- Identificar a melhor concentração de água ozonizada na desinfecção de canais radiculares inoculados com *E. Faecalis*.
- Comparar a eficácia da água ozonizada com o irrigante NaOCl.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 ENDODONTIA E MICROBIOTA

Na prática endodôntica três condições podem estar presentes na execução do tratamento: biopulpectomia, situação clínica na qual a polpa se encontra viva; necropulpectomia, quando já ocorreu a necrose dos tecidos, infecção pulpar; e casos de retratamento. O sucesso do tratamento endodôntico depende do conhecimento de cada uma destas três condições (SIQUEIRA JÚNIOR et al., 2018). A diferença fundamental entre estas condições reside no fato de que nos casos de necropulpectomia e de retratamento são caracterizados pela presença de infecção, enquanto na biopulpectomia as polpas vitais são livres de infecção (SIQUEIRA JÚNIOR, 2001).

Na terapia endodôntica, o sucesso está intimamente ligado à desinfecção e modelagem do canal, com o uso de um preparo químico mecânico através de solução irrigadora e limas endodônticas, seguido de obturação final (NOGALES, 2016; RICUCCI e SIQUEIRA JÚNIOR, 2008; ESTRELA et al., 2014; GOMES e HERRERA, 2018; SILVA et al., 2020). Durante tal procedimento, muitas vezes, uma porcentagem significativa da superfície interna do canal radicular não é alcançada, devido à complexidade anatômica do local, favorecendo a permanência e crescimento de micro-organismos que poderão intensificar a lesão das estruturas locais (GOMES e HERRERA, 2018; SILVA et al., 2020).

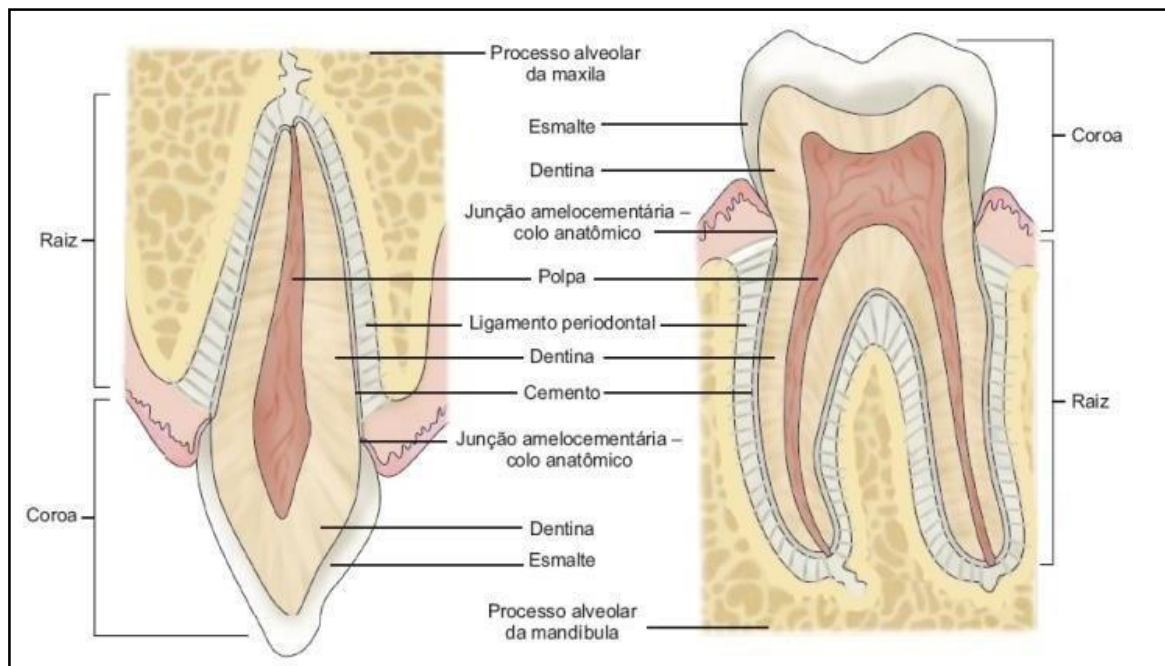
Dentro deste contexto, faz-se necessário o conhecimento anatômico do elemento dental e suas principais estruturas (Figura 1). O dente é formado pela raiz e coroa. A raiz é responsável por manter o dente inserido no osso e constitui mais ou menos dois terços do seu tamanho. Geralmente, os dentes caninos e os incisivos possuem apenas uma raiz, enquanto os molares e pré-molares podem ter de três a quatro raízes (PIERI, 2011).

A coroa é revestida por esmalte e sob ele há a dentina. O esmalte dentário é a estrutura mais resistente e o tecido mais mineralizado do corpo, composto aproximadamente 97% de minerais, o restante de água e materiais orgânicos. A dentina popularmente conhecida como o “corpo” do dente, é um tecido conjuntivo mineralizado e avascular. Em sua porção coronária é recoberta pelo esmalte, na

porção radicular pelo cemento e na superfície interna delimita a cavidade pulpar onde se aloja a polpa dentária. Dentina e polpa formam um complexo em íntima relação topográfica, embriológica e funcional, por isso têm características biológicas comuns. Na dentina encontramos inúmeros canalículos, os túbulos da dentina, que se irradiam desde a cavidade pulpar até a periferia (GOLDBERG et al., 2011).

Cemento é um tecido conjuntivo mineralizado especializado que recobre a superfície da raiz. Tem muitas características comuns com o tecido ósseo do dente, entretanto é avascular, não possui vasos linfáticos e inervação e não entra em reabsorção fisiológica (ou remodelamento), mas é caracterizado por uma contínua deposição ao longo da vida. Nesta estrutura é onde o ligamento periodontal (tecido conjuntivo que une o dente ao osso alveolar) se conecta ao dente (HO, 2009).

Figura 1 - Elemento dental e estruturas

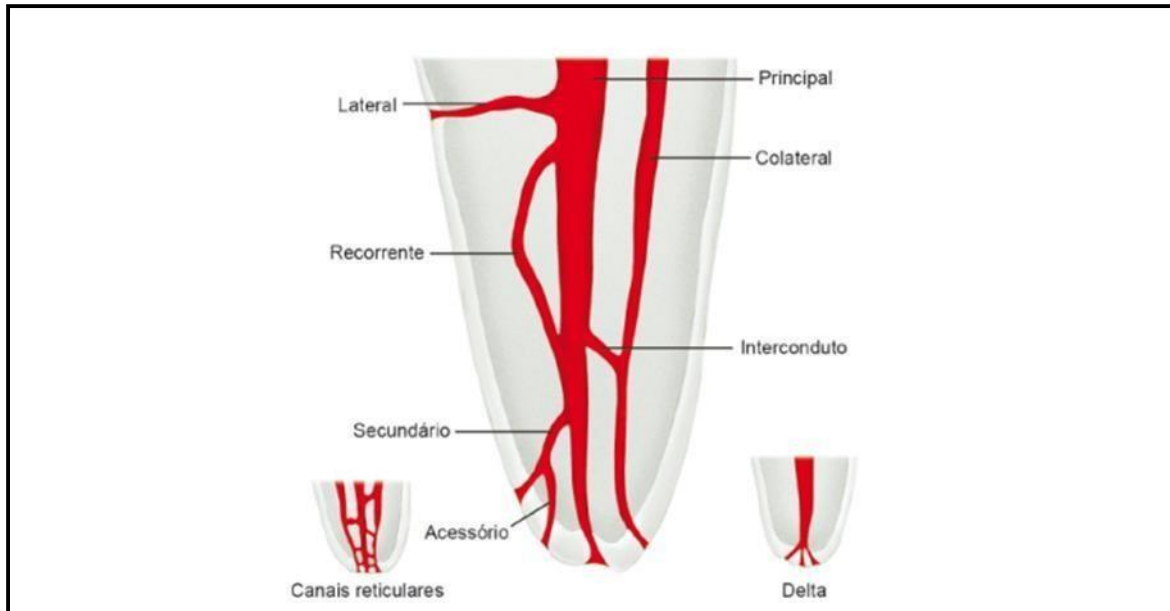


Fonte: Reher Peter (2020).

A cavidade pulpar possui divisões e topograficamente essa cavidade é dividida em duas porções: porção coronária ou câmara pulpar e porção radicular, onde a polpa se aloja. A polpa é um tecido conjuntivo com diversos vasos sanguíneos, nervos, assim como células nervosas especializadas (SIQUEIRA JÚNIOR et al., 2018). Já, o conduto radicular, também conhecido como canal radicular (Figura 2), acompanha a forma externa da raiz, tendo a forma cônica da coroa para o ápice, onde termina o forame apical. Dentro da raiz, além do principal, há canais colaterais, laterais, recorrentes,

ramificações apicais, e a literatura mais atual vêm utilizando a nomenclatura de sistemas de canais radiculares (AHMED, 2016).

Figura 2 - Sistema de canais radiculares



Fonte: Reher Peter (2020).

O conhecimento preciso da morfologia do sistema de canal radicular é essencial antes que um procedimento endodôntico possa ser executado de forma racional, visto que os micro-organismos invadem e colonizam todas estas estruturas (SIQUEIRA JÚNIOR et al., 2018).

Desde o estudo experimental de Kakehashi et al. (1965), os autores descrevem que os micro-organismos desempenham um papel muito importante na etiopatogenia das alterações que ocorrem no periápice. Os autores observaram que após a exposição do tecido pulpar do primeiro molar por 45 dias, os animais apresentaram um processo inflamatório crônico, completa necrose da polpa associado à formação de abscessos na região de ápice.

Micro-organismos como bactérias, fungos (GOMES et al., 2004; SUNDE et al., 2002) e vírus também têm sido identificados em sítios endodônticos (SABETI e SLOTS, 2004; SIQUEIRA JÚNIOR e ROÇAS, 2009). Assim, além do conhecimento da anatomia da região, o entendimento minucioso da microbiologia que infecta o sistema de canais radiculares é fundamental para lograr êxito na terapia endodôntica, visto que, os micro-organismos desempenham um papel crucial na etiologia das

doenças de origem endodôntica e estes viáveis dentro do espaço do canal radicular podem levar ao fracasso do tratamento endodôntico (SIQUEIRA e RÔÇAS, 2002; RICUCCI e SIQUEIRA JÚNIOR, 2010; SALAS et al., 2021).

Um estudo de 1992 realizado por Sundqvist, descreve sobre a flora radicular e a respeito das bactérias e outros micro-organismos presentes em infecções endodônticas. Nesse trabalho é citado que a *E. faecalis*, uma bactéria Gram-positiva, são as responsáveis por estabelecerem as infecções mais difíceis de serem tratadas, já que se trata de um micro-organismo muito resistente. O estudo de Gomes et al. (2008) avaliou a presença de nove espécies bacterianas em canais radiculares obturados portadores de lesões periapicais, utilizando a reação em cadeias de polimerase (PCR). Os resultados deste estudo também mostram que o *E. faecalis* foi o micro-organismo mais prevalente de canais radiculares. Ainda, Zhang et al. (2015), após uma revisão sistemática de literatura, mostraram que a prevalência de *E. faecalis* é grande em infecções endodônticas secundárias, com estudos de método de cultura e moleculares.

Interessantemente, um recente estudo de Salas et al. (2021), avaliou a penetração de micro-organismos em túbulos dentinários de paredes de canais radiculares instrumentados e retratados. Os autores concluíram que os micro-organismos podem penetrar facilmente nos túbulos dentinários dos canais radiculares e, destacando que a penetração, especialmente por *E. faecalis*, que pode se estender a maiores de profundamente na dentina, conforme relatado previamente nos estudos de Haapasalo e Orstavik (1987).

A literatura mostra que o fator de virulência da bactéria Gram-positiva, conhecido como ácido lipoteicóico (LTA), é o responsável por promover uma resposta inflamatória local que ativam monócitos/macrófagos com consequente liberação de radicais livres e citocinas pro-inflamatórias, que por sua vez estão diretamente relacionados à destruição do tecido radicular e perirradicular (GOMES e HERRERA, 2018). Os principais mediadores inflamatórios liberados nesse processo são: o fator de necrose tumoral, interleucinas (IL-1 α , IL-1 β e IL-6), prostaglandinas do tipo 2 (PGE2), e diversas metaproteinases (MMPs). Esses mediadores estão diretamente associados à sintomatologia clínica, reação inflamatória intensa e reabsorção de tecidos mineralizados (MARTINHO et al., 2010a; MARTINHO et al., 2010b).

Devido ao fato dos estudos apontarem que o crescimento de *E. faecalis* nos

canais radiculares são, na maioria das vezes, responsáveis pelos casos de insucesso do tratamento endodôntico, faz-se necessário estratégias que promovam uma desinfecção efetiva do sistema de canais radiculares, com destaque para o micro-organismos *E. faecalis* (MOLANDER e DAHLÉN, 2003; SEDGLEY et al., 2005).

