

**UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ**

**Anna Júlia Pimentel Pereira**

**Monique Baldim Arantes**

**OZONIOTERAPIA EM ENDODONTIA**

**Revisão de literatura**

**Taubaté- SP**

**2020**

**UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ**

**Anna Júlia Pimentel Pereira**

**Monique Baldim Arantes**

**OZONIOTERAPIA EM ENDODONTIA**

**Revisão de literatura**

Trabalho de Graduação apresentado ao Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté, como requisito para a obtenção do grau de Bacharel em Odontologia  
Orientador: Profa. Dra. Claudia Auxiliadora Pinto

**Taubaté-SP**

**2020**

**Grupo Especial de Tratamento da Informação - GETI  
Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI  
Universidade de Taubaté – UNITAU**

P436o Pereira, Anna Júlia Pimentel  
Ozonioterapia em endodontia : revisão de literatura / Anna  
Júlia Pimentel Pereira , Monique Baldim Arantes. -- 2020.  
37 f.

Monografia (graduação) – Universidade de Taubaté,  
Departamento de Odontologia, 2020.  
Orientação: Profa. Dra. Cláudia Auxiliadora Pinto,  
Departamento de Odontologia.

1. Ozônio na endodontia. 2. Ozonioterapia. 3. Tratamento  
endodôntico. I. Arantes, Monique Baldim. II. Universidade de  
Taubaté. Departamento de Odontologia. III. Título.

CDD – 617.634

**Anna Júlia Pimentel Pereira**  
**Monique Baldim Arantes**

**OZONIOTERAPIA NA ENDODONTIA**  
**Revisão de literatura**

Trabalho de Graduação apresentado ao Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté, como requisito para a obtenção do grau de Bacharel em Odontologia.

Data: 30 de novembro de 2020

Resultado:

**BANCA EXAMINADORA**

Profa. Dra. Claudia Auxiliadora Pinto

Universidade de Taubaté

Assinatura \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Edison Tibagy Dias de Carvalho

Universidade de Taubaté

Assinatura \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Nivaldo André Zöllner

Universidade de Taubaté

Assinatura \_\_\_\_\_

'Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do  
céu.'

Eclesiastes 3:1

## RESUMO

Na Endodontia, sempre se tem procurado métodos e técnicas capazes de otimizar as condutas clínicas e eliminar micro-organismos persistentes. Assim, a ozonioterapia vem sendo proposta como terapia coadjuvante no tratamento endodôntico, por proporcionar uma potente ação antimicrobiana e sua alta biocompatibilidade, promovendo bioestimulação, aumentando a oferta de oxigênio tecidual, com um efeito antimicrobiano. O presente estudo – uma revisão de literatura – teve como objetivo abordar e esclarecer benefícios, aplicabilidade e cuidados durante o uso do ozônio como coadjuvante no tratamento endodôntico. Para elaboração dessa monografia foram realizadas buscas nos bancos de dados: Pubmed, Scielo, Science Direct e Google acadêmico, utilizando como palavras-chave: ozônio, ozonioterapia, ozônio na endodontia e os termos respectivos em inglês: ozone therapy in endodontics. Concluiu-se que: 1. A água ozonizada usada isoladamente como substância irrigadora não é eficaz, devido ao ozônio sofrer uma rápida deterioração, sendo assim, quando associada ao hipoclorito de sódio, clorexidina e a agitação ultrassônica torna-se mais efetivos na descontaminação dos canais; 2. A concentração mais eficaz de ozônio aquoso contra microrganismos persistentes no canal radicular é de 8 mg/mL; 3. O ozônio gasoso quando associado ao hipoclorito de sódio, permite que se utilizem concentrações mais biocompatíveis deste último, entretanto requer um maior número de sessões clínicas para a aplicação do ozônio contra *E.faecalis*; 4. O ozônio aquoso possui uma menor toxicidade que o ozônio gasoso, tendo uma melhor biocompatibilidade que outros antissépticos de uso comum em Endodontia; 5. O ozônio possui uma ação secundária de aumento de dureza superficial do cimento endodôntico, ao deixar o cimento mais espesso, permitindo uma melhor polimerização, aumentando assim a resistência à fratura dos dentes tratados endodonticamente; 6. Pode ser coadjuvante no tratamento endodôntico devido aos seus efeitos bioestimuladores e potencial antimicrobiano, entretanto mais estudos para o esclarecimento de concentrações e períodos de administração do ozônio ainda são necessários, como proposta de terapias biologicamente eficazes.

**Palavras-chave:** ozônio, ozonioterapia, ozônio na endodontia

## ABSTRACT

In endodontics there has always been a search for methods and techniques capable of optimizing clinical conduct and eliminating persistent microorganisms, therefore, ozone therapy has been proposed as an adjunctive therapy in endodontic treatment, as it provides a potent antimicrobial action and its high biocompatibility, promoting biostimulation, increasing the supply of tissue oxygen, with an antimicrobial effect. This study aims, through a literature review, to address and clarify the benefits, applicability and care during the use of ozone as an adjunct to endodontic treatment. To make this article, searches were carried out in the databases: Pubmed, Scielo, Science Direct and Google academic, using as keywords: Ozone, ozone therapy, ozone in endodontics and the respective terms in English: Ozone therapy in endodontics. It was concluded that: 1. Ozonized water used alone as an irrigating substance is not effective, due to ozone undergoing rapid deterioration, therefore, when associated with sodium hypochlorite, chlorhexidine and ultrasonic agitation it becomes more effective in the decontamination of channels; 2. The most effective concentration of aqueous ozone against persistent microorganisms in the root canal is 8 mg / mL; 3. Ozone gas, when associated with sodium hypochlorite, allows the use of more biocompatible concentrations of the latter, however it requires a greater number of clinical sessions for the application of ozone against *E. faecalis*; 4. Aqueous ozone has less toxicity than gaseous ozone, having a better biocompatibility than other antiseptics in common use in Endodontics; 5. Ozone has a secondary action of increasing the surface hardness of endodontic cement, by making the cement thicker, allowing for better polymerization, thus increasing the fracture resistance of endodontically treated teeth; 6. It can be an adjunct to endodontic treatment due to its biostimulatory effects and antimicrobial potential, however further studies to clarify concentrations and periods of ozone administration are still needed, as proposed biologically effective therapies.

**Keywords:** ozone, ozone therapy, ozone in endodontics

## SUMÁRIO

1 Introdução .....	9
2 Proposição .....	11
3 Revisão de Literatura .....	12
3.1 Efeito antimicrobiano do ozônio .....	12
3.1.1 Exposição direta do microrganismo ao ozônio .....	12
3.1.2 Experimentos <i>in vitro</i> em dentes extraídos.....	16
3.1.3 Ensaio clínicos.....	24
3.2 Biocompatibilidade e efeitos adversos do Ozônio .....	25
4. Discussão.....	29
5. Conclusões.....	37
REFERÊNCIAS .....	38



## 1 Introdução

O ozônio ( $O^3$ ) é um composto alotrópico do oxigênio ( $O_2$ ), formado através de descargas elétricas sobre a molécula de oxigênio, a qual se quebra liberando átomos, onde se liga a outra molécula de oxigênio, formando o  $O_3$ . Por ser extremamente oxidante e instável, ele retorna à sua forma molecular de oxigênio com facilidade, tornando-se um grande potencializador da cicatrização e reparação tecidual. Para uso na área da saúde precisa ser sintetizado através de geradores específicos. A maioria dos geradores com finalidade medicinal utiliza o efeito corona para a produção da mistura gasosa oxigênio-ozônio (SORIANO, PEREZ, BAQUES, 2000).

Na Endodontia, o ozônio tem a capacidade de remover proteínas das lesões permitindo a perfusão de íons cálcio e fosfato regionais, e, conseqüentemente, o reparo do tecido ósseo periapical. Sendo assim, a ozonioterapia alia os requisitos de potente ação antimicrobiana e biocompatibilidade, sendo responsável pela promoção da bioestimulação, aumentando a oferta de oxigênio tecidual, com um efeito antimicrobiano.

A eliminação de microrganismos dos canais radiculares infectados é uma constante preocupação na endodontia. O método de descontaminação mais usado e mais seguro atualmente para descontaminar o sistema endodôntico é uma rigorosa sanificação, visto que os microrganismos presentes em canais radiculares necrosados não podem ser atingidos pelas células de defesa do hospedeiro. O preparo químico-cirúrgico reduz a quantidade de microrganismos predominantes, mas alguns sobrevivem pela presença de nutrientes capazes de favorecer o crescimento destes, restabelecendo assim a contaminação do espaço pulpar e dos tecidos periapicais. Desse modo, em busca de alternativas, o ozônio apresenta um grande potencial para ser inserido na terapia endodôntica como tratamento coadjuvante, por incorporar dois quesitos necessários a qualquer substância de uso endodôntico: ação antimicrobiana e biocompatibilidade.

Torna-se então pertinente e justificável realizar essa revisão para informar o cirurgião-dentista sobre essa opção de tratamento, que trará abordagem e esclarecimentos sobre os benefícios, vantagens/desvantagens e cuidados durante o uso do ozônio como coadjuvante ao tratamento endodôntico, relacionando a sua utilização sob diferentes formas de aplicação.

