MARINA BELOTI FERREIRA

**Efeito na reparação óssea periapical da ozonioterapia como
coadjuvante ao tratamento endodôntico.
Estudo clínico-radiográfico.**

São Paulo

2011

MARINA BELOTI FERREIRA

**Efeito na reparação óssea periapical da ozonioterapia como
coadjuvante ao tratamento endodôntico.
Estudo clínico-radiográfico.**

Versão Original

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Doutor, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas.

Área de Concentração: Endodontia

Orientador: Prof. Dr. João Humberto Antoniazzi

São Paulo

2011

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo da Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Ferreira, Marina Beloti

Efeito na reparação óssea periapical da ozonioterapia como coadjuvante ao tratamento endodôntico : estudo clínico radiográfico : [versão original] / Marina Beloti Ferreira; orientador João Humberto Antoniazzi. -- São Paulo, 2011.

97p. : fig., tab., graf.; 30 cm.

Tese -- Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas. Área de Concentração: Endodontia. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

1. Ozônio – Terapia – Aplicações. 2. Tecido periapical – Reparação. 3. Clínica Odontológica – Radiografia. I. Antoniazzi, João Humberto. II. Título.

Ferreira MB. Efeito na reparação óssea periapical da ozonioterapia como coadjuvante ao tratamento endodôntico. Estudo clínico-radiográfico. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências Odontológicas.

Aprovado em: / /2012

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedico este estudo

A Deus, energia superior que ilumina meus caminhos, disponibiliza as pessoas certas nas horas certas e me prova diariamente que a serenidade e a paciência são armas fundamentais, para ao final de um trabalho como esse, poder gritar VITÓRIA!

À memória da minha querida e amada Mãe, **Helena Beloti Ferreira**. Minha gratidão pelo exemplo de vida, caráter e força, por me ensinar a sempre persistir, lutar pelos meus sonhos e nunca desistir, por mais difícil que possa parecer. Saudades.....

Ao meu querido pai **Antonio Carlos Ferreira**, por todo seu amor, carinho, exemplo de vida, e honestidade.

Às minhas queridas irmãs **Sara e Isabela**, pelo amor sempre demonstrado, fazendo viva a chama da amizade, ternura e respeito que nem mesmo a distância física é capaz de apagar. Amo vocês.

Ao **Carlos**, meu amor, sempre presente ao meu lado, muitas vezes abrindo mão de seus sonhos pessoais para sonhar o meu sonho, atencioso e dedicado, apoiando o meu crescer enquanto mulher e profissional.

“Cada um que passa em nossa vida, passa sozinho, pois cada pessoa é única e nenhuma substitui a outra. Cada um que passa em nossa vida passa sozinho, mas quando parte, nunca vai só nem nos deixa a sós. Leva um pouco de nós, deixa um pouco de si mesmo”

Kalil Gibram

AGRADECIMENTOS

A conclusão deste trabalho só foi possível graças à colaboração direta e indireta de muitas pessoas. Manifesto minha gratidão a todas elas.

Ao meu querido Prof. Dr. João Humberto Antoniazzi não só pela oportunidade e privilégio de ser orientada, mas especialmente pelo carinho, o apoio a dedicação, o fazem uma pessoa muito querida e especial.

Ao meu mestre de longa data, querido Prof Dr José Luiz Lage-Marques. Sua confiança, orientação e amizade me colocaram no caminho certo e hoje são ensinamentos que me norteiam na profissão. Muito Obrigada!!!

À Profa Elaine Manso OF Carvalho, minha gratidão eterna, por ter sido a primeira pessoa em acreditar em mim e lançar-me ao mundo acadêmico.

Aos meus colegas do curso: Brígida Kleine, Rafael Paiva, Luciana Blanck, Guilherme Martins, Nilton Azambuja, Thiago Brum e Sandra Kuhne, pelas contribuições e experiências trocadas durante todo o doutorado.

A minha amiga Emanuela, agradeço a amizade confidente, carinho e ajuda em vários momentos.

Aos Professores da Disciplina de Endodontia da FOUSP pelos ensinamentos e convívio compartilhados.

Às bibliotecárias Glauci e Cláudia, pela gentileza no atendimento e pelas correções.

Aos pacientes participantes deste estudo pela confiança e disponibilidade.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo apoio financiamento deste trabalho (06/04205-2).

À CAPES, pela concessão da bolsa de doutorado.

RESUMO

Ferreira MB. Efeito na reparação óssea periapical da ozonioterapia como coadjuvante ao tratamento endodôntico. Estudo clínico-radiográfico [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2012. Versão Original.

A reparação dos tecidos periapicais testemunha o êxito da terapia endodôntica. Por intervir de forma favorável na reparação tecidual, a ozonioterapia é reconhecida como um importante coadjuvante ao protocolo terapêutico, sendo oportuno verificar sua eficácia no caso da terapia endodôntica. Para isso, foi avaliada, *in vivo* a influência do gás ozônio, da água ozonizada e óleo ozonizado na reparação tecidual em situações de necrose pulpar com alterações ósseas periapicais, diagnosticado e caracterizado como quadros de infecção primária. Foram feitas radiografias previamente e ao final do tratamento e novamente no terceiro e no sexto mês após a conclusão da terapia endodôntica. Respeitando-se os critérios de inclusão, 36 pacientes da Clínica Odontológica da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo foram divididos aleatoriamente em 3 grupos: Grupo I (12 dentes) Controle: tratamento endodôntico segundo protocolo da Disciplina de Endodontia da FOUSP; Grupo II (12 dentes) protocolo terapêutico empregado pelo Grupo I e associado ao final com irrigação de 10 mL de água bidestilada ozonizada na concentração de 8 µg/mL; e, Grupo III (12 dentes) protocolo terapêutico empregado pelo Grupo I e associado ao final do preparo do canal da aplicação de 10 mL do gás ozônio na concentração de 40 µg/mL. Foi utilizado como medicação intracanal o hidróxido de cálcio veiculado em PRP no Grupo I e o óleo de girassol ozonizado (Philozon, Santa Catarina, SC, Brasil) nos Grupos II e III. As medicações permaneceram por um período de 15 dias e em seguida foi feita obturação com cimento AH-Plus. A avaliação da reparação óssea periapical foi realizada analisando as radiografias digitalizadas no programa ImageLab. Após a delimitação e quantificação de *pixels* das lesões periapicais, as radiografias finais e controles de 3 e 6 meses foram comparadas, indicando o quanto de redução da radiolucência periapical. Paralelamente, foi feita a análise de sensibilidade pós-operatória utilizando uma Escala Visual Analógica. Os pacientes foram questionados com

relação à sensibilidade previamente ao início do tratamento, 72 horas após consulta inicial e nos controles de 3 e 6 meses, devendo associá-la com uma nota de 0 a 10 de acordo com a intensidade. Os dados foram submetidos à análise de variância, complementado pelo teste de Tukey, com significância de 5%. Os três protocolos terapêuticos instituídos promoveram redução da imagem radiolúcida periapical sem diferença estatística significativa. Na análise da sensibilidade, o Grupo III apresentou os melhores resultados, com diferença estatística significativa em relação aos demais grupos. Com base nos dados obtidos e na análise estatística executada, foi possível concluir que a ozonioterapia, por meio do emprego do gás ozônio e água ozonizada na fase do preparo químico cirúrgico e do óleo ozonizado como medicação intracanal, interviu de maneira favorável na reparação, em situações de necrose pulpar com alterações ósseas periapicais, sendo o gás mais efetivo que a água ozonizada, com diferenças estatísticas significantes. Os 2 grupos experimentais de ozonioterapia comparado ao grupo controle (protocolo FOUSP) apresentaram padrão de reparação óssea semelhante. A utilização da água ozonizada como irrigante e do óleo ozonizado como medicação intracanal mostrou a melhor eficácia do ponto de vista sintomatológico.

Palavras-chave: Tratamento endodôntico. Reparação. Sensibilidade pós-operatória. Ozônio. Ozonioterapia. Água Ozonizada.

ABSTRACT

Ferreira MB. Effect in periapical bone healing of Ozone therapy as adjuvant to endodontic treatment – clinical-radiographic essay [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2012. Original Version.

The success of the endodontic treatment is related to the repair of the periapical tissues. The ozone therapy is known for its therapeutic usefulness, favorable tissue healing, thus it seems suitable for evaluating its efficiency in the endodontic therapy. The aim of this study was to evaluate *in vivo* the influence of ozone gas, ozonated water and oil in bone repair in cases of pulpar necrosis with radiographic evidence of periapical bone loss associated with primary endodontic infection. Radiographs (X-rays) were taken prior and after the completion of the endodontic treatment, three and six months later. According to the enclosure criteria, 36 patients of the Dental Clinic of the School of Dentistry, University of Sao Paulo, were selected and randomly divided in three groups: Group I (12 teeth) – Control: endodontic treatment protocol according to the discipline of Endodontics – FOU SP, Group II (12 teeth): endodontic protocol associated with final irrigation with 10 mL of bidestilated ozonated water at concentration of 8 µg/mL and Group III (12 teeth): endodontic protocol associated with application of 10 mL of ozone gas at concentration of 40 µg/mL. Calcium Hydroxide was used as intracanal medication for 15 days. In Group I it was associated with anesthetic solution and in the Groups II and III associated with ozonated oil (Philozon, Santa Catarina, SC, Brazil). After this period, all teeth were obturated with AH-Plus root canal sealer. Evaluation of periapical bone repair was performed with Image Lab software after image digitalization. After delimitation and pixel quantification of the periapical lesion area of the images immediately after the endodontic treatment, 3 and 6-months follow up, the obtained data were compared indicating the quantum reduction of the periapical radiolucency. In parallel, a postoperative sensitivity analysis was performed using a Visual Analog Scale. Patients were asked to score the sensitivity from 0 to 10 according to its intensity prior to first appointment, 72 hours later the first visit, 3 and 6 months later. Data were submitted to analysis of variance (ANOVA), complemented by the Tukey test at 5% of significance. All the three groups promoted a reduction of the apical radiolucent

image without statistical difference. In the sensitivity analysis, Group III showed the best results with statistically significant difference compared to the other groups. Based on the statistical data analysis we concluded that ozone therapy through the use of ozone gas and ozonated water during the root canal instrumentation and ozonated oil as intracanal medication, positively intervene in the repair of periapical bone loss. The ozone gas was more effective than the ozonated water with significant statistical difference. Group II and III (experimental groups) compared to Group I (endodontic protocol FOUSP) showed a similar pattern of bone repair. The use of ozonated water as irrigant and ozonated oil as intracanal dressing showed better efficacy in terms of symptomatology.

Key words: Endodontic treatment. Healing. Postoperative Sensitivity. Ozone. Ozone Therapy. Ozonated Water.

LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1 -	Produção de 40 µg/mL de ozônio pelo gerador Philozon.....	51
Figura 4.2 -	Preenchimento da seringa com 10 mL de ozônio na concentração de 40 µg/mL.....	51
Figura 4.3. -	(1) Gerador de Ozônio Philozon; (2) Cilindro de oxigênio medicinal com regulador de fluxo; e, (3) Coluna de vidro utilizada para ozonizar a água.....	52
Figura 4.4. -	Confirmação da concentração do ozônio na água bidestilada (CHEMets® Kit Ozone K-7402).....	52
Figura 4.5 -	Escala visual analógica.....	56
Figura 4.6 -	Imagem ilustrativa da análise da rarefação óssea periapical pelo programa ImageLab 2000.....	57
Figura 5.1 -	Tratamento endodôntico realizado nos dentes 42 e 43 segundo os critérios do Grupo III. (A) radiografia inicial, (B) radiografia final, (C) radiografia de controle de 3 meses e (D) radiografia de controle de 6 meses.....	70
Figura 5.2 -	Dentes 31 e 41 submetidos ao protocolo terapêutico do Grupo I (FOUSP).....	70
Figura 5.3 -	Sequência radiográfica do tratamento e controle do dente 23: (A) radiografia inicial, (B) radiografia final, (C) controle 3 meses, (D) controle 6 meses.....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 -	Quantidade de <i>pixels</i> e porcentagem da imagem radiolúcida do Grupo I.....	60
Tabela 5.2 -	Média e desvio padrão das áreas radiolúcidas dos tempos avaliados no Grupo I.....	61
Tabela 5.3 -	Quantidade de <i>pixels</i> e porcentagem da imagem radiolúcida do Grupo II.....	62
Tabela 5.4 -	Média e desvio padrão das áreas radiolúcidas dos tempos avaliados no Grupo II.....	63
Tabela 5.5 -	Quantidade de <i>pixels</i> e porcentagem da redução da imagem radiolúcida do Grupo III.....	63
Tabela 5.6 -	Média e desvio padrão das áreas radiolúcidas dos tempos avaliados pelo Grupo III.....	64
Tabela 5.7 -	Médias percentuais da imagem radiolúcida periapical e sua redução na avaliação em 3 meses.....	65
Tabela 5.8 -	Média e desvio padrão da avaliação da porcentagem da imagem radiolúcida em 3 meses.....	66
Tabela 5.9 -	Médias percentuais da imagem radiolúcida periapical e sua redução na avaliação em 6 meses.....	66
Tabela 5.10 -	Média e desvio padrão da avaliação da porcentagem da imagem radiolúcida em 6 meses.....	67
Tabela 5.11 -	Dados referentes à sintomatologia dolorosa dos pacientes tratados nos Grupo I, II e III.....	68
Tabela 5.12 -	Análise estatística dos dados referentes à sensibilidade pós-operatória 72 horas após a primeira consulta ($p<0.05$).....	69

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 5.1 - Média percentual da imagem radiolúcida e reparação no Grupo I	60
Gráfico 5.2 - Média percentual da imagem radiolúcida e reparação no Grupo II	62
Gráfico 5.3 - Média percentual da imagem radiolúcida e reparação no Grupo III	64
Gráfico 5.4 - Porcentagem de redução da imagem radiolúcida periapical na avaliação em 3 meses	65
Gráfico 5.5 - Porcentagem de redução da imagem radiolúcida periapical na avaliação em 6 meses	67

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 INFECÇÃO ENDODÔNTICA	17
2.2 AÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS NA SANIFICAÇÃO DO SISTEMA ENDODÔNTICO	20
2.3 SENSIBILIDADE PÓS-OPERATÓRIA AO TRATAMENTO ENDODÔNTICO	23
2.4 PERSPECTIVAS ATUAIS	25
2.5 OZÔNIO	29
2.5.1 Histórico da Ozonioterapia	29
2.5.2 Ozonioterapia	30
2.5.2.1 Papel do ozônio na reparação	31
2.5.2.1.1 Mecanismo de ação	32
2.5.2.1.2 Diabetes	33
2.5.2.1.3 Osteomielite	34
2.5.3 Ação antimicrobiana do ozônio voltada para a Odontologia	35
2.5.4 Óleo ozonizado	42
3 PROPOSIÇÃO	46
4 CASUÍSTICA E MÉTODOS	48
5 RESULTADOS	58
6 DISCUSSÃO	73
7 CONCLUSÕES	85
REFERÊNCIAS	87
APÊNDICE	96
ANEXO	97

1 INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico está diretamente relacionado com a prevenção e controle das infecções pulpares e periapicais, e dessa forma, visa devolver o dente à estética e função. Nos casos de infecção, a presença da microbiota não se limita ao endodonto, estando presente também na região perirradicular, caracterizada por um biofilme apical fortemente aderido à superfície do cimento em dentes portadores de lesão periapical.

Assim, a eliminação dos microrganismos dos canais radiculares infectados é uma constante preocupação na Endodontia, demonstrada por pesquisas que avaliaram a ação dos instrumentos endodônticos, das substâncias químicas, irrigação/aspiração e da medicação intracanal. Ainda hoje, o melhor e mais seguro método utilizado para descontaminar o sistema endodôntico é a criteriosa sanificação, uma vez que os microrganismos presentes em canais radiculares necrosados não podem ser alcançados pelas células de defesa do hospedeiro.

O preparo químico-cirúrgico reduz significativamente os microrganismos predominantes. Entretanto, os persistentes sobrevivem, não somente pela limitação do preparo em removê-los das complexidades anatômicas, mas pela presença de alguns nutrientes capazes de favorecer o crescimento destes microrganismos residuais restabelecendo a contaminação do espaço pulpar e dos tecidos periapicais.

Em busca de alternativas, a ozonioterapia tem sido explorada na Medicina e Odontologia como um procedimento terapêutico no tratamento de muitas doenças agudas e crônicas. O ozônio, uma forma alotrópica do oxigênio, é o segundo elemento com poder oxidativo na natureza, possui elevada e comprovada ação antimicrobiana, atuando principalmente sobre os ácidos graxos poliinsaturados da membrana celular bacteriana. Produz um aumento na síntese de ATP (trifosfato de adenosina) e do 2,3-difosfoglicerato, aumentando a oferta de oxigênio para os tecidos, dessa forma o ozônio modula direta e indiretamente o sistema imune do paciente, melhorando a resposta do organismo frente ao agente etiológico. Cabe aclarar que o fator diferencial se dá pela capacidade da molécula O_3 estimular efeitos biológicos, incentivando a reparação tecidual, cura e retorno do dente a sua função.

Diante dessas atribuições, o ozônio apresenta um grande potencial para ser inserido na terapia endodôntica, por incorporar os dois quesitos necessários a qualquer substância de uso endodôntico: ação antimicrobiana por excelência e biocompatibilidade.

Sendo assim, diante das dificuldades na redução da microbiota nos casos de infecção endodôntica, parece oportuno avaliar os resultados da inserção do ozônio como um coadjuvante à prática da Endodontia.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 INFECÇÃO ENDODÔNTICA

A associação de microrganismos com as doenças pulpare e perirradiculares foi inicialmente proposta por Miller (1894). Em estudo clássico, por meio de esfregaço do material coletado de canais radiculares infectados observou os três tipos morfológicos básicos de células bacterianas: cocos, espirilos e bacilos. Concluiu também a presença de outras espécies não passíveis de cultivo por conta da limitação de técnica da época.

Takehashi et al. (1965) estabeleceram definitivamente a relação causa-efeito entre bactérias e doença pulpar e perirradicular. Neste estudo expuseram a polpa dental de ratos *germ-free* e não *germ-free* ao meio bucal e analisaram a resposta pelo método histológico. Concluíram que nos ratos não *germ-free* houve necrose pulpar com perda óssea periapical e nos ratos *germ-free* houve formação da ponte de dentina reparando a polpa.

Sundqvist (1976), em pesquisa usando técnicas anaeróbias avançadas, mostraram que os canais radiculares de 18 em 19 dentes afetados por lesões periapicais abrigavam uma mistura de várias espécies bacterianas, compostas principalmente por anaeróbios estritos.

Fabricius et al. (1982) definem a periodontite apical como uma desordem inflamatória dos tecidos periapicais causada por infecção microbiana a partir do tecido necrótico e infectado do sistema endodôntico. Dessa forma, seleciona os microrganismos causadores que crescem, em sua maioria, organizados em biofilmes.

Siqueira Jr (2002), em um amplo trabalho de revisão de literatura, dividiu e conceituou os diferentes tipos de infecção endodôntica. O autor pontua que os microrganismos que colonizam a polpa necrótica caracterizam a infecção primária e que a quantidade e tipos envolvidos estão diretamente relacionados com o tempo em que a infecção está instalada. Geralmente a infecção primária é composta por uma associação de microrganismos, mas com predominância dos anaeróbios, anaeróbios facultativos e microaerófilos. O autor chama a atenção para os quadros

sintomáticos que apresentam uma microbiota com predominância de anaeróbios Gram negativos.