Sabe-se que as soluções irrigadoras químicas utilizadas durante a preparo químico mecânico na Endodontia, visto que, em associação com as limas endodônticas, possuem a finalidade de, além de remover o tecido necrosado e os detritos de dentina do canal radicular, proporcionar uma desinfecção local de maneira efetiva (HAAPASALO et al., 2010).

As soluções irrigadoras mais utilizadas são o NaOCl (ZEHNDER, 2006; FIDALGO et al., 2010; NEELAKANTAN et al., 2019) e a clorexidina (NOITES et al., 2014). Atualmente, o NaOCl ainda é o irrigante mais utilizado em todo mundo, sendo sua eficácia avaliada em diversos estudos experimentais e clínicos (ZEHNDER, 2006; FIDALGO et al., 2010; NEELAKANTAN et al., 2019; SJÖGREN et al., 1997; SIQUEIRA JÚNIOR et al., 1997; 2000). Rôças et al. (2013) realizaram estudo clínico em dentes necrosados e com periodontite apical para avaliar a redução bacteriana após instrumentação com limas, associadas à irrigação com NaOCl 2,5%. A análise quantitativa da presença ou da ausência bacteriana foi feita por técnica de cultura e quantitativos reação em cadeia da polimerase (qPCR). A técnica mostrou-se altamente eficaz na redução bacteriana. De maneira similar, Van Der Sluis et al. (2010) demonstraram a êxito na descontaminação de canais radiculares com a utilização o NaOCl na concentração de 2% e 10%. Ainda, a efetividade do NaOCl na redução de *E. faecalis* tem sido mostrada em diversos estudos (SJÖGREN et al., 1997; SIQUEIRA JÚNIOR et al., 1997; 2000).

Assim como o NaOCl, a clorexidina é utilizada como uma alternativa de solução irrigadora devido seu amplo espectro de atividade antimicrobiana e toxicidade consideravelmente inferior ao NaOCl e possui a propriedade única de substantividade (NOITES et al., 2014). A concentração comumente utilizada para irrigação de canal é de 2% (ROÇAS e SIQUEIRA JÚNIOR, 2011). É relatado que as cargas positivas da molécula de clorexidina se ligam às cargas negativas na superfície da dentina, resultando em aderência prolongada, o que, por sua vez, leva a um efeito antimicrobiano de longa duração. No entanto, a clorexidina não tem a capacidade de dissolução de tecido orgânico, considerado ponto negativo (GOMES et al., 2013). A literatura recente não mostra concordância sobre a eficácia antimicrobiana de

clorexidina comparado ao NaOCl, visto que vários estudos apresentaram resultados contraditórios (RUKSAKIET, 2020). O estudo de Roças e Siqueira Júnior (2011) apresentou resultados que o NaOCl e a clorexidina conseguiram reduzir significativamente o número de taxa bacteriana e seus níveis nos canais radiculares infectados, sem diferença significativa entre essas substâncias.

É conhecido que os efeitos positivos das soluções irrigadoras químicas na descontaminação dos canais radiculares estão diretamente relacionados à concentração, temperatura, solução de pH e condições de armazenamento. O estudo de Plotino et al. (2016) informou que quanto maior a concentração desses irrigantes, mais grave é a reação potencial que pode ocorrer caso eles forem levados inadvertidamente aos tecidos periapicais. Além disso, foi demonstrado que o uso de soluções irrigantes com cloro, como o NaOCl, pode levar ao aparecimento de bactérias resistentes ao mesmo, que representam uma ameaça para a segurança microbiológica (DING et al., 2019).

Dentro deste contexto, esforços têm sido realizados para desenvolver novas técnicas para fornecer desinfecção adicional para o sistema de canais radiculares (SILVA et al., 2020) como irrigação ultrassônica passiva (PUI) (DIOGUARDI et al., 2018), terapia fotodinâmica (PDT) (ESLAMI et al., 2019; DANTAS et al., 2020), técnicas de irrigação contínua (DIOGUARDI et al., 2018; SILVA et al., 2020) e métodos de irrigação apical de pressão positiva e negativa (DIOGUARDI et al., 2018; ESLAMI et al., 2019; SILVA et al., 2020). Ainda, estudos atuais têm investigados a atuação da ozonioterapia no tratamento endodôntico (NOGALES, et al., 2008; HUTH et al., 2009; FARAC et al., 2013; HUBBEZOGLU et al., 2014; NOGALES et al., 2014; SANSRITI et al., 2016).

3.2 OZONIOTERAPIA

Relatos científicos reportam o potencial terapêutico do gás ozônio, denominado de ozonioterapia, na descontaminação de diversas feridas infectadas de soldados desde o período da I Guerra Mundial, onde o gás foi administrado de forma tópica diretamente sobre o tecido lesado. Entretanto, esta terapêutica foi por muitas vezes negligenciada (DI PAOLO, BOCCI, GAGGIOTTI, 2004).

O ozônio é uma molécula alotrópica triatômica do oxigênio (O₂), sendo a terceira potência oxidante (BOCCI et al., 2011). É produzido a partir das moléculas de O₂

através de fontes básicas de energia, incluindo eletrólise química, descargas elétricas e radiação da luz ultravioleta (UV) (BOCCI et al., 2009).

Em 1785 médico e físico holandês, Martins Van Marum, mencionou as primeiras evidências sobre a existência do O₃, o qual observou que as descargas elétricas advindas de tempestades exalavam um odor diferenciado. Somente em 1840, um químico-físico alemão, Friedrich Christian Schönbein, provou que estas descargas elétricas ao entrarem em contato com o O₂, originavam um gás de coloração azulada e odor singular, denominando-o de gás ozônio, do grego *ozein* (BOCCI, 2009; BOCCI, 2011). No século XIX, esta terapia que emprega uma mistura gasosa de O₂ medicinal/O₃ começou a ser testada e aprovada pela comunidade médica devido sua capacidade de modular a inflamação, reparar tecido, reduzir a dor, além de proporcionar efeitos antimicrobianos (inativação de bactérias, vírus, fungos, leveduras e protozoários) e, atualmente vêm sendo utilizada em diversos países (BOCCI, 2011; SCHWARTZ e SÁNCHEZ, 2012).

O principal mecanismo de ação da ozonioterapia é baseado no fato do ozônio ter uma alta capacidade de oxidar substâncias celulares, com destaque para as proteínas, aminoácidos e ácidos graxos insaturados, sendo que estas reações originam quatro produtos fundamentais denominados de ozonídeos, aldeídos, peróxidos e peróxidos de hidrogênio (SCHWARTZ e SÁNCHEZ, 2012). Estes produtos sinalizam e desencadeiam mudanças metabólicas e estruturais capazes de produzir efeitos antimicrobianos (DING et al., 2019). Alguns trabalhos descrevem que o ozônio atua em glicolipídeos, glicoproteínas ou certos aminoácidos que estão presentes na membrana citoplasmática de micro-organismos, tendo, portanto, eficácia antimicrobiana sem induzir resistência aos medicamentos (ROJAS-VALENCIA, 2011; BOCH et al., 2016; CASE et al., 2012).

É possível observar evidências que demonstram claramente o potencial do gás na Odontologia (HYSLOP et al., 1988; FILIPPI, 2001), sendo que a mesma foi reconhecida pelo Conselho Federal de Odontologia (CFO), por meio da resolução nº 166/2015, por apresentar elevada ação antimicrobiana, além de atuar diretamente na resposta imunológica e favorecer o reparo. O grande marco na ozonioterapia se deu no ano de 1935, quando o cirurgião-dentista E. A. Fish publicou o primeiro tratado sobre as aplicações do ozônio da Odontologia, que representou o início da prática clínica do ozônio na área (BOCCI, 2005). Os efeitos positivos do ozônio na Endodontia são relatados desde os experimentos realizados por Hyslop et al. (1988) e Filippi (2001), os quais constataram uma diminuição significativa na citotoxicidade para células orais

após a utilização do gás ozônio em comparação com irrigantes endodônticos, NaOCl a 2,25% e clorexidina 2%. A partir de então, o ozônio começou a ser discutido como possível alternativa ou agente antimicrobiano complementar durante o tratamento do canal.

Estudos desenvolvidos por Nagayoshi et al. (2004a) mostraram que o ozônio utilizado através da água é capaz de eliminar micro-organismos bucais Gram-positivos e Gram-negativos pois exerce potente efeito oxidante. Destacam a vantagem do uso da água ozonizada pois o manuseio é fácil e mais seguro quando comparado à administração direta do gás, e sugere sua utilização como associada à instrumentos odontológicos. No mesmo ano, os autores avaliaram a atuação da água ozonizada sobre micro-organismos *Streptococcus mutans* e *E. faecalis* inoculados em dentes bovinos e observaram que eficácia similar ao NaOCl a 2,5% em micro-organismos intratubulares. Ainda, foi verificada a citotoxicidade da água ozonizada em fibroblastos e, interessante, foi observado que a atividade metabólica das células foi maior quando receberam a água ozonizada e houve um decréscimo no número de células viáveis que receberam ação do NaOCl (NAGAYOSHI et al., 2004b).

A eficácia do ozônio administrado através de água destilada e vinagre de maçã, aplicado em um sistema de limpeza ultrassônica contra *Staphylococcus aureus* foi verificado por Estrela et al. (2006). Foi possível identificar que as soluções ozonizadas se apresentaram eficazes na eliminação do micro-organismo analisado. Ainda, Estrela et al. (2007) verificaram a eficácia antimicrobiana da água ozonizada, ozônio gasoso, NaOCl 2,5% e clorexidina 2%. O experimento foi realizado em dentes humanos que foram inoculados com *E. faecalis* durante 60 dias. O estudo demonstrou que nenhum dos tratamentos foram suficientes para inativar o micro-organismo.

O estudo de Muller et al. (2007) investigou e comparou os efeitos do ozônio gasoso e da PDT sob biofilme maduro de seis espécies. Os autores concluíram que uma única aplicação do ozônio gasoso e PDT apresentaram efeito mínimo sobre a viabilidade dos micro-organismos organizados em forma de biofilme, ou seja, não foram capazes de eliminar completamente as bactérias de biofilmes. Hubbezoglu et al. (2014) observaram o efeito antibacteriano da água ozonizada associado ao ultrassom com diferentes concentrações em (8, 12 e 16 ppm) *E. faecalis* em canais radiculares em dentes humanos. Os autores concluem que a atividade bactericida foi mais efetiva na água ozonizada de alta concentração (16 ppm) associado ao ultrassom com o funcionamento semelhante ao NaOCl 5,25% em canais radiculares.

Em suma, os relatos supracitados sugerem que a ozonioterapia possui um

potencial promissor em reduzir complicações encontradas na Endodontia. No entanto, é possível verificar uma grande variabilidade entre os protocolos na aplicação do ozônio, como por exemplo, diferentes equipamentos geradores de ozônio, concentração de ozônio, estado físico do ozônio e tempo e técnica de aplicação. Portanto, neste trabalho, abordamos algumas dessas questões não resolvidas. Em primeiro lugar, avaliar se a água ozonizada pode ser usada como solução irrigadora primária e/ou coadjuvante durante o preparo químico mecânico. O canal radicular de dentes inoculados com *E. Faecalis* foram irrigados com água ozonizada por quatro vezes, imediatamente após o preparo mecânico, mimetizando um tratamento clínico. Acredita-se que água ozonizada possa inativar micro-organismos mais prevalentes e responsáveis por ocasionar o insucesso do tratamento endodôntico. Em segundo lugar, avaliamos diferentes concentrações de água ozonizada neste mesmo modelo experimental, uma vez que os efeitos antimicrobianos estejam fortemente relacionados à dose do gás para o tratamento endodôntico.

4 METODOLOGIA

4.1 TIPO E LOCAL DE ESTUDO

Trata-se de um estudo intervencional. A parte prática da pesquisa foi realizada nas dependências da Universidade Brasil – Campus Fernandópolis/SP, no laboratório de Microbiologia.

4.2 ASPECTOS ÉTICOS

O estudo foi submetido para o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Brasil (Plataforma Brasil), e aprovado sob o número 26629619.9.0000.5494 (ANEXO I). Após a aprovação, os dentes humanos foram solicitados ao Banco de Dentes da Universidade Brasil – Campus Fernandópolis/SP.

