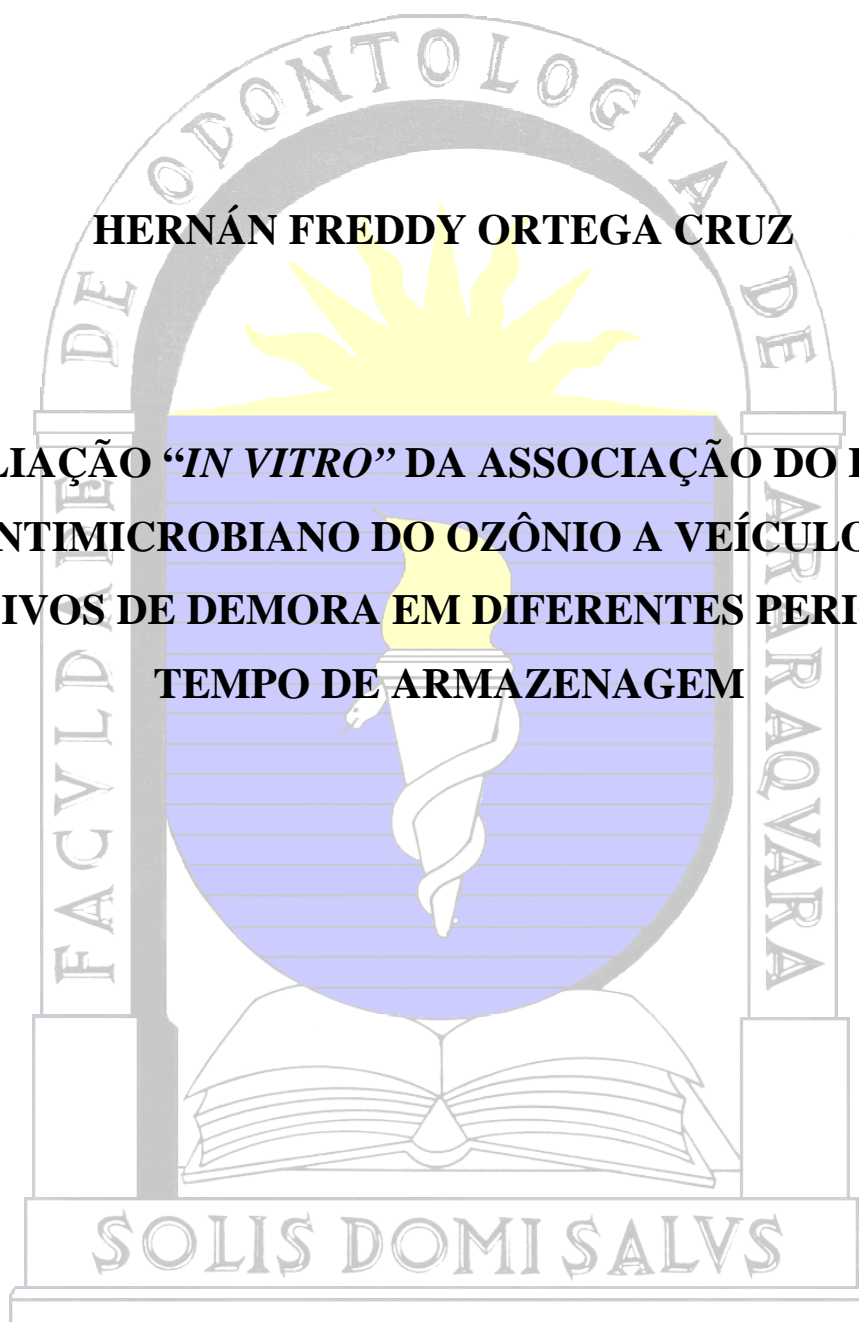




UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA – UNESP

HERNÁN FREDDY ORTEGA CRUZ

**AVALIAÇÃO “*IN VITRO*” DA ASSOCIAÇÃO DO EFEITO
ANTIMICROBIANO DO OZÔNIO A VEÍCULOS E
CURATIVOS DE DEMORA EM DIFERENTES PERIODOS DE
TEMPO DE ARMAZENAGEM**



**ARARAQUARA
2006**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA – UNESP

HERNÁN FREDDY ORTEGA CRUZ

**AVALIAÇÃO “*IN VITRO*” DA ASSOCIAÇÃO DO EFEITO
ANTIMICROBIANO DO OZÔNIO A VEÍCULOS E
CURATIVOS DE DEMORA EM DIFERENTES PERIODOS DE
TEMPO DE ARMAZENAGEM**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação, da Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” para a obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas – Área de Endodontia.

Orientador: **Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho**

Co-Orientador: **Prof. Dr. Antonio Carlos Pizzolitto**

**ARARAQUARA
2006**

Ortega Cruz, Hernán Freddy

Avaliação *in vitro* da associação do efeito antimicrobiano do ozônio associado a veículos e curativos de demora em diferentes períodos de tempo de armazenagem / Hernan Freddy Ortega Cruz. – Araraquara: [s.n.], 2006.

103 f. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho

Co-orientador: Antonio Carlos Pizzolitto

1. Ozônio 2. Desinfecção 3. Cavidade da polpa dentária – Microbiologia I. Título.

DADOS CURRICULARES

Hernán Freddy Ortega Cruz

NASCIMENTO	21 de Março de 1961 Puno – Peru
FILIAÇÃO	Juan Celedonio Ortega Reyes Mercedes Cruz Saravia
1979/1987	Curso de Graduação em Odontologia Faculdade de Odontologia da Universidade Católica “Santa Maria” Arequipa – Peru
1998/2003	Professor titular de Operatória Dental da Careira Profissional de Odontologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Nacional do Altiplano Puno – Peru.
2002	Curso de Atualização em Endodontia Arequipa - Peru
2004/2005	Curso de Pós-graduação em Endodontia, nível de Mestrado Faculdade de Odontologia de Araraquara - Unesp.

DEDICATÓRIA

Aos meus filhos, Gabriela e Rodrigo.

Que são a razão da minha vida. Apesar da distância, sempre estiveram, estão e estarão comigo, e o sacrifício do abandono destes períodos de tempo se verão recompensados com o fruto deste trabalho de pesquisa.

Só Deus sabe quanto amo vocês!

Aos meus pais Juan e Mercedes

Que além de me dar a vida, ensinaram-me a diferença entre o bem e o mal, o melhor e o pior, que as coisas que se obtêm com sacrifício, honestidade e amor são as que mais satisfação dá para nós. Obrigado por suas orações, eu sei que Deus os ouviu e cuidou-me por vocês.

Uma vez mais adorados pais, eu consegui!

A minha "Mamá Panchita"

Por que em toda minha vida sofri quando eu sofri, sorri quando eu fui feliz e todo este tempo de ausência encheu o esvazio que eu deixo em casa.

Obrigado Deus por me abençoar com mais uma mãe!

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Eternamente grato!

A quem fez possível a presente pesquisa

**Ao meu orientador Prof. Dr. Idomeo Bonetti
Filho**

Por sua constante presença como orientador, por me brindar todos seus conhecimentos sem egoísmo, os que contribuíram em grande forma na minha formação como mestre e o mais importante, por ser mais que mestre um amigo, em quem se pode confiar. Fica a promessa de chegar até o final da pesquisa.

**Ao meu co-orientador, Prof. Antonio Carlos
Pizzolitto**

Por sua grande colaboração para a execução do presente trabalho de pesquisa que com seus sábios conhecimentos, experiência, e paciência no Laboratório de Microbiologia Clínica da Faculdade de Farmácia de Araraquara - UNESP fez possível a conclusão da presente pesquisa.

Ao meu irmão Dr. Rolando Ortega Cruz

Que além de ser um grande exemplo a seguir na família, é um dos pioneiros da ozonoterapia do Perú, foi quem deu para mi o conceito inicial e o gerador de ozônio.

À Maria do Carmo Dória Martins

Quem com sua grande habilidade e experiência no Laboratório de Microbiologia Clínica da Faculdade de Farmácia de Araraquara - UNESP facilitou a execução da presente pesquisa.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Aos meus Professores quem fez possível mia formatura de mestre.

Prof. Dr. Mário Roberto Leonardo

Prof. Dr. Fabio Luiz Camargo Vilella Berbert

Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho

Prof. Dr. Mário Tanomaru Filho

Prof. Dr. Roberto Miranda Esberard

Prof. Dr. Renato de Toledo Leonardo

Prof. Dr. Carlos Benatti

Prof^a Dr^a. Isabel Yoko Ito

Prof^a. Dr^a. Lizete Toledo de Oliveira Ramalho

Prof. Dr. Marcelo Gonçalves

Tive a honra de ser aluno de tão prestigiosa plaina docente, quem verteu seus conhecimentos em mim, cada um com sua forma particular de ser e um comum denominador, muita sabedoria, desprendimento e o melhor de tudo, sua amizade.

Obrigado, eternamente obrigado!

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Aos todos meus irmãos **Flora, Tomas, Rolando, Yeny, Rogelio Geovanna** e suas famílias por seu permanente apoio moral.

Aos todos meus colegas da **Carreira Profissional de Odontologia da UNA - Puno - Peru**, em especial a **Marco, Jorge, Tânia e Mirelia** que tomaram conta da minha carga acadêmica.

À **Angy** por seu ensino, amizade e carinho.

Ao meu amigo **Victor** por ser quase um irmão.

Aos **colegas da turma de mestrado** e doutorado por sua compreensão, colaboração e amizade.

Aos todos os **funcionários e administrativos da Faculdade de Odontologia de Araraquara**.

Deus abençoe bocéis!

OBRIGADO!

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

À Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP, nas
pessoas da **Diretora Prof^a. Dr^a. Rosemary Adriana
Chiéreci Marcantonio** e **Vice Diretor Prof. Dr. José
Cláudio Martins Segalla**. Por me haver acolhido em tão
renomada casa de estudos.

À **Universidade Nacional do Altiplano Puno - Perú**. Nas
pessoas de **Reitor Dr. Juan Astorga Neira** e **Vice
Reitor Dr. Fernando Cáveda Diaz**. Por me haver
concedido a licença para realizar este curso de
mestrado.

Por sempre, Obrigado!

Obrigado
Brasil!