Spratt, em 2004, assegura que nessas situações clínicas, a infecção do sistema endodôntico apresenta no mínimo 3 espécies, podendo atingir até 12 espécies por canal, quando as amostras são avaliadas por métodos diversos de cultura. Esse número pode ser ampliado especialmente em quadros sintomáticos, e a densidade de células bacterianas pode variar de 10^2 a 10^8 por canal radicular, com predomínio de anaeróbios estritos, Gram positivos e Gram negativos, em proporções que variam de acordo com a sintomatologia dolorosa.

Gomes et al. (2004) avaliaram, valendo-se do isolamento de bactérias em cultura, a microbiota de 41 canais com infecção primária e sua relação com sinais e sintomas. Os achados reforçam a presença de infecção polimicrobiana, com mínimo de 3 e máximo de 10 espécies cultiváveis por canal. Os microrganismos mais freqüentemente isolados foram anaeróbios estritos: *Peptostreptococcus micros*, *Prevotella prevotti*, *Fusobacterium necrophorum*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus sanguis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Gemella morbillorum*, *Streptococcus mitis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella loeschii* e *Lactobacillus acidophilus*. Casos sintomáticos com história pregressa de dor, sensibilidade à percussão e edema foram associados a bactérias anaeróbias estritas Gram-negativas, especialmente *Prevotella ssp.*, *Porphyromonas ssp.* e fusobactérias.

Sassone et al. (2007) avaliaram a composição da microbiota presente em infecções endodônticas primárias. Foram selecionados 111 casos de dentes unirradiculares com necrose pulpar. Os autores observaram que a microbiota encontrada em infecções endodônticas primárias apresentava grande variedade de espécies. Diversos microrganismos foram considerados patógenos orais tais como *F. nucleatum*, *Compylobacter gracilis*, *Treponema socranski*, *Porphyromonas endodontalis*, *P. gingivalis*, *P. micros* e *P. nigrescens*; e ainda *Enterococcus faecalis* e *Neisseria mucosa* e *V. parvula*. Estes microrganismos apresentaram alta prevalência nos canais infectados.

Martinho e Gomes (2008) buscaram quantificar endotoxina e bactérias em 24 canais com periodontite apical primária com ou sem sintomas clínicos, utilizando hipoclorito de sódio 2,5% e EDTA como substâncias químicas auxiliares. Onze dentes eram assintomáticos e 13 apresentavam sensibilidade à palpação e/ou

percussão. A redução bacteriana foi de 99,7%, após o preparo. Endotoxina estava presente em todos os canais, porém com diferenças significantes entre os casos sintomáticos, em especial naqueles com sensibilidade à percussão e assintomáticos. Após a fase de preparo, todos os canais continham endotoxina, porém com redução de 59,9%. Concluíram então que as substâncias químicas empregadas foram capazes de contribuir para a redução de endotoxinas, mas não para sua completa inativação.

Ricucci e Siqueira (2010) avaliaram a prevalência do biofilme bacteriano em dentes tratados e não tratados endodonticamente, com evidência de periodontite apical, assim como a associação do biofilme com as condições clínicas, radiográficas e histopatológica. Foram utilizados biópsias de 106 canais, sendo 64 não tratados e 42 com tratamento endodôntico realizado, que foram obtidos por meio de cirurgia apical ou extração. Foram encontrados biofilme em 77% dos espécimes avaliados, 80% nos dentes não tratados e 74% nos tratados, cobrindo ramificações e istmos apicais. Os achados evidenciam a afirmativa da relação entre a periodontite apical e a presença do biofilme bacteriano, assim como a associação ao processo patológico e tamanho da lesão.

Gomes et al. (2011) analisaram a suscetibilidade de bactérias anaeróbias, comumente encontradas na infecção endodôntica, isoladas da população Brasileira, em diferentes períodos, a antibióticos frequentemente administrados na endodontia. Para isso, amostras bacterianas foram coletadas de canais infectados nos períodos de 2000-2002, 2003-2005, 2007-2008 e realizadas a identificação microbiológica. A suscetibilidade de *Prevotella intermedia/nigrescens*, *P.oralis*, *Fusobacterium nucleatum* e *P.micra* foi determinada pela concentração inibitória mínima à amoxicilina, amoxicilina + clavulanato, penicilina, clindamicina, eritromicina e metronidazol, por meio do método E-test. A amoxicilina, amoxicilina + clavulanato foram efetivas contra a maioria das espécies testadas nos diferentes períodos. No entanto, observaram um aumento na resistência anaeróbia à penicilina e clindamicina. Resistência à eritromicina foi observada nos períodos de 2000-2002 e 2003-2005. Os autores concluíram que a resistência antimicrobiana dos anaeróbios estudados mostrou um aumento ao longo do período de tempo estudado.

2.2 AÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS NA SANIFICAÇÃO DO SISTEMA ENDODÔNTICO

Schilder (1974) introduziu o conceito de sanificação e modelagem, isto é, a remoção da matéria orgânica, dos microrganismos e subprodutos e do material produzido durante a instrumentação, obtendo ao final do preparo químico-cirúrgico um ambiente com características adequadas para a obturação.

Takahashi (1998) em uma revisão de literatura, afirma que o preparo do canal é o responsável potencial pelo controle microbiano, sendo capaz de reduzir em até 90% o número de células bacterianas. Entretanto, as complexidades anatômicas do sistema endodôntico limitam a efetividade da desinfecção. Assim, as substâncias químicas auxiliares são utilizadas no intuito de permear o sistema de canais, rompendo o dinamismo do ecossistema microbiano, tornando-se foco de grande interesse. Dessa forma, o autor concluiu que muitas questões relativas à patogênese da lesão periapical ainda são desconhecidos e necessitam de maiores esclarecimentos.

D´Arcangelo et al. (1999) avaliaram o efeito de diferentes concentrações e associações de hipoclorito de sódio, clorexidina e cetrimide sobre anaeróbios facultativos, microaerófilos e anaeróbios estritos. As substâncias químicas foram deixadas em contato com os microrganismos pelos tempos experimentais de 10, 20 e 30 minutos. Os resultados mostraram que todas as substâncias testadas, em todas as concentrações apresentaram ação sobre todos os microrganismos, mesmo no menor tempo de exposição.

Amorim e Lage-Marques (2002) avaliaram em 27 dentes unirradiculares a penetração do corante Rodamina B após o preparo químico-cirúrgico. Para tal, os dentes foram distribuídos nos grupos experimentais: Grupo I – hipoclorito de sódio 0,5% associado ao creme Endo-PTC e irrigação final com EDTA-T; Grupo II- hipoclorito de sódio 0,5% associado ao *Glyde File Prep* e Grupo III – hipoclorito de sódio 0,5% associado ao *File Eze*. Após o preparo, os dentes foram secos e o corante foi introduzido nos canais e removido imediatamente. Os dentes foram então, seccionados transversalmente e para avaliar a penetração intratubular do corante, os cortes foram analisados no *software* ImageLab. Os autores puderam

concluir que todos os grupos testados apresentaram aumento na permeabilidade dentinária radicular de maneira semelhante.

Em um trabalho de revisão de literatura, Law e Masser (2004) alertaram que a necessidade da medicação intracanal se dá por atingir áreas não trabalhadas pela instrumentação, como istmos, ramificações, reentrâncias e túbulos dentinários, os quais permanecem colonizados por bactérias.

Com uma nova proposta terapêutica, Ferreira et al. (2005) avaliaram as alterações da permeabilidade dentinária com a utilização do Endo PTC na forma gel, tendo como veículo o carbopol. Foram utilizadas 12 raízes de dentes unirradiculares submetidos ao tratamento endodôntico utilizando solução de hipoclorito de sódio 1% com variação do lubrificante intracanal, de acordo com os diferentes grupos experimentais: Grupo I – creme Endo-PTC; Grupo II – gel Endo-PTC e Grupo III – soro fisiológico. Em seguida, foi aplicado nos espécimes o corante indicador Rodamina B 1% e foram clivados no sentido longitudinal para análise da infiltração por meio do *software* ImageLab. O emprego do gel Endo-PTC foi capaz de proporcionar alto índice de permeabilidade dentinária não apresentando diferenças estatisticamente significantes quando comparado ao creme Endo-PTC. Os autores concluíram que o gel Endo-PTC apresenta-se como uma boa opção ao preparo do canal.

Berber et al. (2006) compararam diferentes concentrações de hipoclorito de sódio (0,5%, 2,5%, 5,25%) em diversas técnicas rotatórias e manuais em 180 dentes extraídos e contaminados com *E. faecalis*. Os autores constataram que independente da técnica, nas concentrações maiores o NaOCl foi mais efetivo na desinfecção em profundidade. Quanto ao grau de limpeza, não foi observada diferença entre as concentrações testadas.

Vianna et al. (2007) avaliaram a redução bacteriana e de endotoxina após o preparo de canais radiculares de vinte e quatro dentes com periodontite apical primária e assintomáticos. Foi utilizado o lisado de amebócito de *Limulus* (LAL) para avaliação da endotoxina e cultura foi realizada para contagem das unidades formadoras de colônias (UFC/mL). Como esperado, as bactérias e endotoxinas estavam presentes em todas as amostras iniciais, reforçando a íntima relação entre agentes biológicos (bactérias e endotoxinas) com o desenvolvimento e manutenção da periodontite apical. A infecção polimicrobiana era dominada por anaeróbios estritos (69,1%) e Gram-positivos (75%), pois se tratava de infecção primária

assintomática. Após a fase de preparo dos canais com clorexidina gel a 2% a redução microbiana foi de 66,7%, com o remanescente tendo predominância de bactérias Gram-positivas. Os dados indicaram que a eliminação eficaz das bactérias pelo preparo químico-cirúrgico não corresponde à eliminação de endotoxina e, tal ocorrência pode, posteriormente, manter a periodontite apical.

Lage-Marques e Antoniazzi (2008) afirmaram que dentre as substâncias químicas auxiliares do preparo do canal radicular, o creme Endo PTC, desenvolvido por Paiva e Antoniazzi (1973), associado ao hipoclorito de sódio 0,5% é utilizado por suas características antimicrobianas, além de sua consistência favorecer a cinemática da instrumentação. Esse creme tem em sua composição: peróxido de uréia (antimicrobiano com elevado potencial de liberação de oxigênio), Tween 80 (detergente molecular) e Carbowax (veículo). A reação provocada pelo uso do Endo-PTC gotejado pelo hipoclorito de sódio proporciona efervescência que deve ser mantida durante toda a fase da instrumentação do sistema endodôntico.

Monteiro et al. (2008) avaliaram, com auxílio de microscópio eletrônico de varredura e leituras computadorizadas, a limpeza da superfície dentinária radicular - terços cervical, médio e apical - em canais radiculares de incisivos inferiores humanos, preparados por sistema rotatório e diferentes substâncias químicas. Entre elas o hipoclorito de sódio a 2,5%, (pH 11,0), o creme de Endo PTC reagindo com hipoclorito de sódio 0,5% (pH 11,0), empregando-se essa em duas diferentes consistências; sua consistência normal (Endo PTC-N) e uma de menor densidade, veiculado em polietilenoglicol (Endo-PTC-L); e de um gel de clorexidina (Endogel®). Concluída essa fase, os grupos receberam irrigação-aspiração com soluções de hipoclorito de sódio a 0,5%, (pH 11,0) e de EDTA-T a 17%, exceto o grupo do Endogel®, que recebeu dois regimes de irrigação, em um, irrigação aspiração final com 20mL de soro fisiológico e em outro irrigação com EDTA-T. Concluíram que as substâncias veiculadas em polietilenoglicol e em menor viscosidade ofereceram melhor padrão de limpeza.

Retamozo et al. (2010) avaliaram a concentração e tempo de irrigação mínimos para o hipoclorito de sódio desinfetar discos de dentina contaminados com *E. faecalis*. Para tal, os autores seccionaram incisivos bovinos transversalmente, removeram o cimento e por meio de uma ponta diamantada, removeram a pré-dentina, padronizando uma luz de canal com 2-3 mm de diâmetro. Para a remoção do *smear layer* foi feito banho em ultrassom com EDTA 17% por 4 minutos seguidos

pela imersão em hipoclorito de sódio 5,25%, também por 4 minutos. Os cilindros foram então esterilizados e em seguida contaminados com *E. faecalis* em meio BHI. O conjunto permaneceu em repouso por 3 semanas com troca semanal do meio para assegurar a viabilidade do microrganismo. As concentrações experimentais utilizadas do hipoclorito de sódio foram de 1,3%, 2,5% e 5,25% e cada uma dessas concentrações foi testada nos tempos de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 minutos. Cada amostra foi colocada em 2 mL de meio BHI e incubadas por 72 horas. O turvamento do meio apontava crescimento bacteriano positivo. Os autores concluíram que a irrigação com o hipoclorito de sódio nas concentrações de 1,3% e 2,5% foi ineficaz na inativação do *E. faecalis* em dentes bovinos, em menos de 40 minutos. Por outro lado, a solução de hipoclorito de sódio 5,25% foi 100% eficaz em 40 minutos.

2.3 SENSIBILIDADE PÓS-OPERATÓRIA AO TRATAMENTO ENDODÔNTICO

Estrela, (2001) assegurou que a manifestação de sintomas pós-operatórios pode estar relacionada a diferentes fatores de risco naturais: condições locais e sistêmicas do indivíduo, preparo do canal radicular, limite apical de instrumentação e de obturação, agente de irrigação, medicação intracanal, material de obturação e número de sessões. A ausência de sintomas pós-operatórios implica em importante parâmetro de qualidade do tratamento endodôntico, além de vincular positivamente o nível de conhecimento e manejo clínico profissional.

Soares e Cesar (2001) avaliaram a incidência de dor pós-operatória e o tipo de reparação periapical, após tratamento endodôntico em sessão única, em 27 dentes portadores de polpa necrótica associada à rarefação óssea periapical, assintomáticos. Para tanto, após o preparo químico cirúrgico, os canais foram obturados pela técnica convencional, utilizando-se cones de guta-percha e cimento à base de óxido de zinco e eugenol. No pós-operatório imediato, 16,6% dos pacientes apresentaram dor espontânea, contudo a incidência de dor do tipo severa foi da ordem de 3,3%. Aos doze meses, todos os pacientes estavam assintomáticos e sem

fístulas, todavia, apenas 46,4% apresentaram completa resolução das áreas radiolúcidas periapicais. Ao final de 12 meses, relataram que todos os pacientes estavam assintomáticos, embora apenas 46,4% apresentassem completa resolução das áreas radiolúcidas periapicais.

Em um estudo *in vivo* envolvendo 140 pacientes, Walton et al. (2003) avaliaram a presença de dor pós-operatória na utilização da pasta de hidróxido de cálcio com glicerina. Neste estudo, 50% dos pacientes foram medicados com um placebo (ausência de medicação intracanal) e os outros 50% receberam o hidróxido de cálcio, tanto em casos de necrose quanto em casos de polpa viva. Do total de pacientes, houve 27% de casos de dor moderada a severa após o uso de hidróxido de cálcio e 33% de casos de dor sem uso de medicação intracanal. Não houve diferença estatística entre os grupos. Concluíram que o hidróxido de cálcio utilizado como medicação intracanal não age prevenindo ou reduzindo a incidência de dor pós-operatória.

Estrela et al. (2008) em revisão sistemática da literatura observaram que a estimativa de sucesso clínico a partir dos trabalhos avaliados evidencia que o processo de sanificação e o apropriado emprego de medicamentos intracanal conduzem a elevada taxa de ausência de dor pós-operatória em infecções endodônticas primárias.

Ince et al. (2009) avaliaram a incidência de dor pós-operatória após o tratamento endodôntico realizado em sessão única ou múltiplas sessões de dentes com polpa vital ou não vital. Para isso foram selecionados 306 pacientes com indicação de tratamento endodôntico e que cumpriam os critérios de inclusão. O protocolo instituído lançou mão da irrigação com a solução de hipoclorito de sódio 5%. Os pacientes foram divididos aleatoriamente em dois grupos. Enquanto os do grupo I foram tratados em sessão única, o grupo II foi selado temporariamente, sem medicação intracanal e obturado na semana seguinte. Após 3 dias do preparo químico-cirúrgico os pacientes foram questionados com relação à dor pós-operatória por meio da Escala Visual Analógica. Não foi encontrada diferença estatística significativa entre os tratamentos da polpa vital e não vital e também entre os dois grupos experimentais. Dessa forma os autores puderam concluir que a prevalência de dor pós operatória não difere entre dentes com polpa vital e não vital. A maioria dos pacientes dos dois grupos relatou apenas uma sensibilidade suave.

El Mubarak et al. (2010) avaliaram a dor pós-operatória após o tratamento endodôntico convencional. Para tal foram selecionados 234 pacientes com indicação ao tratamento. O preparo químico cirúrgico foi feito com a solução de hipoclorito de sódio a 2,5% como irrigante associada à técnica modificada *double-flared* e nos casos de múltiplas sessões foi utilizado o hidróxido de cálcio como medicação intracanal. A dor pós-operatória foi mensurada por meio de uma escala visual analógica que quantificava numericamente a dor após 12 e 24 horas após a consulta, na escala de 1-sem sintomas a 4 – dor severa. Como resultado os autores obtiveram que em geral a incidência de dor pós-operatória foi de 9,0% após 12 e 24 horas. Não houve diferença estatística significativa entre a dor pós-operatória dos casos tratados em sessão única e múltiplas consultas. Dessa forma concluíram que houve baixa incidência de dor pós-operatória após o tratamento endodôntico convencional.

2.4 PERSPECTIVAS ATUAIS

Diante da importância, dificuldades de eliminação e da frequência com que os microrganismos anaeróbios facultativos são encontrados nos casos de infecção endodôntica, inúmeros trabalhos estudaram a melhor forma de eliminá-los, propondo diferentes substâncias químicas com diferentes concentrações. O condicionamento do sistema endodôntico por meio do aumento da permeabilidade dentinária facilita e potencializa a ação das substâncias químicas com poder antimicrobiano favorecendo a eliminação destes patógenos.

Neste capítulo são apresentados estudos com propostas alternativas e complementos medicamentosos com o objetivo de aprimorar a fase de sanificação na terapia endodôntica.

Araki (2003) avaliou o sucesso do tratamento endodôntico em 20 pacientes portadores de dentes com rarefação óssea periapical discernível em radiografia. Após o preparo químico-cirúrgico, os pacientes foram divididos em 2 grupos experimentais: Grupo I – tratamento tradicional; e, Grupo II- tratamento tradicional associado à aplicação de laser Nd:YAG intracanal. Todos os canais foram mantidos

com o hidróxido de cálcio veiculado em PRP (Paramonoclorofenol, Polietilenoglicol e Rinosoro qsp) entre a primeira e segunda sessão, transcorrendo o período de 15 dias. Ao longo dos tempos experimentais (inicial, final, 3 meses e 6 meses) foram obtidas imagens pelo método de radiografia digital direta. Com base nos dados obtidos e a análise estatística executada, concluiu-se que os procedimentos endodônticos realizados nos pacientes tratados em ambos os grupos experimentais apresentaram alto índice de reparação. Os pacientes pertencentes ao Grupo II (irradiação intracanal) apresentaram no tempo experimental de seis meses um desvio padrão menor representando variação menor, portanto uma reparação mais homogênea.