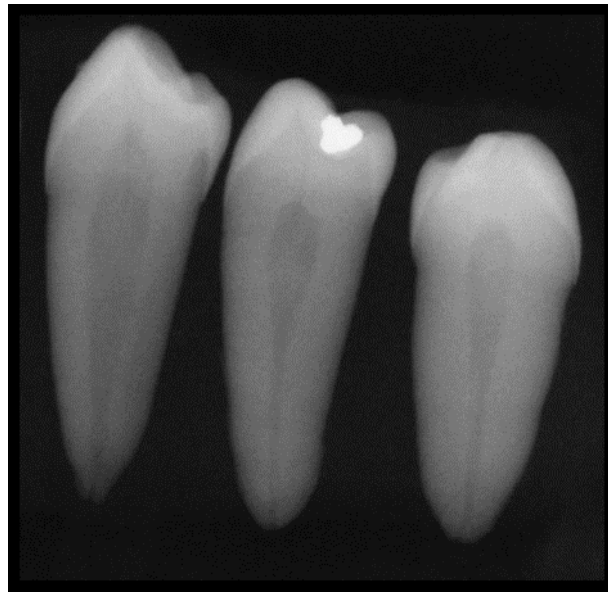
4.3 AMOSTRA

No estudo foram selecionados 75 dentes pré-molares permanentes unirradiculares, provenientes do Banco de Dentes da Universidade Brasil - Campus Fernandópolis/SP. Foram realizadas radiografias digitais dos dentes para confirmar a presença de canal único (Figura 3).

Os critérios de inclusão para seleção das amostras foram: dentes apresentando único canal, com rizogênese completa; dentes hígidos; sem curvatura; dentes que não sofreram tratamento endodôntico; dentes com ausência de obliteração e/ou calcificação; dentes com diâmetro apical compatível com uma lima tipo K # 15 (Dentsply/ Maillefer, Ballagiques, Suíça).

Os critérios de exclusão foram: dentes com trincas ou fraturas; dentes com canais obliterados e/ou calcificados avaliados radiograficamente.

Figura 3 - Imagem representativa de radiografia digital de três pré-molares inferiores para confirmar canal único.



Fonte: Autoria própria.

4.4 DESENHO DO ESTUDO

As amostras foram aleatoriamente distribuída em cinco grupos de 15 dentes pré-molares cada. O tamanho da amostra foi calculado com base em estudos prévios realizados na área (FERNANDES et al, 2020), e o preparo químico mecânico (PQM) foi realizado com a lima *WaveOne®* Primary 25/0.08. Todos os passos foram executados por um único pesquisador.

A divisão dos grupos para a irrigação ocorreu da seguinte forma:

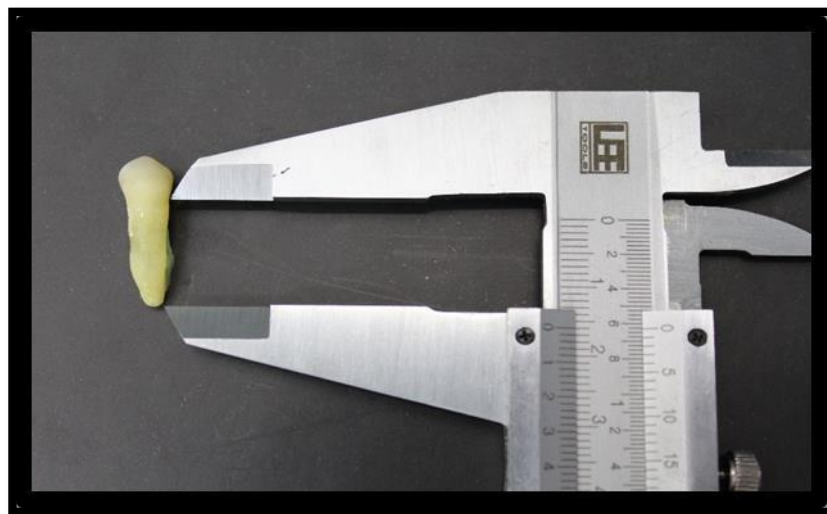
- Grupo Solução Salina (SS): A solução irrigadora foi solução salina.
- Grupo Hipoclorito de sódio a 2,5% (NaOCl): A solução irrigadora foi o hipoclorito de sódio a 2,5 %.
- Grupo Ozônio 10 (O10): A solução irrigadora foi a água ozonizada na concentração de 10 µg/mL
- Grupo Ozônio 20 (O20): A solução irrigadora foi a água ozonizada na concentração de 20 µg/mL
- Grupo Ozônio 30 (O30): A solução irrigadora foi a água ozonizada na concentração de 30 µg/mL

4.4.1 Preparo dos dentes

Inicialmente, os dentes foram mantidos em SS estéril por 30 dias. Posteriormente, os indultos radiculares foram raspados com curetas periodontais (Hu-Friedy, Chicago, USA). Foi realizada profilaxia com taça de borracha (TDV Dental, Santa Catarina, Brasil), pedra pomes (SSWhite, São Paulo, Brasil) e água corrente para limpeza dos espécimes.

As coroas dos dentes foram seccionadas próximo à junção amelocementária e com um paquímetro as raízes foram medidas padronizando em 16 mm (Figura 4). Obtendo-se o comprimento real dos dentes, eles foram seccionados com discos de carborundum (*Carbodont*, Gysi S. A., Buenos Aires, Argentina), para posteriormente preparar os canais com 15 mm como comprimento de trabalho (CT) para todas as raízes.

Figura 4 – Imagem representativa da padronização das amostras em 16 mm de comprimento, com auxílio de paquímetro.

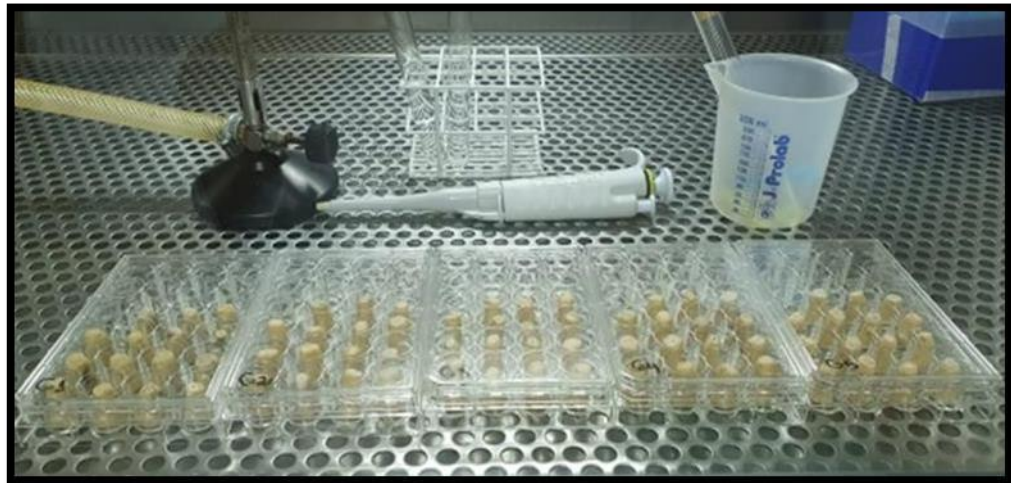


Fonte: Autoria própria.

Os forames apicais de cada canal radicular utilizado foram selados com resina composta fotopolimerizável (*Fill Magic Vigodent*, Rio de Janeiro, Brasil). A impermeabilização externa das raízes, exceto para a região cervical na entrada do canal radicular, foram realizadas com duas camadas de adesivo epóxi Araldite (Brascola LTDA, Taboão da Serra, São Paulo, Brasil) respeitando-se o tempo de 30 minutos entre a aplicação das camadas.

Após a impermeabilização, os espécimes foram envoltos com silicone de condensação *Optosil/Xantopren*, que lhes serviu de apoio dentro da placa (ALVES et al., 2012). Em seguida todos os espécimes foram autoclavados a 121°C por 15 minutos e acomodados em placas de cultura de células de 24 poços (Figura 5).

Figura 5 – Imagem representativa dos espécimes posicionados em placa de poliestireno para inoculação e incubação.

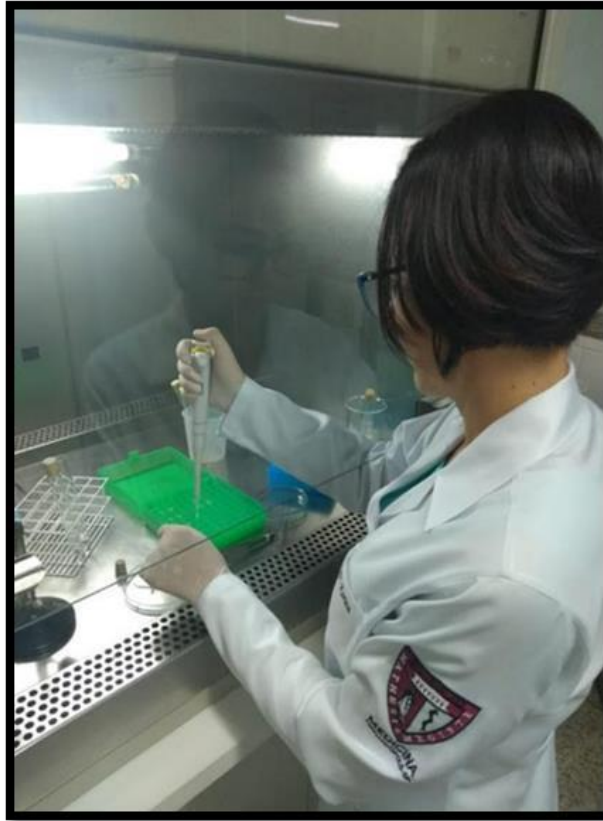


Fonte: Autoria própria.

4.4.2 Preparo da suspensão de *E. Faecalis*

Todos os procedimentos foram realizados em câmara de fluxo laminar (Veco, Piracicaba, São Paulo, Brasil) (Figura 6). Os espécimes foram distribuídos em placas de cultura de células de 24 poços (*Costar*, Nova York, EUA).

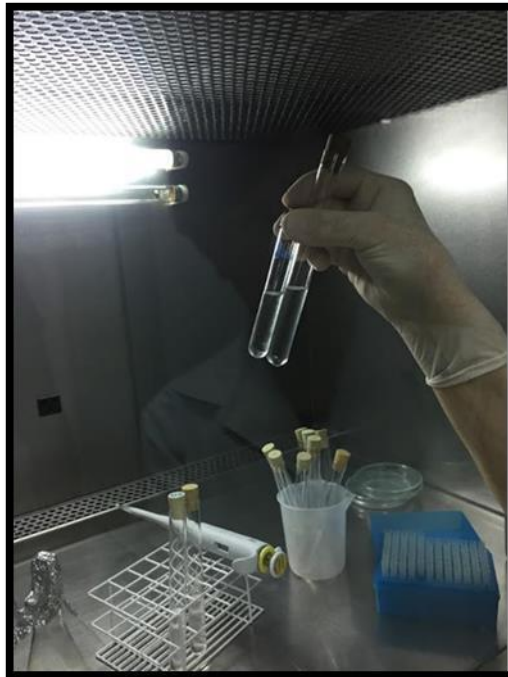
Figura 6 – Imagem representativa dos procedimentos realizados em câmara de fluxo laminar.



Fonte: Autoria própria.

A cepa padrão de *E. Faecalis* ATCC 29212 foi reativada em calda de infusão cérebro e coração (Brain Infusion Hearth, BHI, Difco, Detroit/EUA). A cultura foi semeada em placa de Petri contendo ágar Brain Infusion Hearth (BHI) e incubada em estufa com 5% de gás carbônico (CO₂) a 37°C por 24 horas. Após crescimento microbiano, foi preparada suspensão em tubocontendo 10 mL de solução fisiológica esterilizada compatível com a escala 08 de *Mc Farland* (Figura 7). Em um tubo de ensaio esterilizado, foram misturados 5 mL da suspensão preparada com 5 mL de caldo BHI para obtenção da suspensão de concentração final.

Figura 7 – Imagem representativa da preparação da suspensão de *E. faecalis*.



Fonte: Autoria própria.

4.4.3 Contaminação dos dentes com *E. Faecalis*

Para a contaminação dos dentes com *E. Faecalis*, 20 microlitros (20 μ L) da suspensão da concentração final foram colocadas no interior dos canais radiculares dos espécimes com o auxílio de uma seringa de insulina de 0,3 cc, em cada entrada de canal radicular, foi colocado uma bolinha de algodão esterilizada embebida na suspensão de *E. Faecalis* (Figura 8). Em quatro poços de cada placa de cultura de células foi colocado algodão esterilizado umedecido em água destilada esterilizada para garantir a umidade do ambiente. A tampa da placa foi fechada e vedada com fita adesiva e o conjunto incubado em estufa a 37°C com 5% de CO₂ por 21 dias. Todos os dias foram adicionados 20 μ L de caldo BHI no interior dos canais radiculares com o auxílio de seringa de insulina 0,3 cc e realizada a troca do algodão embebido em água destilada encontradas nos poços das placas (MATOS et al., 2012).

Figura 8 – Imagem representativa dos cinco grupos com 15 amostras, que foram contaminadas com a suspensão de *E. faecalis*.