## **2 Proposição**

O presente estudo se propôs a uma revisão da literatura em bases de dados científicos – PUBMED, Scielo, Lilacs e artigos do Google Acadêmico – a respeito do tema ozonioterapia em endodontia, tendo em vista a importância do assunto, tanto para profissionais de odontologia em formação, quanto para os já graduados ou especialistas em endodontia. A revisão buscou as informações mais atuais sobre o uso da ozonioterapia, vantagens/desvantagens e cuidados durante o uso do ozônio como coadjuvante ao tratamento endodôntico, relatando a sua utilização sob diferentes formas de aplicação.

### 3 Revisão de Literatura

O ozônio é um alótropo do oxigênio e é um gás instável, que se decompõe após aproximadamente 20 minutos, gerando uma molécula de oxigênio diatômica e oxigênio atômico muito ativo. A atividade antimicrobiana do ozônio decorre de suas propriedades oxidativas. Como qualquer ozônio residual se decompõe espontaneamente em oxigênio não tóxico, o ozônio pode ser usado na indústria de alimentos e também na medicina. O ozônio tem efeito sobre o metabolismo em tecidos inflamados, ativa a resposta imunológica do corpo e destrói bactérias, fungos e vírus. As propriedades químicas do ozônio são utilizadas na terapia com ozônio para tratar feridas infectadas, úlceras de decúbito, queimaduras, ulcerações, inflamação da pele e tecido ósseo ou alterações relacionadas à radioterapia em pacientes com câncer. A terapia com ozônio também é usada para tratar inflamações e infecções de certos órgãos internos, especialmente quando a terapia com antibióticos não conseguiu controlar as bactérias multirresistentes (Bialloszewski et al., 2011).

#### 3.1 Efeito antimicrobiano do ozônio

##### 3.1.1 Exposição direta do microrganismo ao ozônio

Huth et al. (2009) investigaram a eficácia antimicrobiana de ozônio gasoso e aquoso contra patógenos endodônticos específicos em suspensão. *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Peptostreptococcus micros* e *Pseudomonas aeruginosa* foram cultivados em cultura planctônica ou em biofilmes mono-espécies em canais radiculares por 3 semanas. As culturas eram expostas ao ozônio, hipoclorito de sódio (NaOCl; 5,25%, 2,25%), digluconato de clorexidina (CHX; 2%), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 3%) e solução salina tamponada com fosfato (controle) por 1 min e a unidades formadoras de colônias (UFC) contadas. O gás ozônio foi aplicado aos biofilmes em dois ambientes experimentais, semelhantes a áreas de canal difícil (configuração 1) ou fácil de alcançar (configuração 2). Como configuração 1 as fatias foram colocadas em contas de vidro na caixa de gás, em que o gás fluiu sobre o espaço do canal (parecendo áreas do canal de difícil acesso); configuração 2, as fatias foram posicionadas na vertical de modo a permitir o fluxo do gás através do canal

radicular (semelhante às partes do canal que são fáceis de alcançar). Experimentos de curso de tempo de até 10 min foram incluídos. Para comparar as amostras testadas, os dados foram analisados pelo teste Anova one-way. Como resultado, observaram que concentrações de ozônio gasoso até  $1\text{ g m}^{-3}$  e ozônio aquoso até  $5\ \mu\text{g mL}^{-1}$  eliminaram completamente os micro-organismos suspensos, assim como o NaOCl e o CHX. Peróxido de hidrogênio e as concentrações de ozônio aquoso inferiores foram menos eficazes. O ozônio aquoso e gasoso foram dosados quanto à tensão eficaz contra o biofilme de microrganismos. A eliminação total foi alcançada por gás ozônio de alta concentração (configuração 2) e por NaOCl após 1 min ou uma concentração de gás inferior ( $4\ \text{g m}^{-3}$ ) após pelo menos 2,5 min. Ozônio aquoso altamente concentrado ( $20\ \text{lg mL}^{-1}$  e CHX) eliminou quase completamente as células do biofilme, enquanto  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi menos eficaz. Concluíram que o ozônio gasoso e aquoso de alta concentração foi eficaz em função da dose, do esforço e do tempo contra os microrganismos testados em suspensão e o biofilme modelo de teste. No entanto, o NaOCl foi o único método pelo qual foram completamente eliminados todos os tipos de microrganismos.

Bialoszewski et al. (2011) estudaram sobre a atividade da água ozonizada e do ozônio contra *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. O objetivo do estudo foi investigar a atividade bactericida da água ozonizada e de uma mistura de ozônio e oxigênio contra biofilmes. Dezoito cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* exibindo vários níveis de sensibilidade a antibióticos foram investigadas. As bactérias foram cultivadas em forma de biofilme em placas de poliestireno por períodos de 2 a 72 horas. Os biofilmes formados desta forma foram expostos à água ozonizada *statu nascendi* produzida em um protótipo de dispositivo que havia sido testado, ou a uma mistura de oxigênio e ozônio gerados no mesmo dispositivo. Células vivas do biofilme foram coradas com uma solução de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT). Foi determinado o grau de redução de bactérias viáveis após a exposição ao ozônio. Como resultado, verificou-se que a água ozonizada é um agente bactericida eficaz contra os biofilmes após 30 segundos de exposição, enquanto a atividade bactericida da solução de ozônio-oxigênio era muito menor. O prolongamento da

duração da exposição do biofilme ao desinfetante gasoso em 40 minutos levou a uma redução na contagem de células viáveis, que, no entanto, permaneceu alta. Os autores concluíram que, ao contrário da mistura ozônio-oxigênio, a água ozonizada destrói efetivamente os biofilmes bacterianos *in vitro*.

Nogales et al. (2014) fizeram um estudo *in vitro* e compararam a atividade antimicrobiana de três concentrações diferentes de ozônio aquoso em *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*. O estudo utilizou uma suspensão padronizada de 3 bactérias. Essas suspensões foram cultivadas e espectrofotometricamente ajustadas para uma concentração final de  $4,46 \times 10^8$  UFC / mL. submetidas aos grupos: Grupo I - ozônio aquoso 2 µg / mL; Grupo II - ozônio aquoso 5 µg / mL; Grupo III - ozônio aquoso 8 µg / mL e Grupo Controle - água estéril fria bidestilada sem ozônio. Água estéril fria bidestilada foi ozonizada por 5 minutos. Em seguida, 10 mL de cada suspensão foram adicionados a 90 mL de cada grupo em um frasco de vidro. Após 1 minuto de contato, 1 mL de cada foi adicionado a 9 mL de tiosulfato de sódio a 0,1% para neutralizar o ozônio e, em seguida, a diluição foi realizada. Após 24 horas de incubação, foi realizada a contagem de UFC. Concomitantemente 1 mL de cada frasco de vidro foi adicionado a 9 mL de caldo TSB e incubado por 7 dias durante análises visuais de turbidez do caldo. Os resultados mostraram que o grupo I apresentou crescimento para *Enterococcus faecalis*. Os grupos II e III não apresentaram contagem de UFC, mas o ozônio aquoso a 5 µg / mL apresentou 2 tubos turvos de *Enterococcus faecalis*, indicando crescimento de bactérias. Grupo III (ozônio aquoso 8 µg / mL) não mostraram contagem de UFC ou turbidez do caldo. De acordo com a metodologia aplicada, foi possível concluir que o ozônio aquoso em concentração de 8 µg / mL foi o mais eficiente para eliminar as três bactérias avaliadas. Os autores chegaram à conclusão de que, além da restrição metodológica, a comparação das diferentes concentrações de ozônio aquoso mostrou que 8 µg / mL é a concentração mais eficaz contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*.

Ghareeb et al. (2015) avaliaram os efeitos antimicrobianos com água ozonizada na descontaminação de limas endodônticas contaminadas com *C. Albicans*. Utilizaram água ozonizada a 0,5 ppm. Vinte limas de 21 milímetros de comprimento e calibre 25 foram utilizadas, sendo cinco limas tomadas como um

grupo de controle e 15 limas restantes divididas em três grupos de 5 limas cada foram testadas quanto à eficácia de higienização com material desinfetante diferente: apenas hipoclorito de sódio a 5%, hipoclorito de sódio a 5% seguido de água ozonizada e água ozonizada sozinha. Da amostra preparada de *C.albicans*, limas K 20 foram contaminados. Os tubos de ensaio contendo as limas foram mantidos para incubação a 37°C por dois dias. Após dois dias, tubos de ensaio contendo Caldo Sabouraud Dextrose (Sabouraud Meio Líquido) foram inoculados com o conteúdo dos tubos e incubados a 37°C durante 24-48 horas. Após 48 horas, os tubos de ensaio foram subcultivados em meio de ágar Chrome por cerca de dois dias a 37°C. A presença da colônia de cor verde no ágar Chrome indicou a presença de *C. albicans* e que determinada lima não foi esterilizada. Como resultado houve crescimento em 20% das limas expostas à água ozonizada (1 tubo); as limas endodônticas expostas à água destilada (grupo controle) apresentaram crescimento em todos os tubos de ensaio (100%), enquanto as limas expostas ao hipoclorito de sódio a 5% e ao hipoclorito de sódio a 5% seguida da exposição a água ozonizada não apresentou crescimento em nenhum tubo. Concluíram que desinfetar e expor somente à água ozonizada não leva à esterilização completa. O hipoclorito de sódio e o hipoclorito seguido de água ozonizada podem ser usados como um método alternativo.