Vianna et al. (2004) compararam a efetividade antimicrobiana da solução e gel de clorexidina 0,2%, 1% e 2% e do hipoclorito de sódio 0,5%, 1%, 2,5%, 4% e 5,25%. Para o estudo, utilizaram cepas de microrganismos, entre elas *Staphylococcus aureus* que foram cultivadas em meio BHI. A suspensão foi ajustada espectrofotometricamente com densidade óptica de 800 nm, totalizando uma concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Em uma placa de cultura celular, 1 mL de cada irrigante foi colocado juntamente com 2 mL da suspensão bacteriana. As placas foram colocadas em banho ultrassônico por 10 segundos e deixadas em repouso por diferentes tempos experimentais: 15, 30 e 45 segundos, 1, 3, 5, 10, 15, 20 e 30 minutos e 1 e 2 horas. Decorrido cada tempo, 1 mL de cada poço da placa de cultura foi transferido para 3 mL de meio BHI + neutralizantes e incubados em 37°C por 7 dias. Os resultados mostraram que todas as substâncias testadas podem ser utilizadas como irrigantes endodônticos, com exceção do gel de clorexidina 0,2% que não foi capaz de eliminar todos os microrganismos testados.

Garcez et al. (2008) analisaram a ação antimicrobiana do tratamento endodôntico associado à terapia fotodinâmica (PDT). Foram selecionados 20 pacientes. Coletas microbiológicas foram feitas após o acesso ao canal, ao preparo químico-cirúrgico e a PDT na primeira sessão. Os dentes permaneceram medicados com hidróxido de cálcio por 7 dias. Na segunda sessão também foram feitas coletas microbiológicas. Os autores observaram que a terapia fotodinâmica proporcionou uma redução significativa do número de bactérias no canal, tornando-se uma promissora alternativa para a sanificação do sistema endodôntico.

Vianna e Gomes (2009) compararam *in vitro* a eficácia da solução de hipoclorito de sódio e da clorexidina isoladamente ou combinadas em diferentes

concentrações contra *E. faecalis*. As substâncias testadas foram clorexidina 2% gel, clorexidina 2% solução, hipoclorito de sódio 1%, 2,5% e 5,25% e a combinação deles na mesma proporção. Dois métodos foram usados para a análise: teste de difusão em Agar e o teste de diluição em meio. O *E. faecalis* foi cultivado por 24 horas em meio BHI e em seguida a concentração da suspensão foi ajustada por meio de espectrofotômetro com densidade óptica de 800 nm, proporcionando uma concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. O mesmo método de padronização do microrganismo foi utilizado para os dois métodos de avaliação. Embora a combinação do hipoclorito de sódio e da clorexidina apresente atividade antimicrobiana, não melhora a atividade da clorexidina empregada isoladamente. O hipoclorito de sódio e a clorexidina nas maiores concentrações apresentaram melhores resultados na eliminação do microrganismo estudado.

Britto et al. (2009) compararam a redução da população de *E. faecalis* mediante três regimes distintos de irrigação com hipoclorito de sódio e EDTA: *EndoVac*, *EndoActivator* e irrigação convencional com as NaviTips. Para tal, o *E. faecalis* foi cultivado por 24 horas em meio TSB e TSA. Enquanto isso, setenta caninos foram contaminados com a suspensão da bactéria e incubados por 7 dias. Os dentes foram divididos aleatoriamente em três grupos experimentais, como segue: Grupo I - irrigação convencional com as NaviTips calibradas 3 mm aquém do comprimento de trabalho; Grupo II - semelhante ao grupo I com ativação final do irrigante com *EndoActivator*; e Grupo III - irrigação utilizando o sistema *EndoVac*. Os canais foram mecanicamente preparados com o sistema rotatório *ProTaper*. Amostras do conteúdo do canal foram coletadas antes e depois do preparo do canal com pontas de papel estéril. Essa coleta foi incubada em estufa 37°C por 48 horas em meio de cultura *Mitis-Salivarius* para posterior contagem das UFC/mL. Diante da metodologia aplicada, os autores concluíram que os três métodos de irrigação foram efetivos na redução bacteriana, entretanto, proporcionaram nível de redução semelhante, sem diferença estatística significativa.

Martinho et al. (2010) investigaram clinicamente a ação das substâncias químicas, hipoclorito de sódio 2,5% e EDTA 17% e instrumentos rotatórios na remoção de endotoxinas de vinte e um dentes portadores de periodontite apical. Amostras foram coletadas antes (S1) e após (S2) o preparo químico cirúrgico. O lisado de amebócito de limulus (LAL) foi usado para quantificar endotoxina. Os resultados demonstraram que endotoxinas estavam presentes em 100% dos casos

antes e após o preparo químico cirúrgico dos dentes. A quantificação dos dados revelou que houve uma redução de 98,06% da endotoxina após o preparo do canal. Os autores concluíram que as ações químicas do hipoclorito de sódio 2,5% e EDTA 17% associados à mecânica dos instrumentos rotatórios foram efetivas na redução de endotoxina nos casos de periodontite apical.

Inserindo uma nova substância química com poder antimicrobiano, Rossi-Fedele et al. (2010) compararam a efetividade da água super-oxidada ao hipoclorito de sódio na concentração de 4% contra *E. faecalis*. Para isso, os autores utilizaram 15 raízes de incisivos bovinos que foram contaminados e incubados por 10 dias em estufa 37°C. Decorrido o tempo, os dentes foram divididos de acordo com os grupos experimentais: Grupo I - solução salina (controle negativo); Grupo II - hipoclorito de sódio 4% e grupo III: irrigação com a água super-oxidada. Os canais foram instrumentados com o sistema ProTaper e a irrigação aconteceu por 3 minutos. Em seguida raspas de dentina foram produzidas por meio de pontas diamantadas e incubadas em meio BHI por 24 horas. Foram feitas as diluições seriadas e contagem das UFC/mL. Diante da metodologia aplicada o hipoclorito de sódio foi o único agente irrigante capaz de eliminar completamente o microrganismo do canal radicular.

Souza, em 2011, avaliou *in vivo* a terapia fotodinâmica como coadjuvante ao preparo do canal na desinfecção do sistema endodôntico. Foram selecionados trinta dentes unirradiculares portadores de periodontite apical com rarefação óssea. Após o acesso à entrada do canal realizou-se a 1ª coleta do conteúdo intracanal. Os dentes foram divididos em grupos: Grupo I - 15 dentes preparados com instrumentação rotatória e gel de Endo PTC e hipoclorito de sódio 0,5%, sem medicação intracanal (2ª coleta), os mesmos foram selados e 72h após o preparo realizou-se a 3ª coleta do conteúdo do canal; Grupo II – 10 dentes preparados como o grupo I até a 2ª coleta e então foi inoculado um sensibilizador azul de metileno 50ug/mL e irradiação laser de diodo de comprimento de onda 660nm na potência de 100mW por 4 minutos, enxágue, sem medicação intracanal e selamento dos dentes para 3ª coleta após 72h. Foi feita quantificação de microrganismos para verificação da redução da microbiota total e em particular de *E. faecalis* - detecção por meio de cultura em meio seletivo. Também foram realizados ensaios de *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Concluiu-se que a PDT nos parâmetros testados não aumentou a desinfecção intracanal conseguida pelo preparo do canal.

2.5 OZÔNIO

Segundo Bocci (2005) o gás ozônio é fruto de uma reação exotérmica a partir da molécula de oxigênio, com símbolo químico O_3 . Possui peso molecular de 47.9982. Extremamente oxidante e instável, ou seja, retorna a forma molecular de oxigênio com relativa facilidade. Existe como gás à temperatura ambiente, é incolor a azulado, com odor pungente e rapidamente detectável em concentrações baixas como 0,02 a 0,05 ppm.

Nogales et al. (2008) apontam que o ozônio é formado naturalmente na camada externa da atmosfera através do bombardeamento do oxigênio pelos raios ultravioleta. Chuvas com descargas elétricas são fontes de ozônio. A poluição atmosférica também gera ozônio, aumentando sua participação percentual frente aos outros gases.

2.5.1 Histórico da Ozonioterapia

Rubin (2001) aponta o químico alemão Christian Friedrich Schönbein como o pai do ozônio. Os trabalhos com a eletrólise da água permitiram a Schönbein identificar um odor característico, o qual o nomeou “Ozon”, derivado do termo grego “Ozein” (aquilo que emite cheiro).

Nogales (2006) descreveu que o uso terapêutico do ozônio iniciou-se com o engenheiro Werner Von Siemens, em 1857, ao produzir e patentear o primeiro gerador de ozônio utilizando como fonte elétrica a descarga corona ou silenciosa, o que seria o padrão para os equipamentos atuais. Este mesmo autor afirma que durante a Primeira Guerra Mundial, o médico alemão Albert Wolf utilizava o ozônio tópico para o tratamento de feridas em soldados, conseguindo excelentes resultados.

Viebahn-Hansler (2007) aponta que o primeiro relato de aplicação da ozonioterapia na odontologia se dá em 1950 com o cirurgião-dentista Edward Fisch, realizando tratamentos de periodontites com água ozonizada. Um de seus pacientes

foi o cirurgião austríaco Erwin Payr, que após o tratamento odontológico virou um entusiasta da técnica e passou a pesquisá-la e a inseriu como protocolo nos centros cirúrgicos alemães, na década de 50. Este período é considerado o início da Ozonioterapia como se conhece nos dias atuais.

2.5.2 Ozonioterapia

Bocci (2002) coloca que o ozônio medicinal sintetizado por geradores específicos a partir do oxigênio puro, é utilizado em concentrações inferiores àquelas para fins industriais - concentração de no máximo 5% de ozônio em oxigênio ou doses que variam de 1-100 µg (mcg/mL) de ozônio ou gamas. A concentração de 1 µg/mL de ozônio significa que a mistura gasosa oxigênio-ozônio contém 0,05% de ozônio e 99,95% de oxigênio; no extremo máximo da aplicação clínica a concentração de 100 µg/mL de ozônio significa que a mistura gasosa oxigênio-ozônio contém 5% de ozônio e 95% de oxigênio. O ozônio é 1,6 vezes mais denso e 10 vezes mais solúvel em água que o oxigênio, tendo uma maior capacidade para se difundir e penetrar nos tecidos, assim como para dissolver no plasma sanguíneo e nos fluídos extracelulares.

Bocci (2002) descreve um sistema de preparação de água ozonizada constituído de um cilindro de vidro, com diâmetro de $\frac{3}{4}$ de polegada e com 50 cm de altura, preenchido com água bidestilada. Por meio dessa coluna de água o ozônio produzido por um gerador calibrado deverá borbulhar continuamente durante pelo menos 5 minutos. A saturação do gás na água será proporcional a sua concentração, da manutenção de temperatura e pressão de ozônio. O controle das concentrações de ozônio diluído em água é muito importante, pois os efeitos terapêuticos são dependentes da sua concentração.

Viebahn-Hansler (2007) elucida que a maioria dos geradores de ozônio medicinal presente no mercado utilizam a descarga corona para produção da mistura gasosa oxigênio-ozônio, uma vez que após o oxigênio puro (medicinal) passar por um gradiente de alta voltagem, suas moléculas são dissociadas, o que permite a formação do gás ozônio a partir da união de moléculas e átomos de oxigênio. A concentração de ozônio depende do fluxo de oxigênio e de parâmetros

elétricos do gerador. O uso de ar atmosférico como matéria-prima para produção de ozônio medicinal deve ser excluído pela formação de espécies tóxicas e subprodutos. O ozônio, como qualquer gás dissolve-se fisicamente na água pura. Essa dissolução é dependente da temperatura, pressão atmosférica e concentração de ozônio produzido. Em água bidestilada, a meia-vida do gás é de 10 horas em temperatura ambiente, com concentração de 18 a 24 µg/mL (em pH=7 e a 20°C). Quando sob refrigeração, pode ser mantida por até 7 dias. A máxima concentração do ozônio que se consegue atingir na água bidestilada é de 24µg/mL.

Re et al. (2008) alertaram que devido a molécula triatômica ser muito instável e reativa, o ozônio não pode ser armazenado, devendo ser utilizado imediatamente a partir da geração. Em condições normais, a própria temperatura do ambiente em que se encontra tem grande influência em sua degradação. Assim, quanto maior a temperatura ambiente, menor a meia vida do ozônio. Como exemplo, a meia vida do ozônio é de 140 minutos a 0°C, já a 20°C atinge apenas 40 minutos. Desse modo, pode ser associado a veículos que permitam uma liberação mais lenta do ozônio e seus compostos, como o óleo de girassol, polietilenoglicol, óleo de azeite de oliva, e a própria água muito eficiente na aplicação tópica.

Bocci et al. (2011) afirmaram que o ozônio pode apresentar efeito maléfico, dependendo de sua concentração, tempo de exposição, e da capacidade do metabolismo celular do organismo para regular a produção de radicais livres, capazes de produzir danos às moléculas biológicas. Quando inalado em altas concentrações pode produzir danos com consequências prejudiciais à saúde como deficiências neurológicas, fadiga, cefaleia e insônia.

2.5.2.1 Papel do ozônio na reparação

Bocci (2005) aponta que a capacidade oxidante do ozônio reflete diretamente no processo de cura.

Para o melhor entendimento do papel do ozônio na reparação, é fundamental o conhecimento do mecanismo de ação.

2.5.2.1.1 Mecanismo de ação

Viebahn-Hansler (1999) relata que quando se administra ozônio em condições terapêuticas controladas, o organismo não reconhece o gás como um agente estranho, mas como complementar a um mecanismo de proteção que lhe é peculiar na ativação de anticorpos, que produz resposta imunológica contra microrganismos patogênicos.

Nogales (2006) aponta para a ação estimuladora do ozônio e que tal fato inicia-se nos eritrócitos, no ciclo da Glicólise Anaeróbica (Ciclo de Embden Meyerhof) proporcionando o aumento na síntese do 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG). Essa enzima é responsável pela quebra na ligação entre o oxigênio e a hemoglobina (oxi-hemoglobina) liberando oxigênio aos tecidos. Desse oxigênio liberado, 95 a 98% convertem-se em ATP glicose independente. Essa produção extra de ATP não depende da presença da glicose, como ocorre no Ciclo de Krebs. Tal fato pode visto como um aumento no metabolismo celular. De 2 a 5% do oxigênio liberado é convertido em radicais livres, sendo os mais comuns as Espécies Reativas de Oxigênio (ROS), entre eles, o oxigênio singlete, peróxido de hidrogênio, radical hidroxila, radical alcóxila, radical peróxila, entre outros. Essas ROS, quando liberadas no organismo, produzem um efeito de estresse oxidativo agudo com efeito antimicrobiano potente pela ação oxidante do ozônio sobre os ácidos graxos poliinsaturados da membrana celular bacteriana.

Olszewer (2008) relata que o tecido vivo é inicialmente agredido por esse estresse oxidativo e para recuperar-se ocorre a ativação de sistemas e liberação de agentes antioxidantes. A primeira linha de defesa é composta pelo sistema antioxidante enzimático, como superóxido dismutase, catalase e peroxidases. Imediatamente após, são ativados os sistemas antioxidantes fisiológicos e os não enzimáticos.

Nogales e Lage-Marques (2010) relatam que para os microrganismos, o ozônio irá atuar sobre a membrana celular promovendo sua ruptura e consequente lise, graças à ação sobre os ácidos graxos poliinsaturados. Devido a essa ação tão específica e potente, praticamente não há relatos de resistência bacteriana à ação do ozônio.

Bocci et al. (2011) expõem que o processo de ozonização é então caracterizado pela formação de ROS e LOPs (Produtos da Oxidação Lipídica) e ambos agem em fases distintas. Enquanto o ROS age imediatamente e é neutralizado pelos sistemas antioxidantes, os LOPs distribuem-se pelos tecidos e tem a função de minimizar as toxicidades potenciais, tornando-os mensageiros tardios. Essa produção de LOPs ocorre após a oxidação dos ácidos graxos poliinsaturados da membrana celular.

A Medicina apresenta uma casuística de aplicação do ozônio no tratamento da osteomielite e complicações da diabetes, por exemplo.

2.5.2.1.2 Diabetes

Al-Dalain et al. (2005) realizaram um ensaio clínico fase III randomizado e controlado em que se avaliaram um conjunto de indicadores bioquímicos que demonstram a participação das espécies reativas de oxigênio no paciente diabético. Para este estudo, participaram 100 pacientes diabéticos que apresentavam pé diabético neuroinfecioso, os quais foram divididos aleatoriamente em dois grupos: Grupo I: 51 pacientes foram submetidos a 20 sessões (diariamente) de ozônio por via retal e tratamento local com o *bag* plástico e imediatamente após a aplicação local do óleo ozonizado; Grupo II: 49 pacientes que receberam antibiótico sistêmico, de acordo com o microrganismo presente, mediante o método convencional de tratamento e aplicação tópica na lesão por 20 dias. Na avaliação clínica não houve diferença estatisticamente significativa em relação aos dois protocolos. No grupo do Ozônio, 39 pacientes apresentaram cura das lesões e no grupo do antibiótico 34 pacientes. É importante salientar que dos 15 pacientes declarados “não curados” no grupo do antibiótico, 7 foram submetidos a amputação supracondilínea, ao passo que no grupo do ozônio, dos 12 “não curados” apenas 3 foram amputados transmetatarsiana ou infracondilínea, podendo ser mantida a articulação da patela.

Wainstein et al. (2011) avaliaram a eficácia da terapia não invasiva com oxigênio-ozônio no tratamento de úlceras em pés diabéticos. Para tal, pacientes com diabetes e úlceras com classificação de Wagner estágio 2 ou 3 ou estágio 4 após debridamento com pelo menos 8 semanas de duração foram incluídas em estudo

clínico duplo cego, randomizado e controle placebo, no qual foi empregado o protocolo tradicional. Os pacientes receberam o tratamento convencional em combinação com ozonioterapia ou placebo por 12 semanas e decorridas mais 12 semanas, as feridas foram reavaliadas. De um total de 61 pacientes que participaram do estudo, 32 foram randomicamente tratados com ozônio e 29 com placebo. Os pacientes tratados com o protocolo com ozônio tiveram um número significativamente maior de fechamento de úlcera em comparação com o grupo placebo. Dessa forma, os autores concluíram que a associação do ozônio ao protocolo convencional foi superior ao protocolo tradicional na completa cura de úlceras de pé diabético.

2.5.2.1.3 Osteomielite

Bruzadelli-Macedo et al. (2002) descreveram um quadro clínico de osteomielite mandibular severo em um paciente de 35 anos de idade. Tal fato pode ter ocorrido após a extração de um terceiro molar feita dois anos atrás da publicação. O paciente era submetido a procedimento cirúrgico a cada dois meses para a remoção dos sequestros ósseos e fazia uso de antibióticos há 30 dias, entretanto a lise óssea não cessava diante do tratamento. Os autores relataram que a completa resolução do processo infeccioso foi observada apenas após a aplicação da ozonioterapia, que foi realizada pela irrigação das feridas com água ozonizada e aplicação do óleo ozonizado.