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1 Microbiologia na Endodontia.....	19
2.2 Controle das infecções endodônticas.....	22
2.3 Medicação intracanal.....	30
2.4 Hidróxido de Cálcio.....	34
2.5 Ozônio.....	44
3 PROPOSIÇÃO.....	51
4 MATERIAL E MÉTODO.....	53
4.1 Obtenção e preparação da amostra.....	54
4.2 Substâncias controle negativo.....	56
4.3 Indicadores.....	58
4.4 Meio de cultura.....	59
4.5 Avaliação.....	60
4.5.1 Avaliação da amostra.....	60
4.5.2 Avaliação da Estatística.....	60
5 RESULTADO.....	62

6 DISCUSSÃO	72
6.1 Da metodologia.....	73
6.2 Escolha das bactérias indicadoras.....	75
6.3 Escolha das amostras das substâncias avaliadas e resultados.....	76
7 CONCLUSÃO	79
8 REFERÊNCIAS	81
9 ANEXO	97
Anexo 1 – Leitura dos halos dos de inibição.....	98
Anexo 2 – Media dos halos de inibição.....	99
Anexo 3 – Reações do PMCC com ozônio.....	101
10 RESUMO	102
11 ABSTRACT	103

1 INTRODUÇÃO

Existem controvérsias quanto à eficiência das técnicas de limpeza e modelagem empregadas em Endodontia, como também sobre os materiais e técnicas empregados para a obturação dos canais radiculares. Mas há um fato indiscutível, que sem a invasão bacteriana da polpa e dos tecidos periapicais associados, não seria necessário nenhum tratamento endodôntico.¹¹²

Dentre as fases operatórias do tratamento endodôntico radical, o preparo biomecânico é considerado uma das mais importantes no combate aos microrganismos do sistema de canais radiculares, fazendo com que, para alguns, o tratamento de canal radicular em uma única sessão, seja um procedimento de rotina. Seguindo esse raciocínio Landers e Calhoun,⁵⁵ 1980; Oliet,⁷⁵ 1983, indicam o tratamento endodôntico em uma única sessão, visando no preparo biomecânico, coadjuvado por soluções irrigadoras bactericidas e obturação, o caminho para o sucesso após tratamento. Hipoteticamente, de acordo com esses autores, as bactérias viáveis no momento da obturação, estariam predestinadas a morrer, não levando o tratamento endodôntico ao fracasso devido ao fato de o material obturador as isolar no interior dos túbulos dentinários, não possibilitando que atinjam os tecidos periapicais por não aumentarem em número.⁹⁴ Entretanto, os trabalhos de Silveira,⁸¹ 1997; Soares,⁹⁵ 1999 e Bonetti Filho,¹⁶ 2000 demonstraram que, as bactérias localizadas no interior dos túbulos dentinários ao nível do terço apical do canal radicular, em casos de dentes com lesão periapical crônica, conseguem atingir os tecidos periapicais através dos túbulos dentinários e cementócitos, uma vez que, sendo o cimento apical de natureza celular irá permitir essa difusão bacteriana. Ainda, nos casos de retratamento, foram encontradas bactérias nos canais radiculares, em quantidades e tipos diferentes das encontradas anteriormente.

Assim, considerando-se que as bactérias e seus produtos não são freqüentemente atingidos pela ação do preparo biomecânico, especialmente aquelas localizadas nos túbulos dentinários, ramificações apicais, áreas de reabsorção e, mesmo aquelas situadas no biofilme apical, o uso de um curativo de demora antibacteriano é recomendado para a completa desinfecção do sistema de canais radiculares de dentes com lesão periapical crônica.⁵⁶

Trope et al.,¹⁰⁹ em 1999 e Bonetti Filho,¹⁶ em 2000 realizaram trabalhos para avaliar por meio de radiografias, a reparação de dentes com reação periapical, tratados em uma ou duas sessões, obtendo 64% e 75%, e 66% e 97% de sucesso respectivamente, sendo considerada neste último uma diferença significativa.

Assim, o controle da infecção antes da obturação deve ser indicado, realizando-se o tratamento endodôntico no mínimo em duas sessões, colocando-se no canal radicular um curativo de demora com a finalidade de combater não somente a infecção remanescente no canal radicular, mas principalmente, aquela situada profunda e difusamente pela estrutura interna do dente, áreas inacessíveis ao preparo biomecânico, e aos antibióticos administrados sistemicamente.^{1,57,78}

Após os trabalhos de Sundqvist,¹⁰¹ 1976; Keudell et al.,⁵³ 1976; Fabricius et al.,³³ 1982; Sundqvist et al.,¹⁰⁴ 1989; Sundqvist,¹⁰² 1992 e Assed,⁷ 1993 foi comprovado que a microbiota do sistema de canais radiculares de dentes portadores de lesão periapical é predominantemente constituída por bactérias anaeróbias, podendo apresentar infecção extraradicular, próximo ao forame apical, nas áreas de reabsorções cementárias inacessíveis aos instrumentos endodônticos.

Diante deste fato, os pesquisadores estão em busca de um produto que se difunda para todo o sistema de canais radiculares, agindo à distância, destruindo os microrganismos aeróbios e anaeróbios ou deixando o meio impróprio ao seu desenvolvimento e, que tenha propriedades biológicas.

O hidróxido de cálcio tem sido o produto mais recomendado pelos autores,^{56,64,106} para o preenchimento do canal radicular como curativo de demora, em virtude das múltiplas propriedades que apresenta.

Leonardo et al.,⁵⁸ 1976 e Holland et al.,⁴⁷ 1979, visando melhorar as condições de uso do hidróxido de cálcio, associaram ao mesmo, algumas substâncias com o objetivo de conseguir maior radiopacidade, melhor viscosidade, solubilidade, etc.. Embora o hidróxido de cálcio possua uma potente ação antibacteriana, esse material não é efetivo sobre todas as formas de bactérias presentes no canal radicular.²² Ele é efetivo sobre os microrganismos anaeróbios^{31,38,40,62} e pouco eficaz contra determinadas espécies.^{20,76,92}

Todavia, existe um grande interesse científico permanente de se buscar substâncias mais eficazes, com ação bactericida mais potente, rápida e de melhor comportamento biológico com os tecidos perirradiculares.

Siqueira Jr. et al.⁹⁰ 2000 avaliaram a atividade antibacteriana de um novo medicamento, o óleo de girassol ozonizado com o hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado (PMCC)/glicerina ou ao tricresol formalina/glicerina contra bactérias comumente envolvidas na etiopatogenia das doenças perirradiculares. A metodologia empregada foi o teste de difusão em ágar. A maior eficácia de atividade antibacteriana foi observada para o óleo ozonizado.

O ozônio (O₃) é um gás que na atualidade está ganhando grande preferência em sua utilização no campo da medicina e odontologia por seu poder bacteriostático, bactericida, fungicida, virucida e outras múltiplas utilidades.

O ozônio é uma forma alotrópica do oxigênio, muito instável, formada pela adição de um terceiro átomo à molécula de oxigênio (O₂), que a torna muito mais ativa do ponto de vista bioxidativo na sua ação biológica. Foi descoberto em 1840 por Schönbein pela observação de um odor característico quando o oxigênio era submetido a uma descarga

elétrica, e pela frequência sistemática que isto acontecia, sendo inicialmente chamado de oxigênio ozonizado. Na natureza, o ozônio é o gás mais importante da estratosfera. Pode ser gerado espontaneamente em tempestades com tormentas elétricas, e também em fumaças onde várias substâncias sob ação da luz ultravioleta reagem com oxigênio e formam o ozônio.

14,74

Atualmente o ozônio está incorporado em muitas indústrias alimentícias para desinfecção dos produtos pré-preparados para consumo na fase final de embalagem.⁷⁴

A aplicação tópica do ozônio como cicatrizante de feridas sépticas remonta a Primeira Guerra Mundial. Seus efeitos antimicrobianos continuam sendo comprovados.^{74,77}

O conhecimento da aplicação médica do ozônio se difundiu pela Europa, como na Suíça, Áustria, Itália, Espanha e ganhou grande aderência nos países do leste europeu, especialmente na Rússia. Pelo estreito contato tecnológico com a Rússia, Cuba passou a desenvolver também sua experiência com o uso do ozônio, e hoje detém a maior experiência em sistema público de saúde com 35 Centros Clínicos de Ozonioterapia, além de unidades hospitalares e o maior centro de pesquisa básica e ensaios biológicos de ozônio.⁷⁴

Embora o ozônio inalado seja agressivo aos alvéolos pulmonares, outras formas de administração têm sido demonstradas serem de alto valor terapêutico ao longo de mais de um século de utilização, por suas múltiplas aplicações nos diferentes ramos da medicina e o principal, que é a única medicação que tem poucos ou nenhuns efeitos colaterais quando usado a doses terapêuticas, o que é melhor que seus efeitos colaterais são benéficos para a saúde.⁷⁴

Com o desenvolvimento da pesquisa básica e, especialmente, a partir do conhecimento dos efeitos do ozônio no sistema imunológico e sistemas de oxidação e anti-oxidação celulares no metabolismo de hemoglobinas, a ozonioterapia passou de uma fase empírica de observação de seus resultados clínicos, cuja informação científica foi baseada em formatos de

casuística, para uma formatação científica de melhor reconhecimento. Da mesma forma como outras drogas, estamos lidando com uma substância farmacêutica com molécula claramente definida. Portanto, temos também um leque de indicações claramente definidos.^{9,74}

Diferente de outros produtos farmacêuticos, o ozônio necessita ser preparado próximo ao local de sua utilização por seu limite de estabilidade, ou seja, ele volta a ser oxigênio em curto espaço de tempo quando usado por vias parenterais ou diretamente em forma de gás. Misturado com água e óleo é possível utilizar topicamente em tempos mais prolongados. As principais vias de administração são: auto-hemoterapia maior, auto-hemoterapia menor, injeção intra-dérmica, injeção intramuscular, injeção intra-articular, injeção peri-articular, injeção intradiscal ou tópica: água, óleo ou cremes ozonizados.⁷⁴

Na área da Odontologia sua aplicação já é hoje reconhecida internacionalmente. Sua utilização abrange grande aplicação no tratamento de cáries tratadas com sucesso por este método, rápido, seguro, de baixo custo, e principalmente indolor. Sua aplicação em saúde pública é uma excelente alternativa para atender uma demanda altamente reprimida e principalmente nos programas de prevenção e tratamento precoce de cáries em crianças e adolescentes. Além de suas diferentes aplicações como anti-séptico para tratar periodontitis, estomatite, canais endodônticos, alveolite e na preparação da cirurgia oral.⁷⁴

No campo da endodontia também foram feitos trabalhos que demonstram a sua efetividade na desinfecção dos canais radiculares, utilizado o óleo ozonizado como curativo de demora.^{74,77}

Na tentativa de se elevar a porcentagem de sucesso após tratamento endodôntico de dentes com lesão periapical crônica e, conscientes da necessidade do controle da infecção e o respeito aos princípios biológicos, no presente trabalho de pesquisa se fez uma Avaliação “*in vitro*” da associação do efeito antimicrobiano do ozônio aos veículos: óleo de oliva, óleo de girassol e propilenoglicol, e curativos de demora: Calen, Calen PMCC e propilenoglicol mais

hidróxido de cálcio nos períodos de: um, sete, quinze, trinta e cento e oitenta dias, após de submetidos a um processo de ozonização por borbulhagem, mediante à técnica de difusão em ágar (mensuração de halo de inibição) em culturas de bactérias “*P. aeruginosa* e *E. faecalis*”.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Microbiologia na Endodontia

Foi demonstrado amplamente que os microrganismos são os agentes agressores mais importantes na causa de doenças pulpares e perirradiculares. A presença de microrganismos promove uma participação importante de fenômenos imunológicos de defesa do organismo.

Takehashi et al.⁴⁹, em 1965, em um estudo que tornou-se clássico na literatura endodôntica, confirmaram o papel importante desempenhado por bactérias na etiopatogenia das doenças pulpares e perirradiculares. Eles expuseram polpas dentais de ratos convencionais e *germ-free* ao meio bucal, observando posteriormente a resposta tecidual por métodos histológicos. Enquanto nos animais convencionais desenvolveu-se inflamação severa ou necrose pulpar associada a lesões perirradiculares, nos animais *germ-free* este tipo de resposta não ocorreu. Na ausência de microrganismos, as polpas se repararam por deposição de dentina neoformada na área de exposição, isolando o tecido pulpar não inflamado da cavidade bucal. Os resultados indicaram que a agressão causada por microrganismos é o maior determinante para o desenvolvimento de lesões perirradiculares.