Fonte: Autoria própria.

A confirmação da viabilidade e pureza dos micro-organismos no interior do sistema de canais foi realizada semanalmente por meio de coleta aleatória em dois dentes com o auxílio de cone de papel (*Endopoints*, Rio de Janeiro, Brasil) esterilizado #20, mantido no interior do canal durante um minuto, semeado em caldo BHI e incubado em estufa a 37°C com 5% de CO₂ por 24 horas. Após o crescimento, foram realizados esfregaços e coloração de Gram para confirmação morfológica e tintorial do micro-organismo.

4.4.4 Contagem de Unidade Formadora de Colônia (UFC) antes do PQM

Após 21 dias de contaminação foi realizado a contagem de UFCs prévia ao procedimento de instrumentação dos canais radiculares. No interior do canal radicular de cada espécime foi colocado um cone de papel absorvente (*Endopoints*) # 20 esterilizado. Coleta inicial antes do preparo químico mecânico, o cone permaneceu no canal radicular por um minuto e então foi transferido com o auxílio de pinça esterilizada para um flaconete de polipropileno (*Eppendorf*®) contendo 1 mL de solução fisiológica (NaCl 0,9%) esterilizada (Figura 9), que foi agitado por 30 segundos em agitador de tubos (Vortex AD 56 Phoenix, Araraquara, São Paulo, Brasil) (Figura 10). A partir dessa suspensão, foram preparadas diluições seriadas até 10⁻⁴ alíquotas de 0,1 mL da suspensão e de cada diluição foram semeadas em placas de Petri contendo ágar BHI (Figura 11). As placas semeadas foram incubadas em estufa com 5% de CO₂ a 37°C por 24 horas. Posteriormente, foi realizada a contagem padrão (método manual) do número de UFC por placa (Figura 12). Cabe enfatizar que a contagem da UFC foi

realizada novamente, posteriormente, ao final da irrigação dos canais radiculares.

Figura 9 – Imagem representativa da coleta prévia com auxílio de cone de papel esterilizado.



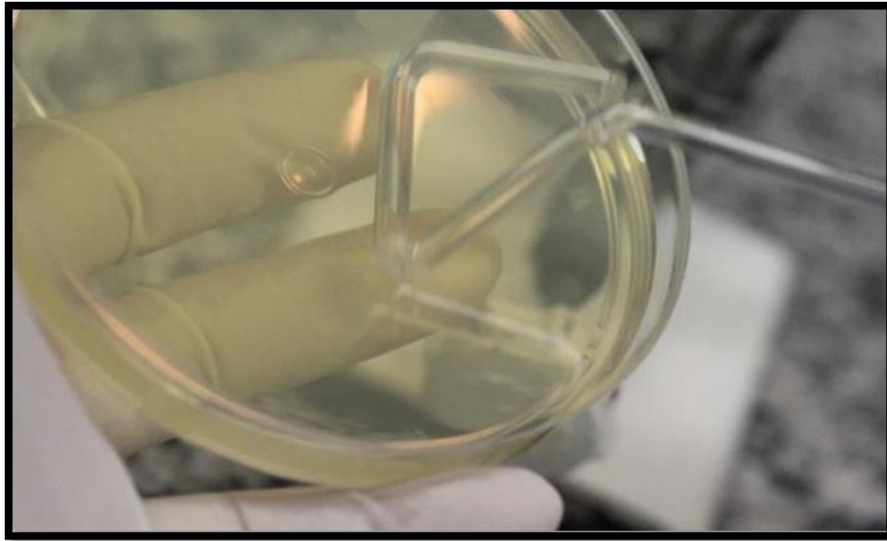
Fonte: Autoria própria.

Figura 10 – *Eppendorf*® agitado por trinta segundos em agitador de tubos.



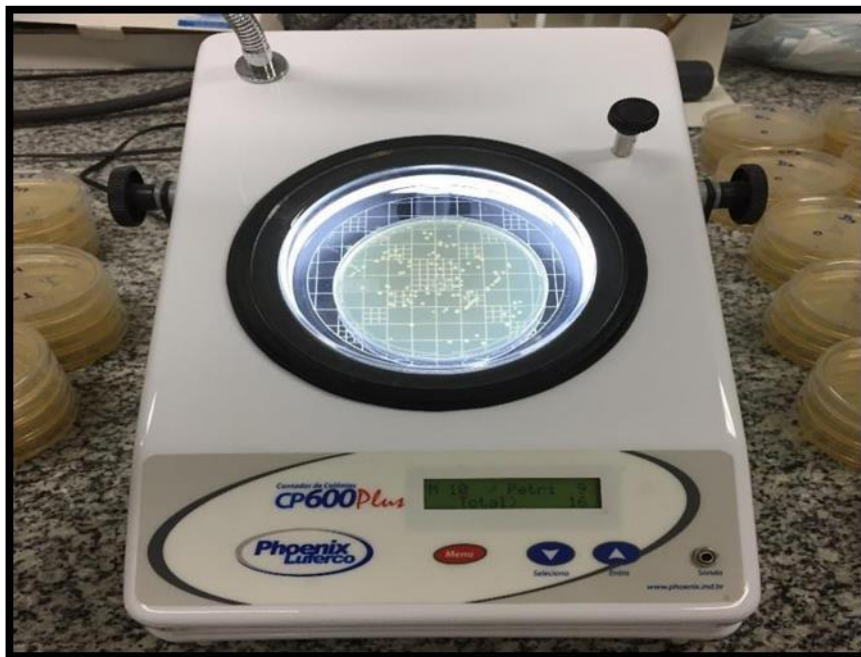
Fonte: Autoria própria.

Figura 11 – Imagem representativa da amostra espalhada de forma homogênea em placas de Petri contendo ágar BHI, com auxílio de uma alça de vidro estéril.



Fonte: Autoria própria.

Figura 12 – Imagem representativa do contador de colônias (CP 600, Phoenix, Araraquara, SP/Brasil).



Fonte: Autoria própria.

4.4.5 Tratamento endodôntico: PQM e preparação da água ozonizada

Para realização desta etapa, todo procedimento foi realizado por um mesmo operador com experiência clínica e laboratorial no sistema testado para excluir variações pessoais. A lima utilizada para realizar o PQM foi *WaveOne® Primary 25/0.08* (Figura 13), sistema recíprocante (*Dentsply/ Maillefer*, Ballagigues, Suíça), utilizando o motor elétrico *X Smart Plus®* (*Dentsply/ Maillefer*, Ballagigues, Suíça) (BURKLEIN et al., 2012) (Figura 14).

Figura 13 – Imagem representativa dos canais radiculares sendo instrumentados com sistema *WaveOne® Primary*.



Fonte: Autoria própria.

Figura 14 – Imagem representativa do motor elétrico *X Smart Plus®*.



Fonte: Autoria própria

Antes de introduzir o instrumento reciprocante, foi confeccionada a patência do canal com lima *K File # 15*. O instrumento foi introduzido no interior do canal com movimento de entrada e saída: *in – out*. A cada três avanços do instrumento *Wave One® Primary* no interior do canal, ele foi retirado e completamente limpo com gaze estéril.

Para a produção da água ozonizada foi utilizado um aparelho gerador de ozônio portátil da marca *Ozone & Life* (modelo *O&L3.0 RM*), acoplado a um cilindro oxigênio de alta pureza, contendo válvula redutora com manômetro dimensionada à 0,5 L/min de oxigênio. Foi utilizado em volume de 250 mL de água bidestilada em um sistema com tubo de vidro acoplado ao gerador de ozônio na concentração de 10, 20 e 30 µg/mL borbulhando em um tempo de 30, 60 e 90 minutos (*Madrid Declaration on Ozone Therapy, 2020*), respectivamente (Figura 15). As irrigações dos canais radiculares ocorreram imediatamente após a produção da água ozonizada.

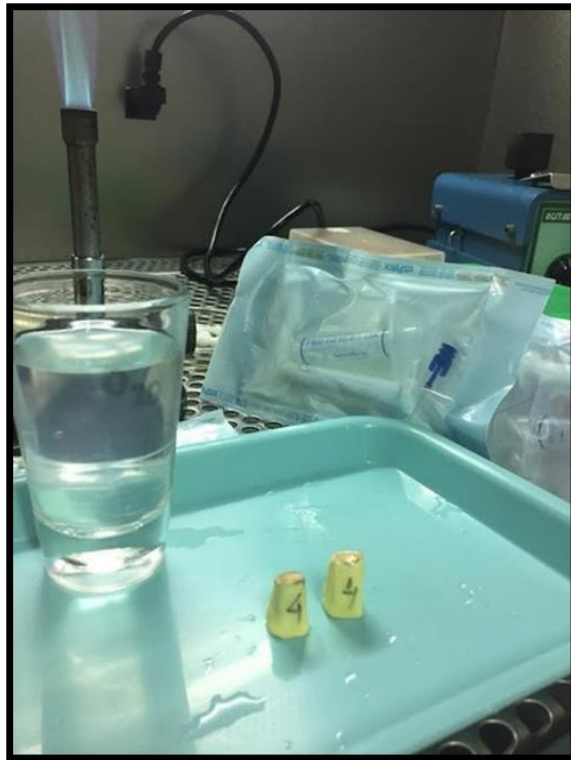
Figura 15 – Imagem representativa do gerador de ozônio *Ozone Life*.



Fonte: Autoria própria.

Após o PQM realizado com a lima *WaveOne® Primary*, a irrigação dos canais foi realizada com auxílio de uma seringa plástica de 5 mL e com agulha *Navitip* de 0,30 mm de diâmetro externo (*Ultradent Products, Inc. EUA*), utilizou-se 5 mL a cada retirada da lima do interior do canal, realizava-se a irrigação, totalizando três avanços da lima no canal, totalizando 20 mL de solução. As soluções irrigadoras utilizadas foram a SS, NaOCl à 2,5% (NaOCl), água ozonizada na concentração de 10 (O10), 20 (O20) e 30 (O30) µg/mL (Figura 16).

Figura 16 – Imagem representativa da câmara de fluxo laminar a água ozonizada 30 µg/mL e demais equipamentos para execução do PQM e irrigação dos canais.



Fonte: Autoria própria

4.4.6 Contagem de UFC após o PQM

Após o preparo químico mecânico foi realizada nova coleta com cone de papel absorvente (*Endopoints*) # 25 esterilizado. O cone permaneceu no canal radicular por um minuto e então foi transferido com o auxílio de pinça esterilizada para um flaconete de polipropileno (*Eppendorf*®) contendo 1 mL de solução fisiológica (NaCl 0,9%) esterilizada, que foi agitado por 30 segundos em agitador de tubos (*Vortex AD 56 Phoenix*, Araraquara, São Paulo, Brasil). A partir dessa suspensão, foram preparadas diluições seriadas (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) em triplicatas de alíquotas de 0,1 mL da suspensão e de cada diluição foram semeadas em placas de Petri contendo ágar BHI, seguida de plaqueamento e incubação durante 24 horas a 37°C, e as UFC foram contadas manualmente novamente e os resultados foram expressos para posterior análise estatística.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

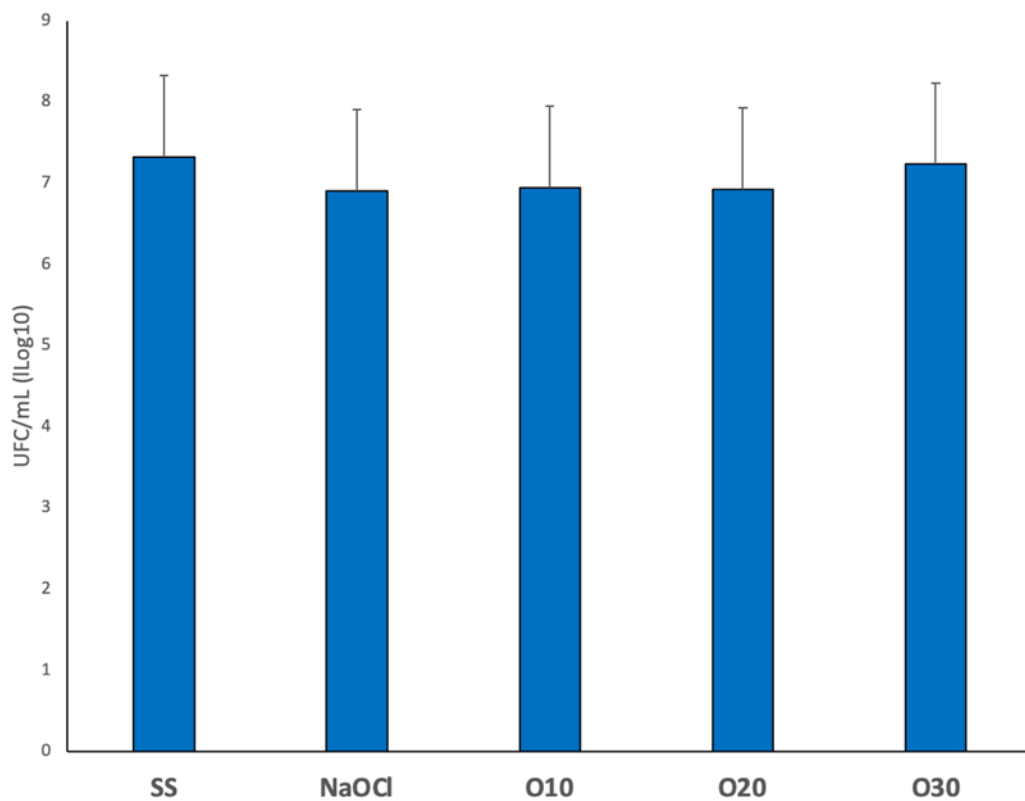
Os dados foram analisados estatisticamente seguindo as técnicas descritivas, tais como tabelas e gráficos, na forma de médias e desvios padrão. A distribuição das variáveis foi testada utilizando o teste de normalidade *Shapiro - Wilks*. Nos casos em que houve distribuição normal da amostra, as comparações entre os grupos foram feitas utilizando ANOVA *One Way* com *post hoc* de *Tukey*. Nos casos não paramétricos, o teste de *Kruskall-Wallis* com *post hoc* de *Dunn* foi adotado. As análises foram realizadas no software *GraphPad Prism*, versão 6.01 (*GraphPad Software*, San Diego CA, EUA). Para as estatísticas das análises estatísticas foi utilizado o nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