Oguz et al. (2011) avaliaram e compararam a eficácia do ozônio e da terapia hiperbárica com oxigênio em um modelo experimental de osteomielite em ratos. Para a realização do estudo, 48 ratos foram divididos em 5 grupos: placebo, osteomielite (controle), vancomicina, vancomicina + terapia hiperbárica com oxigênio, vancomicina + ozônio e vancomicina + terapia hiperbárica + ozônio. A osteomielite foi induzida pela injeção de 10^8 UFC/mL de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente. A terapia hiperbárica foi administrada diariamente por 90 minutos. O ozônio foi aplicado intraperitoneal uma vez por dia. O tratamento foi aplicado de 7 a 21 dias após a indução da osteomielite. Os autores puderam concluir que o ozônio foi tão efetivo quanto a terapia hiperbárica com oxigênio no decréscimo

dos parâmetros oxidativos e das citocinas inflamatórias. Os ratos tratado com vancomicina + ozônio e vancomicina com terapia hiperbárica ganharam mais peso que os outros grupos.

2.5.3 Ação Antimicrobiana do ozônio voltada para a Odontologia

Segundo Buliés (1996) o ozônio produz oxidação letal no protoplasma bacteriano, por alteração nos ácidos graxos poliinsaturados da parede bacteriana, tornando-se microbicida, bactericida, fungicida e parasiticida. O ozônio também possui ação antiinflamatória e analgésica, com alívio da sintomatologia dolorosa, por regular o metabolismo celular, os mecanismos oxidativos celulares, favorecer a oxigenação tecidual e por ser imunomodulador. O aumento de oxigênio nos tecidos se dá em decorrência das reações de oxidação com os ácidos gordurosos insaturados da membrana fosfolipídica, que geram peróxidos hidrofílicos estimulando a formação de substâncias desoxigenantes (formação de anti-oxidantes), as quais atuam sobre a oxi-hemoglobina liberando oxigênio.

Velano et al. (2001) pesquisaram *in vitro* o efeito antibacteriano da água ozonizada sobre *S. aureus*, com concentrações variando de 10^6 a 10^{16} microrganismos/mL. Os resultados demonstraram que o tempo máximo para inativação total das bactérias tratadas com água previamente ozonizada (0,6 mg/mL O_3) foi de cinco minutos e 25 segundos. Ressalta-se ainda neste estudo, que a quantidade de ozônio transferida à água pelo borbulhamento, proporcionou condições fundamentais para a efetividade da solução.

Nagayoshi et al. (2004a) mostraram que a água ozonizada nas concentrações de 2 a 4 mg/L aplicados por 20 segundos em culturas bacterianas foi efetiva tanto na eliminação de microrganismos bucais Gram positivos como Gram negativos. Os autores comentam que o uso de ozônio diluído em água é vantajoso para a manutenção da potência oxidante do ozônio, o manuseio é mais fácil e seguro do que sob a forma gasosa, o efeito antimicrobiano é rápido e apresenta viabilidade de ser empregado em soluções para imersão de instrumentos médico-odontológicos.

Nagayoshi et al. (2004b) utilizando a água ozonizada na concentração de 4 mg/L, avaliaram o efeito sobre *E. faecalis* e *Streptococcus mutans* inoculados em dentes bovinos. Os autores verificaram que houve um decréscimo significativo dessas bactérias intratubular, que foi melhorado com a agitação dos meios, onde seu efeito foi semelhante estatisticamente à solução de hipoclorito de sódio 2,5%. Também foi avaliada a citotoxicidade em fibroblastos de ratos (L-929) do hipoclorito de sódio 2,5% e da água ozonizada. A atividade metabólica dos fibroblastos foi maior quando tratado com a água ozonizada, enquanto com o hipoclorito de sódio foi constatado um decréscimo do número de células viáveis.

Hems et al. (2005) avaliaram a efetividade do ozônio sobre *E. faecalis* na forma planquitônica e em biofilme, a fim de estabelecer o potencial como irrigante endodôntico. Para o estudo foram utilizados água ozonizada, gás ozônio e o microrganismo testado proveniente de um isolado clínico. O meio de cultura com os microrganismos foi borbulhado com o ozônio por diferentes períodos de tempo (30, 60, 120 e 240 segundos). Para o grupo controle positivo foi utilizada a solução de hipoclorito de sódio 2,5% e para o controle negativo, o ar atmosférico por 240 segundos com o mesmo fluxo aplicado ao grupo do ozônio. As diluições seriadas foram feitas, seguidas pelo plaqueamento e contagem das UFC/mL. Paralelamente foi feito cultivo do microrganismo em discos de nitrato de celulose em placas de agar sangue, para simular o biofilme. Os discos foram transferidos para tubos contendo 10 mL de água ou solução de hipoclorito de sódio 2,5%. O ozônio foi borbulhado no tubo com água pelos tempos experimentais de 30, 60, 120 e 240 segundos. Da análise dos resultados, os autores puderam concluir que a água ozonizada foi eficiente contra o *E. faecalis* na forma planquitônica após 240 segundos. O ozônio não apresentou eficiência sobre o biofilme, e a solução de hipoclorito de sódio 2,5% foi mais efetiva sobre a suspensão planquitônica.

Estrela et al., em 2006, avaliaram a efetividade antimicrobiana do ozônio aplicado em 3 diferentes soluções em um sistema de limpeza ultrassônica contra *Staphylococcus aureus*. A cepa bacteriana foi cultivada em agar BHI. A concentração da suspensão foi ajustada de acordo com o padrão 1 da escala MacFarland, correspondente a aproximadamente 3×10^8 células/mL. Foram feitos 8 grupos: Grupo I – água destilada estéril ozonizada na temperatura de 40°C misturada com *S. aureus*; Grupo II - água destilada estéril ozonizada na temperatura de 60°C misturada com *S. aureus*; Grupo III – vinagre da maçã ozonizado na

temperatura de 40°C misturada com *S. aureus*; Grupo IV - vinagre da maçã ozonizado na temperatura de 60°C misturada com *S. aureus*; Grupo V – água destilada estéril ozonizada + Endozime AWPlus na temperatura de 40°C misturada com *S. aureus*; Grupo VI – água destilada estéril + Endozime AWPlus na temperatura de 40°C misturada com *S. aureus*; Grupo VII – água destilada na temperatura de 40°C misturada com *S. aureus* (controle positivo); e, Grupo VIII – água destilada estéril na temperatura de 40°C misturada com *S. aureus* (controle negativo). Após a incubação em 37°C por 48 horas, as placas que continham mais de 50 unidades formadoras de colônias foram selecionadas e o número total de UFC foi determinado. Os resultados evidenciaram que a aplicação do ozônio nas soluções testadas utilizadas nos sistemas de limpeza ultrassônica apresentou atividade antimicrobiana contra o *S. aureus*.

Cardoso et al. (2008) avaliaram a efetividade da água ozonizada como agente irrigante na eliminação de *E. faecalis* e *Candida albicans* e na neutralização de endotoxinas do canal radicular. Para tal, foram selecionados 48 dentes unirradiculares que foram preparados e contaminados com a suspensão padronizada na concentração de $1,8 \times 10^8$ células/mL. Então, 20 μ L da suspensão bacteriana foram inoculadas em 24 raízes que foram distribuídas e fixadas em placas de cultura celular. Estas foram incubadas em estufa 37°C por 21 dias. Os dentes foram então instrumentados até a lima 80 seguidos de irrigação com 3 mL da água ozonizada ou solução salina para cada instrumento usado. Imediatamente após a instrumentação, foi feita a primeira coleta microbiológica. Em seguida, os dentes foram preenchidos com água ozonizada ou solução salina e incubados por 7 dias, em estufa 37°C, quando então foi feita a segunda coleta. As outras 24 raízes selecionadas para o experimento foram, esterilizadas e inoculadas com 10 μ L de uma solução padrão contendo endotoxina. As raízes foram instrumentadas de acordo com o mesmo protocolo. Foram feitas as coletas imediatamente e 7 dias após o preparo. Os resultados mostraram que a água ozonizada reduziu o número de UFC/mL do *E. faecalis* e *C. albicans*, entretanto, na segunda coleta, 7 dias após, o número de microrganismos cresceu marcadamente. Com relação à neutralização de endotoxinas avaliada pelo método de lisado de límulus, revelou a presença de endotoxina no interior do canal tanto no grupo da água ozonizada como no grupo controle, da solução salina. Dessa forma, concluiu-se que a água ozonizada, como agente irrigante, reduziu significativamente o número de *E. faecalis* e *C. albicans*.

Além disso, a água ozonizada não foi capaz de neutralizar endotoxinas do canal radicular.

Segundo Lynch (2008) o ozônio tem sido proposto como um agente antisséptico baseado nos relatos de sua ação antimicrobiana tanto na forma de gás como diluído em água. O ozônio é efetivo quando prescrito em uma concentração suficiente, usado por um tempo adequado e aplicado corretamente intracanal após os procedimentos tradicionais de limpeza, desinfecção e modelagem. O ozônio tem sua ação melhorada em regiões com menos debris orgânicos, por isso a indicação da utilização ao final da completa irrigação e modelagem do canal radicular.

Stoll et al. (2008) investigaram o efeito desinfetante do gás ozônio e comparou-o com o efeito dos irrigantes tradicionais. Foram utilizados 60 dentes unirradiculares. A suspensão de *E. faecalis* foi padronizada na concentração de 3×10^6 UFC/mL. As raízes foram inoculadas com 10 µL da suspensão bacteriana e secas em estufa 36°C por 1 hora. Para o grupo controle foi utilizada irrigação com 1 mL de solução salina. Para o grupo experimental foi utilizada irrigação com 1 mL da solução salina, seguida da secagem do canal com pontas de papel absorvente e exposta ao ozônio utilizando o gerador HealOzone (KaVo, Inglaterra), na concentração de 2100 ppm. Essa exposição ocorreu por 120 segundos, seguida novamente pela irrigação com solução salina para realizar análise quantitativa. Os grupos experimentais foram compostos por 10 dentes, sendo o controle positivo utilizado a solução de hipoclorito de sódio 3% e o controle negativo, a solução fisiológica. Os outros grupos testes foram compostos pela solução de peróxido de hidrogênio 3%, solução de clorexidina 0,2%, solução de hipoclorito de sódio 1,5% e finalmente, exposição ao gás ozônio. Dessa forma, concluíram que a irrigação com hipoclorito de sódio 3% apresentou ação de dissolução tecidual aumentada. Entretanto, em situações em que altas concentrações de hipoclorito de sódio não podem ser utilizadas, os agentes alternativos testados são lícitos. Comparado às soluções testes, o ozônio pode ser um substituto equivalente.

Huth et al. (2009) investigaram a efetividade do gás ozônio e da água ozonizada sobre *E. faecalis*, *C. albicans*, *P. micros* e *P. aeruginosa*. Para tal, os microrganismos foram testados na forma planquitônica e na forma de biofilme, cultivados em meio BHI e a concentração ajustada em 3×10^8 UFC/mL. As concentrações do gás ozônio usadas foram 1 g/m³ e 53 g/m³. Já a água ozonizada foi produzida nas concentrações de 20 µg/mL e diluída até 1,25 µg/mL e foi utilizada

na forma bidestilada, como proposto por Bocci (2002). Para a análise da ação do ozônio sobre a forma planquitônica das suspensões, 10 µL da suspensão bacteriana específica foi exposta ao ozônio enquanto que as placas controle foram expostas ao ar ambiente por 1 minuto. Para a análise da ação do ozônio sobre o biofilme, os dentes foram inseridos em um aparato contendo uma bomba peristáltica que, intermitentemente bombeou uma mistura de saliva, sacarose e os microrganismos testados (*E. faecalis*, *C. albicans* e *P. aeruginosa*). O ozônio foi bombeado através deste aparato percorrendo todo o canal radicular nos tempos de 2,5, 5 e 10 minutos para posterior incubação e contagem das UFC/mL. Da análise da ação do ozônio sobre suspensão bacteriana, a água ozonizada eliminou completamente *E. faecalis* e *C. albicans*, entretanto não houve diferença estatística para os outros agentes utilizados. Da análise sobre o biofilme, estatisticamente não houve diferença entre os agentes testados para o *E. faecalis* e *C. albicans*. Contra *P. aeruginosa*, o gás ozônio na concentração de 4 g/m³ foi significativamente menos efetivo que o hipoclorito de sódio, clorexidina e a água ozonizada na concentração inferior a 10 µg/mL e a água ozonizada na concentração de 10 µg/mL foi menos efetiva que a clorexidina 2%. Concluindo, altas concentrações do gás e água ozonizados foram dose, cepa e tempo dependentes com relação à efetividade sobre os microrganismos testados. O hipoclorito de sódio foi o único método que eliminou completamente todos os tipos de microrganismos.

Kustarci et al. (2009) compararam a atividade antimicrobiana do laser KTP e do gás ozônio em canais radiculares contaminados com *E. faecalis*. Foram utilizados 80 dentes unirradiculares. Em seguida, foram preparados para receber a contaminação mediante preparo prévio com a utilização de instrumentos rotatórios K3 pelo método coroa-ápice. A cada troca do instrumento foi feita irrigação com 2 mL de solução salina 0,9%. Ao final da instrumentação, foi feita irrigação com EDTA por 3 minutos e em seguida nova irrigação com 4 mL de solução salina 0,9%. Todo o conjunto foi esterilizado pelo gás óxido de etileno. A suspensão de *E. faecalis* foi ajustada à 1,5X10⁸ UFC/mL. Então 10 µL da suspensão foram aplicadas no interior do canal e incubadas em estufa 37°C por 24 horas, e então divididos em grupos experimentais. Grupo I – Laser: foi aplicado o laser KTP intracanal com protocolo 1,5 W, 10 J/cm² e o procedimento foi repetido por 5 vezes; Grupo II– Ozônio: o gás foi aplicado no canal por 120 segundos, por meio do aparelho HealOzone (KaVo,

Alemanha); Grupo III – grupo controle negativo: os canais foram irrigados com 2 mL de solução de hipoclorito de sódio 2,5% que permaneceu em contato por 10 minutos; e, Grupo IV – grupo controle positivo: os dentes foram irrigados com 2 mL solução salina 0,9%. Os resultados revelaram que tanto o laser KTP como o ozônio apresentaram atividade antimicrobiana nos canais contaminados, sendo o gás ozônio mais efetivo que o laser. Entretanto a solução de hipoclorito de sódio 2,5% foi superior em comparação com o laser KTP e o gás ozônio. Concluiu-se que o laser KTP e o gás ozônio apresentaram-se como um potente auxiliar ao hipoclorito de sódio 2,5% no tratamento endodôntico e que ambos têm potencial para serem usados ao final da instrumentação.

Nogales et al. (2009) analisaram a ação da água ozonizada frente às suspensões bacterianas mais comumente encontradas na infecção persistente do canal radicular, que por sua vez, é caracterizada por não responder à terapia convencional. As suspensões de *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *E. faecalis* foram padronizadas em 10^9 cel/mL em espectrofotômetro. Seguiu-se então a divisão em 6 grupos experimentais: Grupo Ia (controle): água bidestilada e Grupo Ib: água ozonizada 2ppm; Grupo IIa (controle): água bidestilada e Grupo IIb: água ozonizada 4ppm; Grupo IIIa (controle): água bidestilada e Grupo IIIb: água ozonizada 8ppm. Em seguida foram feitas as diluições seriadas e plaqueamento para contagem das UFC/mL 24 horas após. Para confirmar a morte bacteriana, 1mL de cada suspensão foi inoculada em TSB e mantida em estufa por 1 semana. Concluiu-se que a água ozonizada na concentração de 8 ppm apresentou maior efeito antimicrobiano frente à bactérias testadas.

Moreira et al. (2010) observaram o efeito *in vitro* da terapia fotodinâmica antimicrobiana (PDT) e da ozonioterapia na desinfecção de canais radiculares infectados por *E. faecalis*. Foram utilizados, 32 pré-molares humanos, preparados e divididos aleatoriamente em 4 grupos (8 dentes): Grupo I- Controle positivo (sem tratamento); Grupo II- PDT (3 minutos - 40mW; dose = 4J; densidade de energia = 180J/cm²); Grupo III- Água ozonizada; Grupo IV- Controle tratado (hipoclorito de sódio 2,5%). Após os tratamentos, foi realizada coleta intracanal com cone de papel, para verificar a persistência do microrganismo, por meio de contagem total de UFC em Agar BHI. Não houve diferença entre terapia fotodinâmica e a água ozonizada na redução de UFC/mL, e entre estes e o controle tratado. A PDT e a Ozonioterapia possuem efeito antimicrobiano satisfatório comparável ao tratamento convencional

com hipoclorito de sódio 2,5% sobre o *E. faecalis*, e podem ser considerados coadjuvantes importantes ao tratamento endodôntico.

Nogales (2011) tendo como proposta analisar a ação do ozônio como coadjuvante à terapia endodôntica, avaliou a eficiência da água ozonizada na redução microbiana realizada sobre suspensão (parte 1) e em biofilme monoespécie (parte 2) de *E. faecalis*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* – estudo *in vitro* e *ex vivo*; Inicialmente a água ozonizada nas concentrações de 1,2, 5 e 8 µg/mL foi aplicada diretamente sobre as suspensões bacterianas separadamente por um minuto. Em seguida, foram feitas diluições seriadas e o plaqueamento para posterior contagem das UFC/mL. Na segunda parte, 180 dentes foram inoculados com 10 µL das suspensões bacterianas separadamente e incubados por 7 dias. Em seguida foram submetidos aos grupos experimentais: Grupo I: controle de contaminação; Grupo II: instrumentação rotatória associando o hipoclorito de sódio 1% ao Endo-PTC gel e irrigação final com EDTA-T; Grupo III: protocolo semelhante ao Grupo II com a aplicação final do gás ozônio na concentração de 40 µg/mL; e, Grupo IV: protocolo semelhante ao Grupo II com a irrigação final com a água ozonizada na concentração de 8 µg/mL. Na sequência de cada grupo foi feita coleta microbiológica, diluição seriada, plaqueamento por 24 horas e contagem das UFC/mL. Os resultados demonstraram que na primeira parte do estudo o *E. faecalis* apresentou crescimento nas concentrações de 1,2 e 5 µg/mL. Na análise da *P. aeruginosa* e o *S. aureus* não foi possível detectar UFC/mL. Já no estudo *ex vivo*, o Grupo IV foi o mais efetivo contra os microrganismos testados, com diferença estatística para os demais grupos, quando dos dentes contaminados com a *P. aeruginosa*. Concluiu-se que diante do conjunto dos dados experimentais, a água ozonizada na concentração de 8 µg/mL, comparada com as demais concentrações testadas, é a que apresenta melhor desempenho quanto ao seu poder antimicrobiano, justificando sua inserção no arsenal clínico na terapia endodôntica.

Complementando o estudo, o mesmo autor avaliou a reação biológica de cultura de fibroblastos sob aplicação do ozônio. Culturas de células de fibroblastos foram estimuladas de acordo com os seguintes grupos experimentais: Grupo I (controle) – meio de cultura, Grupo II: PBS ozonizado na concentração de 10 µg/mL, Grupo III: PBS ozonizado na concentração de 20 µg/mL e Grupo VI: PBS ozonizado na concentração de 40 µg/mL. Para tal, os grupos experimentais foram submetidos aos tempos de 0, 24, 48 e 72 horas. A citotoxicidade foi avaliada usando técnica de

análise do MTT e leitura em espectrofotômetro de ELISA. Os resultados demonstraram que o ozônio, em 0 horas, ocasionou uma queda na viabilidade celular, em todos os grupos, que foi revertida nos demais tempos experimentais. A concentração de 40 µg/mL foi a que proporcionou maior estímulo ao final da avaliação, com diferença estatística significativa ao Grupo Controle. O autor concluiu que o ozônio em contato com os fibroblastos de gengiva, inicialmente causou diminuição na viabilidade celular, que foi revertida nos tempos experimentais subsequentes. A concentração de 40 µg/mL foi a que causou maior redução no número de células viáveis, porém foi a que proporcionou maior estímulo ao final do experimento, mostrando-se biocompatível com a linhagem celular testada.