Até o início da década de 70, a maioria dos estudos da microbiota endodôntica indicava o predomínio de bactérias facultativas. As espécies amiúde isoladas eram *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* e enterococos. *Staphylococcus epidermidis*, *Lactobacillus p. s* e *Candida albicans* também eram freqüentemente isolados de canais radiculares infectados. Em alguns casos que apresentavam lesões perirradiculares associadas a dentes com polpa necrosada, nenhum microrganismo foi isolado do canal radicular. Baseado nestes achados acreditava-se que o tecido pulpar

necrosado, embora estéril, era também irritante para os tecidos perirradiculares, capaz de, por si só, induzir e perpetuar uma lesão perirradicular.^{52,69}

Entretanto, em meados da década de 70, com o desenvolvimento e aperfeiçoamento das técnicas de isolamento e cultivo de anaeróbios estritos, foi gerado um interesse considerável quanto ao papel destes microrganismos na patogênese das doenças endodônticas. O estudo de Sundqvist¹⁰¹ (1976) representou um marco na literatura endodôntica, tendo em vista o fato de que seus achados revolucionaram os conceitos vigentes até então. Este autor avaliou as condições bacteriológicas de 32 canais de dentes unirradiculares, com polpas necrosadas e coroas intactas, sem cáries ou restaurações. A perda da vitalidade pulpar foi resultado de injúria traumática. Não havia doença periodontal, tampouco a existência de fístulas. Em 19 dentes foi detectada, por meio de radiografias, a presença de lesão perirradicular. Ele relatou que a maioria das espécies bacterianas isoladas dos canais foi anaeróbias estritas e que tais bactérias apenas foram encontradas em dentes com lesão perirradicular.

Com o objetivo de estudar a distribuição de diferentes espécies microbianas em amostras de canais radiculares, Fabricius et al.³³ (1982), realizaram um estudo em macacos empregando microscopia de contraste de fase, cultura e colorações de gram e giemsa. Polpas de 24 dentes unirradiculados foram expostas a microbiota bucal e após uma semana os acessos cavitários foram selados. Após este período, foram tomadas amostras do conteúdo do canal radicular de 16 dentes provenientes de dois macacos, dos três grupos experimentais. Aos 90, 180 e 1060 dias, novas coletas foram realizadas após selamento coronário. No período inicial da amostragem, após sete dias, áreas radiolúcidas não foram observadas. No final do período experimental, todos os 24 dentes mostraram alterações patológicas registráveis radiograficamente. A relação entre anaeróbios estritos e facultativos, tomadas dos espécimes aos 90 e 180 dias, foi de 1.7 e 6.5, respectivamente, enquanto nos espécimes de

1060 dias, tal relação foi de 11.3. *Bacteróides* e os bacilos gram-positivos anaeróbios foram encontrados em quase todos os espécimes e em ambos os períodos, inicial e final. Porém, em alguns casos não foram observados microrganismos facultativos nas amostras finais. A porcentagem de bactérias anaeróbias estritas nas amostras iniciais dos grupos de 90 e 180 dias foi de 50% e 55%, respectivamente, enquanto nas amostras finais os anaeróbios estritos representavam 65% a 98% do total de bactérias. Nas amostras iniciais, os principais grupos bacterianos se faziam presentes em significantes proporções, com exceção de cocos gram-positivos; e nas amostras finais, os bacilos anaeróbios estritos gram-positivos e gram-negativos predominavam. Uma notável diferença entre os achados bacterianos em diferentes partes do sistema de canal radicular foi observada. Além disto, observou-se grande superioridade de bactérias anaeróbias estritas na região apical, incluindo bacilos gram positivos e gram-negativos, sugerindo seu relevante papel no desenvolvimento e manutenção da lesão perirradicular.

Vários estudos posteriores vieram a confirmar os achados de Sundqvist¹⁰¹(1976), referentes ao predomínio de bactérias anaeróbias estritas nas infecções endodônticas. Estudo realizado por Bystrom e Sundqvist¹⁹ (1983) demonstrou que 88% das bactérias isoladas de canais radiculares infectados eram anaeróbias estritas. Em ordem de frequência, as mais isoladas foram: *Fusobacterium nucleatum*, *Pseudoramibacter alactolyticus*, *peptostreptococos*, *Prevotella*, *Selenomonas sputigena* e actinomicetos.

O *Enterococcus faecalis*, um coco gram-positivo anaeróbio facultativo, também tem sido isolado com relativa frequência de canais infectados, sendo considerado um dos poucos microrganismos facultativos associados com lesões perirradiculares persistentes.⁴⁴ Os *Enterococos* podem apresentar resistência a uma gama variada de agentes antimicrobianos e, assim, causar infecções de difícil tratamento.¹¹³

Van Winkelhoff et al.¹¹⁰ (1985) relataram o isolamento de uma ou mais espécies de bacilos produtores de pigmentos negros em 100% dos casos de abscesso apical agudo. Contudo, embora bacilos gram-negativos anaeróbios estritos exerçam papel relevante na ocorrência de sintomatologia clínica, bactérias gram-positivas anaeróbias estritas, como actinomicetos e propionibactérias, ou facultativas, como o *E. faecalis*, parecem ter maior influência sobre o prognóstico da terapia endodôntica.⁴⁴

Utilizando microscopia óptica e eletrônica de varredura, Nair⁷¹ (1987), examinou 31 dentes humanos portadores de lesões perirradiculares e sem tratamento endodôntico. Cinco destes dentes apresentavam-se sintomáticos. Em microscopia óptica, os resultados mostraram presença bacteriana em todos os canais, constituindo uma microbiota mista, representada por cocos, bacilos, formas filamentosas e espiroquetas. Em microscopia eletrônica de varredura, camadas bacterianas puderam ser identificadas aderidas às paredes dentinárias, mas a grande maioria permanecia suspensa no conteúdo aquoso do canal ou livres entre um grande número de neutrófilos polimorfonucleares. Somente uma pequena porção das lesões perirradiculares revelou bactérias em seu interior.

Souza et al.⁹⁸ (1989), após revisão da literatura, relataram que o índice, de sucesso do tratamento de dentes com lesão perirradicular associada foi, em média, de 64%. Este é um valor extremamente baixo quando comparado aquele de dentes com polpa viva (onde não há presença de uma infecção instalada no sistema de canais radiculares), o que está estimado em mais de 95% dos casos.

Por meio de microscopia óptica e eletrônica de transmissão, Nair et al.⁷², em 1990, avaliaram nove dentes tratados endodonticamente e portadores de lesões perirradiculares persistentes após 4 a 10 anos. Os dentes foram submetidos à cirurgia paraendodôntica e os espécimes obtidos foram processados para análise microscópica. Observaram-se bactérias em quatro espécimes e fungos em dois. Em um dos espécimes, as bactérias foram claramente

visualizadas por microscopia óptica; nos outros, houve necessidade de cortes seriados para detectá-las à microscopia eletrônica. As bactérias identificadas no canal principal, canal acessório e delta apical apresentavam-se ora isoladas, ora em colônias, livres ou aderidas à parede dentinária. Observaram-se também áreas de reabsorções internas ocupadas por densas colônias bacterianas de formas filamentosas, cujas paredes celulares apresentavam-se gram-positivas. Os autores sugeriram que a maioria das lesões persistentes ao tratamento endodôntico estão relacionadas a fatores que permitem a viabilidade de microrganismos residuais no sistema de canal radicular após a terapia endodôntica.

Fukushima et al.³⁶ (1990) examinaram as condições bacteriológicas de dentes com patologia perirradicular. Bactérias anaeróbias prevaleceram na maioria dos casos, constituindo cerca de 70% dos isolados. *Bacteróides*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* e *Eubacterium* predominaram.

Em 1990, Tronstad¹⁰⁸ et al. confirmaram a presença de microrganismos na superfície apical de um dente portador de lesão perirradicular crônica persistente ao tratamento endodôntico convencional. Placas bacterianas constituídas de cocos apresentavam-se firmemente aderidas à superfície apical por um material extracelular, provavelmente polissacarídeo, que além da nutrição, servia de abrigo às influências externas, conseqüentemente contribuindo para a manutenção do processo infeccioso nos tecidos perirradiculares.

Utilizando métodos de aerobiose e anaerobiose, Baumgartner e Falkler,¹⁰ em 1991, estudaram a microbiota dos 5 mm apicais de dez dentes com exposição pulpar por cárie e portadores de lesões perirradiculares contíguas com o ápice radicular. Foram isoladas 50 cepas bacterianas, das quais 68% eram representadas por anaeróbios estritos. Os microrganismos mais freqüentemente isolados foram *Actinomyces*, *Lactobacillus*, bacilos produtores de pigmentos negros, *Peptostreptococcus*, *Veillonella parvula*, *Prevotella buccae*,

E. faecalis e *S. mutans*. Todos os canais continham anaeróbios estritos e dois canais foram infectados exclusivamente com anaeróbios. Bacilos pigmentados estavam presentes em seis dos dez canais analisados, sendo cinco cepas de *Prevotella intermédia* e uma de *Prevotella denticola*. Os autores sugeriram que a este nível do canal ocorre um processo seletivo, favorecendo as bactérias anaeróbias da microbiota bucal.

Yamasaki et al.¹¹³ (1992) realizaram a mensuração da quantidade de endotoxina bem como identificaram bactérias gram-negativas em lesões perirradiculares experimentais produzidas em ratos. Os resultados deste estudo mostraram que a quantidade de endotoxina nos tecidos perirradiculares aumentou gradualmente com o avanço do tempo. O número de bactérias gram-positivas teve um maior pico de aumento entre sete e 14 dias e aumentou gradualmente 82% do 1º ao 24º dia e 60% do 28º ao 70º dia. O número de bactérias gram-negativas aumentou com avanço do tempo do 1º ao 24º dia, mas não do 21º ao 70º dia.

Tronstad¹⁰⁷ (1992) relata em seus estudos que quanto mais longa a infecção pulpar ou a exposição pulpar ao meio bucal, maior será o número de espécies envolvidas e maior a predominância anaeróbia, o que aumenta a dificuldade de tratamento.

A microbiota dos canais radiculares foi verificada em 65 dentes humanos unirradiculares contendo polpas necróticas, paredes da câmara pulpar intacta e evidência radiográfica de reabsorção óssea perirradicular, por Sundqvist¹⁰², em 1992. Nenhum dos pacientes estava sobre terapia antibiótica. Um total de 353 cepas bacterianas foram isoladas, com uma média de 5.4 por canal. A *Fusobacterium nucleatum* foi a mais freqüente (48%), seguida por outras espécies: *P. intermédia*, *Peptostreptococcus micros*, *P. anaerobius*, *P. alactolyticus*, *Eubacterium lentum* e *Campylobacter rectus*. Observou-se que com as mudanças ambientais, diferentes espécies bacterianas se associam formando uma cadeia alimentar, pela qual o metabolismo de algumas espécies forneceria nutrientes essenciais para o crescimento de outras, e algumas bactérias liberariam substâncias tóxicas para outras

presentes nos canais, caracterizando-se a seletividade da microbiota. Dentre as associações positivas pode-se observar: *F. nucleatum* e *P. micros*; *Porphyromonas endodontalis*, *S. sputigena* e *Campylobacter rectus*; *P. intermédia* e *P. micros*; *P. anaerobius* e *Eubacterium* e as associações entre *P. endodontalis* e *P. intermédia*.