5 RESULTADOS

5.1 ANÁLISE DA UFC INICIAL (APÓS INOCULAÇÃO)

A contagem de UFC inicial foi realizada para confirmar a contaminação com *E. Faecalis* dos dentes. Na figura 17 foi possível observar que havia contaminação com que não houve diferença da contagem de UFC entre os grupos experimentais.

Figure 17 – Gráfico representativo dos resultados da análise de UFC inicial.



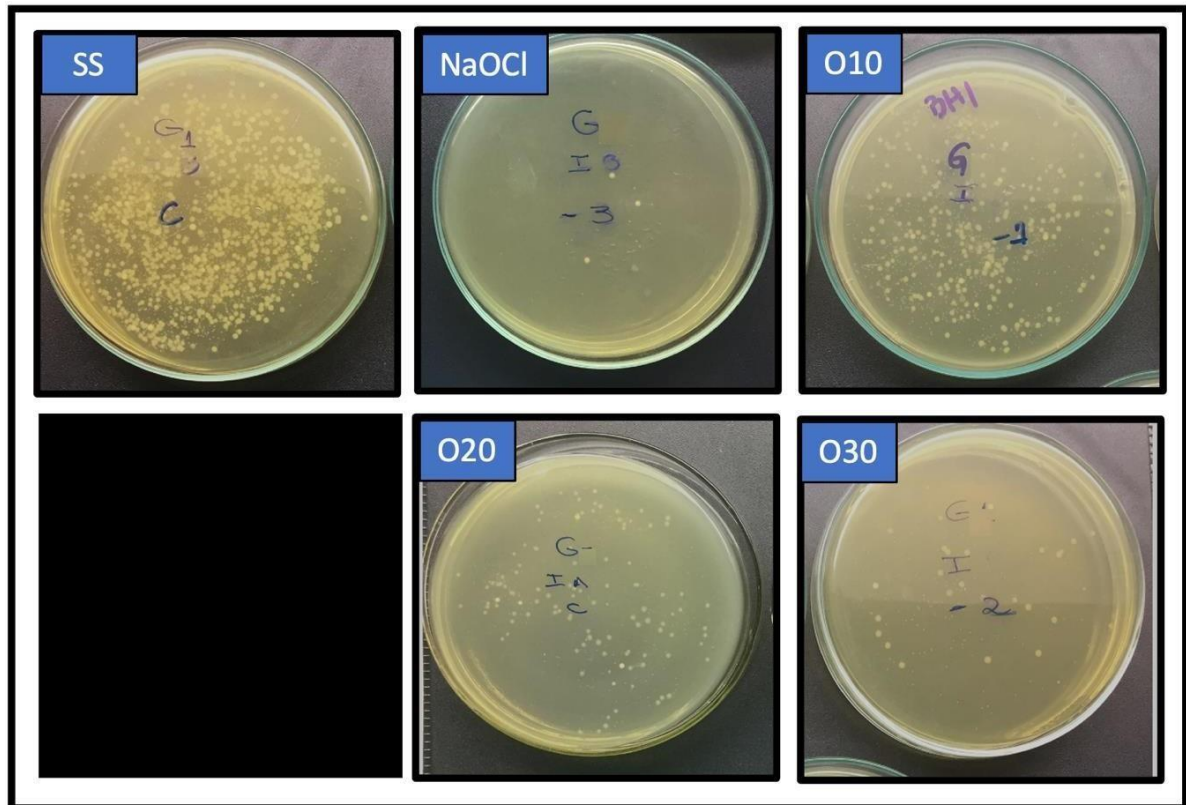
Legenda: Grupo Solução Salina (SS); Grupo Hipoclorito de sódio a 2,5% (NaOCl); Grupo Ozônio 10 (O10); Grupo Ozônio 20 (O20); Grupo Ozônio 30 (O30).

5.2 ANÁLISE DA UFC APÓS TRATAMENTO

A figura 18 mostra as imagens representativas do ensaio microbiológico após os tratamentos. Foi possível verificar uma redução de UFC nos grupos tratados com NaOCl e água ozonizada em todas as concentrações (O10, O20 e O30) quando comparado ao grupo SS. No entanto o grupo NaOCl a redução da quantidade de UFC

foi maior quando comparado aos grupos O10, O20 e O30. Ainda, foi observado uma quantidade reduzida nos grupos O30 comparado aos grupos O10 e O20.

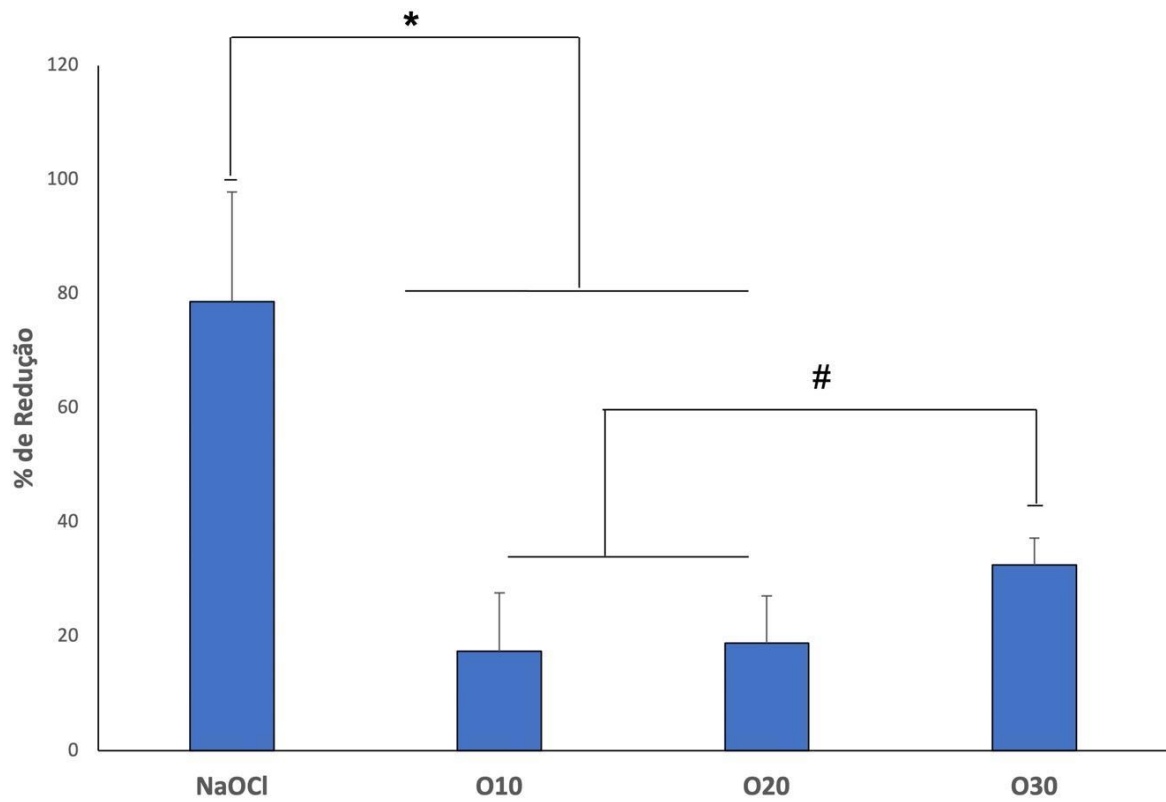
Figura 18 – Imagens representativa da UFC de *E. Faecalis* após tratamento.



Legenda: Grupo Solução Salina (SS); Grupo Hipoclorito de sódio a 2,5% (NaOCl); Grupo Ozônio 10 (O10); Grupo Ozônio 20 (O20); Grupo Ozônio 30 (O30).

Os valores da porcentagem (%) de redução da UFC entre os grupos experimentais estão ilustrados na figura 20. Foi possível observar uma maior porcentagem de redução de *Faecalis* no grupo NaOCl (78,62%) em comparação aos grupos O10 (*p <0,001; 17,48%) e O20 (*p <0,001; 18,87%). Além disso, o grupo O30 apresentou um maior valor de % de redução (35,51%) de quando comparado aos grupos O10 (#p = 0,0383) e O20 (#p = 0,0385).

Figura 19 – Gráfico representativo dos resultados da análise comparativa de UFC em diferentes concentrações de água ozonizada.



Legenda: Grupo Hipoclorito de sódio a 2,5% (NaOCl); Grupo Ozônio 10 (O10); Grupo Ozônio 20 (O20); Grupo Ozônio 30 (O30).

6 DISCUSSÃO

Considerando o grande interesse de muitos profissionais que buscam a fundamentação que norteia o uso da ozonioterapia na Endodontia, o presente estudo teve o intuito de avaliar a influência da água ozonizada utilizada em diferentes concentrações (10, 20 e 30 µg/mL) na desinfecção de canais radiculares inoculados com *E. Faecalis*. Os principais resultados mostram a água ozonizada utilizada como solução irrigadora no PQM foi eficaz em reduzir o número de UFC sendo que a maior porcentagem de redução foi observada na concentração de 30 µg/mL. No entanto, não foi possível observar redução superior de UFC nos grupos tratados com água ozonizada nas doses de 10 e 20 µg/mL quando comparado ao irrigante NaOCl.

A desinfecção efetiva e segura continua sendo um desafio clínico prevalente na Endodontia e os irrigantes utilizados no preparo químico mecânico, muitas vezes ainda são insuficientemente compreendidos, principalmente com relação às dosimetrias mais efetivas (SIQUEIRA JÚNIOR et al., 2018; SILVA et al., 2020). Para investigar os complexos mecanismos de eliminação de micro-organismos acionados por diferentes tipos de tratamentos, modelos *in vitro* têm sido utilizadas, sendo a técnica de instrumentação e inoculação de cepas de *E. Faecalis* em dentes *ex vivo*, o modelo mais frequentemente utilizado na Endodontia. No modelo utilizado no presente estudo, a inoculação do micro-organismo origina um foco infeccioso polimicrobiano inserido dentro do sistema de canais radicular. Um requisito deste modelo é que ele seja executado com alta consistência para que se possa obter resultados reproduzíveis (MATOS et al., 2012).

A escolha da instrumentação com uma lima de níquel titânio com tratamento térmico chamado M-Wire® (lima *WaveOne® Primary* - *Dentsply Maillefer*, Ballaigues, Suíça) para o preparo mecânica do presente estudo, foi devido aos benefícios da técnica com relação ao aumento na flexibilidade e maior resistência à fadiga cíclica, evitando a quebra da lima, além de facilitar que a mesma adentre em canais curvos, promovendo melhor limpeza (YARED, 2008). A eficácia clínica do instrumento foi relatada no estudo de Zhao et al. (2014), onde os autores avaliaram o tempo do preparo de molares inferiores, comparando três instrumentos de níquel titânio (*ProTaper® Universal*, *ProTaper® Next* e *WaveOne® Primary*) em um estudo avaliado através de microtomografia computadorizada. Os resultados mostram a técnica com

WaveOne® apresentou um tempo de trabalho significativamente menor comparado aos outros sistemas, otimizando o tempo de execução do PQM.