2.5.4 Óleo ozonizado

O óleo ozonizado é um composto que mistura o gás com azeite, obtido mediante descargas elétricas em moléculas de oxigênio, tornando-se mais estável. Para a sua fabricação, é necessário o borbulhamento continuamente durante aproximadamente 2 dias. Ao ozonizar o azeite de oliva, se obtêm uma série de compostos químicos chamados ozonídeos e peróxidos que possuem ação antimicrobiana, podendo ser utilizado no tratamento de feridas infectadas, fístulas, dentre outras aplicações tópicas. Além disso, esses peróxidos desempenham várias funções no organismo que incluem: estímulo a vários sistemas enzimáticos de óxido redução, por influência sobre o transporte de oxigênio aos tecidos.

Rodriguez et al. (1994) avaliaram o emprego do óleo de girassol ozonizado no tratamento da gengivoestomatite herpética aguda em crianças. Como tratamento das lesões, foi empregado o óleo de girassol ozonizado embebido em gaze, utilizada na assepsia das lesões, quatro vezes ao dia. O período de reparação foi bastante reduzido; em três dias de tratamento obteve-se 76,9% de cura, das 113 crianças. Como conclusão, comprovaram a efetividade do ozônio no tratamento das lesões com 100% de cura dos casos, não sendo observadas reações adversas ao medicamento.

Guerra et al. (1997) analisaram a ação do óleo ozonizado na reparação da alveolite. Para isso, pacientes foram divididos em dois grupos: Grupo I: aplicação de

óleo de girassol ozonizado sobre a ferida e grupo II: método tradicional (Alvogil + antibiótico por via oral). O critério de cura foi considerado a partir da formação do tecido de cicatrização e da diminuição e eliminação da dor. Os resultados demonstraram cura nos dois grupos, sem diferença estatística significativa, porém os indivíduos do grupo I não necessitaram fazer uso de antibiótico por via oral. Os autores observaram que o emprego de óleo de girassol ozonizado, no tratamento de alveolite, mostrou-se eficaz, devido suas propriedades antimicrobianas com alto poder de oxigenação dos tecidos, estimulando a regeneração tecidual.

Sechi et al. (2001) avaliaram o efeito antibacteriano do óleo de girassol (Oleozone) em diferentes espécies bacterianas (*Mycobacterium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pseudomonas* e *Escherichia coli*) isoladas de diferentes sítios. O óleo testado foi produzido no Centro de Investigações del Ozono (CENIC – Havana, Cuba). As concentrações inibitórias mínimas (CIM) foram determinadas pelo método de diluição em ágar. Para as micobactérias, a CIM de Oleozone foi determinado por um meio sólido. O Oleozone mostrou ser efetivo contra todas as bactérias testadas, sendo a micobactéria mais susceptível ao óleo.

Diaz et al. (2006) analisaram e compararam os óleos de girassol e de oliva ozonizados. Ambos têm composições diferentes de ácidos graxos; o primeiro é rico em ácido linoléico (48-74%) e oléico (14-39%), o segundo apresenta maior proporção de ácido oléico (65-85%). O ozônio reage basicamente com as ligações duplas de carbono presentes nos ácidos graxos insaturados. O óleo de girassol possui mais ácidos graxos insaturados que o óleo de oliva, ou seja, tem menos ligações duplas de carbono para reagir com o ozônio. Esta reação produz compostos oxigenados, como hidroperóxidos, aldeídos, peróxidos, diperoxidos e poliperoxidos, que são responsáveis pela atividade biológica dos óleos vegetais ozonizados. A gama de compostos oxigenados gerados na reação do ozônio com os óleos depende das condições no momento da mistura, como da temperatura, a agitação da reação da mistura, a concentração de ozônio utilizada.

Silveira et al. (2007) avaliou radiográfica, histopatológica e histobacteriologicamente o efeito da medicação intracanal com o óleo ozonizado e da pasta de hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado e glicerina (HPG) no tratamento endodôntico de dentes com lesão periapical em 6 cães. As lesões foram induzidas e os dentes foram divididos em grupos experimentais: Grupo I: Tratamento endodôntico em sessão única; Grupo II:

Tratamento endodôntico em duas sessões, tendo como medicação intracanal o hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol e Grupo III: Tratamento endodôntico em duas sessões, tendo como medicação intracanal o óleo ozonizado. O controle positivo foi determinado pela instrumentação sem obturação e dentes com infecção sem realizar tratamento endodôntico. Como controle negativo, dentes com polpa viva tratados em sessão única. Mediante sacrifício dos animais as peças foram preparadas e processadas histologicamente. As análises radiográfica, histopatológica e histobacteriológica não revelaram diferenças estatisticamente significativas na resposta tecidual perirradicular aos dois medicamentos, sugerindo que o óleo ozonizado tem o potencial para ser utilizado na Endodontia como medicação intracanal.

Ferreira et al. (2009) avaliaram a limpeza dentinária promovida pelo EDTA-T e o ácido cítrico quando da variação do lubrificante intracanal, durante a instrumentação rotatória. Para tanto foram utilizados 15 dentes humanos unirradiculares, divididos em 4 grupos experimentais: Grupo I (controle): instrumentação rotatória com Hipoclorito de Sódio 1% associado ao gel Endo-PTC e irrigação final com 10mL de EDTA-T; Grupo II : instrumentação rotatória com Hipoclorito de Sódio 1% associado ao gel Endo-PTC e irrigação final com 10mL Ácido Cítrico 10%; Grupo III: instrumentação rotatória com óleo de girassol ozonizado e irrigação final com 10mL de EDTA-T e Grupo IV: instrumentação rotatória com óleo ozonizado e irrigação final com 10mL de Ácido Cítrico 10%. Em seguida os espécimes foram clivados e preparados para a Microscopia Eletrônica de Varredura. As imagens foram avaliadas qualitativamente por meio do Programa FotoScore e submetidas à análise estatística pelo método de ANOVA. Foi possível observar que o Grupo I apresentou o melhor grau de limpeza, com diferença estatística significativa, seguido pelos grupos II, IV e III, sendo estes, sem diferença estatística entre si. Diante da metodologia aplicada concluiu-se que o protocolo instituído com a associação do hipoclorito de sódio 1% e o gel de Endo-PTC com irrigação final de EDTA-T apresentou os melhores resultados de limpeza intracanal.

Andolfatto et al. (2009) avaliaram o efeito do gás ozônio dissolvido em propilenoglicol sobre *E. faecalis*. Para tanto, 5 mL de propilenoglicol foram submetidos a borbulhamento de ozônio pelos tempos experimentais de 5, 10, 15, 30 e 60 minutos cada, obtido de um gerador de ozônio. A pressão de alimentação de oxigênio medicinal foi de 0,5 L /minuto o que produz uma concentração de 13,2

mg/L. Em seguida, foram preparadas suspensões de *E. faecalis* correspondente a escala 0,5 de MaCFarland e plaqueadas em meio de cultura BHI. O propilenoglicol ozonizado foi colocado em poços correspondentes ao tempo de ozonização e incubados a 37°C por 24 horas. Após este período, foi avaliado o halo de inibição formado. O tempo de 60 minutos foi o que produziu maior halo de inibição, devendo este tempo ser usado para ozonizar o propilenoglicol e este produzir efeito bactericida desejado.

Tendo em vista o exposto na revisão de literatura, o ozônio apresenta um grande potencial para integrar a terapia endodôntica, principalmente pelo seu potente efeito antimicrobiano e biocompatibilidade, porém os resultados da resposta clínica em relação aos parâmetros aplicados constituem a justificativa para o presente estudo.

3 PROPOSIÇÃO

O presente estudo avaliou a influência do gás ozônio e da água ozonizada associada ao protocolo endodôntico tradicional e medicação intracanal com óleo ozonizado na reparação tecidual periapical, nos controles clínico radiográficos de 3 e 6 meses, de dentes portadores de rarefação óssea periapical de origem primária comprovada pela sintomatologia clínica e radiográfica no momento do diagnóstico inicial.

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 SELEÇÃO DOS PACIENTES

Critérios de inclusão dos pacientes

- ✓ Estado de saúde geral boa;
- ✓ Idade entre 18 e 40 anos;
- ✓ Dentes com rizogênese completa;
- ✓ Dentes anteriores unirradiculares;
- ✓ Resposta ao teste de vitalidade negativo; e,
- ✓ Dentes com rarefação óssea periapical de origem primária discernível radiograficamente.

Critérios de exclusão dos pacientes

- ✓ Uso de medicação sistêmica;
- ✓ Portadores de doenças crônicas;
- ✓ Hipertensos;
- ✓ Pacientes que fizeram uso de antibióticos e/ou antiinflamatórios recentemente;
- ✓ Presença de fístula; e,
- ✓ Manipulação prévia do endodonto.

A partir de então, foram selecionados trinta e seis pacientes portadores de dentes com diagnóstico clínico/radiográfico de rarefação óssea periapical de origem primária, justificando a necessidade da intervenção endodôntica.

4.2 CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Após ampla exposição dos objetivos experimentais, em linguagem direta e compreensível sem muitos termos técnicos odontológicos e de forma clara, foi

apresentado o termo de consentimento livre e esclarecido ao paciente, conforme Apêndice A, e solicitado a sua assinatura. Este termo foi elaborado com base na resolução 196/1996 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde, publicado no diário oficial nº 121 de outubro de 1996 e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, juntamente com o protocolo n. 154/06 (Anexo A).

Os atendimentos clínicos foram realizados na Clínica da Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico da Odontologia (FUNDECTO) após a realização do exame clínico, organização da documentação radiográfica e planejamento terapêutico.

4.3 PRODUÇÃO DO GÁS OZÔNIO E DA ÁGUA OZONIZADA

Para a produção do ozônio foi utilizado um gerador de ozônio médico da marca Philozon® (Philozon, Santa Catarina, SC, Brasil) que utiliza como fonte o oxigênio com grau de pureza medicinal (Respirox, São Paulo, SP, Brasil) e com fluxo constante de 1L/min. O equipamento apresenta um sistema de auto-calibração com estabilização automática do sistema e pode produzir o ozônio de forma fracionada ou contínua. A precisão na concentração de ozônio fornecida pelo aparelho é calibrada fotometricamente no laboratório do fabricante. As concentrações de ozônio produzidas por este aparelho variam de 5 a 60 µg/mL. Na ausência do oxigênio este aparelho desliga automaticamente.

Para a utilização clínica do gás, o fluxo de oxigênio foi liberado e após a estabilização do sistema e início da produção do ozônio, ajustou-se a concentração em 40 µg/mL (Figura 4.1). Na saída do gás acoplou-se uma seringa de 10 mL e o modo contínuo de produção foi acionado (Figura 4.2). Quando a seringa foi preenchida, o modo contínuo do equipamento foi desligado e o suprimento de oxigênio fechado.

Para a produção da água ozonizada conectou-se ao equipamento uma coluna de vidro e então foram ozonizados por um período de 5 minutos, 250 mL da água bidestilada estéril e resfriada em 14°C (Figura 4.3). A concentração foi confirmada

visualmente por meio do kit colorimétrico CHMETs Ozone (CHEMets® Kit Ozone K-7402 – Precision Laboratories, São Paulo, Brazil).

Finalizado o período de ozonização foram coletados 10 mL da água e utilizados para a irrigação, com ponta irrigadora de fino calibre (NaviTip, Ultradent, EUA).

Figura 4.1 – Produção de 40 $\mu\text{g/mL}$ de ozônio pelo gerador Philozon

Figura 4.2 – Preenchimento da seringa com 10 mL de ozônio na concentração de 40 $\mu\text{g/mL}$

Figura 4.3 – (1) Gerador de Ozônio Philozon; (2) Cilindro de oxigênio medicinal com regulador de fluxo; e, (3) Coluna de vidro utilizada para ozonizar a água

Figura 4.4 - Confirmação da concentração do ozônio na água bidestilada (CHEMetrics® Kit Ozone K-7402).

4.4 TRATAMENTO ENDODÔNTICO

A conduta de atendimento seguiu o protocolo de biossegurança da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo e os procedimentos foram realizados por um único operador.

Inicialmente foi solicitado ao paciente que fizesse bochecho com solução de digluconato de clorexidina 0,12% durante um minuto. Foi realizada raspagem supra gengival e profilaxia com taças de borracha no dente envolvido.

Seguiu-se então para a anestesia tópica e infiltrativa local, isolamento relativo seguido pelo absoluto, com posterior antissepsia do campo operatório pelo embrocamento com digluconato de clorexidina 0,12%.

O acesso à câmara pulpar foi realizado com pontas diamantadas de alta rotação com tamanhos compatíveis. Em seguida, foi realizada exploração do canal utilizando solução de hipoclorito de sódio 1%, e lima #10 (Dentsply-Maillerfer, Ballaigues, Suíça). O preparo da entrada do canal foi feito com brocas Gates-Glidden #1, 2 e 3 e Largo #2 (Dentsply-Maillerfer, Ballaigues, Suíça). Foi feita uma cuidadosa penetração desinfetante, utilizando a solução de hipoclorito de sódio 1% reagindo com o Endo-PTC gel (todas as substâncias químicas auxiliares foram preparadas por farmácia de manipulação Fórmula e Ação, São Paulo, SP, Brasil) e uma lima de fino calibre (#10).

Para a obtenção do comprimento real de trabalho (CRT) foi utilizado o localizador foraminal (Root ZX® – J. Morita, Tokyo, Japão) calibrado em 1 mm aquém do ápice, sendo confirmado pela radiografia.

Em seguida, o preparo químico cirúrgico foi realizado empregando limas rotatórias EndoSequence (Brasseler, Savannah, EUA), pela reação da solução de hipoclorito de sódio a 1% com Endo-PTC gel e a cada troca de instrumento foi feita irrigação com 2 mL de hipoclorito de sódio 1%. Ao final do preparo químico cirúrgico foi realizada a irrigação/aspiração com 10 mL de EDTA-T (Fórmula e Ação, São Paulo, Brasil), deixando a substância em repouso por um período de 3 minutos. Em seguida, foi realizada nova irrigação com 10mL de hipoclorito de sódio 1%.

Assim, os pacientes foram incluídos nos grupos experimentais aleatoriamente.

Vale lembrar que o protocolo descrito acima compreendeu ao aplicado no Grupo 1 (Controle – FOUSP)

4.5 GRUPOS DE PACIENTES SELECIONADOS

Grupo I: (Controle) 12 dentes: Tratamento endodôntico, segundo protocolo Endo-FOUSP.

Grupo II: 12 dentes: Tratamento endodôntico segundo protocolo Endo-FOUSP associado à irrigação final com 10 mL da água bidestilada ozonizada na concentração de 8 µg/mL.

Grupo III: 12 dentes: Tratamento endodôntico segundo protocolo Endo-FOUSP associado ao gás ozônio na concentração de 40 µg/mL. Previamente à aplicação do gás, o canal foi umedecido com água bidestilada estéril e então foi aplicado com uma seringa de 10 mL e ponta de silicone *Capillary Tips* (Ultradent, Utah, EUA) com pequenos movimentos de avanço e retrocesso.

Finalizada a aplicação dos grupos experimentais, o canal foi seco com o auxílio de pontas *Capillary Tips* e pontas de papel estéreis (Precise-Miltex, Inc. York, PA, EUA). Posteriormente foi feito selamento duplo provisório com bolinha de algodão estéril na entrada do canal coberta por uma camada de cimento de restauração provisória (Citodur® – Doridente, Viena, Áustria) e preenchimento da cavidade com cimento de ionômero de vidro (Vidrion C, SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil).

4.6 MEDICAÇÃO INTRACANAL E OBTURAÇÃO

O Grupo I recebeu como medicação intracanal hidróxido de cálcio (Fórmula e Ação, São Paulo, Brasil) veiculado em solução anestésica entre as sessões de preparo do canal e obturação. Os Grupos II e III foram medicados com óleo de girassol ozonizado (Philozon, Santa Catarina, SC, Brasil).

Passados 15 dias da sessão de preparo do canal radicular e constatada a ausência de sinais e sintomas os canais foram obturados empregando-se a técnica de condensação lateral e vertical, com a utilização de cones de guta percha (DENTSPLY Indústria e Comércio Ltda, Petrópolis, RJ, Brasil) e cimento resinoso (AH Plus® - Dentisply-Maillefer, DENTSPLY, International Inc. Johnson City, TN, EUA).

Em seguida, a câmara pulpar foi limpa com uma porção de algodão umedecida em álcool. A entrada do canal foi preenchida com cimento de ionômero de vidro (Vidrion C, SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e a restauração em resina composta Z250 (3M ESPE, St. Paul, USA) imediatamente após, finalizando o tratamento endodôntico.

4.7 RADIOGRAFIAS E TEMPOS EXPERIMENTAIS

Antecedendo a primeira tomada radiográfica foi confeccionado um posicionador dento-suportado personalizado a partir da moldagem do paciente com silicona de condensação (Aquasil®, Dentisply CaulK), utilizado com o intuito de padronizar as tomadas radiográficas (Lage-Marques et al., 1997), para posterior interpretação das imagens. Para este estudo foi utilizado o tempo de exposição de 1 segundo.

Os tempos experimentais para captação das imagens foram:

- A- Antecedendo a terapia endodôntica (diagnóstico);
- B- Imediatamente após a conclusão do tratamento endodôntico;
- C- 3 meses após a realização do tratamento endodôntico; e,
- D- 6 meses após a realização do tratamento endodôntico.

4.8 MÉTODO DE ANÁLISE DA DOR PRÉ E PÓS O TRATAMENTO

Com a finalidade de complementar o estudo, foi utilizado a Escala Visual Analógica – EVA (Figura 4.5), que auxilia na aferição da intensidade da dor do paciente. Para utilizar a EVA o paciente foi questionado quanto ao seu grau de dor,

sendo que 0 significa ausência total de dor e 10, o nível máximo suportável. Ela foi aplicada previamente ao início do tratamento, 72 horas após a consulta inicial, nos controles de 3 e 6 meses.

Figura 4.5- Escala visual analógica (Agne, 2011)

4.9 MÉTODO DE ANÁLISE DO TRATAMENTO

A rarefação óssea periapical foi analisada por meio de exames clínicos e radiográficos. A interpretação das radiografias, por meio da mensuração do tamanho da lesão foi realizada pelo programa ImageLab 2000 ao final do tratamento, 3 e 6 meses após. A região correspondente à imagem radiolúcida periapical foi delimitada pela ferramenta “Selecionar Região” , em seguida foi selecionado o botão “Cálculo de Área” para que, assim, a região delimitada aparecesse diferenciada em azul. Posteriormente, clicando com o botão direito do *mouse* sobre a área em azul, o programa exibiu o cálculo da área em quantidades de *pixels*, conforme figura 4.6.

Figura 4.6 - Imagem ilustrativa da análise da rarefação óssea periapical pelo programa ImageLab 2000

Os dados obtidos pela mensuração das áreas das rarefações ósseas de cada paciente ao final do tratamento foram transformados em porcentagem e considerados 100%. Assim, os valores expressos nos controles experimentais demonstraram a porcentagem de rarefação óssea de 3 e 6 meses em relação à radiografia final do tratamento. A análise da reparação periapical é linear para cada paciente e nos grupos experimentais, não cabendo comparações entre pacientes do mesmo grupo.