Marton e Kiss⁶⁵ (1993) investigaram lesões perirradiculares estudando o envolvimento das reações inflamatórias e imunológicas na patogenia e manutenção das lesões perirradiculares crônicas. Estes autores sugeriram que os macrófagos e linfócitos T exercem importante papel na destruição e reparo da região perirradicular.

Stashenko et al.⁹⁹ (1994) estudaram o mecanismo de desenvolvimento das lesões perirradiculares em molares de ratos com exposição pulpar. As lesões perirradiculares desenvolveram rapidamente entre zero e 15 dias (fase ativa). Após este período, a evolução das lesões era mais lenta (fase crônica). Uma microbiota anaeróbica gram-negativa, similar à encontrada no homem, foi identificada. As lesões continham um infiltrado inflamatório misto consistindo de células T, neutrófilos, linfócitos, macrófagos e plasmócitos. Durante a fase ativa, predominavam células T auxiliares, sendo células T supressoras mais frequentes na fase crônica. A maior atividade de reabsorção óssea era mediada pela citocina interleucina-1 β .

Alves et al.⁴ (1994) acreditavam que após a ocorrência da necrose pulpar pela ação dos subprodutos bacterianos, predispondo o canal a invasão bacteriana que tem início superficialmente, os primeiros microrganismos a se instalarem são os aeróbios ou os anaeróbios facultativos, provenientes da cárie, placa dental, saliva e que acabam por utilizar o oxigênio disponível e criar um meio com baixa oxigenação propício para os anaeróbios. É quando chegam estes invasores secundários, provenientes do sulco gengival, placa dental, orofaringe, que embora não invadam rapidamente os tecidos, produzem substâncias tóxicas que atuam à distância. Com o tempo, os anaeróbios passam a predominar especialmente no terço apical. Esta posição lhes permite permanecer mais próximos do fluido altamente

protéico proveniente da região perirradicular, essencial para sua sobrevivência. Enquanto isto, os aeróbios e anaeróbios facultativos, utilizadores de carboidratos como fonte de energia, se encontram principalmente nos terços cervical e médio do canal radicular. Em revisão de literatura, Sundqvist¹⁰³, em 1994, chegou à seguinte conclusão: bactérias presentes em canais infectados incluem um grupo restrito de espécies comparadas com a microbiota da cavidade bucal. O microambiente do sistema de canais radiculares permite o crescimento de bactérias anaeróbias, capazes de fermentação de aminoácidos e peptídeos, e de bactérias, cuja principal fonte energética é obtida pela fermentação de carboidratos quando restringidas pela carência de nutrientes disponíveis. Durante o curso de evolução da infecção pulpar, desenvolvem-se inter-relações entre espécies microbianas, proporcionando mudanças consideráveis na microbiota, constituindo-se associações resistentes e com interdependência mútua. Estas associações são provavelmente baseadas em demandas e relações nutricionais. A patogenicidade da microbiota mista do canal radicular está na dependência do sinergismo bacteriano.

Por meio de microscopia óptica e imunofluorescência, Bohórquez Ávila et al.¹⁵ (1995) avaliaram 17 dentes humanos com necrose pulpar e portadores de lesões perirradiculares crônicas. Os diagnósticos revelaram granuloma perirradicular em 60% dos casos, e cisto perirradicular em 40%. Observou-se alta incidência de bactérias nos canais radiculares, com predomínio de cocos e bacilos gram-positivos e gram-negativos, distribuídas ao longo do lúmen do canal isoladamente ou em colônias livres ou aderidas às paredes dentinárias e no interior dos túbulos dentinários. Nas lesões perirradiculares, apresentavam-se em pequenas quantidades, ora isoladas, ora formando colônias, com predomínio de cocos e bacilos gram-positivos e localizados preferencialmente, entre o ápice e a lesão perirradicular, nas imediações do forame apical.

De acordo com Siqueira Jr. et al.⁹² (1996), parece haver uma correlação entre o tamanho das lesões perirradiculares e o número de células e espécies bacterianas presentes no canal. Quanto maior uma lesão perirradicular, maior o número de espécies bacterianas e maior a densidade de células bacterianas no interior do canal radicular. Nestes casos, um processo infeccioso de longa duração deve estar instalado, o que permite que bactérias proliferem e se propaguem para todo o sistema de canais radiculares, incluindo reentrâncias, istmos, túbulos dentinários e ramificações inerentes a este sistema. A maioria das infecções endodônticas, segundo o autor, é mista e de etiologia polimicrobiana, com predomínio de bactérias anaeróbias estritas, sendo que destas, as mais isoladas são os bacilos gram-negativos.

Com o propósito de identificar bactérias associadas com alterações patológicas na polpa dental e nos tecidos perirradiculares, Baumgartner et al.¹¹ (1996) desenvolveram um estudo empregando 43 dentes humanos com coroas intactas associados com lesões perirradiculares. Foram isoladas 348 cepas bacterianas, das quais 83% eram anaeróbias. Bacilos produtores de pigmentos negros, como *P. intermédia*, *Prevotella nigrescens*, *Prevotella melaninogenica*, *Porphyromonas gingivalis* e *P. endodontalis* estavam presentes em 54% das amostras. Outras espécies bacterianas frequentemente isoladas foram *F. nucleatum*, *P. micros*, *Gemella morbillorum* e *Prevotella oralis*. Os autores encontraram uma média de oito espécies bacterianas por amostra, caracterizando assim uma infecção mista.

Segundo Siqueira Jr.⁸⁵ (1997), na dinâmica de uma infecção endodôntica, anaeróbios estritos são invasores secundários. Nos estágios iniciais, bactérias facultativas prevalecem. Contudo, em aproximadamente sete dias, 50% da microbiota já é composta por anaeróbios. Em três meses, a proporção de anaeróbios pode chegar a 85% da microbiota. Após seis meses, há mesmo um predomínio acentuado de anaeróbios estritos que é ainda maior quando se considera apenas o terço apical do canal radicular. Afirma também que o profissional que executa o tratamento endodôntico deve estar consciente que a grande maioria dos problemas

de origem endodôntica enfrentados tem um agente etiológico bacteriano, Cumpre salientar que, embora fungos (por exemplo, *Candida*, *Saccharomyces* e *Criptococcus spp.*) e vírus (exemplo, HIV) já tenham sido isolados de canais radiculares infectados, as bactérias são os microrganismos mais comumente associados à etiopatogenia dos problemas endodônticos. Depreende-se, então, o papel dos microrganismos na indução do fracasso endodôntico.

Siqueira Jr. et al.⁹¹ (2002) avaliaram a prevalência de *Actinomyces*, estreptococos e *E. faecalis*, por meio de método molecular, em infecções primárias nos canais radiculares, nos quais os resultados revelaram a presença de 22,6% de estreptococos, *Actinomyces* em 9,4% e *E. faecalis* em 7,5%.

Em 2002, Leonardo et al.⁶¹ avaliaram por meio de microscópio eletrônico de varredura (MEV) a presença de biofilme bacteriano na superfície externa do ápice radicular de dentes de humanos portadores de necrose pulpar e lesão periapical. Verificaram a presença desse biofilme constituído pelo entrelaçamento de formas bacterianas filamentosas, cocos e bastonetes. Dessa forma, os microrganismos responsáveis pelo biofilme bacteriano apical deverão ser destruídos durante o tratamento endodôntico, para a obtenção de uma maior porcentagem de sucesso dessa terapia.^{16,106}

2.2 Controle das infecções endodônticas

Souza et al.⁹⁸ (1989), compilando vários índices encontrados na literatura, relataram que o índice de sucesso do tratamento de dentes com lesão perirradicular associada foi, em média, de 64%. Este é um valor extremamente baixo quando comparado ao de dentes com polpa viva. Por sua vez, Sjögren et al.⁹⁴ (1997), demonstraram que o índice de sucesso do tratamento endodôntico de dentes com polpa necrosada e lesão perirradicular associadas pode

ser significativamente elevado quando a infecção endodôntica é debelada. Estes autores relataram um índice de sucesso de 94% para estes casos, sendo que os canais apenas foram obturados após a obtenção de resultados negativos dos testes de cultura microbiológica, usando metodologia sofisticada para anaeróbios.

Siqueira Jr. et al.⁸⁷ (1997) relataram que embora uma redução considerável no número de células bacterianas da luz do canal principal possa ser obtida pelos efeitos químicos e mecânicos da irrigação e da instrumentação, bactérias podem permanecer viáveis em regiões inacessíveis a estes. Relataram também que, enquanto menores irregularidades anatômicas podem ser incorporadas no preparo, áreas como reentrâncias, istmos, ramificações e túbulos dentinários podem abrigar bactérias. Estas áreas não são comumente afetadas por instrumentos e a substância química auxiliar empregada na irrigação não terá tempo de ação intracanal suficiente para agir em profundidade.

Conforme relata Siqueira⁸⁴ (1998), o canal radicular contendo polpa necrosada, sem suprimento sanguíneo, toma um verdadeiro “santuário” de bactérias e seus produtos. Ao contrário de outras infecções do corpo humano, devido à ausência de circulação sanguínea na polpa necrosada, os agentes infecciosos localizados no interior dos canais radiculares estão protegidos dos mecanismos de defesa do hospedeiro, bem como da ação de antibióticos administrados por via sistêmica. Por causa de sua localização anatômica, as infecções endodônticas são tratadas através de meios químicos e mecânicos. Assim, o tratamento endodôntico apresenta três etapas principais de combate à infecção: o preparo químico-mecânico, a medicação intracanal e a obturação do sistema de canais radiculares. Durante o preparo químico-mecânico, limas endodônticas promovem a remoção mecânica de bactérias, seus produtos e tecidos degenerados, auxiliadas por uma solução irrigadora, que além de maximizar a remoção de detritos através do fluxo e refluxo, também pode possuir ação antibacteriana. A solução irrigadora mais empregada no tratamento endodôntico de dentes

com necrose pulpar é o hipoclorito de sódio, nas mais diversas concentrações, que possui atividade antibacteriana pronunciada contra as bactérias comumente isoladas de infecções endodônticas. Tendo em vista o papel das bactérias no início e perpetuação das lesões pulpares e perirradiculares, sintomáticas ou não, torna-se evidente a necessidade de um combate eficaz à infecção endodôntica, visando ao reparo das estruturas perirradiculares o restabelecimento da função dentária normal.

Siqueira Jr. et al.⁹¹ (2002) compararam a eficácia de diferentes técnicas de instrumentação dos canais radiculares, utilizando diferentes métodos de irrigação, em canais infectados com *E. faecalis*. Os autores concluíram que o importante é o uso de solução irrigadora antibacteriana durante o preparo químico-mecânico dos canais radiculares, e não especificamente a técnica de instrumentação ou a solução irrigadora utilizada.