No presente estudo foi observado que 21 dias após a instrumentação e inoculação com cepas de *E. faecalis* houve uma contaminação efetiva dos canais radiculares. Estes achados corroboram com os dados de Sedgley et al. (2005), os quais evidenciaram a sobrevivência de *E. faecalis* por um período de 12 meses em um modelo experimental similar ao utilizado no presente estudo. Evans et al. (2002) e Distel et al. (2002), mostraram que a formação de biofilme de *E. faecalis*, em canais radiculares, mesmo naqueles tratados com medicação de hidróxido de cálcio. Ainda, os autores concluíram que este micro-organismo apresenta também uma resposta ao pH alcalino, adaptando-se através de uma bomba de prótons capaz de acidificar o citoplasma bacteriano, aumentando assim seus mecanismos de sobrevivência. Dada a importância do *E. faecalis*, evidenciada pela sua alta prevalência em infecções secundárias e persistentes do sistema de canais radiculares, faz-se necessário estudos que possuam o objetivo de investigar técnica de desinfecção emergentes e promissoras a serem utilizadas na prática endodôntica (ZHANG et al., 2015; SIQUEIRA JÚNIOR et al., 2018; SILVA et al., 2020).

Como citado anteriormente, é possível evidenciar os efeitos antimicrobianos do ozônio na inativação de bactérias, fungos, protozoários e vírus relatados por vários autores em diferentes situações clínicas, assim como na desinfecção de ambientes e superfícies (DING et al., 2019). Entretanto, devido à alta dissociação do ozônio em meio aquoso dificulta a padronização de doses e a especificidade da água a ser utilizada. Estudos com soluções ozonizadas, cujos métodos de determinação de concentração e tempo de ozonização não são claros, produzem resultados dúbios e passíveis de questionamentos, dificultando a desmistificação e consolidação da ozonioterapia, como terapia integrativa na prática clínica.

No presente estudo, a água ozonizada em todas as concentrações foi capaz de reduzir a UFC de *E. faecalis*, inferindo a ação antimicrobiana da técnica. Cabe enfatizar que a água ozonizada na concentração de 30 µg/mL foi a que proporcionou os maiores percentuais de redução. Recentemente, Silva et al. (2020) relataram que as concentrações mais altas e períodos mais longos de aplicação de ozônio permitem melhores resultados de desinfecção, o que corrobora com os resultados apresentados no presente estudo, esclarecendo que subprodutos gerados pelo ozônio desempenham um importante papel contra agentes específicos causadores de

doenças e resistentes aos antibacterianos. De maneira similar, a eficácia da água ozonizada como agente irrigante na eliminação de *E. faecalis* em canais radiculares foram testadas no estudo de Cardoso et al. (2008). Os dentes foram instrumentados seguidos de irrigação com água ozonizada ou SS. Os resultados mostraram que a água ozonizada reduziu o número de UFC/mL de *Cândida albicans* e *E. faecalis*. Ainda, estudo de Huth et al. (2009) verificaram a eficácia antimicrobiana da água ozonizada e do gás contra os micro-organismos *E. faecalis*, concluindo que tanto a água ozonizada e como o gás (em alta concentração) foram eficazes, assim como NaOCl.

Com relação ao tempo de borbulhamento, o estudo de Hems et al. (2005), avaliou o potencial da água ozonizada em diferentes tempos de borbulhamento, gás ozônio e como controle utilizou a solução de NaOCl a 2,5% em biofilmes de *E. faecalis* e em placas planquitônica com intuito de verificar sua efetividade como irrigante endodôntico. Cabe destacar que neste estudo os autores mostram que o tempo de borbulhamento do ozônio foi de 30, 60, 120 e 240 segundos. Como conclusão do experimento, verificou-se que não houve influência da água ozonizada sobre os biofilmes, entretanto, a água ozonizada (240 segundos) foi eficiente em eliminar *E. faecalis* em forma planquitônica. No presente estudo, o tempo experimental utilizou-se tempo de 30, 60 e 90 minutos para as doses, 10, 20 e 30, respectivamente, baseado da prática empírica preconizada e no estudo de Zhang et al., (2011) em *Pseudomonas aeruginosa*, e os resultados mostram que todos os tempos utilizados para ozonização da água, foram capazes de reduzir a UFC.

Ainda no estudo de Hems et al. (2005), a eficácia antibacteriana da água ozonizada não foi comparável à do NaOCl nas condições de teste utilizadas. Resultados similares foram verificados no presente e estudo, visto que a aplicação da água ozonizadas nas concentrações de 10 e 20 µg/mL, não resultaram em redução significativa quando comparado ao irrigante químico NaOCl. Case et al. (2012) também encontraram que o NaOCl a 1% foi o agente desinfetante mais eficaz quando comparado à água ozonizada em biofilmes de *E. faecalis* em canais radiculares de dentes.

Como descrito anteriormente, o NaOCl é o irrigante mais amplamente utilizado durante o tratamento endodôntico devido suas propriedades antimicrobianas eficazes e de dissolução de tecidos (DUTNER et al., 2012). Diversas concentrações de NaOCl variando de 0,5% a 5,25% foram encontradas na literatura endodôntica, sendo que a

concentração mais utilizada é 2,5% (RUKSAKIET et al., 2020). A efetividade NaOCl na redução de *E. faecalis* tem sido mostrada por diversos grupos de pesquisa (SJÖGREN et al., 1997; SIQUEIRA JÚNIOR et al., 1997; 2000). No presente estudo, embora os resultados não apresentaram igualmente eficaz ao NaOCl nas concentrações de 10 e 20 µg/mL, a redução de forma significativa do micro-organismo após o uso da água em 30 µg/mL, permite indicar que a água ozonizada na maior concentração se apresenta como uma excelente escolha como coadjuvante no tratamento endodôntico, principalmente pelo fato da literatura científica mostrar que o NaOCl aumenta a citotoxicidade e danifica o tecido periapical (PASHLEY et al., 1985; GATOT et al., 1991). Ainda, é importante ressaltar o estudo de Nagayoshi et al. (2004b), que mostrou que o NaOCl promoveu citotoxicidade em fibroblastos quando comparado ao tratamento com água ozonizada.

Desta forma, este estudo fornece importantes informações sobre o efeito da ozonioterapia como coadjuvante do tratamento endodôntico e das diferentes dosimetrias avaliadas. Ainda, como parte do esforço contínuo de obter ferramentas clínicas com potencial antimicrobiano, otimizando a descontaminação do canal radicular e minimizando complicações adjacentes, esse estudo oferece razões convincentes para explorar os efeitos potenciais da água ozonizada no PQM utilizado na Endodontia. Certamente se faz necessário estudos com outras cepas que albergam os canais radiculares, o estabelecimento de protocolos como concentração específica do ozônio, tempo de ozonização, estado físico, tempo de aplicação, controle rigoroso de pH, temperatura e comparação entre vários métodos simultâneos, serão oportunos para delineamento de um padrão de comportamento do O₃ nas diferentes soluções aquosas, a fim de estabelecer protocolos mais seguros e efetivos para a prática clínica.

7 CONCLUSÃO

Baseado nas evidências demonstradas, é plausível concluir que a água ozonizada utilizada como solução irrigadora em todas as concentrações promoveu ação antimicrobiana sobre *E. Faecalis*, um dos principais micro-organismos responsáveis por complicações críticas na Endodontia, podendo ser proposto como um coadjuvante em tratamentos endodônticos. Cabe enfatizar que a concentração de 30 µg/mL apresentou o maior percentual de redução. Este tipo de evidência experimental é necessário para o desenho de outros ensaios clínicos envolvendo o uso da ozonioterapia em complicações endodônticas semelhantes às complicações associadas às infecções pelo *E. Faecalis* e outras cepas.

REFERÊNCIAS

AHMED, H. M. A.; VERSIANI, M. A.; DE-DEUS G.; DUMMER, P. M. H. A new system for classifying root and root canal morphology. **International Endodontic Journal**. Oxford, v. 50, n. 8, p. 761-770, 2016. DOI: 10.1111/iej.12685. PMID: 27578418. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31390075/>. Acesso em 08 de out. 2021.

ALVES, F. R. F.; RÔÇAS, I. N.; ALMEIDA, B. M.; NEVES, A. S.; ZOFFOLI, J.; SIQUEIRA JÚNIOR J. F. Quantitative molecular and culture analyses of bacterial elimination in ovalshaped root canals by a single-file instrumentation technique. **International Endodontic Journal**. Oxford, v. 45, n.9, p. 871-7, 2012. DOI: 10.1111/j.1365-2591.2012.02045.x. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22452547/> Acesso em 08 de out. 2021.

ANDO, N.; HOSHINO, E. Predominant obligate anaerobes invading the deep layers of root canal dentin. **International Endodontics Journal**. Oxford, v. 23, p. 20–7, 1990. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2591.1990.tb00798.x?sid=nlm%3Apubmed>. Acesso em 29 de set. 2021.

BOCCI, V. A. Scientific and medical aspects of ozone therapy: state of the art. **Arch Med Res**. v. 37, n. 4, p. 425-435, 2006. DOI: 10.1016/j.arcmed.2005.08.006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16624639/>. Acesso em 11 de out. 2020.

BOCCI, V.; BORRELLI, E.; TRAVAGLI, V.; ZANARDI, I. The ozone paradox: ozone is a strong oxidant as well as a medical drug. **Medicinal Research Reviews**. New York, v. 29, n. 4, p. 646–682, 2009. DOI: 10.1002/med.20150. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/med.20150>. Acesso em 08 de out. 2021.

BOCCI, V.; ZANARDI, I.; TRAVAGLI, V. Oxygen/ozone as a medical gas mixture. A critical evaluation of the various methods clarifies positive and negative aspects. **Medical Gas Research**. Mumbai, v. 1, n. 1, p. 1-9, 2011. DOI:1186/2045-9912-1-6. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3231820/>. Acesso em 08 de out. 2021.

BOCH, T.; TENNERT, C.; VACH, K.; AL-AHMAD, A.; HELLWIG, E; POLYDOROU, O. Effect of gaseous ozone on Enterococcus faecalis biofilm-an in vitro study. **Clinical Oral Investigations**. Berlim, v. 20, n. 7, p. 1733–1739, 2016. <https://doi.org/10.1007/S00784-015-1667-1>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26637463/>. Acesso em: 10 nov. 2020. Acesso em: 08 de out. 2021.

CARDOSO MG, DE OLIVEIRA LD, KOGA-ITO CY, JORGE AO. Effectiveness of

ozonated water on *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, and endotoxins in root canals. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics**. St. Louis, v. 105, n. 3, p. 85-91. doi: 10.1016 / j.tripleo.2007.10.006 Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18280954/>. Acesso em: 08 de out. 2021.

CASE, P. D.; BIRD, P. S.; KAHLER, W. A.; GEORGE, R.; WALSH, L. J. Treatment of root canal biofilms of *Enterococcus faecalis* with ozone gas and passive ultrasound activation. **Journal of Endodontics**. Chicago, v. 38, n.4, p. 523-526, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2011.12.020>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22414842/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

DANTAS, E. P. V.; MARTIGNAGO, C. C. S.; TIM, C. R.; BARROS FILHO, R. J. S.; NEVES, T. M. A.; ASSIS, L. Fotobiomodulação como coadjuvante no tratamento na lesão pulmonar aguda decorrente da sepse. **Research, Society and Development**. Vargem Grande Paulista. v. 9, n. 10, p. 10-20, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i10.9024>. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/346168920>. Acesso em: 18 jul 2021.

DI PAOLO, N.; BOCCI, V.; GAGGIOTTI, E. Ozone therapy. **Int J Artif Organs**. Milano, v. 27, n. 3, p. 168-175, 2004. DOI:10.1177/039139880402700303. Acesso em 08 de out. 2021.

DING, W.; JIN, W.; CAO, S.; ZHOU, X.; WANG, C.; JIANG, Q.; HUANG, H.; TU, R. S.; WANG, Q. Ozone disinfection of chlorine-resistant bacteria in drinking water. **Water Research**. Oxford, v. 160, p. 339-349, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.05.014>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31158616/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

DIOGUARDI, M.; DI GIOIA, G. D.; ILLUZZI, G.; LANEVE, E.; COCCO, A.; TROIANO G. Endodontic irrigants: Different methods to improve efficacy and related problems. **European Journal of Dentistry**. Ankara, v. 12, n. 3, p. 459-466, 2018. DOI: https://doi.org/10.4103/ejd.ejd_56_18. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30147418/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

DISTEL, J. W.; HATTON, F.; GILLESPIE, M. Biofilm formation in medicated root canals. **Journal of Endodontics**. Baltimore, v. 28, n. 10, 689-703, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1097/00004770-200210000-00003>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12398165/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

DUTNER J, MINES P, ANDERSON A. Irrigation trends among American Association of Endodontists members: a Web-based survey. **Journal of Endodontics**. Baltimore, v. 38, n. 1, p. 37-40, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22152617/>. Acesso em: 11 de out. 2021.