Os dados foram tabulados em planilha Excell (Microsoft Corporation, EUA) e submetidos à análise estatística pelo *software* BioEstat 5.0.

5 RESULTADOS

Para o melhor entendimento, os resultados foram divididos de acordo com a análise dos dados dos grupos experimentais individualmente e a interação dos tempos de avaliação.

Foram triados 250 pacientes, entretanto, apenas 36 cumpriam os critérios de inclusão e foram selecionados para o estudo. O presente trabalho foi registrado no *website* www.clinicaltrial.gov sob número NCT00946634 e obedeceu as normas Consort para recrutamento e atendimento dos pacientes selecionados.

5.1 INTERAÇÃO DOS DADOS DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

A distribuição dos dados de cada grupo revelou normalidade e homogeneidade nas amostras testadas, portanto foi aplicado o teste paramétrico de ANOVA, complementado pelo teste de Tukey, com significância de 5%.

Os resultados da análise da rarefação óssea periapical foram apresentados de duas formas: em forma de *pixels*, que demonstra a delimitação da área da lesão em todos os tempos experimentais e em forma de porcentagem dos tempos experimentais de 3 e 6 meses, em relação à radiografia final do tratamento, considerada 100%.

Dessa forma, na delimitação da imagem radiolúcida na região apical dos dentes pertencentes ao Grupo I (protocolo FOUSP e medicação intracanal com hidróxido de cálcio), a quantificação de *pixels* e seu percentual mostraram a área radiolúcida e a reparação ao longo do tempo avaliado em todos os casos tratados, como apresentado na tabela 5.1. O gráfico 5.1 ilustra a média percentual da imagem radiolúcida e reparação para o grupo em questão.

Tabela 5.1 - Quantidade de *pixels* e porcentagem da imagem radiolúcida do Grupo I

Grupo I	Final		Controle 3 meses		Controle 6 meses	
Paciente	<i>Pixel</i>	%	<i>Pixel</i>	%	<i>Pixel</i>	%
1	102,401,162	100	62,825,000	61	41,355,000	40
2	53,510,000	100	15,880,000	30	4,190,000	8
3	209,705,000	100	140,696,162	67	61,455,000	29
4	44,925,000	100	14,525,000	32	3,235,000	7
5	81,435,00	100	45,764,000	56	19,768,143	24
6	72,585,000	100	20,265,000	28	7,859,072	11
7	262,825,000	100	132,455,000	50	84,847,500	32
8	48,445,000	100	27,865,000	58	13,753,000	28
9	82,015,000	100	63,020,000	77	41,034,000	50
10	35,815,000	100	18,980,000	53	6,986,342	20
11	25,525,000	100	15,760,000	62	5,567,988	22
12	42,815,000	100	28,980,000	68	13,760,500	32
Média da área radiolúcida		100		53		26
Média da reparação		0		47		74

Gráfico 5.1 – Média percentual da imagem radiolúcida e reparação no Grupo I

A análise estatística revelou diferença significativa quando da interação dos tempos experimentais ($p<0,01$), como descrito pela na tabela 5.2.

Tabela 5.2 – Média e desvio padrão das áreas radiolúcidas dos tempos avaliados no Grupo I

Tempo de avaliação	Média	Desvio padrão
Radiografia final	100,00 ^a	0,00
3 meses	53,50 ^b	15,88
6 meses	26,42 ^c	11,62

Letras semelhantes = sem diferença estatística; letras diferentes = diferença estatística significativa

A análise dos dados do Grupo II (protocolo FOUSP + água ozonizada na concentração de 8 µg/mL e medicação intracanal com óleo ozonizado) revelou que todos os casos apresentaram redução da imagem radiolúcida periapical nos tempos experimentais de 3 e 6 meses. Os dados numéricos em *pixels* e a porcentagem da área radiolúcida em relação ao final do tratamento estão ilustrados na tabela 5.3.

O gráfico 5.2 ilustra a média percentual da imagem radiolúcida e reparação do Grupo II. A análise estatística revelou diferença significativa quando da interação dos tempos experimentais ($p<0,01$), como descrito pela tabela 5.4.

Tabela 5.3 – Quantidade de *pixels* e porcentagem da imagem radiolúcida do Grupo II

Paciente	Final		Controle 3 meses		Controle 6 meses	
	Pixel	%	<i>Pixel</i>	%	<i>Pixel</i>	%
1	61,160,000	100	36,415,000	60	32,775,000	54
2	113,925,000	100	85,410,000	75	43,986,566	39
3	29,785,000	100	20,720,000	70	9,600,500	32
4	40,430,000	100	25,265,000	62	12,605,000	31
5	62,770,000	100	47,610,000	76	13,750,000	22
6	118,091,162	100	87,030,000	74	32,865,433	28
7	474,771,172	100	154,410,000	33	143,195,000	30
8	56,200,000	100	25,100,000	45	12,080,000	21
9	282,098,086	100	210,740,000	75	107,197,272	38
10	282,098,086	100	210,740,000	75	107,197,272	38
11	26,620,000	100	12,010,000	45	6,661,165	25
12	256,501,172	100	123,432,000	48	88,098,109	34
Média da área radiolúcida		100		61		33
Média da reparação		0		39		77

Gráfico 5.2 – Média percentual da imagem radiolúcida e reparação no Grupo II

Tabela 5.4 – Média e desvio padrão das áreas radiolúcidas dos tempos avaliados no Grupo II

Tempo de avaliação	Média	Desvio padrão
Radiografia final	100,00 ^a	0,00
3 meses	61,50 ^b	15,16
6 meses	32,66 ^c	9,02

Letras semelhantes = sem diferença estatística; letras diferentes = diferença estatística significativa

A análise dos dados do Grupo III (protocolo FOUSP + gás ozônio na concentração de 40 µg/mL e medicação intracanal com óleo ozonizado) também revelou que todos os casos apresentaram redução da imagem radiolúcida periapical nos tempos experimentais de 3 e 6 meses. Os dados numéricos em *pixels* e a porcentagem da área radiolúcida representados em relação ao final do tratamento da análise estão ilustrados na tabela 5.5.

Tabela 5.5 – Quantidade de *pixels* e porcentagem da redução da imagem radiolúcida do Grupo III

Paciente	Final		Controle 3 meses		Controle 6 meses	
	<i>Pixel</i>	%	<i>Pixel</i>	%	<i>Pixel</i>	%
1	80,060,000	100	45,240,000	57	28,310,000	35
2	91,985,000	100	19,410,000	21	9,700,000	11
3	213,271,172	100	45,822,329	21	17,760,000	8
4	94,301,162	100	58,971,162	63	6,720,000	7
5	44,735,000	100	26,886,165	60	12,775,000	29
6	67,785,000	100	39,300,000	58	7,266,165	11
7	30,615,000	100	19,460,000	64	7,970,000	26
8	46,095,000	100	14,990,000	33	9,420,000	20
9	82,205,000	100	40,555,000	49	21,500,000	26
10	18,470,000	100	7,400,000	40	3,595,000	19
11	67,795,000	100	22,866,165	34	6,130,000	9
12	170,710,000	100	30,865,000	18	20,555,000	12
Média da área radiolúcida		100		43		18
Média da reparação		0		57		82

O gráfico 5.3 ilustra a média percentual da imagem radiolúcida e reparação do Grupo III. A análise estatística revelou diferença significativa quando da interação dos tempos experimentais ($p < 0,01$), como descrito pela tabela 5.6.

Gráfico 5.3 – Média percentual da imagem radiolúcida e reparação no Grupo III

Tabela 5.6 – Média e desvio padrão das áreas radiolúcidas dos tempos avaliados pelo Grupo III

Tempo de avaliação	Média	Desvio padrão
Radiografia final	100,00 ^a	0,00
3 meses	43,17 ^b	17,50
6 meses	17,75 ^c	9,43

Letras semelhantes = sem diferença estatística; letras diferentes = diferença estatística significativa

5.2 INTERAÇÃO DOS DADOS DOS TEMPOS DE AVALIAÇÃO DE 3 E 6 MESES

A distribuição dos dados referentes aos tempos de avaliação de 3 e 6 meses apresentou-se normal e com homogeneidade, assim foi feita a análise de variância complementado pelo teste de Tukey, com significância de 5%.

Os três grupos mostraram redução na imagem radiolúcida periapical no terceiro mês de avaliação, comparativamente ao final do tratamento. Entretanto o Grupo III foi o que apresentou a maior porcentagem de redução, de 100% para 43,16%, conforme a tabela 5.7 e gráfico 5.4.

Tabela 5.7 – Médias percentuais da imagem radiolúcida periapical e sua redução na avaliação em 3 meses

Grupos	% final do tratamento	% da imagem radiolúcida	% de redução
I (FOUSP)	100,00	53,50	46,50
II (FOUSP + Água Ozonizada)	100,00	61,5	38,50
III (FOUSP + Gás Ozônio)	100,00	43,16	56,84

Gráfico 5.4 – Porcentagem de redução da imagem radiolúcida periapical na avaliação em 3 meses

A análise estatística revelou que em 3 meses a porcentagem de imagem radiolúcida periapical não foi significativa entre os Grupos I e II, e I e III, porém significativa entre os Grupos II e III ($p < 0,05$), como apresentado na tabela 5.8.

Tabela 5.8 – Média e desvio padrão da avaliação da porcentagem da imagem radiolúcida em 3 meses

Grupos	Médias	Desvio padrão
I (FOUSP)	53,50 ^a	15,89
II (FOUSP + Água Ozonizada)	61,50 ^{a,b}	15,16
III (FOUSP + Gás Ozônio)	43,17 ^{a,c}	17,50

Letras semelhantes = sem diferença estatística; letras diferentes = diferença estatística significativa

Na avaliação em 6 meses, também ocorreu redução da imagem radiolúcida, refletindo a neo formação óssea. O Grupo III novamente apresentou a maior porcentagem de diminuição da radiolucência periapical. Em relação à imagem ao final do tratamento, houve um decréscimo na quantidade de *pixels* quantificados para 17,75% (Tabela 5.9 e Gráfico 5.5).

Tabela 5.9 - Médias percentuais da imagem radiolúcida periapical e sua redução na avaliação em 6 meses

Grupos	% ao final do tratamento	% da imagem radiolúcida	% de redução
I (FOUSP)	100,00	26,42	73,58
II (FOUSP + Água Ozonizada)	100,00	32,66	67,34
III (FOUSP + Gás Ozônio)	100,00	17,75	82,25

Gráfico 5.5 - Porcentagem de redução da imagem radiolúcida periapical na avaliação em 6 meses

A análise estatística pelo método de variância revelou que em 6 meses a porcentagem da imagem radiolúcida não foi significativa entre os Grupos I e II, e I e III e significativa entre os Grupos II e III ($p < 0,01$), conforme tabela 5.10.

Tabela 5.10 – Média e desvio padrão da avaliação da porcentagem da imagem radiolúcida em 6 meses

Grupos	Médias	Desvio padrão
I (FOUSP)	26,42 ^a	11,62
II (FOUSP + Água Ozonizada)	32,67 ^{a,b}	9,02
III (FOUSP + Gás Ozônio)	17,75 ^{a,c}	9,43

Letras semelhantes = sem diferença estatística; letras diferentes = diferença estatística significativa

5.3 ANÁLISE DA DOR PRÉ E PÓS O TRATAMENTO PELA ESCALA VISUAL ANALÓGICA (EVA)

A análise da EVA revelou que o Grupo II (protocolo FOUSP + água ozonizada na concentração de 8 µg/mL e medicação intracanal com óleo ozonizado) mostrou a

menor sensibilidade pós-operatória no período de 72 horas após a consulta inicial, com diferença estatística significativa para os demais grupos ($p < 0.05$). A comparação entre o Grupo I (protocolo FOUSP) e Grupo III (protocolo FOUSP + gás ozônio e medicação intracanal com óleo ozonizado) não revelou diferença estatisticamente significativa.

A realização do controle clínico em 3 e 6 meses revelou que todos os casos tratados com os protocolos propostos pelos Grupos II e III apresentaram remissão total da sensibilidade. O Grupo I apresentou 3 casos com sensibilidade grau 1 no controle de 3 meses e nenhum caso positivo em 6 meses. Os dados relativos à análise sintomatológica dos Grupos I, II e III estão ilustrados na tabela 5.11 e a análise estatística na tabela 5.12.

Tabela 5.11 – Dados referente à sintomatologia dolorosa dos pacientes tratados nos Grupo I, II e III

Paciente	Início do tratamento			Final do tratamento			Controle de 3 meses			Controle de 6 meses		
	Grupos			Grupos			Grupos			Grupos		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
1	0	2	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0
2	0	2	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0
3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
5	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
6	3	3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
7	2	3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
9	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
10	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
11	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
12	1	2	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabela 5.12 - Análise estatística dos dados referentes à sensibilidade pós-operatória 72 horas após a primeira consulta ($p < 0.05$)

Grupos	II	III
I	$P < 0.05$	ns
II		$P < 0.05$

5.4 DESCRIÇÃO DOS CASOS CLÍNICOS

Com a finalidade de ilustrar a evolução dos casos tratados dos grupos experimentais foram selecionados tratamentos dentro de cada Grupo.

Paciente D.N., sexo feminino, 29 anos de idade, saúde geral em bom estado, ao exame radiográfico visualizou-se imagem radiolúcida em nível apical dos dentes 43, 42, 41 e 31.

Como a paciente cumpria todos os quesitos de inclusão foi selecionada para o estudo. Foi solicitada a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e em seguida dado início ao tratamento endodôntico.

A mesma paciente foi submetida a dois protocolos distintos, sendo os dentes 31 e 41 designados para o protocolo terapêutico do Grupo I (protocolo FOUSP) e os dentes 42 e 43, para o Grupo III (protocolo FOUSP + gás ozônio + óleo ozonizado). A radiografia inicial, final, os controles de 3 e 6 meses estão dispostos sequencialmente nas figuras 5.1 e 5.2, onde fica evidente a neo formação óssea.

Figura 5.1 - Tratamento endodôntico realizado nos dentes 42 e 43 segundo os critérios do Grupo III. (A) radiografia inicial, (B) radiografia final, (C) radiografia de controle de 3 meses e (D) radiografia de controle de 6 meses

Figura 5.2 – Dentes 31 e 41 submetidos ao protocolo terapêutico do Grupo I (FOUSP). (A) radiografia inicial, (B) radiografia final, (C) radiografia de controle de 3 meses e (D) radiografia de controle de 6 meses

Paciente M.A., 32 anos de idade, sexo masculino, saúde geral em estado de normalidade e cumprindo os padrões de inclusão ao estudo. Apresentou-se à Clínica de Endodontia para avaliação e tratamento do dente 23. Ao exame clínico constatou-se ausência de resposta ao teste de sensibilidade e resposta positiva aos testes de percussão vertical e palpação apical.

Radiograficamente foi possível constatar uma imagem radiolúcida em nível apical abrangendo o dente 23, confirmando a necessidade do tratamento endodôntico.

A sequência terapêutica foi desenvolvida como descrita no capítulo Casuística e Métodos. Esse paciente foi inserido no Grupo II (protocolo FOUSP + água ozonizada + óleo ozonizado). A sequência radiográfica é ilustrada na figura 5.3, onde são apresentadas as radiografias inicial, final, controle de 3 e 6 meses.

Figura Sequência radiográfica do tratamento e controle do dente 23: (A) radiografia inicial, (B) radiografia final, (C) controle 3 meses, (D) controle 6 meses
5.3 – no Grupo II

6 DISCUSSÃO

6.1 DA PROPOSTA

A literatura endodôntica é rica em estudos que comprovam a relação entre microrganismos e o desenvolvimento das doenças da polpa e periápice. Trabalhos clássicos e iniciais no tema, como Miller (1894), Kakehashi et al. (1965) e Sundqvist (1976) construíram a base do conhecimento sobre a infecção endodôntica e a partir de então, abriram um amplo caminho para o desenvolvimento de pesquisas na área.

Atualmente sabe-se que a infecção endodôntica apresenta caráter polimicrobiano e o tipo está diretamente associado à condição clínica do dente. Fatores como ausência de vitalidade pulpar ou tratamento prévio bem ou mal qualificado proporcionam um ambiente mais ou menos favorável para o desenvolvimento das espécies bacterianas, como explicitado por Siqueira (2002).

Além do fator microbiano, trabalhos como de Fabricius et al. (1982) e Ricucci e Siqueira Jr (2010) alertam que nos casos de infecção endodôntica, a organização bacteriana em biofilme proporciona resistência aos procedimentos endodônticos.

Outro ponto importante a ser considerado são os subprodutos liberados pelas bactérias Gram-negativas. O lipopolissacarídeo (LPS) tem sido foco das pesquisas e alvo de diversas abordagens na tentativa de neutralizá-lo. Estudos como Vianna et al. (2007) e Martinho e Gomes (2008) identificaram a presença do LPS e traçaram uma relação com a perpetuação da periodontite apical. Vianna e Gomes (2009) e Martinho et al. (2010) revelaram que o preparo químico cirúrgico não é capaz de neutralizar este subproduto.

A presença ou ausência de sintomatologia dolorosa em casos de infecção endodôntica primária mostra uma diferença no perfil microbiológico. Estudos como de Gomes et al. (2004), Spratt (2004), Sassone et al. (2007) e Gomes et al. (2011) caracterizaram a infecção e apontaram, em situações sintomatológicas, a presença de um número maior de microrganismos com a predominância de anaeróbios estritos Gram positivos e negativos.

Sendo assim, o desenvolvimento e a produção do conhecimento apontam para diversos fatores que devem ser levados em consideração na abordagem clínica aos casos de infecção endodôntica. A inserção de alternativas terapêuticas se faz necessária a fim de potencializar a fase de sanificação e atuar sobre a flora microbiana, o biofilme e ao mesmo tempo neutralizar os subprodutos bacterianos (Vianna et al., 2004; Vianna e Gomes, 2009).

Schilder (1974) introduziu o conceito de limpeza e sanificação. Trabalhos como de Amorim e Lage-Marques (2002), Ferreira et al. (2005), Lage-Marques e Antoniazzi (2008) e Monteiro et al. (2008) alertaram para a importância de se atuar quimicamente sobre a permeabilidade dentinária e que este fator está diretamente vinculado à potencialização da ação antimicrobiana das soluções utilizadas durante a fase de sanificação. Uma vez que a parede dentinária encontra-se livre de restos de dentina excisada, os túbulos dentinários abertos, as substâncias químicas e associações ganham franco acesso para atuar em profundidade sobre os microrganismos que se encontram permeados pelo sistema endodôntico.

Sabe-se que a solução de hipoclorito de sódio é a substância mais utilizada e estudada mundialmente. Diversas concentrações foram avaliadas sobre diversos microrganismos, comparadas com outras soluções tal como clorexidina, nos estudos de D'Arcangelo et al. (1999), Vianna et al. (2004) e Berber et al. (2006), ou ainda na análise clínica (Martinho; Gomes, 2008). Razões como a capacidade de dissolução tecidual associada ao amplo espectro de ação justificam o hipoclorito de sódio como parte integrante do protocolo padrão e soberana sobre outras substâncias (Berber et al., 2006; Retamozo et al., 2010).

Diversas alternativas foram propostas com o intuito de atuar sobre os microrganismos e subprodutos resistentes à terapia endodôntica, sempre com o objetivo de somar ao protocolo tradicional.