2.3 Medicação intracanal

As bactérias anaeróbias sobreviventes ao preparo químico-mecânico podem se multiplicar no intervalo entre sessões do tratamento, caso não se utilize uma medicação intracanal. Por estes motivos, o preparo químico-mecânico completo e a radiografia de uma obturação bem realizada não são garantia de reparação apical e do sucesso do tratamento se as bactérias não foram previsivelmente eliminadas.⁹⁴

Bystrom et al.²¹ (1987) e Sjögren et al.⁹⁴ (1997) também observaram que por permanecer por tempo mais prolongado no interior do canal radicular, um medicamento intracanal dotado de ação antibacteriana tem maiores chances de atingir áreas não afetadas pela instrumentação do canal. Assim, exercendo sua ação antibacteriana, pode contribuir decisivamente para a máxima redução da microbiota endodôntica. Possivelmente, por

potencializar esta redução, o emprego de curativos está relacionado a uma melhor reparação dos tecidos perirradiculares e, conseqüentemente, a um maior índice de sucesso da terapia endodôntica.

Sundqvist et al.¹⁰⁴ (1989) observaram que na metade das vezes, bactérias sobrevivem ao preparo do canal e proliferam neste durante o período entre as sessões se nenhuma medicação for empregada; inclusive, levando ao desenvolvimento de lesões perirradiculares refratárias ao tratamento endodôntico convencional. Conforme relata Gaetti-Jardim Jr. et al.³⁷ (1996), neste fato reside a importância da utilização da medicação intracanal como uma medida auxiliar no combate a infecção e as possíveis lesões refratárias. Canais instrumentados, mas não obturados, resultaram inevitavelmente em fracasso em longo prazo, pois o espaço vazio seria extremamente propício para a proliferação de microrganismos remanescentes e para o estabelecimento de novos microrganismos. Dois fatores são críticos quando se considera o tratamento em sessão única de dentes despulpados: a incidência de sintomatologia pós-operatória e o sucesso em longo prazo da terapia.

Walton e Torabinejad¹¹¹ (1996), referindo-se ao tema curativo de demora, afirmam que “[...] o uso de tradicionais medicamentos, por causa da ausência de evidência de utilidade, e por causa da toxicidade demonstrada, está em declínio”. Por sua vez, Morse⁶⁹ (1981), acredita que “[...] nenhum medicamento é superior a outro qualquer, ou mesmo a um penso de algodão seco”. Afirmações como essas contribuíram para a proliferação numérica daqueles que realizam tratamento endodôntico de casos de necropulpectomias em sessão única, o qual se argumenta que as bactérias que restarem no interior dos túbulos dentinários, ficarão enclausuradas entre o material obturador e o cimento que reveste o exterior da raiz do dente.

Siqueira Jr. et al.⁸⁸ (1996) descrevem que a máxima eliminação de bactérias do sistema de canais radiculares propicia um ambiente favorável para o reparo dos tecidos perirradiculares elevando conseqüentemente, o índice de sucesso da terapia endodôntica em

casos de necropulpectomia. O emprego de medicação intracanal entre as sessões do tratamento endodôntico potencializa a desinfecção do sistema de canais radiculares, atuando, particularmente, sobre bactérias não afetadas pelo preparo químico-mecânico. Desta forma, uma das principais propriedades requeridas de um medicamento para uso intracanal é possuir atividade antibacteriana, em especial contra bactérias anaeróbias estritas, os principais patógenos endodônticos.

Nos casos de biopulpectomia, opta-se pela obturação imediata do canal radicular após o preparo químico-mecânico. Esta conduta baseia-se no fato de o canal estar livre de bactérias, desde que a cadeia asséptica tenha sido mantida pelo profissional. O tratamento endodôntico executado em sessão única tem algumas vantagens para o profissional e o paciente. Além de poupar tempo, o que é bastante desejável nos dias atuais, previne a contaminação (dentes polpados) ou a recontaminação (dentes despulpados) que pode ocorrer entre as sessões de tratamento. Por outro lado, a obturação imediata em casos de dentes despulpados, com uma infecção endodôntica estabelecida e lesão perirradicular associadas ou não, representa um dos assuntos mais controversos da especialidade. Em casos de necrose pulpar, mormente quando há associação com lesões perirradiculares; o canal deve ser obturado em uma segunda sessão após a permanência de uma medicação intracanal. Durante a execução do tratamento endodôntico, de dentes com necrose e infecção pulpar, o profissional deve utilizar meios adequados para promover a eliminação ou a máxima redução possível de bactérias do interior do sistema de canais radiculares. Neste caso, a opção pelos materiais e substâncias a serem empregados deve recair sobre aqueles providos de atividade antibacteriana. Soluções irrigadoras, medicamentos intracanaís, seladores temporários e cimentos endodônticos, todos possuindo propriedade antibacteriana, podem contribuir para a desinfecção do sistema de canais radiculares, influenciando positivamente nos resultados do tratamento endodôntico.⁸⁵

Para Lopes e Siqueira Jr.⁶⁴ (1999), a medicação intracanal consiste no emprego de medicamentos no interior do canal radicular, onde deverão permanecer ativos durante todo o período entre as consultas do tratamento endodôntico. Embora esta etapa não possa substituir o preparo químico-mecânico em termos de eficácia no controle da infecção do canal radicular, sua utilização assume um papel auxiliar bastante importante em determinadas condições clínicas e patológicas. Um medicamento a ser aplicado no interior do sistema de canais radiculares deve promover a eliminação e impedir a proliferação de bactérias que sobreviveram ao preparo químico-mecânico; atuar como barreira físico-química contra a infecção ou reinfecção por bactérias da saliva; reduzir a inflamação perirradicular; solubilizar matéria orgânica; neutralizar produtos tóxicos; controlar exsudação persistente; controlar reabsorção dentária externa inflamatória e estimular a reparação por tecido mineralizado.

Katebzadeh et al.⁵¹ (2000), em estudo *in vivo*, fizeram uma avaliação radiográfica da reparação perirradicular em canais infectados de cães após obturação em sessão única ou após a utilização de hidróxido de cálcio como medicação intracanal por, duas sessões. Os resultados demonstraram-se superiores quando se utilizou o curativo com hidróxido de cálcio em relação ao tratamento em sessão única.

Em estudo *in vitro*, Almyroudi et al.³ (2002) compararam a eficácia de vários desinfetantes utilizados como medicamentos intracanaís (hidróxido de cálcio, clorexidina gel e combinações), em dentes previamente contaminados com *E. faecalis* e em diferentes períodos de tempo (3, 8 e 14 dias). Os resultados encontrados não apresentaram diferença significativa entre os medicamentos estudados.

2.4 Hidróxido de Cálcio

Proposto para uso endodôntico em 1920 por Hermann, o hidróxido de cálcio é uma base forte com pH aproximado de 12,5, que apresenta uma baixa solubilidade em água. Inúmeros efeitos benéficos têm sido atribuídos a esta substância o que colaborou para o seu uso disseminado em inúmeras modalidades de tratamento odontológico. Estes efeitos biológicos estão relacionados à dissociação desta substância em ambiente aquoso, liberando íons cálcio e hidroxila.^{36,46}

A grande maioria das bactérias patogênicas para o homem não é capaz de sobreviver em um meio extremamente alcalino. Uma exceção é o *E. faecalis*, que pode sobreviver em pH 11,5.²⁰ Como o pH do hidróxido de cálcio é de cerca de 12,5, conforme relata Siqueira Jr.⁸⁴ (1998), depreende-se que praticamente todas as espécies bacterianas já isoladas de canais infectados são sensíveis aos seus efeitos, sendo eliminadas em curto período de tempo, quando em contato direto com esta substância. A atividade antibacteriana do hidróxido de cálcio está desta forma, relacionada à liberação de íons hidroxila, oriundos de sua dissociação. Os íons hidroxila são radicais livres altamente oxidantes que apresentam extrema reatividade, ligando-se à biomoléculas próximas, ao seu local de formação.

Frank³⁵ (1966) preconizou a utilização do paramonoclorofenol canforado (PMCC) como veículo para o hidróxido de cálcio em casos de apicificação. Contudo, esta associação foi alvo de críticas, uma vez que, por possuir atividade antibacteriana dependente de seu pH, o hidróxido de cálcio dispensaria a associação a uma substância que, além de ter ação antibacteriana, também é citotóxica.

De acordo com Anthony et al.,⁵ em 1982, o hidróxido de cálcio associado ao p-monoclorofenol canforado levaria à formação do p-monoclorofenolato de cálcio, podendo proporcionar uma liberação controlada desse medicamento no interior dos canais radiculares.

Leonardo et al.⁵⁹ (1993), utilizaram esta combinação em dentes de cães com rizogênese incompleta e lesão periapical, obtendo os melhores resultados na reparação apical e complementação radicular e verificam *in vitro* a formação do paraclorofenolato de cálcio.

O efeito bactericida do hidróxido de cálcio se dá pela sua ação alcalinizante, devendo difundir-se por todo sistema de canal radicular. Desta forma, o tempo de permanência do curativo, o veículo e a estrutura dental influenciam no desempenho da ação bactericida.^{28,41}

Objetivando testar a eficácia de medicamentos como curativo intracanal, Haapasalo e Orstavik⁴⁵, em 1987, desenvolveram um modelo *in vitro* para infecção de túbulos dentinários a partir de incisivos bovinos rugidos, recentemente extraídos. Após remoção do cimento, os tubos de dentina foram ampliados, em média, até 2 mm de diâmetro tratados com EDTA a 17% e hipoclorito de sódio a 5,25%, com auxílio de ultra-som, para remoção da camada de *smear layer*, e a seguir infectados com cultura de *E. faecalis*. Decorrido o tempo preestabelecido, os espécimes foram analisados pela microscopia óptica e eletrônica de varredura. No final do primeiro dia de incubação com *E. faecalis*, observaram-se em alguns espécimes, bactérias no interior de túbulos dentinários a uma profundidade de 300-400 μ m, a partir da luz do canal. Após três semanas, uma densa infecção atingia 300-400 μ m de profundidade; uma infecção moderada a 400-500 μ m e a linha de frente da infecção 800-1000 μ m. Pela superfície externa do tubo de dentina, a infecção atingia a profundidade de 150-200 μ m em média, porém, em alguns espécimes onde o cimento foi preservado, não houve penetração bacteriana. Quanto à efetividade medicamentosa do Ca(OH)₂ (Calasept) e do paramonoclorofenol canforado (PMCC), os autores obtiveram os seguintes resultados: PMCC tanto na forma líquida quanto gasosa proporcionou completa desinfecção, após uma hora e um dia, respectivamente. Ca(OH)₂ não mostrou eficácia na eliminação de bactérias nas áreas mais internas da dentina após prolongada incubação. Os autores concluíram que o modelo sugerido parece adequado para testes *in vitro* de medicamentos intracanaís.

No início da década de 90, outros autores como Leonardo et al.⁵⁹ (1993) voltaram a preconizar o emprego da associação do hidróxido de cálcio com o PMCC, baseados na justificativa de que embora o hidróxido de cálcio apresente maior eficácia contra os microrganismos anaeróbios, o PMCC tem atividade antibacteriana mais pronunciada contra alguns anaeróbios facultativos, como os enterococos. Assim, as associações das duas substâncias iriam conferir à pasta um maior espectro de atividade antibacteriana.

Souza et al.⁹⁷ (1995) avaliaram se o uso de curativo de demora antes da obturação do canal exerce alguma influência no processo de reparo dos tecidos perirradiculares. O estudo foi realizado em dentes de cães que receberam medicação intracanal à base de corticosteróide-antibiótico ou hidróxido de cálcio por sete dias, ou obturação em sessão única. Os resultados foram analisados histologicamente 7 ou 180 dias após o tratamento. No tempo de 180 dias não houve diferença de resultados entre os grupos experimentais.