Savitri et al. (2018) explicaram que a terapia endodôntica busca a redução dos microrganismos do sistema de canais radiculares. A instrumentação sozinha pode resultar em incompleta eliminação de micróbios, pois o sistema de canais é complexo. Avaliaram a eficácia antimicrobiana da água ozonizada (4 mg / l), solução de clorexidina a 2% e hipoclorito de sódio a 5,25% em cinco microrganismos endodônticos comuns: *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e *Kocuria rhizophila*. Os testes de difusão em poços de ágar foram utilizados como métodos para avaliar a eficácia antimicrobiana. Nesse teste, a zona máxima de inibição formada ao redor do poço em placa de ágar após a incubação dos materiais de teste contra cada microrganismo por 24h e 48h foi medida. No teste de contato direto, as colônias de *E. faecalis* formadas em placas de ágar com cada material de teste foram calculadas. O resultado obtido foi que a clorexidina a 2% apresentou a maior zona de inibição e as menores contagens de UFC, indicando sua maior

potência; já a água ozonizada mostrou a menor eficácia, com uma significativa diferença entre os dois grupos. Houve um maior número de UFC quando a água ozonizada foi utilizada contra *E. faecalis*. Os autores concluíram que: i. a solução de clorexidina a 2% é um melhor irrigante endodôntico com potência antimicrobiana máxima em comparação com 5,25% hipoclorito de sódio e água ozonizada; ii. em um determinado intervalo de tempo, 4 mg / l de água ozonizada mostraram unidades formadoras de colônias máximas indicando seu curto espaço de ação; iii. o teste de difusão em ágar e o contato direto têm desvantagens e não pode simular as condições in vivo, que podem fazer variar os resultados obtidos no presente estudo; iv. mais pesquisas são necessárias para investigar a disponibilidade de ozônio aquoso, que possui propriedades mais adequadas para tratamentos endodônticos clínicos. De acordo com os pesquisadores, métodos de teste *in vitro* são úteis na condução e avaliação da eficácia antibacteriana de vários irrigantes; outrossim, uma descrição detalhada é necessária para um procedimento padronizado, a fim de melhorar a reprodutibilidade entre diferentes pesquisadores no futuro.

### **3.1.2 Experimentos *in vitro* em dentes extraídos**

Huth et al. (2009) investigaram a eficácia antimicrobiana de ozônio gasoso e aquoso contra patógenos endodônticos específicos em biofilmes monoespécies cultivados em canais radiculares humanos dos microrganismos: *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* e *Pseudomonas aeruginosa*, por 3 semanas. O gás ozônio foi aplicado aos biofilmes em dois ambientes experimentais, semelhantes a áreas de canal difícil (configuração 1) ou fácil de alcançar (configuração 2). Como configuração 1, as fatias foram colocadas em contas de vidro na caixa de gás, onde o gás fluiu sobre o espaço do canal (parecendo áreas do canal de difícil acesso); configuração 2, as fatias foram posicionadas na vertical de modo a permitir que o fluxo do gás através do canal radicular (semelhante às partes do canal que são fáceis de alcançar). Experimentos de curso de tempo de até 10 minutos foram incluídos. Para comparar as amostras testadas, os dados foram analisados pelo teste Anova one-way. Como resultado observaram que o ozônio aquoso e gasoso teve sua ação dependente do tempo e microrganismo testado. A eliminação total foi alcançada por gás ozônio de alta concentração (configuração 2) e por NaOCl



após 1 min ou uma concentração de gás inferior ( $4 \text{ g m}^{-3}$ ) após pelo menos 2,5 min. Ozônio aquoso altamente concentrado ( $20 \text{ lg mL}^{-1}$  e CHX) eliminou quase completamente as células do biofilme, enquanto  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi menos eficaz. Concluíram que o ozônio gasoso e aquoso de alta concentração foi eficaz em função da dose, do microrganismo e do tempo contra os microrganismos testados no biofilme. No entanto, o NaOCl foi a única substância que eliminou completamente todos os tipos de microrganismos.

Hubbezoglu et al. (2013) explicam que *Candida albicans* é um dos microrganismos importantes que podem ser isolados da flora normal da boca. A resistência de *C. albicans* contra desinfetantes pode reduzir a taxa de sucesso dos tratamentos de canal radicular. Os autores investigaram a eficácia antifúngica do ozônio aquoso e gasoso em canais radiculares humanos infectados por *C. albicans*. Para tanto, foram selecionados 50 dentes pré-molares inferiores de raiz única. Os dentes foram preparados e esterilizados. *C. albicans* foram incubadas em canais radiculares e mantidas a  $37^\circ\text{C}$  por 24 horas. Os dentes foram divididos em um grupo positivo, um controle negativo e três grupos experimentais ( $n = 10$ ). Grupo 1, solução salina (controle positivo); Grupo 2, hipoclorito de sódio (NaOCl) (controle negativo); Grupo 3, ozônio aquoso com técnica manual ( $4 \text{ mg / L}$ ); Grupo 4, ozônio aquoso com técnica ultrassônica ( $4 \text{ mg / L}$ ) e Grupo 5, ozônio gasoso. Os procedimentos de desinfecção foram realizados durante 300s para garantir a padronização entre todos os grupos de trabalho. As pontas de papel, colocadas nos canais radiculares antes e após os procedimentos de desinfecção, foram transferidas em tubos Eppendorf contendo  $0,5 \text{ ml}$  de caldo BHI. Em seguida, suspensão de  $50 \mu\text{L}$  foi inoculada no ágar Sabouraud dextrose. As colônias microbianas foram contadas e os dados foram avaliados estatisticamente usando ANOVA de uma via e testes de Tukey. Foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre as atividades antifúngicas do grupo ozônio gasoso e do grupo NaOCl ( $P < 0,05$ ). Além disso, embora não tenham sido encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de ozônio aquoso (técnicas manual e ultrassônica) e o grupo NaOCl ( $P > 0,05$ ), poucos fungos foram encontrados no grupo ozônio aquoso com técnica manual. Concluíram que quando o ozônio gasoso foi utilizado isoladamente em canais radiculares, seu efeito antifúngico não foi suficiente. No

entanto, a aplicação de ozônio aquoso com técnica ultrassônica mostrou efeitos antifúngicos mais fortes do que o ozônio aquoso com técnica manual em canais radiculares.

Kaya et al. (2013) utilizaram 42 pré-molares inferiores com canais retos, com dimensões similares. Os dentes tiveram a coroa removida para obter 14 milímetros preparados com limas Profile até 40.06, utilizando irrigação com hipoclorito de sódio a 5% durante o preparo e hipoclorito de sódio associado ao EDTA para a remoção do smear layer. Após o preparo, o terço médio e apical foram sulcados com brocas diamantadas e o ápice selado com verniz de unha. Cada raiz foi autoclavada e incubada em caldo BHI por 48 horas a 37°C para assegurar a ausência de contaminação bacteriana. Uma suspensão bacteriana líquida em BHI de *Enterococcus faecalis* ajustada à escala 1 de McFarland. As raízes esterilizadas foram colocadas em tubos Eppendorf e 2 ml de suspensão bacteriana foram adicionados a cada tubo; os tubos foram incubados por 4 semanas em condições anaeróbias a 37°C. O meio era trocado a cada 2 dias para evitar saturação e confirmar o crescimento bacteriano. Após o período de incubação as raízes foram divididas em quatro grupos. Nos controles positivo e negativo, os canais foram irrigados por 2 minutos 1 mm além do comprimento de trabalho, no negativo com solução salina estéril e no positivo com hipoclorito de sódio a 5%. No grupo do ozônio foi usado um sistema de ozônio dental preso a uma cânula (Prozone; W&H Dental Werk Burmoos GmbH, Burmoos, áustria). Os canais foram preenchidos com 100 ml de solução salina estéril, com a cânula a 2mm do comprimento de trabalho. Ar enriquecido com ozônio (140 ppm, 2ml min) foi levado por 24 segundos como recomendado pelo fabricante e repetido por quatro vezes totalizando 2 minutos. No grupo LTAPP (n = 12), um artefato experimental feito de seringa dental foi usado para guiar o fluxo de gás. O jato de plasma foi obtido por descarga elétrica. LTAPP foi aplicado por 5 minutos através da agulha inserida a 1 mm do ápice. O fluxo de gás foi observado, sendo uma taxa de oxigênio e hélio de 0 2 lpm e 5 lpm, respectivamente. Foram feitas amostras do canal com pontas de papel estéreis, que foram transferidas para tubos contendo caldo BHI . Foram feitas diluições seriadas e alíquotas de 0,1 mL plaqueadas em placas de BHI e incubadas a 37°C por 24 h. As UFC foram contadas. Foram removidas amostras da dentina da parede do canal com uma