Estudos como de Araki (2003), Garcez et al. (2008) e Souza (2011) avaliaram a ação do laser como coadjuvante ao tratamento endodôntico. Os dois primeiros estudos com resultados encorajadores, porém o estudo de Souza (2011) em uma avaliação *in vivo*, concluiu que o laser não foi capaz de aumentar a desinfecção intracanal na fase do preparo químico cirúrgico. Britto et al. (2009) compararam diferentes sistemas de irrigação potencializados por equipamentos como *Endovac* e *EndoActivator* sobre dentes contaminados com *E. faecalis* e concluíram que não

houve diferença estatística quando comparado com o protocolo tradicional de irrigação.

Outra proposta de uma nova substância química foi feita por Rossi-Fedele et al. (2010) comparando a ação da água super oxidada com hipoclorito de sódio 4% e ainda assim a solução de hipoclorito de sódio apresentou melhores resultados.

A ozonioterapia é proposta como uma alternativa complementar na terapia endodôntica, principalmente, por aliar os dois quesitos básicos a uma substância química para ser inserida ao protocolo de tratamento: ação antimicrobiana por excelência aliada a biocompatibilidade. Tais fatos ficaram evidentes no estudo de Nogales (2011), na análise laboratorial microbiológica e em citotoxicidade, onde a associação do ozônio ao protocolo tradicional, em que foram utilizados o hipoclorito de sódio 1% associado ao Endo-PTC gel e EDTA-T apresentou os melhores níveis de descontaminação, com diferenças estatísticas. Os resultados desse estudo foram encorajadores e formaram a base para a realização do presente trabalho.

A ação antimicrobiana do ozônio é um fator tão marcante que merece atenção especial, primeiramente por não haver relatos na literatura de resistência bacteriana. Diversos estudos ressaltam essa propriedade (Buliés, 1996; Velano, et al., 2001; Nagayoshi et al., 2004a, b; Hems et al., 2005; Estrela et al., 2006; Cardoso et al., 2008; Lynch, 2008; Stoll et al., 2008; Huth et al., 2009; Kustarci et al., 2009; Nogales et al., 2009; Moreira et al., 2010; Nogales, 2011).

Segundo ponto a ser considerado é a biocompatibilidade como evidenciado nos estudos como de Nagayoshi et al. (2004b), Nogales (2006), Olszewer (2008), Nogales e Lage-Marques (2010), Bocci et al. (2011) e Nogales (2011). Na Medicina, a aplicação do ozônio é bem evidenciada em estudos clínicos para o tratamento de feridas decorrentes de quadros de diabetes (Al-Dalain et al., 2005; Wainstein et al., 2011) e osteomielite (Bruzadelli-Macedo et al., 2002; Oguz et al., 2011).

Especificamente na Endodontia há escassez de estudos clínicos avaliando o ozônio. Cruz et al. (1994) relataram uma casuística de 200 pacientes com quadro de infecção endodôntica e o uso do óleo ozonizado como medicação intracanal. Os resultados mostraram uma recuperação mais rápida nos casos tratados com o ozônio em comparação com o grupo controle.

6.2 DO ESTUDO CLÍNICO

Em estudo prévio, Nogales (2011) avaliou os parâmetros da ozonioterapia aplicados à Endodontia. Uma avaliação laboratorial microbiológica e biológica na busca da concentração ideal, que fosse capaz de aliar a capacidade antimicrobiana, sobre cepas bacterianas comumente encontradas na infecção endodôntica à biocompatibilidade sobre fibroblastos de gengiva. O autor concluiu que a água ozonizada na concentração de 8 µg/mL associada ao protocolo tradicional de preparo químico cirúrgico foi que apresentou os melhores resultados.

O presente estudo adotou esses parâmetros para a avaliação clínica, sendo a ozonioterapia empregada também como coadjuvante ao tratamento endodôntico. Os resultados obtidos ressaltaram o grupo do gás ozônio como mais efetivo na avaliação radiográfica e a água ozonizada com os melhores resultados na avaliação clínica sintomatológica.

Tal fato deixa evidente a diferença entre os resultados de estudos laboratoriais e clínicos e a complementação que um exerce sobre o outro.

Qualquer substância ou medicação para ser aplicada na clínica odontológica deve, obrigatoriamente, trilhar esse caminho experimental. Os ensaios laboratoriais executam uma avaliação inicial que devem ser complementados por estudos clínicos, para assim haver a incorporação ao protocolo de tratamento.

O estudo clínico de Araki (2003), inserindo o laser também como coadjuvante ao tratamento endodôntico, concluiu que essa tecnologia proporcionou um grau de reparação óssea mais homogênea da rarefação óssea periapical. Já Garcez et al. (2008) em outro estudo clínico, avaliaram a efetividade antimicrobiana da terapia fotodinâmica e concluíram que esta terapia foi a que apresentou os melhores níveis de descontaminação, tornando-se uma promissora alternativa. Diferentemente, Souza (2011), na análise clínica da aplicação da PDT concluiu que esta não aumentou a desinfecção intracanal conseguida pelo preparo químico cirúrgico.

6.3 DA METODOLOGIA APLICADA

A metodologia utilizada pelo presente estudo adotou como padrão os estudos de Araki (2003) e Nogales (2011).

Os critérios de inclusão dos pacientes tiveram por base a anamnese que avaliou as condições de saúde, testes de vitalidade e exame radiográfico. Seguindo as normas Consort para a realização de estudos clínicos foram triados 250 pacientes, e apenas 36 respeitavam os critérios de inclusão determinados, portadores de rarefação óssea periapical discerníveis em radiografia, em dentes unirradiculares, justificando a necessidade do tratamento endodôntico.

A opção pela seleção de casos com dentes fechados e diagnosticado com infecção primária justifica-se pela facilidade de padronização das lesões com maior homogeneidade da flora bacteriana, como apontado por Siqueira Jr (2002), Gomes et al. (2004), Spratt (2004) e Sassone et al. (2007). Os microrganismos organizados em biofilme (Fabricius et al., 1982; Ricucci; Siqueira, 2010) e liberando subprodutos, dentre os mais preocupantes para o tratamento endodôntico está o lipopolissacarídeo (Vianna et al., 2007; Martinho; Gomes, 2008), tornam-se agentes agressores em potencial para desenvolver e perpetuar a periodontite apical.

A produção do ozônio, tanto na forma gás como a água ozonizada, obedeceu a critérios de produção rígidos para garantir a estabilidade e confiabilidade da dose utilizada. Como apontado por Bocci (2002), Viebahn-Hansler (2007) e Nogales (2011) uma das características principais do ozônio é a instabilidade molecular que está diretamente associada à temperatura e ao veículo no qual será diluído, assim como seu grau de pureza.

O presente estudo utilizou como fonte para o gerador de ozônio, o oxigênio medicinal, conforme os autores acima citados, ao contrário de outros estudos que fizeram uso do equipamento com captação, filtração e desumidificação do ar ambiente, como apresentado por Stoll et al. (2008) e Kustarci et al. (2009).

Com relação à água ozonizada, para garantir a pureza da solução e a concentração final do ozônio, é fundamental a utilização da água bidestilada, como apresentado por Bocci (2005) e Viebahn-Hansler (2007). Dessa forma, o processo de borbulhamento deve acontecer por um período de 5 minutos. De acordo com Viebahn-Hansler (2007), ao final desse período ocorre a saturação da água. Diante

disso, é fundamental entender que a água ozonizada não é capaz de reter todo o ozônio que lhe é ofertado. Bocci (2002) esclarece que a água bidestilada é capaz de absorver aproximadamente 25% do ozônio que é calibrado no gerador.

Este estudo utilizou a concentração de 40 µg/mL ajustada no equipamento gerador, como padrão do ozônio gás e água. Tal concentração foi estabelecida e testada por Nogales (2011) e apresentou os melhores resultados estatísticos. Um dado importante do referido estudo é que a concentração final do ozônio na água foi de 8 µg/mL, fato que está de acordo com o colocado por Bocci (2002).

Vale lembrar que previamente a aplicação do gás intracanal, o canal radicular foi levemente umedecido com água bidestilada e o gás foi então injetado com pequenos movimentos de avanço e retrocesso para permitir a ação do gás em toda a parede dentinária e assim possibilitar sua perfusão à região apical. Tal procedimento visa a potencialização da ação do ozônio. O ato de umedecer a região a ser aplicada o gás é descrito nos trabalhos de Al-Dalain et al. (2005), Wainstein et al. (2011) e Cruz et al. (1994).

A água bidestilada foi mantida sob refrigeração até o momento do uso, pois segundo a lei de Henry, como aclarado por Nogales et al. (2008), quanto mais baixa a temperatura, mais estável e por mais tempo o ozônio permanece ativo. Importante lembrar que a água foi produzida e utilizada imediatamente após. Este procedimento é justificado para garantir a fidelidade da concentração do ozônio na água.

Semelhante ao estudo de Nogales (2011), o presente trabalho também confirmou a concentração do ozônio na água, utilizando kit colorimétrico CHEMets Kit Ozone K-7402.

A sequência terapêutica adotada para o tratamento endodôntico dos pacientes foi o preconizada pela Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, que constituiu o Grupo I - Controle. Para tal, foi feita a associação da solução de hipoclorito de sódio 1% com o Endo-PTC gel e irrigação/aspiração com o EDTA-T, finalizando com a solução de hipoclorito de sódio 1%, assim como utilizado por Nogales (2011) e Souza (2011).

Tendo os resultados já definidos e conhecidos pela literatura da ação do hidróxido de cálcio, este estudo inseriu o óleo de girassol ozonizado como medicação intracanal comparativa no grupo experimental, como avaliado por Cruz et al. (1994) e Silveira et al. (2007).

A efetividade do óleo ozonizado já foi comprovada em estudos prévios, como de Rodriguez et al. (1994) utilizando-o sobre a gengivoestomatite herpética aguda e Guerra et al. (1997) no tratamento de alveolites que comparado com o protocolo tradicional associado à medicação sistêmica apresentou nível de cura foi superior com diferença estatística significativa. Outros trabalhos, como Sechi et al. (2001) e Diaz et al. (2006) avaliaram e comprovaram a efetividade antimicrobiana do óleo. Ferreira et al. (2009) avaliaram a ação do óleo ozonizado como lubrificante da instrumentação endodôntica automatizada e o protocolo tradicional mostrou melhores resultados no quesito limpeza da parede do canal radicular.

Todas as tomadas radiográficas foram padronizadas utilizando posicionador radiográfico personalizado, como proposto por Lage-Marques et al. (1997) e também utilizado por Araki (2003). Dessa forma foi possível fazer tomadas radiográficas padrões nos controles de 3 e 6 meses. A utilização do *software* ImageLab é justificado por ser um programa de análise de imagens que permite o processamento e o cálculo de diversos parâmetros de imagens digitais de maneira fácil, rápida e precisa.

6.4 DOS RESULTADOS

Inicialmente cabe ressaltar a dificuldade da realização de um ensaio clínico. Para este estudo foram triados 250 pacientes e apenas 44 cumpriram os critérios de inclusão. Durante o tratamento ou controle pós-tratamento, esse número foi reduzido a 36, justificado pela desistência dos pacientes. Fato que constava no termo de consentimento livre e esclarecido, que era lícito ao paciente desistir do tratamento a qualquer momento.

Curiosamente, a maior parte desses 8 pacientes abandonaram o estudo após a conclusão do tratamento, com a restauração do dente. Estes eram convocados a comparecer aos controles, o que não ocorria. Fato que vai de encontro a uma grande dificuldade da clínica endodôntica que é o controle pós-operatório.

Para que a interação dos resultados dos grupos experimentais fosse feita, a área delimitada na radiografia final foi adotada como 100%, para que fosse possível a comparação com os controles de 3 e 6 meses. Importante lembrar que os gráficos

são apresentados de tal forma que ilustram as duas possíveis interpretações: porcentagem de reparação e porcentagem da área radiolúcida.

Sendo a radiografia final estabelecida como 100%, a porcentagem de reparação foi determinada pela diferença entre os 100% e a porcentagem da área da imagem radiolúcida, nos controles de 3 e 6 meses.

Assim sendo, na análise grupo a grupo ocorreu redução da imagem radiolúcida periapical em todos os casos tratados, com diferença estatística significativa entre os tempos experimentais para os três grupos, nos controles de 3 e 6 meses. Tal fato aponta para a efetividade dos protocolos instituídos. Traçando um paralelo com o estudo laboratorial, estes resultados estão de acordo com o concluído por Nogales (2011), onde os tratamentos obtiveram um alto grau de redução microbiana.

O Grupo III, protocolo tradicional associado ao gás ozônio na concentração de 40 µg/mL e medicação intracanal com o óleo ozonizado, foi o que apresentou a maior porcentagem de redução da imagem radiolúcida periapical, com diferença estatística significativa para o Grupo II, protocolo tradicional associado à água ozonizada na concentração de 8 µg/mL.

Cabe ressaltar que a inserção do ozônio, tanto na fase de preparo químico cirúrgico complementando o protocolo tradicional, como na fase de medicação intracanal apresentou os mesmos resultados estatísticos em termos de reparação, em comparação com o protocolo tradicional, que utilizou o hidróxido de cálcio.

A ação antimicrobiana e capacidade reparadora do óleo ozonizado ficaram evidentes nos trabalhos de Rodriguez et al. (1994), Guerra et al. (1997), Sechi et al. (2001) e Silveira et al. (2007). Diaz et al. (2006) apontam para a capacidade do óleo de girassol e oliva em absorverem o ozônio. Já Andolfatto et al. (2009) estudaram o tempo de ozonização necessário para eliminar cepas do *E. faecalis*, e concluíram que o período de 60 minutos já é o suficiente para conferir efeito antimicrobiano sobre o microrganismo.

O presente estudo utilizou a Escala Visual Analógica, como empregado nos trabalhos de Ince et al. (2009) e El Mubarak et al. (2010). Mesmo subjetivo, é uma importante ferramenta para quantificar o grau de sensibilidade do paciente ao tratamento endodôntico.

Um consenso entre os trabalhos que avaliaram sensibilidade pós-operatória é que a sensibilidade está relacionada com a inflamação proporcionada pela técnica

empregada (Estrela, 2001; Soares; Cesar, 2001; Walton et al., 2003; Estrela et al., 2008; Ince et al., 2009; El Mubarak et al., 2010). Isso devido à inflamação causada pelo preparo químico cirúrgico, portanto uma das funções da medicação intracanal é modular essa resposta inflamatória e manter o quadro asséptico conseguido pela sanificação, como evidenciado por Law e Messer (2004).

Semelhante a Ince et al. (2009) e El Mubarak et al. (2010), neste estudo o Grupo I - Controle gerou um certo grau de sensibilidade. Já o Grupo II, que utilizou a água ozonizada na concentração de 8 µg/mL associada ao protocolo tradicional e medicação intracanal com óleo ozonizado foi o que apresentou os melhores resultados nesse quesito, com diferença estatística significativa para os demais grupos ($p < 0,05$) na avaliação em 72 horas após a primeira consulta.

Esta diferença no grau de sensibilidade favorável ao grupo do ozônio é plenamente justificada pelo próprio mecanismo de ação, que modula a liberação de citocinas e estimula os sistemas anti-oxidantes (Viebahn-Hansler, 1999; Nogales, 2006; Olszewer, 2008).

6.5 DA IMPORTÂNCIA DO TRABALHO E PERSPECTIVAS FUTURAS

A Endodontia é uma terapia que visa à prevenção e cura da região apical. As pesquisas na área sempre buscaram descobrir a melhor forma de alcançar esse objetivo, respeitando-se ao máximo a biologia dessa região.

O tratamento endodôntico em sua essência atua sobre a infecção por meio de substâncias químicas e associações que apresentem poder antimicrobiano. Por vezes esse efeito é antagônico às características de biocompatibilidade, que devem obrigatoriamente ser levadas em consideração.

Com o melhor conhecimento e entendimento da infecção endodôntica a abordagem clínica nos casos de infecção foi alterada ao longo do tempo. Isso reflete na diversidade de técnicas existentes para terapia de canais radiculares, utilizando diversas substâncias químicas, em diversas concentrações e variadas medicações intracanaís.

Com o advento da magnificação de imagem e com a tomografia computadorizada, a microanatomia ganhou papel de destaque e introduziu o

conceito de sistema endodôntico. Tal conceito revolucionou a Endodontia, pois apresentou complexidades na anatomia intracanal, como concluído por Takahashi (1998) que poderiam abrigar os microrganismos e diante da dificuldade de acesso não permitir a ação dos instrumentos endodônticos e substâncias químicas (Law; Messer, 2004).

Mesmo após a fase de preparo químico cirúrgico, onde a dentina radicular foi excisada, preparada e permeada por instrumentos endodônticos e substâncias químicas, microrganismos resistentes, organizados em biofilme e/ou liberando subprodutos e abrigados nas regiões inacessíveis do sistema de canais podem continuar estimulando o processo inflamatório apical. Fato que reflete no comprometimento do sucesso terapêutico.

Para reverter essa situação, a literatura mudou o foco das pesquisas para as terapias alternativas. A inserção da tecnologia ao tratamento endodôntico para potencializar a fase de sanificação e paralelamente, algo que não se pensava até então, atuar sobre o sistema imune do paciente.

A Ozonioterapia é inserida nesse contexto como uma modalidade terapêutica com grande potencial de aplicação na Endodontia. Sua importância na área da Medicina é tão marcante que são identificadas 262 patologias tratáveis com o ozônio, sendo as mais estudadas, as complicações para o diabetes e a osteomielite.

Para que sua importância seja esclarecida é fundamental retomar os conceitos do mecanismo de ação. A proposta de utilização do ozônio na Endodontia se dá diante de seu efeito antimicrobiano aliado à biocompatibilidade. O poder antimicrobiano citado é baseado na propriedade essencial do ozônio, que é a capacidade oxidante. Isso reflete em um alto grau de reatividade que aborda o microrganismo de forma direta e indireta. Direta, pela oxidação dos ácidos graxos poliinsaturados da membrana bacteriana e essa ação é tão importante e efetiva que não existem relatos de resistência, como citado por Nogales e Lage-Marques (2010).

A forma indireta de abordagem merece atenção especial, pois é um mecanismo com um diferencial e está intimamente ligado a biocompatibilidade. Inicialmente quando o ozônio entra em contato com o tecido biológico, ocorre a oxidação deste pela formação dos radicais livres e paralelamente há a produção de ATP, que já é visto como um aumento do metabolismo celular e o primeiro estímulo ao sistema imune. Esses radicais livres constituem outra forma de abordagem sobre os microrganismos, pois são extremamente tóxicos. A partir de então, uma cascata

de reações bioquímicas são liberadas que culminam com a ativação dos sistemas anti-oxidantes e liberação de enzimas e citocinas que irão atuar diretamente sobre a reparação, aumentando a oferta de oxigênio tecidual e implementando ainda mais o sistema imune que encontra forças para atuar de maneira mais incisiva sobre os microrganismos. Assim, concluindo, vírus, bactérias e fungos são atacados por todas as vias pelo ozônio – vias diretas e metabólicas. Este processo é muito estudado e referenciado por Bocci (2005), Viebahn-Hansler (2007), Olszewer (2008), Re et al. (2008), Nogales e Lage-Marques (2010) e Bocci et al. (2011).