Vários estudos demonstram que a pasta de hidróxido de cálcio com PMCC apresenta excelente atividade antibacteriana.^{57,92} Entretanto, a verdadeira razão de se associar as duas substâncias, baseado nos estudos destes autores, parece ser diferente da proposta por outros autores. Heithersay,⁴⁶ em 1975, analisando o emprego do hidróxido de cálcio no tratamento de dentes humanos com necrose pulpar associada à lesão perirradicular, descreveu os procedimentos clínicos e discutiu os possíveis mecanismos de ação em relação ao processo de reparo. O autor concluiu que os mecanismos biológicos envolvidos com o uso do hidróxido de cálcio em situações clínicas diversas simplificam o tratamento e estimulam o processo de reparação tecidual, bem como a formação de tecido mineralizado.

Costa et al.²⁴ (1981) apresentaram um controle de 13 casos de dentes com extensas lesões perirradiculares, os quais receberam uma medicação intracanal com pasta à base de hidróxido de cálcio associado ao PMCC. Após um período de 10 meses, houve o desaparecimento da área radiolúcida em 8 casos, caracterizando reparo completo, Em outros 4

casos, nos quais houve a necessidade de se realizar a obturação definitiva dos canais radiculares após se completarem os 10 meses, verificou-se a redução considerável da lesão perirradicular, caracterizando reparo em evolução. A ausência de reparo dos tecidos perirradiculares ocorreu em apenas 1 caso.

Em 1989, Souza et al.⁹⁸ avaliaram o sucesso clínico e radiográfico de dentes portadores de necrose pulpar e lesão perirradicular crônica empregando a pasta aquosa de hidróxido de cálcio ou a associação de hidróxido de cálcio com PMCC e glicerina. Foram utilizados 50 dentes humanos com áreas de rarefação óssea perirradicular de diâmetros aproximados de dez mm. Na primeira sessão procedeu-se à neutralização do conteúdo séptico tóxico, tendo como solução irrigadora o hipoclorito de sódio a 1 %, à aplicação do composto de paramonoclorofenol e Furacin e ao selamento coronário, Decorridos 23 dias, o curativo foi removido e o canal preparado até a lima 25 ou 30 a 1 mm aquém do forame apical metade dos canais recebeu a pasta aquosa de hidróxido de cálcio e a outra parcela, a associação do hidróxido de cálcio com PMCC, tendo ambas as parcelas sofrido extravasamento apical decorridas duas semanas, realizaram as trocas dos curativos (limitando-os ao interior dos canais radiculares) em conjunto com as tomadas radiográficas, em períodos que variavam de 30 a 60 dias até o momento em que a imagem radiolúcida desaparecesse ou fosse reduzida a um simples espessamento do ligamento periodontal apical, quando então a pasta era removida e os canais obturados, O controle radiográfico estendeu-se até 1 ano após a obturação, Os resultados obtidos foram similares para ambas as pastas, Dos 50 casos, 94% mostraram o desaparecimento da área radiolúcida, Destes, 44 casos exibiram completa reparação após 4 a 12 meses, em três casos de rações com diâmetros superiores a 10 mm, a redução a um simples espessamento ocorreu somente após um ano, Em apenas 3 casos (6%), as lesões mostraram-se irreversíveis, necessitando de complemento cirúrgico. Os autores concluíram que o preenchimento do canal de dentes portadores de necrose pulpar e reação perirradicular crônica

com hidróxido de cálcio conduz a uma elevada porcentagem de reparos clínicos e radiográficos.

Em 1993, Fava³⁴ realizou revisão da literatura a respeito da ação antibacteriana do hidróxido de cálcio como curativo intracanal em canais radiculares infectados. Foram revistas pesquisas *in vitro* e *in vivo* a respeito do tempo necessário de permanência intracanal para sua efetividade bem como seu mecanismo de ação. Segundo o autor, à medida que ocorre a dissociação iônica, o volume de pasta aplicada dentro do canal deve ser tal que ofereça íons cálcio e hidroxila em quantidade suficiente por períodos longos de tempo, para que, enquanto os íons cálcio reagem com os íons fosfatos, carbonatos e sulfatos da região perirradicular, os íons hidroxila podem exercer a ação antibacteriana desejada.

Siqueira e Uzeda,⁹² em 1996, avaliaram a ação antibacteriana de diferentes pastas à base de hidróxido de cálcio em cilindros de dentina bovina infectados com duas bactérias anaeróbias estritas e uma bactéria anaeróbia facultativa, todas comumente encontradas em infecções endodônticas. Cilindros de dentina bovina foram infectados com *Actinomyces israelii*, *F. nucleatum* (anaeróbio estrito) ou *E. faecalis* (anaeróbio facultativo). Os espécimes infectados foram expostos a pastas resultantes da associação do hidróxido de cálcio com o soro fisiológico ou com o PMCC por períodos de 1 hora, 1 dia e 1 semana. A viabilidade das bactérias após esses períodos de exposição foi avaliada pela incubação de cada espécime em meio de cultura para comparar a efetividade das pastas na desinfecção dos túbulos dentinários. Os resultados mostraram que a pasta de hidróxido de cálcio com PMCC foi eficaz na eliminação das bactérias no interior dos túbulos dentinários após 1 hora, exceto o *E. faecalis*, que resistiu até o período de 1 dia de exposição. Já a pasta de hidróxido de cálcio com soro fisiológico foi ineficaz contra *E. faecalis* e *F. nucleatum*, mesmo após 1 semana de exposição. Os autores concluíram que o PMCC aumentou o efeito antibacteriano do hidróxido de cálcio.

Estudos de Georgopoulou et al.³⁸ (1993) e Bystrom et al.²⁰ (1985) demonstraram que, quando aplicado em contato direto com bactérias anaeróbias estritas, o hidróxido de cálcio é mais eficaz do que o PMCC. Contudo, isto não comprova que o PMCC não apresente efeitos antibacterianos sobre anaeróbios. Utilizando o teste de difusão em ágar, Siqueira Jr. et al.⁹³ (1996) demonstraram que PMCC associado à cânfora ou ao Furacin apresentou excelente atividade antibacteriana, inclusive superior ao hidróxido de cálcio, sobre bactérias anaeróbias estritas. Isto revela que o PMCC se difunde mais, possuindo um maior raio de ação antibacteriana. Por isso, quando associado ao hidróxido de cálcio, o PMCC pode aumentar o raio de atuação da pasta, atingindo bactérias alojadas em regiões mais distantes do local de aplicação do hidróxido de cálcio.

Estrela et al.³⁰ (1995), analisando o efeito antibacteriano de duas pastas de hidróxido de cálcio, uma associada ao soro fisiológico e outra ao paramonoclorofenol canforado, sobre culturas puras de três bactérias aeróbias facultativas: *P. s aeruginosa*, *Escherichia coli* e *E. faecalis*, demonstraram que as duas pastas de hidróxido de cálcio foram eficazes sobre as bactérias analisadas, tanto em 24 como 48 horas, proporcionando diferentes halos de inibição de crescimento bacteriano.

Esta afirmativa foi comprovada por trabalho de Silveira⁸¹ (1997), no qual observaram que a pasta de hidróxido de cálcio com PMCC foi eficaz na desinfecção dos túbulos dentinários infectados experimentalmente com três espécies bacterianas, duas anaeróbias estritas e uma facultativa, comumente isoladas de canais radiculares. Este efeito foi observado em um período de tempo curto. Siqueira Jr. e Uzeda⁹² (1996) encontrou que a associação do PMCC com o hidróxido de cálcio mostrou-se bastante eficaz sobre doze espécies bacterianas, 6 anaeróbias e 6 facultativas.

Em 1997, Berbert et al.¹³ realizaram revisão da literatura com relação à ação terapêutica do hidróxido de cálcio, seus derivados e associados. Foram abordados os

mecanismos pelos quais o hidróxido de cálcio atua no fenômeno de mineralização, onde o pH alcalino e os íons cálcio deste material atuam separada e sinergicamente no início do processo; na prevenção de reabsorção e ação antibacteriana, também diretamente relacionadas à alcalinização do meio, e na dissolução de material necrótico, ação potencializada pela irrigação prévia com hipoclorito de sódio. Já a propriedade antiinflamatória do hidróxido de cálcio não foi comprovada cientificamente. Os autores concluíram que o hidróxido de cálcio exerce atualmente, um papel de extrema importância na terapia do complexo dentino-pulpar e periodonto apical devido a suas propriedades peculiares como a estimulação, a mineralização e ação antibacteriana, diretamente relacionadas ao seu alto pH.

A atividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio deve-se ao seu alto pH, e está relacionada com a liberação de Íons hidroxilas em meio aquoso. Entretanto, este mecanismo requer um tempo de contato ideal para a destruição efetiva de microrganismos, agindo em contato direto ou indireto nos túbulos dentinários.³¹ O efeito letal dos Íons hidroxila nas células bacterianas deve-se provavelmente aos seguintes mecanismos: dano à membrana citoplasmática bacteriana; desnaturação protéica e dano ao DNA.⁸⁶

Estrela et al.³² (1999) avaliaram a atividade antibacteriana do hidróxido de cálcio nos túbulos dentinários infectados com *E. faecalis*, *S. aureus*, *Bacillus subtilis* e *P. aeruginosa*, e uma mistura destes cinco grupos de 12 dentes incisivos centrais superiores humanos foram preparados e contaminados por 28 dias. O hidróxido de cálcio nos túbulos dentinários infectados não mostrou efeito antimicrobiano para o *E. faecalis*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* ou na mistura bacteriana usada.

Em 1999, Soares⁹⁵ avaliou as condições microbiológicas dos canais radiculares durante várias fases do tratamento endodôntico, bem como vários aspectos histopatológicos e histomicrobiológicos das regiões apical e perirradicular de dentes de cães, após o uso de dois curativos de demora à base de hidróxido de cálcio. A amostragem constou de 64 raízes de

dentes pré-molares de cães, portadores de reação perirradicular crônica induzida. Realizado o preparo químico-mecânico coadjuvado pela irrigação com hipoclorito de sódio a 5,25 %, os canais radiculares receberam, como curativo de demora, as pastas Calen / PMCC e Calasept pelos períodos de 15 e 30 dias. Colheitas microbiológicas foram realizadas imediatamente antes do preparo químico-mecânico, 4 dias após sua execução e 4 dias após a remoção dos curativos de demora, tendo os canais radiculares permanecido vazios. Na seqüência, foram obtidas preparações histológicas, coradas pela hematoxilina e eosina, tricrômico de Mallory e Brown & Brenn. Verificou-se que o preparo químico-mecânico reduziu significativamente a infecção do canal radicular; no entanto, não foi observada diferença estatística significativa na ação antimicrobiana dos curativos de demora em função do tempo ou do veículo. Sob o aspecto histopatológico, a pasta Calen /PMCC no período de 30 dias resultou em melhor quadro de reparação perirradicular. Contudo, não se observou entre os quatro grupos experimentais, significativa diferença no padrão de desinfecção do sistema de canal radicular e região perirradicular. A reparação tecidual perirradicular histológica de raízes infectadas com placa dental e obturadas em sessão única ou com utilização de curativo intracanal com hidróxido de cálcio foi comparada por Katebzadeh et al.⁵⁰ (1999). O estudo foi realizado em dentes de cães, os quais foram sacrificados após 6 meses. As raízes e os tecidos circundantes foram preparados e examinados histologicamente, apresentando menor inflamação para o grupo em que se utilizou o hidróxido de cálcio em comparação ao grupo obturado em sessão única.