broca carbide nos terços coronário, médio e apical após as raízes terem sido seccionadas. Estas amostras foram colocadas em tubos Eppendorf estéreis contendo 1 ml de caldo BHI. O crescimento bacteriano foi contado como CFU após 24 horas. As amostragens microbianas mostraram eficácia antibacteriana de NaOCl, LTAPP, ozônio e solução salina em ordem decrescente, respectivamente ( $P < 0,05$ ). A amostragem microbiana com lascas de dentina demonstrou uma eficácia superior de LTAPP em comparação com NaOCl no terço médio ( $P < 0,05$ ), enquanto ambos tiveram efeitos semelhantes em coronal e apical terços ( $P > 0,05$ ). NaOCl e LTAPP foram melhores que o ozônio na região coronal e parte média dos canais radiculares ( $P < 0,05$ ). Esses achados sugeriram que o LTAPP, que não tem efeitos térmicos e químicos, pode ser de grande ajuda no tratamento endodôntico. Os resultados mostraram que embora os métodos utilizados no estudo não permitam avaliar a remoção do biofilme, eles demonstraram eficácia da desinfecção nas paredes dos canais radiculares e profundidade de túbulos dentinários. Concluíram que o método de amostragem dentinária permitiu a análise da eficácia dos desinfetantes em profundidade de penetração e morte de bactérias nos túbulos. O não crescimento em todas as amostras do terço médio após a aplicação LTAPP foi perceptível. Portanto, o LTAPP foi superior ao NaOCl no terço médio, enquanto ambos apresentaram efeitos semelhantes nos terços coronal e apical. LTAPP foi mais eficaz que o ozônio na eliminação de *E. faecalis* de acordo com os dois métodos de amostragem.

Noites et al. (2014) buscaram determinar se a irrigação com hipoclorito de sódio, clorexidina e ozônio gasoso, isoladamente ou em combinação, foram eficazes contra *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans* – microrganismos que são frequentemente isolados de dentes com lesões periapicais resistentes ao tratamento endodôntico. Os procedimentos realizados foram 220 dentes unirradiculares, que foram inoculados com *Candida albicans* e *Enterococcus faecalis*. As formulações testadas foram hipoclorito de sódio a 1, 3, e 5%, clorexidina a 0,2% e 2% e ozônio gasoso, aplicados por diferentes períodos de tempo. A combinação de hipoclorito de sódio a 5% e clorexidina a 2%, com ozônio gasoso, também foi avaliada. Para os tratamentos mais ativos, o mecanismo de ação foi avaliado por citometria de fluxo. Os resultados

mostraram que somente o hipoclorito de sódio, a clorexidina e o ozônio gasoso foram ineficazes para eliminar completamente os microrganismos. A associação de clorexidina a 2% seguida por ozônio gasoso por 24 segundos promoveu a eliminação completa de *Candida albicans* e *Enterococcus faecalis*. A citometria de fluxo mostra que o ozônio e a clorexidina agem de maneira diferente, o que poderia explicar sua atividade sinérgica. A conclusão foi que este novo protocolo de desinfecção, combinando irrigação com clorexidina a 2% e gás ozônio por 24 segundos, pode ser vantajoso no tratamento de canais radiculares infectados.

Melo et al. (2015) explicam que microrganismos e seus subprodutos, como LPS bacteriano (endotoxina), desempenham um papel fundamental no desenvolvimento da periodontite apical. Verificaram o efeito do gás ozônio (OZY®System) e sistemas de pulso elétrico de alta frequência (Endox® System) em canais radiculares humanos previamente contaminados com lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* (LPS). Cinquenta dentes unirradiculares tiveram suas coroas removidas e comprimentos de raiz padronizados em 16 mm. Os canais foram preparados até # 60 limas K manuais e esterilizados usando radiação gama com cobalto 60. Os espécimes foram divididos em cinco grupos a seguir (n = 10) com base no protocolo de desinfecção usado: OZY® System, um pulso de 120 segundos (OZY 1p); Sistema OZY®, quatro pulsos de 24 segundos (OZY 4p); e Endox® System (ENDOX). Canais contaminado e canais não contaminados foram expostos apenas à água apirogênica e usados como controles positivo (C +) e negativo (C-), respectivamente. LPS (O55: B55) foi administrado em todos os canais radiculares, exceto aqueles pertencentes ao grupo C-. Após realizar a desinfecção, as amostras de LPS foram coletadas dos canais usando pontas de papel apirogênico. Lisado de Amebócito de *Limulus* (LAL) foi usado para quantificar os níveis de LPS e os dados obtidos foram analisados usando ANOVA one-way. Os autores concluíram que protocolos de desinfecção usados não foram capazes de reduzir os níveis de LPS significativamente ( $p = 0,019$ ). O uso de gás ozônio e pulsos elétricos de alta frequência não foram eficazes em eliminando LPS dos canais radiculares.

Nogales et al. (2016) explicam que a ozonioterapia é proposta como coadjuvante ao tratamento endodôntico, a fim de melhorar o processo de descontaminação. Avaliaram a eficácia antimicrobiana da ozonioterapia em

dentes contaminados com biofilmes em monocultura de *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus*, utilizando um modelo de biofilme em monocultura. Cento e oitenta dentes foram contaminados com biofilmes em monocultura de *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* e divididos nos grupos: Grupo I - controle; Grupo II - protocolo padrão (instrumentação até L25 utilizando hipoclorito de sódio a 1% e irrigação final com EDTA-T); Grupo III - protocolo padrão + gás ozônio a 40 µg / mL; e Grupo IV - protocolo padrão + ozônio aquoso a 8 µg / mL. Os dentes foram imersos individualmente em 10 mL de solução de tiosulfato de sódio 0,1% e agitados. Diluições seriadas foram realizadas, seguidas de plaqueamento e incubação aeróbica durante 24 horas a 37°C. Então CFUs foram contados. Os dados foram submetidos ao teste de Kruskal Wallis e post hoc de Bonferroni para avaliar a microbiologia ( $p < 0,05\%$ ). Os resultados mostraram que não houve crescimento microbiano no grupo IV (protocolo padrão + ozônio aquoso a 8 µg/mL). Concluíram que a terapia com ozônio melhorou a descontaminação do canal radicular *ex vivo*.

Pinheiro et al. (2018) avaliaram a eficácia antimicrobiana de hipoclorito de sódio a 2,5%, clorexidina a 2%, e água ozonizada em biofilmes de *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans* e *Candida albicans* na raiz mesial de canais com curvatura severa dos molares inferiores. Sessenta canais radiculares mesiolinguais com curvatura severa dos molares inferiores foram contaminados com cepas padrão de *E. faecalis*, *S. mutans* e *C. albicans*. Os espécimes foram divididos aleatoriamente em quatro grupos ( $n = 15$ ) de acordo com a solução irrigante: SH: hipoclorito de sódio a 2,5%; CH: 2% de clorexidina; O3: água ozonizada; e controle: água bidestilada. Os canais radiculares mesiais de todos os grupos foram instrumentados com o sistema recíprocante WaveOne Gold Primary. Foram realizados três ciclos de instrumentação com três movimentos de escovação curtos dentro e fora: (1) no terço coronal, (2) no terço médio e (3) no terço apical do canal. Uma lima ProGlider foi usado antes do primeiro ciclo. A análise estatística foi realizada usando a Anova one-way e Tukey. Amostras foram coletadas para contagens bacterianas viáveis antes e após a instrumentação. Todos os grupos apresentaram redução significativa do biofilme após a irrigação ( $P < 0,01$ ). Após a instrumentação, as soluções

irrigadoras mostraram uma redução na contagem de bactérias significativa: hipoclorito de sódio (98,07%), clorexidina (98,31%) e água ozonizada (98,02%) comparadas com água destilada dupla (controle, 72,98%) ( $P < 0,01$ ). A conclusão foi de que todos os irrigantes testados neste estudo mostraram atividade antimicrobiana semelhante. Assim, a água ozonizada pode ser uma opção para redução microbiana no sistema de canais radiculares.

Silva et al. (2019) realizaram uma revisão sistemática mostrando que os microrganismos e seus subprodutos são os principais causadores de doenças perirradiculares (Kakehashi et al., 1965; Siqueira Jr & Rocas, 2007). O objetivo da pesquisa foi responder à seguinte pergunta: Com relação à redução da carga de microrganismos em pacientes submetidos ao tratamento do canal radicular, o uso da ozonioterapia é comparável com as técnicas químico-mecânicas convencionais usando hipoclorito de sódio (NaOCl)? Foi realizada uma avaliação da qualidade dos estudos laboratoriais considerando os seguintes parâmetros: (i) cálculo do tamanho da amostra, (ii) amostras com dimensões semelhantes; (iii) grupo controle, (iv) padronização de procedimentos, (v) análise estatística e (vi) outro risco de viés. Para ensaios clínicos randomizados, a avaliação qualitativa. A análise dos estudos foi realizada a partir da avaliação de risco usando a ferramenta Avaliação de risco parcial Manual Cochrane de Estudos Controlados 5.0.2. A pesquisa resultou em 180 estudos publicados. Depois de remoção de estudos duplicados e análise de texto completo, oito estudos foram selecionados e sete foram considerados de baixo risco de viés (sete estudos ex vivo e um ensaio clínico aleatório). No geral, os resultados demonstraram que a terapia com ozônio fornece significativamente menor redução de carga microbiana que NaOCl. Como coadjuvante em preparação químico-mecânica, o ozônio foi ineficaz no aumento do efeito antimicrobiano de NaOCl. O desempenho do ozônio foi fortemente associado ao protocolo de aplicação utilizado: dose, tempo bacteriano e estirpe bacteriana, além da correlação com o uso de fontes complementares de desinfecção. A conclusão foi de que, embora os estudos selecionados tenham limitações, a revisão alcançou uma metodologia satisfatória e moderada contribuindo para informações preliminares importantes em relação à terapia com ozônio. No que diz respeito à redução de carga de microrganismos para pacientes submetidos

ao tratamento do canal radicular, o ozônio não é indicado nem para substituir nem para complementar a ação antimicrobiana do NaOCl.