ESLAMI, L. M.; VATANPOUR, M.; AMINZADEH, N.; MEHRVARZFAR, P.; TAHERI S. The comparison of intracanal medicaments, diode laser and Photodynamic therapy on removing the biofilm of *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* in the root canal system (ex-vivo study). **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**. Amsterdam, v.26, p. 157–161, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2019.01.033>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30708091/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

ESTRELA, C.; ESTRELA, C. R. A.; DECURCIO, D. A.; HOLLANDA, A. C. B.; SILVA, J. A. Antimicrobial efficacy of ozonated water, gaseous ozone, sodium hypochlorite and chlorhexidine in infected human root canals. *International Endodontic Journal*. Oxford, v. 40, n. 2, p. 85-93, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2006.01185.x>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17229112/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

ESTRELA, C.; HOLLAND, R.; ESTRELA, C. R. A.; ALENCAR, A. H. G.; SOUSA-NETO M.D.; PÉCORÁ J. D. Characterization of successful root canal treatment. *Brazilian Dental Journal*. Ribeirão Preto. v. 25, n. 1, p. 3-11, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0103-6440201302356>. Disponível em <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24789284/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

EVANS, M.; DAVIES, J. K.; SUNDQVIST, G.; FIGDOR D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus Faecalis* to calcium hydroxide. *International Endodontic Journal*. Oxford v. 35, n. 3, p. 221-228, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2591.2002.00504.x>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11985673/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

FERNANDES, K. G. C.; SILVA, B. B. D.; BOER, N. C.; MANDARINI, D. R.; MORETI, L. C. T.; KATO, A. S.; BUENO, C. E. D. S.; LIMOEIRO, A. G. D. S.; PINHEIRO, S. L.; MARTIN, A. S.; FONTANA, C. E. The Effectiveness of Three Irrigation Systems in the *Enterococcus faecalis* Reduction after Instrumentation with a Reciprocating Instrument. *Eur J Dent*. Copenhagen, v. 14, n.4, p. 539-543, 2020. DOI: 10.1055/s-0040-1714760. PMID: 32898871; PMCID: PMC7535969. Acesso em 29 de set. de 2021.

FIDALGO, T. K. S.; BARCELOS, R.; PORTELA, M. B.; SOARES, R. M. A.; GLEISER, R.; SILVA-FILHO, F. C. Inhibitory activity of root canal irrigants against *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*. *Braz Oral Res*. São Paulo, v. 24, n.4, p. 406-412, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1806-83242010000400006>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bor/a/XK4GXsYzvrGZSQZGtTrhHFL/?lang=en&format=pdf>. Acesso em: 10 nov. 2020.

FILIPPI, A. The effects of ozonized water on epithelial wound healing (in German). *Deutsche Zahnaerztliche Zeitschrift*. v. 56, p. 104–108, 2001, Basel. DOI: <https://www.researchgate.net/publication/237555230>. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/237555230>. Acesso em: 10 nov. 2020.

GATOT, A.; ARBELLE, J.; LEIBERMAN, A.; YANAI-INBAR, I. Effects of sodium hypochlorite on soft tissues after its inadvertent injection beyond the root apex. *Journal of Endodontics*. Baltimore, v. 17, n. 11, p. 573–574, 1991. Disponível em: [https://www.jendodon.com/article/S0099-2399\(06\)81725-5/pdf](https://www.jendodon.com/article/S0099-2399(06)81725-5/pdf). Acesso em: 11 de out.

2021.

GOLDBERG, M.; KULKARNI, A.B.; YOUNG, M.; BOSKEY, A. Dentin: structure, composition and mineralization. *Front Biosci.* v. 1, n. 3, p. 711-35, 2011. DOI: 10.2741/e281. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21196346/>. Acesso em 08 de out. De 2021.

GOMES, B.P.; VIANNA, M. E.; ZAIA, A. A.; ALMEIDA, J. F.; SOUZA-FILHO, F. J.; FERRAZ, C. C. Chlorhexidine in endodontics. *Braz Dent J. Ribeirão Preto*, v.24, n. 2, p. 89-102, 2013. doi: 10.1590/0103-6440201302188. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23780357/>. Acesso em: 11 de out. 2021.

GOMES, B. P. F. A.; HERRERA, D. R. Etiologic role of root canal infection in apical periodontitis and its relationship with clinical symptomatology. *Brazilian Oral Research. São Paulo*, v. 32, p. 82-110, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0069>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bor/a/ZNz4P3vfkWygqGnkQq36P4m/?lang=en>. Acesso em: 10 nov. 2020.

GOMES, B. P. F. A.; PINHEIRO, E. T.; GADÊ-NETO, C. R.; SOUSA L. R.; FERRAZ C. C. R.; ZAIA A. A.; TEIXEIRA F. B.; SOUZA-FILHO F. J. Microbiological examination of infected root canals. *Oral Microbiol. Immunol. Copenhagen*, v. 19, p. 71-76, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.0902-0055.2003.00116.x>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14871344/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

GOMES, B. P. F. A.; PINHEIRO, E. T.; JACINTO, R. C.; ZAIA, A. A.; FERRAZ, C. C. R.; SOUZA-FILHO, J. F. Microbial analysis of canals of root-filled teeth with periapical lesions using polymerase chain reaction. *J Endod. Baltimore*, v. 34, p. 537-540, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.01.016>. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.01.016>. Acesso em: 10 nov. 2020.

GONÇALVES, S. R.; TIM, C. R.; MARTIGNAGO, C. C. S.; SILVA, M. C. P.; ANARUMA, C. A.; GARCIA L. A. Potencial da terapia por fotobiomodulação no tratamento da atrofia do músculo esquelético. *Research, Society and Development. Vargem Grande Paulista*, v. 10, n. 1, p. 1-12, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i1.8527>. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/348256742>. Acesso em: 18 jul 2021.

HAAPASALO, M.; ORSTAVIK, D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res. Washington*, v. 66, p. 1375-9, 1987. DOI: 10.1177/00220345870660081801. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3114347/>. Acesso em 29 de set. de 2021.

HAAPASALO, M.; SHEN, Y.; QIAN, W.; GAO, Y. Irrigation in Endodontics. *Dent Clin N Am. Philadelphia*, v. 54, p. 291-312, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2014.204>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24651335/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

HEMS, R. S.; GULABIVALA, K.; -L. NG, Y.; READY, D.; SPRATT, D. A. An in vitro evaluation of the ability of ozone to kill a strain of *Enterococcus faecalis*. *International Endodontic Journal. Oxford*, v. 38, p. 22-29, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2004.00891.x>. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15606819/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

HO, S. P.; SENKYRIKOVA, P.; MARSHALL, G. W.; YUN, W.; WANG, Y.; KARAN, K.; LI, C.; MARSHALL, S. J. Structure, chemical composition and mechanical properties of coronal cementum in human deciduous molars. *Dent Mater*. Washington, v. 25, n. 10, p. 1195-204, 2009. DOI: 10.1016/j.dental.2009.04.005. Epub 2009 May 21. PMID: 19464049; PMCID: PMC2782750. Acesso em 08 de out. De 2021.

HUBBEZOGLU, I.; ZAN, R.; TUNC, T.; SUMER, Z. Antibacterial efficacy of aqueous ozone in root canals infected by *Enterococcus faecalis*. *Jundishapur J Microbiol*.

Ahvaz, v., n. 7, p. e11411, 2014. DOI: <https://doi.org/10.5812/jjm.11411>. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

HUTH KC, QUIRLING M, MAIER S, KAMERECK K, ALKHAYER M, PASCHOS E, WELSCH U, MIETHKE T, BRAND K, HICKEL R. Effectiveness of ozone against endodontopathogenic microorganisms in a root canal biofilm model. *Int Endod J*. Oxford. v. 42, n.1, p.3-13, 2009. doi: 10.1111/j.1365-2591.2008.01460.x. PMID: 19125975. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19125975/>. Acesso em: 11 de out. de 2021.

HYSLOP, P. A.; HINSHAW, D. B.; HALSEY, W. A. JR. Mechanisms of oxidant-mediated cell injury. The glycolytic and mitochondrial pathways of ADP phosphorylation are major intracellular targets inactivated by hydrogen peroxide. *The Journal of Biological Chemistry*. Baltimore. v. 263, n. 4, p. 1665–1675, 1998. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3338986/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

KAKEHASHI, S.; STANLEY, H. R.; FITTZGERALD, R. J. The effects of surgical exposure of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. Saint Louis, v. 20, p. 340-349, 1965. DOI: [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(65\)90166-0](https://doi.org/10.1016/0030-4220(65)90166-0). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14342926/>. Acesso em: 18 jul. 2021.

MARTINHO, F. C.; CHIESA, W. M. M.; LEITE, F. R. M.; CIRELLI, J. A.; GOMES, B. P. F. A. Antigenic Activity of Bacterial Endodontic Contents from Primary Root Canal Infection with Periapical Lesions against Macrophage in the Release of Interleukin-1b and Tumor Necrosis Factor a. *JOE*. Baltimore, v. 36, n. 9, p. 1467-1474, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.06.012>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20728711/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

MARTINHO, F. C.; CHIESA, W. M. M.; LEITE, F. R. M.; CIRELLI, J. A.; GOMES B. P. F. A. Antigenicity of Primary Endodontic Infection against Macrophages by the Levels of PGE2 Production. *JOE*. Baltimore, v. 37, n. 5, p. 602-607, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.12.005>. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/15940>. Acesso em: 10 nov. 2020.

MATOS NETO, M.; SANTOS, S. S. F.; LEÃO, M. V. P; HABITANTE, S. M.; RODRIGUES, J. R. D. D.; JORGE, A. O. C. Effectiveness of three instrumentation systems to remove *Enterococcus faecalis* from root canals. *Int Endod J*. Oxford v. 45, p. 435-438, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2011.01994.x>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22211829/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

MOLANDER, A.; DAHLÉN, G. Evaluation of the antibacterial potential of tetracycline or erythromycin mixed with calcium hydroxide as intracanal dressing against *Enterococcus faecalis* in vivo. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* Saint Louis, v. 96, n. 6, p. 744-50, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1079-2104\(03\)00361-5](https://doi.org/10.1016/s1079-2104(03)00361-5). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14676767/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

MULLER, P.; GUGGENHEIM, B.; SCHMIDLIN, P. R. Efficacy of gasiform ozone and photodynamic therapy on a multispecies oral biofilm in vitro. *Eur J Oral Sci.* Copenhagen, v. 115, n.1, p. 77–80, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2007.00418.x>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17305720/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

NAGAYOSHI, M., KITAMURA, C., FUKUIZUMI, T., NISHIHARA, T., TERASHITA, M. Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. *J End.* Baltimore, v. 30, n. 11, p. 778–781, 2004. <https://doi.org/10.1097/00004770-200411000-00007>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15505509/>. Acesso em 11 de out. 2021.

NAGAYOSHI, M.; FUKUIZUMI, T.; KITAMURA, C.; YANO, J.; TERASHITA, M.; NISHIHARA, T. Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms. *Oral Microbiology and Immunology.* Kitakyushu, v. 19, n. 4, p. 240-246, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.2004.00146.x>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15209994/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

NEELAKANTAN, P.; HERRERA, D. R.; PECORARI, V. G. A.; GOMES, B. P. F. A. Endotoxin levels after chemomechanical preparation of root canals with sodium hypochlorite or chlorhexidine: a systematic review of clinical trials and meta-analysis. *International Endodontic Journal.* Oxford, v. 52, n.1, p. 19–27, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/iej.12963>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29884999/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

NOGALES, C. G.; FERREIRA, M. B.; MONTEMOR, A. F.; RODRIGUES, M. F.; LAGE-MARQUES, J. L.; ANTONIAZZI, J. H. Ozone therapy as an adjuvant for endodontic protocols: microbiological - ex vivo study and cytotoxicity analyses. *J Appl Oral Sci.* Bauru, v. 24, n. 6, p. 607-613, 2016. doi: 10.1590/1678-775720160029. PMID: 28076466; PMCID: PMC5161259. Acesso em 29 de set. de 2021.

NOGALES, C. G.; FERRARI, P. H.; KANTOROVICH, E. O.; LAGE-MARQUES, J. L. Ozone therapy in medicine and dentistry. *The Journal of Contemporary Dental Practice.* São Paulo, v. 9, n. 4, p. 75-84, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.5005/jcdp-9-4-75> . Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18473030/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

NOGALES, C. G.; FERREIRA, M. B.; LAGE-MARQUES, J. L.; ANTONIAZZI, J. H. Comparison of the antimicrobial activity of three different concentrations of aqueous ozone on *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Enterococcus faecalis* – in vitro study. *Revista Española de Ozonoterapia.* Madrid, v. 4, n. 1, p. 9- 15, 2014. Disponível em: <https://ozoneintegrale.com.br/wp-content/uploads/2020/10/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

NOITES, R.; PINA-VAZ, C.; ROCHA, R.; CARVALHO, M. F.; GONÇALVES, A.; PINA-

VAZ, I. Synergistic antimicrobial action of chlorhexidine and ozone in endodontic treatment. hindawi publishing. Corporation BioMed Research International. London, v. 2014, p. 1-6 , 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/592423>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24982899/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

PASHLEY EL, BIRDSONG NL, BOWMAN K, PASHLEY DH. Cytotoxic effects of NaOCl on vital tissue. Journal of Endodontics. Baltimore, v. 11, p. 525–528, 1985. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3867719/>. Acesso em: 11 de out. 2021.