Sendo assim, o efeito reparador do ozônio foi demonstrado por este estudo e está de acordo com o colocado pela literatura. Dessa forma, a Endodontia ganha um importante aliado na resolução da infecção. Torna o tratamento mais biológico, pois estimula o organismo à homeostase e diminui a sensibilidade pós-operatória.

Este trabalho é parte de um projeto que tem por objetivo principal formar uma imagem global do ozônio, criando um protocolo para sua ação na Endodontia. Diante das possibilidades que são oferecidas pela Ozonioterapia, o assunto não está fechado. Inúmeras pesquisas ainda são necessárias para o melhor entendimento e conhecimento das ações do ozônio sobre o sistema endodôntico.

O potencial de aplicação ficou claro e justificado diante dos resultados obtidos. O clínico tem em mãos, a partir de então, um grande aliado com enormes possibilidades de aplicação que pode atuar diretamente sobre a reparação aumentando a taxa de sucesso e tornando o tratamento endodôntico mais previsível.

Inúmeras propostas para futuras investigações se abrem no campo da ozonioterapia aplicada à Endodontia. Complementando o presente estudo, atuar no sistema endodôntico com um volume maior na irrigação/aspiração da água ozonizada; aplicar o ozônio como uma terapia pós-operatória, injetando o gás na submucosa e, principalmente, conhecer os mecanismos da ativação do sistema imune local.

7 CONCLUSÕES

De acordo com a metodologia aplicada e a interpretação dos dados obtidos é possível concluir que:

1. A ozonioterapia, por meio do emprego do gás ozônio e água ozonizada na fase do preparo químico cirúrgico e do óleo ozonizado como medicação intracanal, interviu de maneira favorável na reparação em situações de dentes portadores de rarefação óssea periapical, sendo o gás mais efetivo que a água ozonizada, com diferenças estatísticas significantes.
2. Os 2 grupos experimentais de ozonioterapia comparados ao grupo controle (protocolo FOUSP) apresentaram padrão de reparação óssea semelhante.
3. A utilização da água ozonizada como irrigante e do óleo ozonizado como medicação intracanal mostrou a melhor eficácia do ponto de vista sintomatológico.

REFERENCIAS¹

Agne JE. Escala visual analógica; 2011. Disponível em URL: <http://www.eletroterapia.com.br/>.

Al-Dalain SM, Martinez G, Menendez S, Re L, Giuliani A, Candelario-Jalil E, et al. Therapeutic efficacy of ozone medical treatments in patients with diabetic foot. *Eur J Pharmacol*. 2005;523:151-61.

Amorim CVG, Lage-Marques JL. Evaluation of the dentin permeability after the root canal preparation with different irrigation solutions. *J Dent Res*. 2002;81:B98.

Andolfatto C, Farac RV, Pizzolito AC, Bonetti-Filho I. Avaliação *in vitro* do tempo de ozonização do propriletoalcol para produzir efeito bactericida sobre *Enterococcus faecalis*. *Braz Oral Res*. 2009; 23:288.

Araki AT. Avaliação da reparação óssea periapical após tratamento endodôntico, tendo como variável a aplicação de laser intracanal [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2003.

Berber VB, Gomes BP, Sena NT, Vianna ME, Ferraz CC, Zaia AA, et al. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing *Enterococcus faecalis* within root canals and dentinal tubules. *Int Endod J*. 2006;39(1):10-7.

Bocci V. Oxygen-ozone therapy: a critical evaluation In: Bocci V. Oxygen ozone therapy. Springer; 2002.

Bocci V. Physical-chemical properties of ozone. Natural production of ozone. In: Ozone, a new medical drug. Itália: Springer; 2005. The toxicology of ozone. p. 5-8.

Bocci VA, Zanardi I, Travagli V. Ozone acting on human blood yields a hormetic dose-response relationship. *J Transl Med*. 2011;9:66.

Britto PR, Souza LC, Machado de Oliveira JC, Alves FR, De-Deus G, Lopes HP, et al. Comparison of the effectiveness of three irrigation techniques in reducing intracanal *Enterococcus faecalis* populations: an *in vitro* study. *J Endod*. 2009;35(10):1422-7.

¹De acordo com Estilo Vancouver.

Bruzadelli-Macedo S, Cardoso CC, Mayrink AS, Demartini G, Fraschini F. Mandibule-Ozone therapy for osteomyelitis: Literature review and case report. *Int J Drug Therapy*. 2002;19(1/2):77-81.

Buliés JC. Una solución para exposiciones óseas postraumáticas: asociación de injerto de epiplon mayor con ozonoterapia. *Rev Cubana Invest Biomed*. 1996;15(2):1-9.

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 Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008;105(3):e85-91.

Cruz O, Menendez S, Reyes O, Diaz W. Aplicación de la Ozonoterapia en el tratamiento de los conductos radiculares infectados. *Rev Cubana Estomatol*. 1994;31:14-8.

D'Arcangelo C, Varvara G, De Fazio P. An evaluation of the action of different root canal irrigants on facultative aerobic-anaerobic, obligate anaerobic, and microaerophilic bacteria. *J Endod*. 1999;25(5):351-3.

Diaz MF, Hernandez R, Martinez G, Vidal G, Gómes M, Fernández H, et al. Comparative study of ozonized olive oil and sunflower oil. *J Braz Chem Soc*. 2006;17(2):403-7.

El Mubarak AH, Abu-bakr NH, Ibrahim YE. Postoperative pain in multiple-visit and single-visit root canal treatment. *J Endod*. 2010;36(1):36-9.

Estrela C: Dor odontogênica. In: Feller C, Gorab R. *Atualização na clínica Odontológica*. São Paulo: Artes Médicas; 2001.

Estrela C, Estrela CR, Decurcio DA, Silva JA, Bammann LL. Antimicrobial potential of ozone in an ultrasonic cleaning system against *Staphylococcus aureus*. *Braz Dent J*. 2006;17(2):134-8.

Estrela C, Decurcio DA, Alencar AHG, Sydney GB, Silva, JA. Efficacy of calcium hydroxide dressing in endodontic infection treatment: a systematic review. *Rev Odonto Ciência*. 2008;23:77-81.

Fabricius L, Dahlén G, Holm SE, Möller AJR. Influence of combinations of oral bacteria on periapical tissues of monkeys. *Scand J Dent Res*. 1982;90(3):200-6.

Ferreira MB, Carvalho EMOF, Lage-Marques JL. Avaliação da permeabilidade dentinária dos canais radiculares utilizando gel e creme Endo PTC como substâncias químicas auxiliares. *Rev Pós-Grad*. 2005;12(1):32-7.

Ferreira MB, Nogales CG, Lage-Marques JL. Avaliação da limpeza dos canais radiculares após instrumentação rotatória com dois diferentes lubrificantes. *Braz Oral Res*. 2009;23:256.

Garcez AS, Nuñez SC, Hamblin MR, Ribeiro MS. Antimicrobial effects of photodynamic therapy on patients with necrotic pulps and periapical lesion. *J Endod*. 2008;34(2):138-42.

Gomes BP, Jacinto RC, Montagner F, Sousa EL, Ferraz CC. Analysis of the antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria isolated from endodontic infections in Brazil during a period of nine years. *J Endod*. 2011;37(8):1058-62.

Gomes BP, Pinheiro ET, Gadê-Neto CR, Sousa EL, Ferraz CC, Zaia AA, et al. Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol Immunol*. 2004;19(2):71-6.

Guerra OC, Cepero SM, Jordan MEM, Vazquez TC. Aplicación de la ozonioterapia en el tratamiento de la alveolitis. *Rev Cubana Estomatol*. 1997;34(1):21-4.

Hems RS, Gulabivala K, Ng YL, Ready D, Spratt DA. An in vitro evaluation of the ability of ozone to kill a strain of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*. 2005;38(1):22-9.

Huth KC, Quirling M, Maier S, Kamereck K, Alkhayer M, Paschos E, et al. Effectiveness of ozone against endodontopathogenic microorganisms in a root canal biofilm model. *Int Endod J*. 2009;42(1):3-13.

Ince B, Ercan E, Dalli M, Dulgergil CT, Zorba YO, Colak H. Incidence of postoperative pain after single- and multi-visit endodontic treatment in teeth with vital and non-vital pulp. *Eur J Dent*. 2009;3:273-9.

Takehashi S, Staley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1965;20:340-9.

Kuştarci A, Sümer Z, Altunbaş D, Koşum S. Bactericidal effect of KTP laser irradiation against *Enterococcus faecalis* compared with gaseous ozone: an ex vivo study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2009;107(5):e73-9.

Lage-Marques JL, Prokopowitsch I, Antoniazzi JH. Posicionador radiográfico personalizado para controle do tratamento endodôntico. Rev Odontol USP. 1997;11(4):293-8.

Lage-Marques JL, Antoniazzi JH. Versão eletrônica da técnica endodôntica da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo [CD Rom]. São Paulo; 2008.

Law A, Messer H. An evidence-based analysis of the antibacterial effectiveness of intracanal medicaments. J Endod 2004;30(10):689-93.

Lynch E. Evidence-based efficacy of ozone for root canal irrigation. J Esthet Restor Dent. 2008; 20(5):287-93.

Martinho FC, Chiesa WM, Marinho AC, Zaia AA, Ferraz CC, Almeida JF, et al. Clinical investigation of the efficacy of chemomechanical preparation with rotary nickel-titanium files for removal of endotoxin from primarily infected root canals. J Endod. 2010;36(11):1766-9.

Martinho FC, Gomes BP. Quantification of endotoxins and cultivable bacteria in root canal infection before and after chemomechanical preparation with 2.5% sodium hypochlorite. J Endod. 2008;34(3):268-72.

Miller WD. An introduction to the study of the bacterio-pathology of the dental pulp. Dent Cosmos. 1894;11:145-58.

Monteiro PG, Bombana A, Santos M, Zaragoza RA. Análise da limpeza dentinária em canais radiculares preparados com um sistema rotatório e diferentes substâncias químicas. RGO. 2008;56(1):7-15.

Moreira RG, Almeida BB, Castro CDL, Sousa GR, Freitas ABDA, et al . Efeito da terapia fotodinâmica e da ozonioterapia desinfecção de conduto radicular. Braz Oral Res. 2010;24:130.

Nagayoshi M, Fukuizumi T, Kitamura C, Yano J, Terashita M, Nishihara T. Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms. *Oral Microbiol Immunol* 2004a;19(4):240-6.

Nagayoshi M, Kitamura C, Fukuizumi T, Nishihara T, Terashita M. Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. *J Endod*. 2004b;30(11):778-81.

Nogales CG. Ozonioterapia – aplicações médicas e odontológicas [monografia de especialização]. São Paulo: Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico da Odontologia da Faculdade de Odontologia; 2006.

Nogales CG. Parâmetros da ação antimicrobiana e da citotoxicidade do ozônio para aplicação na Endodontia [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2011.

Nogales CG, Ferrari PH, Kantorovich EO, Lage-Marques JL. Ozone therapy in medicine and dentistry. *J Contemp Dent Pract*. 2008;9(4):75-84.

Nogales CG, Ferreira MB, Lage-Marques JL. Avaliação da ação da água ozonizada frente a bactérias encontradas em casos de periodontite apical secundária persistente. *Braz Oral Res*. 2009;23:188.

Nogales CG, Lage-Marques JL. Ozonioterapia: grande potencial para o controle da infecção. In: Ferrari PH, Bombana AC. *A infecção endodôntica e sua resolução*. São Paulo: Editora Santos; 2010. p. 299-308.

Oguz E, Ekinci S, Eroglu M, Bilgic S, Koca K, Durusu M, et al. Evaluation and comparison of the effects of hyperbaric oxygen and ozonized oxygen as adjuvant treatments in an experimental osteomyelitis model. *J Surg Res*. 2011;171(1):e61-8.

Olszewer E. Radicais livres. In: Olszewer E. *Clínica ortomolecular*. 2a ed. São Paulo: Roca; 2008. p. 3-8.

Paiva JG, Antoniazzi JH. O uso de uma associação de peróxido de uréia e detergente (Tween 80) no preparo químico –mecânico dos canais radiculares. *Rev Assoc Paul Cir Dent*. 1973;27(7):416-23.

Re L, Mawsouf MN, Menéndez S, León OS, Sánchez GM, Hernández F. Ozone therapy: clinical and basic evidence of its therapeutic potential. *Arch Med Res*. 2008;39(1):17-26.

Retamozo B, Shabahang S, Johnson N, Aprecio RM, Torabinejad M. Minimum contact time and concentration of sodium hypochlorite required to eliminate *Enterococcus faecalis*. *J Endod*. 2010;36(3):520-3.

Ricucci D, Siqueira JF. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod*. 2010;36(8):1277-88.

Rodriguez LM, Cerepo MS Perdomo, EO. Efectos Del ozono en el tratamiento de la gingivoestomatitis herpética aguda. *Rev Cubana Estomatol*. 1994;31(1):14-7.

Rossi-Fedele G, Figueiredo JA, Steier L, Canullo L, Steier G, Roberts AP. Evaluation of the antimicrobial effect of super-oxidized water (Sterilox®) and sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis* in a bovine root canal model. *J Appl Oral Sci*. 2010;18(5):498-502.

Rubin MB. The history of ozone – the Schöbein period, 1839 – 1868. *Bull Hist Chem*. 2001;26(1):40-56.

Sassone L, Fidel R, Figueiredo L, Fidel S, Faveri M, Feres M. Evaluation of the microbiota of primary endodôntic infections using checkerboard DNA-DNA hybridization. *Oral Microbiol Immunol*. 2007;22(6):390-7.

Schilder H. Cleaning and cheaping the root canal. *Dent Clin North Am*. 1974; 18(2):269-96.

Sechi LA, Lezcano I, Nuñez N, Espim M, Dupret I, Pinna A, et al. Antibacteriano activity of ozonized sunflower oil (Oleozone). *J Appl Microbiol*. 2001;9(2):279-34.

Silveira AM, Lopes HP, Siqueira JF, Macedo SB, Consolaro A. Periradicular repair after two-visit endodôntic treatment using two different intracanal medications compared to single-visit endodôntic treatment. *Braz Dent J*. 2007;18(4):299-304.

Siqueira JF. Endodôntic infections: concepts, paradigms, and perspectives. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002; 94:281-93.

Soares JA, César CAS. Avaliação clínica e radiográfica do tratamento endodôntico em sessão única de dentes com lesões periapicais crônicas. *Pesqui Odontol Bras.* 2001;15(2):138-44.

Souza EB. Efeito da terapia fotodinâmica na desinfecção do sistema de canais radiculares [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2011.

Spratt DA. Significance of bacterial identification by molecular biology methods. *Endod Topics.* 2004;9:5-14.

Stoll R, Venne L, Jablonski-Momeni A, Mutters R, Stachniss V. The disinfecting effect of ozonized oxygen in an infected root canal: an in vitro study. *Quintessence Int.* 2008;39(3):231-6.

Sundqvist G. Bacteriological studies of necrotic dental pulps [dissertation] Umeå: University of Umeå; 1976.

Takahashi K. Microbiological, pathological, inflammatory, immunological and molecular biological aspects of periradicular disease. *Int Endod J.* 1998;31(4):311-25.

Velano HE, Nascimento LC, Barros LM, Panzeri H. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana da água ozonizada frente ao *Staphylococcus aureus*. *Pesq Odontol Bras.* 2001;15:18-22.

Vianna ME, Gomes BP. Efficacy of sodium hypochlorite combined with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis in vitro*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;107(4):585-9.

Vianna ME, Gomes BP, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza-Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;97(1):79-84.

Vianna ME, Horz H-P, Conrads G, Zaia AA, Souza-Filho FJ, Gomes BPFA. Effect of root canal procedures on endotoxins and endodontic pathogens. *Oral Microbiol Immunol.* 2007;22:411-8.

Viebahn-Hansler R. The use of ozone in medicine. 3rd English ed. Iffezheim, Germany: Odeji Publishers; 1999.p.95-119.

Viebahn-Hansler R. El uso del ozono en Medicina. 5a ed. Alemanha: Odrei;2007.

Wainstein J, Feldbrin Z, Boaz M, Harman-Boehm I. Efficacy of Ozone-Oxygen Therapy for the Treatment of Diabetic Foot Ulcers. Diabetes Technol Ther. 2011.

Walton RE, Holton IF, Michelich R. Calcium Hydroxide as an intracanal medication: effect of post treatment pain. J Endod. 2003;29:627-9.

APENDICE A – Termo de Consentimento – livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO – LIVRE E ESCLARECIDO

TÍTULO PRELIMINAR DO ESTUDO

Ação da Ozonoterapia na Clínica Endodôntica.

INFORMAÇÕES GERAIS

O tratamento será realizado na Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. A forma de acompanhamento da cura será através de raio X por 3 e 6 meses depois que terminar o tratamento de canal (endodôntico).

OBJETIVO DO ESTUDO

O objetivo deste estudo é avaliar de modo comparativo a cura da infecção (lesão) periapical do tratamento de canal (tratamento endodôntico) realizado com a terapia tradicional e associado a irrigação com água ozonizada. Serão utilizadas radiografias digitais diretas para verificar se está ou não ocorrendo a reparação.

JUSTIFICATIVA

Existem situações de insucesso, onde não ocorre a reparação da lesão (infecção), mesmo após a realização de tratamento de canal (endodôntico) bem executado. Assim, a ozonoterapia poderá ser utilizada como auxiliar do tratamento de canal (tratamento endodôntico), para aumentar as chances de sucesso.

SEGURANÇA DO PACIENTE- RISCO

Sua participação é voluntária, caso aceite, você poderá desistir e interromper o tratamento a qualquer momento, mesmo depois de ter consentido em participar. Trata-se de um trabalho onde será realizado o tratamento de canal (tratamento endodôntico) de modo tradicional ou com a utilização de ozonoterapia. Existem situações que a lesão persiste mesmo após a realização de um tratamento bem executado, sendo assim necessária a realização de outro tipo de tratamento.

CONFIDENCIALIDADE

Todas as informações obtidas durante o estudo são estritamente confidenciais e os registros e prontuários estarão disponíveis para a equipe de trabalho. A documentação obtida não permitirá a identificação do paciente. Os dados poderão ser publicados apenas com fins científicos, sendo que a identidade permanecerá em sigilo.

BENEFÍCIOS

O paciente terá como benefício a realização do tratamento endodôntico e seu acompanhamento até que a lesão periapical melhore.

Antes de dar meu consentimento assinado neste documento, eu fui suficientemente informado de todo o projeto que será realizado na Universidade de São Paulo.

Conversei diretamente com a Cirurgiã Dentista Marina Beloti, e obtive as respostas satisfatórias em relação a minha participação. Sei que qualquer dúvida devo contatar a Cirurgiã Dentista Marina Beloti - cel: 8451-1557. Sendo assim, eu autorizo a utilização da documentação obtida durante o tratamento e concordo em participar do projeto.

Nome (paciente ou responsável) _____

Assinatura: _____

Eu conversei com o paciente sobre o desenvolvimento do projeto e tenho ciência de ter sido compreendido

Data: __/__/____

Marina Beloti Ferreira

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

PARECER DE APROVAÇÃO
Protocolo 154/06

Com base em parecer de relator, o Comitê de Ética em Pesquisa APROVOU o protocolo de pesquisa "Ação da Ozonoterapia na Clínica Endodôntica", de responsabilidade do Pesquisador Professor Doutor José Luiz Lage-Marques.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 09 de novembro de 2006

Prof. Dr. **Rogério Nogueira de Oliveira**
Coordenador do CEP-FOUSP