Kaptan et al. (2020) fizeram uma avaliação *in vitro* das doses recorrentes de medicamentos tópicos com ozônio gasoso na remoção de biofilmes de *Enterococcus faecalis* em canais radiculares. O objetivo do estudo foi avaliar o potencial efeito antibacteriano de doses recorrentes de ozônio gasoso tópico no crescimento de biofilmes de *Enterococcus faecalis* em canais radiculares humanos. Cento e trinta e quatro pré-molares inferiores unirradiculares humanos foram alargados até a lima K de tamanho 35. Cada canal radicular foi inoculado com uma cultura noturna de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 em caldo de triptcase soja por 24 horas e incubado por 7 dias a 37°C. No intervalo de 7 dias, 4 amostras foram preparadas para a digitalização. Foi feita a análise por microscopia eletrônica (MEV) para confirmar a presença e pureza dos biofilmes enquanto as outras raízes contaminadas dos canais foram irrigadas e desinfetadas. Cem canais radiculares do total de 134 espécimes foram selecionados para criar os grupos experimentais e divididos em 5 subgrupos. Em cada grupo experimental (n = 20) de canais radiculares, doses recorrentes do ozônio foram aplicadas com diferentes protocolos de irrigação e desinfecção em 5 intervalos de tempo diferentes. O crescimento bacteriano foi analisado por contagem de *E. faecalis* viável em placas de ágar tríptico de soja. De acordo com os resultados da comparação intergrupos observados na análise final da coleta, a quantidade de bactérias remanescentes no grupo controle positivo foi significativamente maior em comparação aos grupos 1, 2, 3, 4, 5 e o grupo controle de material (P <0,01). A quantidade restante de bactérias na última contagem do Grupo 1 foi significativamente maior em comparação ao Grupo 2 (P <0,05), Grupo 4 (P <0,01), Grupo 5 (P <0,05) e ao material grupo controle (P <0,01). Os autores concluíram que a aplicação de ozônio gasoso tópico em doses recorrentes proporciona um efeito positivo na remoção de biofilme de *E. faecalis* de canais radiculares. Contudo, durante o procedimento de desinfecção, o uso combinado de doses recorrentes de ozônio gasoso tópico com NaOCl a 2% aumentou seu efeito antibacteriano contra o biofilme de *E. faecalis*.

### 3.1.3 Ensaios clínicos

Zoller et al. (2006) pesquisaram sobre o aumento do sucesso da ressecção de ponta de raiz utilizando a ozonioterapia transoperatória. O objetivo do estudo foi mostrar se há um efeito sobre redução da bactéria intraóssea, redução da dor pós-operatória e os melhores resultados de cura a longo prazo verificados por controle clínico e radiológico. Um número total de 30 pacientes que tiveram a indicação de uma ressecção da ponta da raiz foi operado. Em 15 pacientes, o local cirúrgico de ressecção da ponta da raiz foi desinfetado usando OzonyTron® por 60 segundos (Mymed Company, Mylius medizinische Electronic GmbH, Alemanha); 15 pacientes tiveram uma ressecção de ponta de raiz convencional sem uma especial desinfecção. Uma triagem de bactérias foi feita antes e depois da terapia de ozônio, para mostrar o efeito de redução de bactérias. A triagem sobre a dor foi realizada um e sete dias após a operação. Também foi realizado um controle de raios-X diretamente no pós-operatório e após três meses para mostrar o sucesso da cura. Os resultados evidenciaram redução mais forte da dor, redução significativa de bactérias e boa cura controlada radiograficamente por toda a ponta da raiz tratada com ozonioterapia nos locais de ressecção comparados aos 15 pacientes do grupo controle sem ozônio durante a ressecção da ponta da raiz. Quase nenhum microrganismo foi detectado, após serem tratados com terapia de ozônio por 60 segundos. Os pesquisadores concluíram que esses resultados sugerem que a terapia com ozônio deve ser útil na redução das infecções causada por microrganismos orais, para que um aumento de sucesso no tratamento de ressecção da ponta da raiz seja obtido.

Nogales et al. (2019) apresentaram um estudo sobre o tratamento endodôntico de um caso de subluxação aplicando a ozonioterapia como adjuvante. O objetivo da pesquisa foi apresentar em um relato de caso a capacidade do ozônio em melhorar a cicatrização periapical. Durante o tratamento convencional do canal radicular, 100 mL de água ozonizada a 16 µg / mL e 100 mL de gás ozônio a 40 µg / mL foram aplicados no canal radicular; foi usado o curativo de hidróxido de cálcio. A imagem radiolúcida apical diminuiu em 40 dias. De acordo com a literatura e os dados clínicos, a ozonioterapia tem um grande potencial para ser incorporada à terapia endodôntica. Seus efeitos



bioestimuladores e potencial antimicrobiano são evidentes e corroborados pela literatura. Os resultados proporcionaram a aceleração na cicatrização da periodontite apical e neoformação óssea na área apical, sendo apresentados na sequência clínica dos exames radiográficos. Os autores concluíram que, de fato, a ozonioterapia apresenta um grande potencial para ser incorporada à terapia endodôntica. A bioestimulação e a atividade antimicrobiana são evidentes e comprovadas pela literatura. Ensaios clínicos randomizados com grande número de sujeitos são necessários para a inserção dessa modalidade terapêutica no arsenal clínico.

### **3.2 Biocompatibilidade e efeitos adversos do Ozônio**

Huth et al. (2006) investigaram se o ozônio gasoso ( $4 \cdot 10^6 \text{ lg m}^{-3}$ ) e ozônio aquoso ( $1,25 \text{ a } 20 \text{ lg ml}^{-1}$ ) exercem efeitos citotóxicos nas células epiteliais orais humanas (BHY) e células de fibroblasto gengival (HGF-1), comparados com antissépticos estabelecidos [clorexidina digluconato (CHX) 2%, 0,2%; hipoclorito de sódio (NaOCl) 5,25%, 2,25%; peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 3%], durante um período de 1 min, e compararam com o antibiótico metronidazol, por mais de 24 h. Contagem de células, atividade metabólica, ligação a Sp-1, níveis de actina, e apoptose foram avaliados. Verificou-se que o gás ozônio tem efeitos tóxicos nas células. Essencialmente, não foram observados sinais citotóxicos para o ozônio aquoso. CHX (2%, 0,2%) foi altamente tóxico para células BHY e levemente (2%) e não tóxico (0,2%) para células HGF1. NaOCl e  $\text{H}_2\text{O}_2$  resultaram em uma viabilidade celular significativamente reduzida (BHY, HGF-1), enquanto o metronidazol apresentou toxicidade leve apenas para células BHY. Portanto, o objetivo deste estudo *in vitro* foi investigar se o ozônio gasoso ou aquoso exerce efeitos tóxicos no epitélio oral gengival e humano, fibroblastos, em comparação com antissépticos estabelecidos e um antibiótico de aplicação clínica tópica (metronidazol), usando várias substâncias bioquímicas independentes das técnicas. Os procedimentos foram em células epiteliais orais humanas (BHY; DSMZ, Braunschweig, Alemanha) e fibroblastos gengivais (HGF-1; LGC Promochem, Teddington, Reino Unido), cultivados sob condições no mínimo essencial de Eagle modificado por Dulbecco médio (DMEM) (PromoCell, Heidelberg, Alemanha) contendo 7% de soro fetal de vitelo, 100 U/ml, 1 penicilina (100 lg/ml) e 1 estreptomicina (Biochrom, Berlim, Alemanha). Os

resultados, confirmados por ensaio de viabilidade celular, mostraram que os níveis de ATP em ambas as linhagens celulares diminuem significativamente após o contato com 4 (106 lg m), gás de 3 ozônio [BHY: P  $\frac{1}{4}$  0,008, IC (%): 84- (37); HGF-1: P  $\frac{1}{4}$  0,001, CI: 66- (50)]. Os autores chegaram à conclusão de que a forma aquosa de ozônio, como potencial antisséptico, mostrou menos citotoxicidade que o gás ozônio ou antimicrobianos estabelecidos na maioria das condições. Portanto, o ozônio aquoso atende às características biológicas celulares ideais em termos de biocompatibilidade para aplicação oral.