Holland et al.⁴⁸ (1999) empregaram 3 formulações diferentes de hidróxido de cálcio como medicação intracanal em dentes de cães com lesão perirradicular e 6 meses após o tratamento, analisaram a reparação dos tecidos perirradiculares. Os resultados obtidos não evidenciaram diferença apreciável entre os curativos estudados.

Destarte, o tratamento endodôntico tem sido orientado para a remoção dos microrganismos, seus produtos e substratos, pois se tem demonstrado, até então, que a erradicação da infecção influencia positivamente na reparação perirradicular. O preparo químico-mecânico proporciona saneamento parcial e temporário ao sistema de canais radiculares, independentemente da técnica de instrumentação e do irrigante associado. Por conseguinte, visando um efeito desinfetante complementar e a simultânea estimulação da reparação perirradicular, curativos de demora à base de hidróxido de cálcio têm sido amplamente recomendados.⁹⁶

Siqueira Jr. et al.⁸⁹ (2001), em experimentos utilizando cilindros de dentina bovina contaminados com uma cultura mista de *F. nucleatum* e *P. intermédia*, anaeróbios estritos comumente encontrados em infecções endodônticas, expostos por 3 a 5 dias a quatro formulações diferentes de hidróxido de cálcio, avaliaram a viabilidade bacteriana por meio de incubação dos espécimes em caldo de cultura, de forma a comparar a efetividade das pastas na descontaminação da dentina. Os resultados mostraram que apenas a pasta HPG (hidróxido de cálcio, paramonoclorofenol canforado e glicerina) foi capaz de, efetivamente, descontaminar a dentina, após dias de contato.

Grecca et al.⁴² (2001) avaliaram radiograficamente a eficácia do curativo de demora à base de hidróxido de cálcio (Calen, PMCC ou Calasept) em dentes pré-molares de cães com lesão perirradicular induzida, por um período de 30 dias, e posteriormente obturados com Sealapex ou AH Plus. Utilizaram o programa Mocha para a medição das lesões perirradiculares e os resultados estatísticos mostraram semelhança na redução da lesão nos grupos que utilizaram Calen PMCC + Sealapex e Calen PMCC + AH Plus.

Com o objetivo de avaliar o tempo de ação do curativo de demora à base de hidróxido de cálcio associado ao PMCC, em dentes de cães portadores de necrose pulpar e lesão perirradicular crônica, Silveira et al.⁸² (2001) fizeram colheitas bacterianas do interior dos

canais radiculares após períodos de 7, 15 e 30 dias de curativo intracanal. Os melhores resultados da avaliação histomicrobiológica demonstrou maior efeito antibacteriano no período de 30 dias, o período de 15 dias apresentou melhores resultados quando comparado ao de 7 dias.

Leonardo et al.⁶¹ (2002) avaliaram o reparo perirradicular após o uso de curativo de demora com hidróxido de cálcio por diversos períodos de tempo em dentes de cães com lesão perirradicular crônica induzida. Os melhores resultados ocorreram nos períodos de tempo de 15 e 30 dias e os piores resultados ocorreram nos grupos de 7 dias e nos grupos controles que não receberam curativo de demora.

Tanomaru Filho et al.¹⁰⁶ (2002) realizaram estudo com o objetivo de avaliar o reparo perirradicular após tratamento endodôntico em dentes de cães com polpa necrosada e lesão perirradicular. Foi utilizado para o preparo químico-mecânico, hipoclorito de sódio 5,25% ou clorexidina a 2% como solução irrigadora. Os canais foram obturados com Sealapex ou colocado curativo de demora com hidróxido de cálcio por 15 dias. Os animais foram sacrificados após 210 dias, sendo que os resultados apresentaram melhor reparo histológico no grupo em que foi utilizado curativo com hidróxido de cálcio e no grupo que utilizou clorexidina.

Gomes et al.³⁹ em 2003 avaliaram a efetividade da clorexidina 2% gel e hidróxido de cálcio em dentina radicular de dentes bovinos infectados com *Enterococcus faecalis*. A Clorexidina gel inibe completamente o crescimento de *E. faecalis* depois de 1, 2, 7 e 15 dias. E o hidróxido de cálcio permitiu o crescimento microbiano. A combinação de clorexidina e hidróxido de cálcio foi eficaz depois de 1 e 2 dias pois demonstraram 100% de ação antibacteriana; embora, sua atividade antibacteriana reduziu entre 7 e 15 dias. Pode-se concluir que a clorexidina gel a 2% exclusivamente, era mais eficaz contra o *E. faecalis*. Do

que o hidróxido de cálcio. Embora, sua atividade antibacteriana dependia de quanto tempo permanecia dentro do canal da raiz.

2.5 Ozônio

Existe um interesse permanente em se buscar substâncias mais efetivas ou com ação mais rápida sobre a regressão das lesões. Dentre as possíveis substâncias, com o intuito de preencher tais objetivos, o ozônio veiculado em óleo e água apresenta algumas características biológicas interessantes: ação bactericida, efeito debridante, estímulo a angiogênese, além do efeito oxidante.⁶³ Diversas investigações têm comprovado sua eficácia na inativação de vírus, bactérias e fungos.²³

o ozônio, variedade alotrópica do oxigênio é constituído por moléculas triatômicas deste elemento, descoberto pelo alemão Christian Frederick Schönbein em 1840. Apresenta-se de modo natural na forma de gás, de cor azul tênue, sendo da cor azul obscura opaca tanto no estado líquido (p.eb. -111.9°C) como sólido (p.f. -193°C). Suas concentrações máximas ocorrem entre 20 e 30 mil quilômetros da superfície da Terra. O mesmo possui um poder oxidante muito maior que o do oxigênio, sendo sua reação com os compostos orgânicos muito menos seletiva. Este gás é obtido a partir do oxigênio puro mediante uma descarga elétrica (arco voltaico) e alcança concentrações entre 0,05 e 5% em volume. Pode ser produzido naturalmente por reações fotoquímicas (raios ultravioleta) envolvendo hidrocarbonetos e óxidos de nitrogênio dos poluentes do ar (National Academy of Science, 1977) ou artificialmente através de geradores com finalidades médicas ou industriais.^{74,77}

Na década de 60, face ao aumento da poluição das águas por substâncias químicas e biogermes (vírus, bactérias e fungos), as propriedades desinfetantes do ozônio voltaram a ser

consideradas, e a utilização do ozônio passou a ser incluída no processo de tratamento das mesmas, tornando-o o mais importante agente de limpeza e desinfecção das águas por sua capacidade de destruir todas as bactérias e vírus presentes nas águas poluídas. Este processo passou a ser utilizado em grandes cidades na Europa, América e Ásia, como Moscou, Montreal, Los Angeles, Singapura, Helsinki, Bruxelas e em mais de 700 locais na França. Muitas indústrias também incorporaram esta técnica com grande reaproveitamento e economia da água utilizada em seus processos industriais, como é o caso da Rhodia em Santo André, que passou a economizar 70% da água após a instalação do equipamento de ozônio no processo de tratamento da água, purificando-a de dejetos industriais.⁷⁴

Em 1857, Werner von Siemens desenvolveu o primeiro gerador de ozônio, e através da utilização deste equipamento Kleinmann conduziu seus primeiros estudos sobre a ação deste composto em bactérias e germes, e depois em mucosas de animais e humanos. Após praticamente 100 anos, Hänsler desenvolveu seu primeiro equipamento médico com dosagens precisas da mistura de oxigênio e ozônio, abrindo então um grande *spectrum* de aplicações terapêuticas.^{74,77}

Tem sua aplicação com eficácia clínica comprovada desde a 1ª. Guerra Mundial. Desenvolveu-se na Alemanha e países europeus, sendo que seu grande avanço de utilização foi na Rússia e em Cuba. Erwin Payr, importante cirurgião austríaco, professor em Leipzig, experimentou o tratamento com ozônio por seu dentista E. A. Fisch, e em 1935 apresentou uma publicação intitulada "O tratamento com ozônio na cirurgia". E este foi o início da ozonioterapia que conhecemos hoje. A ausência de materiais adequados, resistentes à oxidação - como plásticos para aplicação local de ozônio em feridas, ou insuflação retal do gás - tornava sua utilização complicada, razão pela qual foi durante um tempo esquecida.^{74,77}

Recentes avanços nos estudos da intimidade bioquímica, imunológica e microbiológica colocam este recurso como uma importante alternativa em uma série de

condições clínicas como úlceras, patologias oftalmológicas, neuro-vasculares, infecções virais, bacterianas e fúngicas, doenças vasculares, articulares, digestivas e imunológicas, etc.^{26,74,77}

Hans Wolff dedicou sua vida à pesquisa e aplicação do ozônio e em 1979, um ano antes de sua morte, publicou seu livro "Medicina do Ozônio" onde apresenta sua pesquisa e prática médica do uso do ozônio. Ele fundou a Sociedade Médica de Ozônio, posteriormente renomeada Sociedade Médica para Aplicação Preventiva e Terapêutica do Ozônio.⁷⁴

O ozônio é considerado um gás tóxico e irritante quando inalado, provocando congestão e inflamação das vias aéreas.¹⁰⁰ Segundo o relato de Rilling em 1983, entre outros muitos autores, afirma que o ozônio possui uma série de propriedades que tem sido de grande utilidade na medicina: efeito bactericida, fungicida e virucida; melhoramento das propriedades reológicas do sangue e sua circulação através dos vasos capilares; incremento da capacidade de absorção de oxigênio nos eritrócitos, assim como sua transferência aos tecidos; estimulação dos processos de metabolização do oxigênio através da reativação de vários ciclos bioquímicos; ativação de vários sistemas enzimáticos protetores contra processos degenerativos; efeito modulador da resposta biológica (imunomodulador).^{63,67,74,77,90}

O uso do ozônio se faz através de uma mistura de oxigênio e ozônio, da ordem de 95-99,5% de oxigênio para 5-0,5% de ozônio, o que gera uma concentração da ordem de 1 a 100 microgramas/ mL.($\mu\text{g}/\text{mL}$). É fundamental que existam equipamentos que atendam a estes parâmetros de disponibilidade.⁷⁴

Devido a sua alta instabilidade e toxicidade, a vida média do ozônio é de 30 - 45 minutos a 20°C (68°F), descendendo sua concentração aos 16% de seu valor inicial em duas horas, o gás ozônio deve ser incorporado a fluidos, tais como o sangue, água, soluções isotônicas e veículos oleosos, para ser utilizado. O ozônio dissolvido em água é ainda instável e a sua permanência nesta está ligado à pureza da água. Deduz-se então que o efeito da água é

imediate. O óleo ozonizado, obtido através da reação com ácidos graxos insaturados, é rico em ozonídeos. Estes, por sua vez, liberam oxigênio ativo lentamente conferindo ao óleo ozonizado um efeito prolongado.^{9,74,100}

No processo cicatricial, os primeiros dias de reparação tecidual são caracterizados por uma fase inicial inflamatória seguida por uma etapa de fibroplasia. Ocorrem ainda nesta fase, importantes mudanças na vascularização (neovascularização) que serão responsáveis, entre outros, pela remoção da necrose local. Os radicais livres (RL) derivados do oxigênio podem influenciar a resposta inflamatória, porém este fato depende do equilíbrio entre a produção de substâncias antioxidantes pelos tecidos e a inativação de radicais. Os RL podem ser fisiologicamente liberados para o meio extracelular pelos leucócitos após exposição aos agentes quimiotáticos, imunocomplexos ou a uma exposição fagocitária. O soro, os líquidos teciduais e as células alvo possuem mecanismos antioxidantes de proteção que anulam a toxicidade destes RL potencialmente nocivos. A necrose do material orgânico leva a produção de substâncias nitrogenadas como proteínas, aminas, ácido sulfídrico e ácidos graxos de cadeia curta, entre outros. Estas podem ser tóxicas e prejudicar o processo cicatricial. A oxidação pode destruir essas toxinas. Deduz-se por tanto, que o ozônio pode agir favoravelmente no processo cicatricial.⁹

Kramer⁵⁴ (1981) relata a utilização do ozônio em estomatologia, devido ao seu efeito bactericida e fungicida e a eficácia no tratamento local de feridas ou lesões infectadas, em dermatoses, em eczemas purulentos e úlceras.