PIERI, N.; MANÇANARES, C.; BERTASSOLI, B. Classificação morfofuncional dos dentes de quati, *nasua nasua*. Pesq. Vet. Bras. Rio de Janeiro, v. 31, n. 5, p.1-10, 2011. ISSN 1678-5150. DOI: 10.1590/S0100-736X2011000500013. Acesso em 08 de out. De 2021.

PLOTINO, G.; CORTESE, T.; GRANDE, N. M.; LEONARDI, D. P.; GIORGIO, G. D.; TESTARELLI, L.; GAMBARINI, G. New Technologies to Improve Root Canal Disinfection. Brazilian Dental Journal. Ribeirão Preto, v. 27, n. 1, p. 3-8, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0103-6440201600726>. Disponível em: <https://www.scielo.br/>. Acesso em: 10 nov. de 2020.

RICUCCI, D.; SIQUEIRA, J. F. J. Anatomic and microbiologic challenges to achieving success with endodontic treatment: a case report. J Endod. Oxford, v. 34, n. 10, p. 1249-54, 2008. DOI: 10.1016/j.joen.2008.07.002. PMID: 18793932. Acesso em 29 de set. de 2021.

RICUCCI, D.; SIQUEIRA, J. F. J. Tissue fate in lateral canals and apical branches in response to pathological conditions and treatment procedures. J Endod. Oxford, v. 36, p. 1-15, 2010. Acesso em 29 de set. de 2021.

RÔÇAS, I. N.; LIMA, K. C.; SIQUEIRA, J. J. F. Reduction in bacterial counts in infected root canals after or hand nickel-titanium instrumentation – a clinical study. Int Endod J. Oxford, v. 46, p. 681-687, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1111/iej.12045>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23331179/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

RÔÇAS, I. N.; SIQUEIRA JÚNIOR, J. F. Comparison of the in vivo antimicrobial effectiveness of sodium hypochlorite and chlorhexidine used as root canal irrigants: a molecular microbiology study. J Endod. Baltimore, v. 37, n.2, p. 143-50, 2011. DOI: 10.1016/j.joen.2010.11.006. PMID: 21238793. Acesso em 08 de out. 2021.

ROJAS-VALENCIA, M. N. Research on ozone application as disinfectant and action mechanisms on wastewater microorganisms Science Against Microbial Pathogens: Communicating. Current Research and Technological Advances. Espanha, v. 3, n., p. 263–271, 2011. DOI: Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/265050308>. Acesso em: 10 nov. 2020.

RUKSAKIET, K.; HANÁK, L.; FARKAS, N.; HEGYI, P.; SADAENG, W.; CZUMBEL, L.M.; SANG-NGOEN, T.; GARAMI, A.; MIKÓ, A.; VARGA, G.; LOHINAI, Z. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine and sodium hypochlorite in root canal disinfection: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. J Endod. Baltimore, v. 46, n. 8, p. 1032-1041, 2020. DOI: 10.1016/j.joen.2020.05.002. PMID: 32413440. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32413440/>. Acesso em 08 de out. De 2021.

SABETI, M.; SLOTS, J. Herpesviral-bacterial coinfection in periapical pathosis. *J. Endod.*, Baltimore, v. 30, n. 2, p. 69-72, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1097/00004770-200402000-00001>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14977298/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

SALAS, H.; CASTREJON, A.; FUENTES, D.; LUQUE, A.; LUQUE, E. Evaluation of the penetration of CHX 2% on dentinal tubules using Conventional Irrigation, Sonic Irrigation (EDDY) and Passive Ultrasonic Irrigation (PUI) techniques: An in vitro study. *J Clin Exp Dent*. Valencia, v. 13, n. 1, p. 37-42, 2021. DOI: 10.4317/jced.57065. Acesso em 29 de set. 2021.

SANSRITI, T.; AVINASH, A.; KATIYAR, S.; AARTHI IYER, A.; & JAIN, S. Dental applications of ozone therapy: A review of literature. *The Saudi Journal for Dental Research*. Dubai, v. 8, p. 105-111, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjdr.2016.06.005>. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

SCHWARTZ, A.; SÁNCHEZ, G. M. Ozone therapy and its scientific foundations. *Ozone Therapy Global Journal*. Madri, v. 2, n. 1, p. 199-232, 2012. Acesso em 08 de out. 2021.

SEDGLEY, C. M.; MOLANDER, A.; FLANNAGAN, S.; APPELBE, O. K.; CLEWELL D. B.; DAHLÉN G. Virulence, phenotype and genotype characteristics of endodontic *Enterococcus* spp. *Oral Microbiol. Immunol*. Copenhagen, v. 20, n. 1, p. 10-19, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-302x.2004.00180.x>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15612939/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

SILVA, E. J. N. L.; PRADO, M. C.; SOARES, D. N.; HECKSHER, F.; MARTINS, J. N. R.; FIDALGO, T. K. S. The effect of ozone therapy in root canal disinfection: a systematic review. *International Endodontic Journal*. Oxford, v. 53, p. 317–332, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/iej.13229>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31587303/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

SIQUEIRA JUNIOR, J. F.; RÔÇAS, I. D. N.; MARCELIANO-ALVES, M. F.; PÉREZ, A. R.; RICUCCI, D. Unprepared root canal surface areas: causes, clinical implications, and therapeutic strategies. *Braz Oral Res*. São Paulo, v. 32, e.65, 2018. DOI: 10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0065. PMID: 30365606. Acesso em 08 de out. De 2021.

SIQUEIRA, J. F. J. Strategies to treat infected root canals. *J. Calif. Dent. Assoc*. San Francisco, v. 29, n. 12, p. 825-37, 2001. PMID: 11813396. Acesso em: 29 de set. de 2021.

SIQUEIRA, J. J. F.; MACHADO, A. G.; SILVEIRA, R. M.; LOPES, H. P.; UZEDA M. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from root canal, in vitro. *Int Endod J*. Oxford, v. 30, p. 279-282, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2591.1997.00096.x>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9477814/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

SIQUEIRA, J. J. F.; RÔÇAS, I. N. Diversity of endodontic microbiota revisited. *J Dent Res.* Washington, v. 88, n. 11, p. 969-981, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1177/0022034509346549>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19828883/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

SIQUEIRA, J. J. F.; RÔÇAS, I. N.; FAVIERI, A.; LIMA, K. C. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2,5% and 5,25% sodium hypochlorite. *J Endod.* Baltimore, v. 26, p.331-334, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1097/00004770-200006000-00006>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11199749/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

SIQUEIRA, J. J. F.; RÔÇAS, I. N.; MARCELIANO-ALVES, M. F.; PÉREZ, A. R.; & RICUCCI, D. Unprepared root canal surface areas: causes, clinical implications, and therapeutic strategies. *Braz Oral Res.* São Paulo, v. 32, p. 2-19, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0065>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30365606/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

SIQUEIRA, J. J. F.; RÔÇAS, I. N.; SANTOS S. R.; LIMA K. C.; MAGALHÃES F. A.; DE UZEDA M. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals. *J Endod.* Baltimore, v. 28, p. 181-184, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1097/00004770-200203000-00009>. Disponível em <https://europepmc.org/article/med/12017176>. Acesso em: 10 nov. 2020.

SJÖGREN, U; FIGDOR, D; PERSSON, S; SUNDQVIST, G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int EndodJ.* Oxford, v. 30, p. 297-306, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1046/J.1365-2591.1997.00092.X>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9477818/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

SUNDE, P. T.; OLSEN, I.; DEBELIAN, G. J.; TRONSTAD L. Microbiota of periapical lesions refractory to endodontics therapy. *J. Endod.* Baltimore, v. 28, n. 4, p. 304-10, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1097/00004770-200204000-00011>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12043869/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

SUNDQVIST, G. Ecology of the root canal microflora. *J Endod.* Baltimore, v. 18, p. 427-430, 1992. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0099-2399\(06\)80842-3](https://doi.org/10.1016/s0099-2399(06)80842-3). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9796509/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

VAN DER SLUIS; L. W.; VOGELS, M. P.; VERHAAGEN, B.; MACEDO, R.; WESSELINK, P. R. Study on the influence of refreshment/activation cycles and irrigants on mechanical cleaning efficiency during ultrasonic activation of the irrigant. *J Endod.* Baltimore, v. 36, p. 737-740, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2009.12.004>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20307755/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

VERTUCCI, F. J. Root canal anatomy of the human permanent teeth. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* Saint Louis, v. 58, n. 5, p. 589-59, 1984. DOI: 10.1016/0030-4220(84)90085-9. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6595621/> Acesso em 29 de set. de 2021.

YARED, G. Canal preparation using only one Ni-Ti rotary instrument: preliminary observations. *Int Endod J.* Oxford, v. 41, n. 4, p. 339-44, 2008. DOI: 10.1111/j.1365-

2591.2007.01351.x PMID: 18081803. Acesso em 08 de out 2021.

ZEHNDER, M. Root canal irrigants. *J Endod.* Baltimore, v. 32, n. 5, p. 389-98, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2005.09.014>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16631834/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

ZHANG, C.; DU, J.; PENG, Z. Correlation between *Enterococcus faecalis* and persistent intraradicular infection compared with primary intraradicular infection: a systematic review. *J Endod.* Baltimore, v. 41, p. 1207-1213, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.04.008>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26015157/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

ZHAO, D.; SHEN, Y.; PENG, B.; HAAPASALO, M. Root canal preparation of mandibular molars with 3 nickel-titanium rotary instruments: a micro-computed tomographic study. *J Endod.* Baltimore, v. 40, p. 1860-1864, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.06.023>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25205262/>. Acesso em: 10 nov. 2020



UNIVERSIDADE BRASIL



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA EFETIVIDADE DA ÁGUA OZONIZADA COMO SOLUÇÃO IRRIGADORA NA ELIMINAÇÃO DE ENTEROCOCCUS FAECALIS DO CANALRADICULAR

Pesquisador: Karina Gonzalez Camara Fernandes

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 26629619.9.0000.5494

Instituição Proponente: INSTITUTO DE CIENCIA E EDUCACAO DE SAO PAULO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.825.308

Apresentação do Projeto:

vide parecer anterior

Objetivo da Pesquisa:

vide parecer anterior

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

vide parecer anterior

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

a inconsistência entre o projeto de pesquisa (brochura do pesquisador) e as informações básicas do projeto (plataforma Brasil), especialmente referente aos riscos, foi devidamente sanada.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

vide parecer anterior

todos devidamente apresentados

Recomendações:

recomendo aprovação

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

recomendo aprovação

Endereço: RUA CAROLINA FONSECA, 235

Bairro: ITAQUERA

UF: SP

Município: SAO PAULO

CEP: 08.230-030

Telefone: (11)2070-0167

E-mail: comite.etica.sp@universidadebrasil.edu.br



UNIVERSIDADE BRASIL



Continuação do Parecer: 3.825.308

Considerações Finais a critério do CEP:

O colegiado acatou o parecer do relator ficando o projeto na condição de APROVADO.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1451035.pdf	20/01/2020 12:04:31		Aceito
Outros	JUSTIFICATIVA.pdf	03/11/2019 08:10:39	Karina Gonzalez Camara Fernandes	Aceito
Outros	KARINA.pdf	03/11/2019 08:07:28	Karina Gonzalez Camara Fernandes	Aceito
Outros	LIVIA.pdf	31/10/2019 09:40:25	Karina Gonzalez Camara Fernandes	Aceito
Folha de Rosto	FOLHADEROSTO.pdf	15/10/2019 15:49:27	Karina Gonzalez Camara Fernandes	Aceito
Outros	CARTADEDOACAO.pdf	15/10/2019 15:47:35	Karina Gonzalez Camara Fernandes	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.pdf	15/10/2019 15:46:50	Karina Gonzalez Camara Fernandes	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 06 de Fevereiro de 2020

Assinado por:

DANIEL SOUZA FERREIRA MAGALHAES
(Coordenador(a))

Endereço: RUA CAROLINA FONSECA, 235
Bairro: ITAQUERA
UF: SP **Município:** SAO PAULO

CEP: 08.230-030**Telefone:** (11)2070-0167**E-mail:** comite.etica.sp@universidadebrasil.edu.br