Tuncay et al. (2016) analisaram o efeito do ozônio gasoso e da desinfecção ativada pela luz na dureza superficial de selantes de canal radicular à base de resina. O estudo teve como objetivo investigar o efeito de duas novas técnicas de desinfecção na dureza superficial de selantes endodônticos à base de resina usando força atômica microscopia (AFM). Quarenta dentes centrais superiores de raiz única extraídos de humanos foram preparados e divididos em quatro grupos de acordo com o método de tratamento. O primeiro grupo foi irrigado com soro fisiológico e serviu como controle, outros grupos irrigados com sódio hipoclorito (NaClO); ozônio gasoso; e luz-desinfecção ativada (LAD). Os grupos foram divididos em dois subgrupos, de acordo com o método de obturação utilizado: subgrupo A: guta-percha e AH plus; e subgrupo B: EndoREZ / cones revestidos a resina. Como resultado, após a medição microscópica de força atômica (AFM) realizada para analisar a dureza da superfície de selantes, percebeu-se que houve uma diferença significativa entre grupo 1A e grupo 3A ( $p < 0,05$ ). O grupo 3B teve maiores valores de dureza superficial, estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ). Ao desconsiderar os seladores, o ozônio possuía dureza superficial estatisticamente maior que os demais grupos em todos os terços da raiz ( $p < 0,05$ ). Com isso, os autores concluíram que o uso de ozônio e LAD pode alterar a superfície e a dureza de selantes à base de resina. O uso do AFM pode ser considerado uma tecnologia alternativa para teste de dureza de material para vedação.

Fasoulas, Boutsoukis e Lambrianidis (2019) realizaram um estudo clínico explicando que o enfisema subcutâneo (SCE) é uma complicação pouco frequente durante o tratamento do canal radicular (Heyman & Babayof, 1995), causada pela introdução de ar sob a pele e submucosa, levando a inchaço e

crepitação (Battrum & Gutmann, 1995). A resolução desses sinais clínicos é geralmente sem intercorrências (McKenzie & Rosenberg, 2009), mas em raros casos o ar pode se dispersar ainda mais em espaços mais profundos e levar ao pneumomediastino, comprometendo as vias aéreas, ou à embolia aérea, que são potencialmente complicações fatais (Reznick & Ardary, 1990; Heyman & Babayof, 1995; Frühauf et al., 2005; McKenzie & Rosenberg, 2009). Infecção dos espaços mais profundos, danos do nervo óptico e perda de visão como resultado de SCE também foram relatados (Buckley et al., 1990; Rubinstein et al. 2015). O objetivo desse estudo foi revisar sistematicamente a literatura sobre os fatores que afetam o desenvolvimento de doenças subcutâneas enfisema durante o tratamento do canal radicular e gestão do caso. Como método, os estudos incluídos foram avaliados criticamente de acordo com uma lista personalizada de requisitos de qualidade. Os dados extraídos foram organizados em tabelas e combinados através de uma síntese narrativa. Foram recuperados 99 artigos exclusivos; destes 36 relatos de casos e 15 séries de casos descrevendo um total de 65 casos de enfisema subcutâneo foram incluídos nesta revisão. A qualidade metodológica foi média. Casos notificados de enfisema mais frequentemente envolveram mulheres e dentes superiores. Secagem do sistema de canais radiculares com ar sob pressão, inadvertidamente intrusão de peróxido de hidrogênio através do forame apical, spray de água e ar produzido por peças de mão ou dispositivos a laser e uso de gás ozônio foram as causas mais suspeitas. Como gestão dos casos, apareceram uso de antibióticos e AINEs / analgésicos, aplicação local de bolsas de gelo ou compressas e hospitalização. Os sinais e sintomas são resolvidos completamente, em geral, dentro de um a 17 dias. Os autores chegaram à conclusão de que o enfisema subcutâneo pode se desenvolver durante tratamento não cirúrgico e cirúrgico do canal radicular. Os casos relatados envolveram pacientes do sexo feminino e dentes maxilares com mais frequência. Além da secagem de canais radiculares com ar pressurizado, irrigação com peróxido de hidrogênio e o spray de água e ar produzido pelas peças de mão, spray produzido a laser e infiltração de gás ozônio foram também suspeitos de causar SCE. Sua gestão é bastante empírica e pode envolver antibióticos e analgésicos/AINEs, aplicação local de compressas de gelo ou administração de oxigênio e hospitalização. Na literatura,

não foram encontrados casos de SCE que resultaram em morte. Diretrizes devem ser desenvolvidas para evitar gerenciamento desnecessário ou intervenções potencialmente prejudiciais. Relatórios futuros devem descrever os casos em mais detalhes.

#### 4. Discussão

Qualquer substância química escolhida para ser utilizada no tratamento endodôntico deve ser baseada em estudos que comprovem sua eficácia antimicrobiana assim como sua biocompatibilidade. Sendo assim, deve atuar combatendo os microrganismos presentes no canal radicular sem agredir os tecidos periapicais, favorecendo a reparação. A ozonioterapia, utilizada com finalidade terapêutica, atua como uma terapia biooxidativa, ou seja, através do seu alto poder oxidante apresenta potente ação antimicrobiana. Segundo Bruzadelli, et al. (2002), o ozônio é capaz de produzir oxidação letal no citoplasma bacteriano, através de alterações nos ácidos graxos poli-insaturados da parede bacteriana, tornando-se microbicida, bactericida, fungicida e parasiticida. O ozônio possui também ação anti-inflamatória e analgésica, aliviando a sintomatologia, por regular o metabolismo celular favorecendo a oxigenação tecidual e, portanto, auxiliando na reparação

Uma das propostas de uso do ozônio é como substância irrigadora. A eficiência dos irrigantes costuma ser testada contra microrganismos conhecidos por sua persistência em canais radiculares, sendo resistentes aos procedimentos endodônticos convencionais e responsáveis pelo insucesso do tratamento, como *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Porphyromonas endodontalis*, *Pseudomonas aeruginosas*, entre outros (Hubbesoglu et al., 2013; Noites et al., 2014). Novos irrigantes propostos costumam ser comparados aos irrigantes de uso consagrado, que possuem efeito antimicrobiano comprovado contra os patógenos endodônticos, como o hipoclorito de sódio em diferentes concentrações e o digluconato de clorexidina a 2% (Huth et al., 2009; Kaya et al., 2013; Noites et al., 2014; Pinheiro et al., 2018; Tuncay et al., 2016).

Nos estudos *in vitro* utilizando o ozônio em exposição direta contra microrganismos em suspensão, os resultados foram conflitantes. No trabalho de Huth et al. (2009), o ozônio gasoso e aquoso foram testados contra suspensões ( $3 \times 10^8$  UFC/mL) de cepas padrão de *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* e *Peptostreptococcus micros*; observaram que somente o ozônio aquoso a  $5 \mu\text{g mL}^{-1}$  e o ozônio gasoso a  $1 \text{ gm}^{-3}$  aplicados por um minuto tiveram efeito

semelhante ao hipoclorito de sódio a 2,5% ao não permitir crescimento microbiano dos microrganismos em suspensão. O trabalho de Nogales et al. (2014) traz resultados semelhantes, ao expor suspensões bacterianas ao ozônio aquoso. Também utilizaram suspensões ( $4,46 \times 10^8$ ) de cepas padrão de *Pseudomonas aeruginosas*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*, observando uma maior resistência deste último microrganismo, sendo que apenas na concentração de  $8\mu\text{g}/\text{mL}$  de ozônio aquoso não houve crescimento de nenhum dos microrganismos testados. Ghareeb et al. (2015) também testaram a água ozonizada na concentração de 0,5 ppm em exposição direta a limas contaminadas com uma suspensão de *Candida albicans* ( $1,5 \times 10^8$ ) por 5 minutos e conseguiram a descontaminação de apenas 80% das limas expostas à água ozonizada, em comparação ao hipoclorito de sódio e ao hipoclorito de sódio associado à água ozonizada, que atingiram 100% de descontaminação. Savitri et al (2018) também realizaram testes que colocam o microrganismo em contato direto com as substâncias testadas: teste de difusão em ágar e teste de contato direto. No teste de difusão, utilizaram placas contendo os microrganismos *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e *Kocuria rhizophila* ( $1,5 \times 10^8 \text{UFC}/\text{mL}$ ); nas placas foram feitas perfurações (poços), depois preenchidas com as substâncias a serem testadas: hipoclorito de sódio a 5,25%, clorexidina a 2% e água ozonizada (4mg/l); os halos foram medidos após 24 e 48 horas. Neste teste, o melhor resultado foi obtido pela clorexidina, seguida pelo hipoclorito de sódio e então água ozonizada, o que os autores atribuem à substantividade da clorexidina e à deterioração rápida do ozônio em contato com meios orgânicos, como o meio de cultura. Assim como no teste de contato direto, a água ozonizada obteve o pior resultado a partir de 30 minutos, tendo tido um aumento expressivo do número de UFC, o que justifica o argumento de que o ozônio tem uma rápida deterioração enquanto hipoclorito de sódio e clorexidina mantêm a ação antimicrobiana durante todo o período do experimento demonstrando ação semelhante; já a água ozonizada tem resultado superior nos tempos de 2 e 10 minutos e igual à clorexidina no tempo de 20 minutos. É importante, entretanto, apoiar-se na argumentação destes últimos autores para pontuar que apesar dos métodos como o de difusão em ágar serem utilizados regularmente em vários

estudos, muitos fatores além da atividade antimicrobiana dos materiais testados podem influenciar no resultado do teste e por isso a extrapolação dos resultados utilizando essa metodologia para a clínica deve sempre ser feita com cautela.

Noites et al. (2014) utilizaram a contaminação dos dentes com suspensão de 24 horas de *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans* após o preparo dos canais, que foi mantida por três dias, antes da realização do experimento, tempo insuficiente para se estabelecer um biofilme. Os canais de 220 dentes foram irrigados com 10 ml de NaOCl a 1, 3, e 5%, CHX a 0,2% e 2% e ozônio gasoso por 24, 60, 120 e 180 segundos e a associação de NaOCl e CHX. Observaram que mesmo na maior concentração o hipoclorito não teve ação sobre o *E.faecalis* e a 5% teve uma maior ação sobre *C.albicans*, mas não suficiente para eliminá-la, tendo a clorexidina resultado semelhante na concentração de 2%. O ozônio no tempo de 180s teve uma melhor ação que o NaOCl e CHX, mas não suficiente para eliminar os microrganismos. A associação do NaOCl e ozônio não demonstrou melhora na ação antimicrobiana das substâncias isoladas, mesmo no tempo de 180 segundos, entretanto a associação da CHX com o ozônio no tempo de 24s eliminou totalmente os microrganismos. Contrariando os resultados obtidos por Noites et al (2014), o trabalho de Kaptan et al. (2020) observou um melhor resultado em biofilmes estabelecidos de *Enterococcus faecalis* ( $1,5 \times 10^8$ ). Doses recorrentes de ozônio gasoso ao longo de 19 dias associadas ao hipoclorito de sódio a 2% por 2 minutos eliminou totalmente o biofilme de *E. faecalis* dos canais radiculares. Concluíram que este resultado sugere a possibilidade de reduzir o efeito tóxico do NaOCl pela combinação de suas concentrações mais baixas com ozônio gasoso em doses recorrentes e que a desvantagem seria o aumento do número de sessões.

Em testes de substâncias antissépticas contra microrganismos estabelecidos em biofilmes, os resultados são diferentes, apresentando os microrganismos maior resistência aos antissépticos, como era de se esperar. Huth et al. (2009) testaram biofilmes em monoculturas de *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* e *Pseudomonas aeruginosas* colonizando o canal radicular de dentes extraídos e observaram que mesmo em grandes concentrações os ozônios aquoso ( $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e gasoso ( $53 \text{ gm}^{-3}$ ) não foram eficazes em eliminar

os microrganismos das três espécies, no tempo de um minuto, necessitando aumentar o tempo de exposição, enquanto que apenas o NaOCL a 2,5% conseguiu eliminar os microrganismos em 1 minuto. O trabalho de Nogales et al. (2016) utilizando exatamente as mesmas cepas e realizando as amostras de contaminação; ao final do preparo executado com um sistema rotatório, os autores observaram que a associação das substâncias químicas convencionais (hipoclorito de sódio a 1% e EDTA) seguida da irrigação com ozônio gasoso (8µg/ml) por 30 segundos foi o único protocolo que resultou um grupo sem crescimento bacteriano. Já Waliszewski et al. (2011), testando o ozônio aquoso e gasoso contra biofilmes de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, observaram uma redução na contagem de células viáveis de *Staphylococcus aureus* após exposições muito breves (30 segundos) ao ozônio aquoso na concentração de 3.6 µg/mL. Já algumas populações de células das cepas de *P. aeruginosa* investigadas exibiram tolerância à ação da água ozonizada. O ozônio gasoso, mesmo em tempos de 20 e 40 minutos, foi eficaz em eliminar estes biofilmes, o que os autores classificaram como atividade antimicrobiana fraca. Deve-se considerar que os microrganismos utilizados foram coletados em órgãos que tinham infecções resistentes e não microrganismos padrão. Já no trabalho de Pinheiro et al. (2018), as substâncias hipoclorito de sódio a 2,5%, clorexidina a 2%, e água ozonizada foram testadas como irrigantes em biofilmes de *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans* e *Candida albicans*, na raiz mesial de canais com curvatura severa dos molares inferiores. Os canais foram instrumentados com o sistema reciprocante Wave One Gold por terços. Foram coletadas amostras após 21 dias da contaminação e após a instrumentação. Observaram em todos os grupos uma redução significativa nas contagens de bactérias após a instrumentação: hipoclorito de sódio (98,07%), clorexidina (98,31%) e água ozonizada (98,02%) comparadas com água bidestilada e sem diferença estatística significativa entre os grupos. Concluíram que a água ozonizada se mostrou eficaz, podendo ser uma opção de irrigante eficaz na redução microbiana do sistema de canais radiculares. Já Hubbezoglu et al. (2013) também utilizaram o ozônio aquoso e gasoso após a instrumentação, como irrigante em canais de pré-molares inferiores humanos inoculados com *C. albicans* ( $1,5 \times 10^4$ ) após o preparo. A irrigação foi realizada



por 300 segundos. O ozônio gasoso sozinho não teve efeito antifúngico suficiente. No entanto, a aplicação de ozônio aquoso com técnica ultrassônica mostrou efeitos antifúngicos mais fortes do que o ozônio aquoso com técnica manual. De acordo com os resultados do estudo atual, o ozônio gasoso pode ser usado para desinfecção de canais radiculares infectados, mas sozinho não promove eliminação total dos microrganismos, enquanto que o ozônio aquoso combinado com a técnica ultrassônica é altamente eficaz em termos de desinfecção do canal radicular, podendo ser usado como uma opção ao hipoclorito de sódio. Já Kaya et al. (2013) contaminaram dentes criando biofilmes de *Enterococcus faecalis* ( $3 \times 10^8$ ) após o preparo do canal. Realizaram a irrigação com hipoclorito de sódio (NaOCl) a 5% como controle positivo por 2 minutos, ozônio a 140 ppm (2mL/min) por 2 min (24s x 4) e jato de plasma em baixa pressão atmosférica (LAPP) por 5 min, realizando amostras do canal com cones de papel antes e após o procedimento, e também removendo lascas de dentina nos três terços. Observaram que nas amostras da luz do canal (cone de papel) o hipoclorito teve menor crescimento, seguido pelo jato de plasma e então o ozônio. Já nas amostras das lascas de dentina, que demonstram a desinfecção em profundidade, houve maior crescimento em todos os grupos comparado ao cone de papel, sendo que o NaOCl permitiu um menor crescimento que o LAPP, exceto no terço médio, e ambos permitiram menor crescimento que o ozônio nos terços coronário e médio e igual no terço apical (zona crítica). Concluíram que a amostragem da dentina permite avaliar a desinfecção em profundidade e eliminação das bactérias dos túbulos, tendo o LTAPP superior ao NaOCl no terço médio, enquanto ambos tiveram efeitos semelhantes nos terços coronário e apical. O LTAPP foi mais eficaz do que o ozônio na eliminação de *E. faecalis* de acordo com ambos os métodos de amostragem. Sugerem que o ozônio tenha um efeito mais superficial.

O LPS é liberado durante a multiplicação ou morte de bactérias gram-negativas e está associado a muitos efeitos biológicos, como a liberação de mediadores inflamatórios e indução de reabsorção óssea periapical. Essas toxinas podem aderir aos tecidos mineralizados e se difundir pelos túbulos dentinários, dificultando a descontaminação do canal radicular e perpetuando as lesões periapicais. Assim é importante que as substâncias químicas utilizadas

intracanal possam neutralizá-la. Melo et al. (2015) confirmaram que o uso de gás ozônio utilizado por 120 segundos e por 24s em quatro aplicações e pulsos elétricos de alta frequência não foi eficaz na eliminação do LPS nos canais radiculares, ao realizar um experimento em que estes recursos foram utilizados em dentes extraídos após o preparo do canal e contaminados com lipopolissacarídeo de *Escherichia coli*.

No ensaio clínico realizado por Zoller et al. (2006), em que foi utilizado o ozônio para a desinfecção do remanescente radicular após ressecção da ponta da raiz na cirurgia paraendodôntica utilizando um gerador de ozônio por 60 segundos, observaram uma redução significativa na contagem de microrganismos após a aplicação do ozônio comparado ao grupo sem o ozônio. Além disso, houve perceptível redução da dor no pós-operatório e reparação óssea mais evidente após três meses. Nogales et al. (2019) também relatam um caso clínico de subluxação seguida de necrose e extensa lesão apical em que foi utilizada a ozonioterapia como adjuvante. Durante o tratamento convencional do canal radicular, 100 mL de água ozonizada a 16 µg/mL e 100 mL de gás ozônio a 40 µg/mL foram aplicados no canal radicular; foi utilizado curativo de hidróxido de cálcio. Observaram a diminuição da imagem radiolúcida apical em 40 dias e concluíram que a ozonioterapia tem um grande potencial para ser incorporada à terapia endodôntica, pois seus efeitos bioestimuladores e potencial antimicrobiano são evidentes e corroborados pela literatura, proporcionando a aceleração na cicatrização da periodontite apical e neoformação óssea na área apical, conforme apresentado na sequência clínica dos exames radiográficos.

Silva et al. (2019) em sua revisão sistemática encontraram entraves semelhantes aos aqui expostos, que incluem variedades no tamanho da amostra, grupos controle utilizados, protocolos, microrganismos e metodologia para se estabelecer a redução microbiana. De 180 trabalhos, foram selecionados apenas oito estudos e sete foram considerados de baixo risco de viés (sete estudos ex vivo e um ensaio clínico aleatório). Os trabalhos analisados apresentaram evidências moderadas para fornecer informações preliminares importantes sobre a terapia com ozônio. Observaram que na redução da carga microbiana para pacientes submetidos ao tratamento do canal, a terapia com

ozônio demonstrou resultados inferiores quando comparada com as técnicas convencionais de preparo utilizando hipoclorito de sódio; como adjunto durante o preparo do canal, o uso do ozônio foi ineficaz em aumentar o efeito antimicrobiano do NaOCl. Concluíram que o ozônio não é indicado para substituir nem para complementar a ação antimicrobiana do NaOCl e que a terapia com ozônio forneceu significativamente menos redução de carga microbiana que NaOCl.

Quanto à biocompatibilidade do ozônio, Huth et al. (2006) analisaram os efeitos citotóxicos do ozônio gasoso ( $4 \cdot 10^6$  lg ml<sup>3</sup>) e ozônio aquoso (1,25 a 20 lg ml<sup>1</sup>) sobre as células epiteliais orais humanas (BHY) e células de fibroblasto gengival (HGF-1), comparados com antissépticos estabelecidos [clorexidina digluconato (CHX) 2%, 0,2%; hipoclorito de sódio (NaOCl) 5,25%, 2,25%; peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 3%], durante um período de 1 min, e comparado com o antibiótico metronidazol, por mais de 24 h. Concluíram que o gás ozônio tem efeitos tóxicos para as células avaliadas, enquanto o ozônio aquoso não apresentou sinais citotóxicos. A CHX (2%, 0,2%) foi altamente tóxica para células BHY e levemente (2%) e não tóxica (0,2%) para células HGF 1. NaOCl e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> resultaram em uma viabilidade celular significativamente reduzida (BY, IGF-1), enquanto o metronidazol apresentou toxicidade leve apenas para células BHY. A forma aquosa de ozônio, como potencial antisséptico, mostrou menos citotoxicidade que o gás ozônio ou antimicrobianos estabelecidos na maioria das condições. Portanto, o ozônio aquoso atende às características biológicas celulares ideais em termos de biocompatibilidade para aplicação oral. Já no experimento de Nogales et al. (2016), os autores observaram que o ozônio aquoso era tóxico para fibroblastos gengivais no primeiro contato, mas a viabilidade celular foi recuperada. Grupos III (ozônio aquoso a 5 µg/mL) e IV (ozônio aquoso a 8 µg/mL) são os mais agressivos, proporcionando uma diminuição na viabilidade celular na hora 0 de 100% para 77,3% e 68,6%, respectivamente. Essa diminuição da viabilidade celular foi revertida após 72 horas.

A revisão sistemática apresentada por Fasoulas, Boutsoukis e Lambrianidis (2019) aponta o uso do ozônio como potencial causador de enfisema subcutâneo quando utilizado intracanal. Os casos relatados

envolveram pacientes do sexo feminino e os maxilares, entretanto os relatos são bastante antigos, de 1967 e 1975, o que pode estar associado com a maneira pela qual o ozônio gasoso era então utilizado.

No estudo de Tuncay et al. (2016), em que analisaram o efeito do ozônio gasoso e da desinfecção ativada pela luz na dureza superficial dos cimentos resinosos endodônticos, os pesquisadores observaram que houve uma diferença significativa entre grupo 1A e grupo 3A ( $p < 0,05$ ). O grupo 3B teve maiores valores de dureza superficial, os quais foram estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ). Desconsiderando os cimentos, o ozônio possui dureza superficial estatisticamente maior que os demais grupos em todos os terços da raiz ( $p < 0,05$ ). O ozônio fornece a mais forte oxidação entre os métodos de desinfecção, e isso pode deixar mais espesso os cimentos, sobretudo o EndoREZ, bem como permitir uma melhor polimerização do cimento, resultando em um aumento da dureza superficial do cimento, que pode resultar em dentes tratados endodonticamente com um aumento da resistência à fratura.

## 5. Conclusões

Dentro das limitações desta revisão de literatura pode-se concluir que:

1. A água ozonizada usada isoladamente como substância irrigadora não é eficaz, devido ao ozônio sofrer uma rápida deterioração; sendo assim, quando associada ao hipoclorito de sódio, à clorexidina e à agitação ultrassônica torna-se mais efetiva na descontaminação dos canais.
2. A concentração mais eficaz de ozônio aquoso contra microrganismos persistentes no canal radicular é de 8 mg/ mL.
3. O ozônio gasoso quando associado ao hipoclorito de sódio permite que se utilizem concentrações mais biocompatíveis deste último; entretanto, requer um maior número de sessões clínicas para a aplicação do ozônio contra *E.faecalis*.
4. O ozônio aquoso possui uma menor toxicidade que o ozônio gasoso, tendo uma melhor biocompatibilidade que outros antissépticos de uso comum em Endodontia.
5. O ozônio possui uma ação secundária de aumento de dureza superficial do cimento endodôntico; ao deixar o cimento mais espesso, permitindo uma melhor polimerização, aumenta assim a resistência à fratura dos dentes tratados endodonticamente.
6. O ozônio pode ser coadjuvante no tratamento endodôntico devido aos seus efeitos bioestimuladores e potencial antimicrobiano, entretanto mais estudos para o esclarecimento de concentrações e períodos de administração do ozônio ainda são necessários, como proposta de terapias biologicamente eficazes.

## REFERÊNCIAS

- Bruzadelli, M.S.; Cardoso, C.C.; Mayrink, A.S.; Demartini, G.; Frascini, F. Mandible-ozone therapy for osteomyelitis: literature review and case report *Int. J. Drugs Ther*, v.29, n.1/2, p.77-81, 2002.
- Zoller EJ et al. University to Cologne, Dept, for Cranio-maxilo-facial and Plastic Sugery, Cologne, Germany; 2006.
- Huth CK. et al. Effectiveness of ozone against endodontopathogenic microorganisms in a root canal biofilm model. *International Endodontic Journal.*; 2009. 42, 3-13.
- Bialoszewski D et al. Activity of ozonated water and ozone against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *Med Sci Monit*; 2011. 17(11): BR339-344
- Nogales GC, et al. Comparison of the antimicrobial activity of three different concentrations of aqueous ozone on *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Enterococcus faecalis* – in vitro study. *Revista Española de Ozonoterapia*; 2014. v. 4. no 1, p. 9-15.
- Ghareeb A et al. Evaluation of the antimicrobial effects of ozonated water on the sanitization of endodontic files contaminated with *C. Albicans*. *Sulaimani Dental Journal* ©; 2015. 2(2):72-76.
- Savitri D et al. Efficacy of Ozonated Water, 2% Chlorhexidine and 5.25% Sodium Hypochlorite on Five Microorganisms of Endodontic Infection: In vitro Study. *Advances in Human Biology*; 2018. v.8, Issue 1, January-April.
- Hubbezoglu I et al. Antifungal Efficacy of Aqueous and Gaseous Ozone in Root Canals Infected by *Candida albicans*. *Jundishapur Journal of Microbiology*; 2013. July, 6(5): e8150.
- Kaya UB et al. Efficacy of endodontic applications of ozone and low temperature atmospheric pressure plasma on root canals infected with *Enterococcus faecalis*, *Letters in Applied Microbiology*. The Society for Applied Microbiology; 2013. 58, 8-15.
- Noites R et al. Synergistic Antimicrobial Action of Chlorhexidine and Ozone in Endodontic Treatment, *BioMed Research International*; 2014.
- Melo FAT et al. LPS levels in root canals after the use of ozone gas and high frequency electrical pulses. *Braz Oral Res* [online]; 2016. 30: e19.
- Tuncay O et al. Effect of Gaseous Ozone and Light-Activated Disinfection on the Surface Hardness of Resin-Based Root Canal Sealers, *SCANNING*; 2016. 38, 141–147.
- Nogales GC et al. Ozone therapy as an adjuvant for endodontic protocols: microbiological – ex vivo study and cytotoxicity analyses. *J Appl Oral Sci*; 2016. 24(6): 607-13.

Pinheiro LS et al. Antimicrobial efficacy of 2.5% sodium hypochlorite, 2% chlorhexidine, and ozonated water as irrigants in mesiobuccal root canals with severe curvature of mandibular molars. *European Journal of Dentistry*; 2018. v.12, Issue 1, jan.-mar.

Nogales GC, et al. Ozone therapy: adjuvant to endodontic treatment in a subluxation case – case report. *Ozone Therapy Global Journal*; 2019. v. 9, no 1, p. 161-169.

Fasoulas A, Boutsoukis C & Lambrianidis T. *International Endodontic Journal*; 2019. 52, 1586–1604.

Silva EJNL et al. The effect of ozone therapy in root canal disinfection: a systematic review. *International Endodontic Journal*; 2020. 53, 317–332.

Kaptan F et al. In vitro assessment of the recurrent doses of topical gaseous ozone in the removal of *Enterococcus faecalis* biofilms in root canals. *Nigerian Journal of Clinical Practice*; 2020. April 7.

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial desta obra por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citadas as fontes.

Anna Júlia Pimentel Pereira

Monique Baldim Arantes