A utilização do ozônio em estomatologia, devido ao seu efeito bactericida e fungicida e a eficácia no tratamento local de feridas ou lesões infectadas, em dermatoses, em eczemas purulentos e úlceras.^{9,74,77}

No Centro Nacional de Investigações Científicas (CNIC), em Cuba, estudos foram realizados sobre a substituição do azeite de oliva ozonizado por azeite de girassol. O poder

microbicida de ambos azeites ozonizados foram avaliados, utilizando a *Candida tropicalis* como modelo experimental. Melhores resultados foram obtidos com a utilização do azeite de girassol ozonizado. Além de suas vantagens econômicas, o óleo ozonizado tem passado satisfatoriamente nas provas pré-clínicas de irritabilidade dérmica e oftálmica, de mutagenicidade e teratogenicidade. Desde novembro de 1986, no Centro de Ozônio do CNIC vêm-se realizando diferentes investigações sobre as possibilidades terapêuticas do óleo ozonizado em diversas enfermidades.²³

Segundo Gurley⁴³ (1985), muitas espécies, especialmente *E.coli*, *Streptococcus* e *bacillus*, são destruídas totalmente quando expostas a uma concentração menor que 0,2 mg/ml de ozônio, por 30 segundos. Outras espécies facilmente destruídas em água ozonizadas incluem *P. s*, *Staphylococcus*, *Candida*, *Proteus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio cholerae*.

De Las Cajigas et al.²⁶ (1989) realizaram estudos preliminares com resultados satisfatórios em infecções severas de diversas causas demonstrando seu grande poder germicida e estimulante de regeneração tecidual deste produto.

Resultados alentadores têm sido obtidos com a aplicação da ozonoterapia nos tratamentos de enfermidades reportadas na literatura, como retinose pigmentária, giardíase, úlcera gastroduodenal, demência senil, sem apresentar reações secundárias adversas nos pacientes tratados.^{12,67}

O ozônio tem a propriedade já comprovada de inibir e/ou destruir muitas das bactérias encontradas na cavidade bucal tais como *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces odontolyticus*, entre outras.¹⁷

Segundo Eberhardt²⁷ (1993), o ozônio tem propriedades semelhantes aos antibióticos, embora difira destes em alguns aspectos: altas doses não apresentam efeitos negativos sobre a fisiologia do corpo humano e não há o aparecimento de resistência microbiana.

Menendez et al.⁶⁶ (1995) realizaram um trabalho avaliando as propriedades germicidas do óleo de girassol ozonizado (Oleozon ®) no tratamento de canais radiculares infectados de 200 indivíduos adultos com diagnóstico de rarefação perirradicular. Estes indivíduos foram divididos em dois grupos de 100. O grupo experimental foi tratado com o Oleozon® e o controle com Cresophene. Os resultados mostraram que 91 % do grupo experimental tratado com o óleo ozonizado foram curados das lesões perirradiculares e apenas 55% do grupo controle obtiveram o mesmo resultado.

Rodriguez et al.⁸⁰ (1994), estudando os efeitos do ozônio no tratamento da gengivoestomatite herpética aguda, observou que, em 113 crianças com esta afecção, a aplicação do óleo ozonizado obteve resultados positivos em 76,9%, com o desaparecimento da sintomatologia ao terceiro dia do tratamento; ao sétimo dia, 20,4% e ao décimo dia, 2,7% dos pacientes tratados. Não se observaram efeitos secundários durante a medicação, demonstrando que o óleo ozonizado constitui uma opção terapêutica para o tratamento das lesões provocadas pelo vírus do *Herpes simplex*.

Siqueira Jr. et al.⁹⁰ (2000) avaliaram a atividade antibacteriana do óleo de girassol ozonizado e do hidróxido de cálcio associado ao PMCC e glicerina contra bactérias comumente envolvidas na etiopatogenia das doenças perirradiculares. A metodologia empregada foi o teste de difusão em ágar. Discretos halos de inibição de crescimento bacteriano foram associados à pasta hidróxido de cálcio/tricresol formalina/ glicerina. As pastas de hidróxido de cálcio/PMCC/glicerina também apresentaram eficácia antibacteriana pronunciada, principalmente na proporção PMCC/glicerina de 1: 1. Porém, a maior eficácia de atividade antibacteriana foi observada nos casos em que se utilizou o óleo ozonizado.

Bruzadelli-Macedo et al.¹⁸ (2002) realizaram tratamento para osteomielite mandibular em um paciente de 35 anos de idade, utilizando com sucesso água e óleo ozonizados.

Nagayoshi et al.⁷⁰ (2004) Examinaram in vitro o efeito antimicrobiano da água ozonizada em dentina de bovinos pré-infectada com o *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus mutans*. A água ozonizada teve quase a mesma atividade antimicrobiana que o hipoclorito de sódio (NaOCl) 2.5%. Também avaliaram a citotoxicidade destas substâncias em fibroblastos de camundongos L-929. A atividade metabólica dos fibroblastos foi alta quando as células se trataram com a água ozonizada, e significativamente diminuída, quando as células se trataram com 2.5% NaOCl.

Arita et al.⁶ (2005); avaliaram o efeito antimicrobiano da água ozonizada frente à *Candida albicans* aderida às próteses de acrílico, confirmando sua eficácia para a limpeza destas próteses submetidas em água ozonizada, melhorando seu efeito quando foi adicionado ultra-som.

Pereira⁷⁷ (2002); fez uma comparação do efeito da medicação intracanal com pasta de hidróxido de cálcio, paramonoclorofenol canforado e glicerina (HPG) com óleo ozonizado, no tratamento endodôntico de dentes despolpados com lesão perirradicular associada: estudo radiográfico, histopatológico e histobacteriológico em cães. Não observou diferença significativa entre estas substâncias, no tratamento destas lesões.

3 PROPOSIÇÃO

Considerando a literatura consultada, julgamos necessário avaliar *in vitro* a associação do efeito antimicrobiano do ozônio, nos veículos (óleo de oliva, óleo de girassol e propilenoglicol) e outras substâncias de conhecida efetividade como medicação intracanal (Calen, Calen PMCC e propilenoglicol mais Hidróxido de Cálcio) mediante à técnica de difusão em ágar (mensuração do halo de inibição) em culturas de bactérias “*Pseudomona aeruginosa* e *Entrococcus faecalis*”, em períodos de tempo (1, 7, 15, 30 e 180 dias) de armazenagem após de sua ozonização.

4 MATERIAL E MÉTODO

Para o desenvolvimento de nossa pesquisa “Avaliação *in vitro* do efeito antimicrobiano do ozônio associado a veículos e curativos de demora por diferentes períodos de tempo de armazenagem”, foram utilizados curativos de demora com conhecida ação antimicrobiana e de maior aceitação entre os endodontistas do Brasil e grande parte do mundo: o hidróxido de cálcio em sua apresentação comercial pronto para uso “Calen[®]” e “Calen PMCC[®]”, além dos produtos ozonizados “óleo de oliva”; “óleo de girassol”; “propilenoglicol”, “Calen ” e “Calen PMCC” dos quais foram avaliados os halos de inibição produzidos em cultivos de bactérias: “*E. faecalis*” e “*P. aeruginosa*”.

4.1 Obtenção e preparação da amostra

As amostras foram obtidas da forma seguinte:

No comércio

- HIDRÓXIDO DE CÁLCIO “Calen ” (SS White Artigos Dentários Ltda., indústria brasileira): pasta pronta para uso como curativo de demora. Composta de Hidróxido de cálcio 2.5 g; óxido de zinco 1,0 g; colofônia 0,05 g; polietilenoglicol 400 1,75 ml;
- HIDRÓXIDO DE CÁLCIO + PARAMONOCLOROFENOL CANFORADO (PMCC) “Calen -PMCC” (SS White Artigos Dentários Ltda., indústria brasileira): pasta pronta para uso como curativo de demora. Composta de Hidróxido de cálcio

2,5 g; óxido de zinco 1,0 g; colofônia 0,05 g; polietilenoglicol 400 1,75 ml;
Paramonoclorofenol canforado (2,5:7,5) 0,15 ml;

- ÓLEO DE OLIVA (extra virgem “ANDALUZIA”, Euro Comércio Ltda. indústria brasileira);
- ÓLEO DE GIRASSOL (“SIOL” Siol alimentos Ltda. indústria brasileira);
- PROPILENOGLICOL (indústria brasileira: líquido viscoso límpido, higroscópico, hidrofílico, volátil, não irritante da pele, cuja fórmula molecular é $C_3H_8O_2$; de peso molecular 76,09; amplamente utilizado pela indústria farmacêutica como veículo de um grande número de medicamentos de uso tópico, digestivo, retal e parenteral entre eles produtos antibacterianos).

Por processo de ozonização

- CALEN OZONIZADO;
- CALEN -PMCC OZONIZADO;
- ÓLEO DE OLIVA OZONIZADO;
- ÓLEO DE GIRASSOL OZONIZADO;
- POLIETILENGLICOL OZONIZADO;
- POLIETILENOGLICOL + HIDRÓXIDO DE CÁLCIO OZONIZADO.

Processo de ozonização

Os materiais a serem ozonizados foram colocados em tubos de ensaio 5 mL de cada produto e submetidos à borbulhagem de ozônio por um tempo de 60 minutos cada, obtido de um gerador de ozônio por arco voltaico “TURBOZONO” (modelo ME500) com potência de

0,5 A, de fabricação peruana. A pressão de alimentação de oxigênio medicinal foi de 0,5 litros/minuto com uma potência de conversão de 1 (potência máxima do gerador) o que produz uma concentração de ozônio de 13.2 mg/l.(Figura 1)

Os produtos ozonizados foram armazenados na geladeira a 0,5 °C aproximadamente em tubinhos de plástico tipo Carpule esterilizados, até o dia de serem utilizados.

4.2 Sustâncias controle negativo

- Óleo de oliva;
- Óleo de girassol;
- Propilenoglicol.

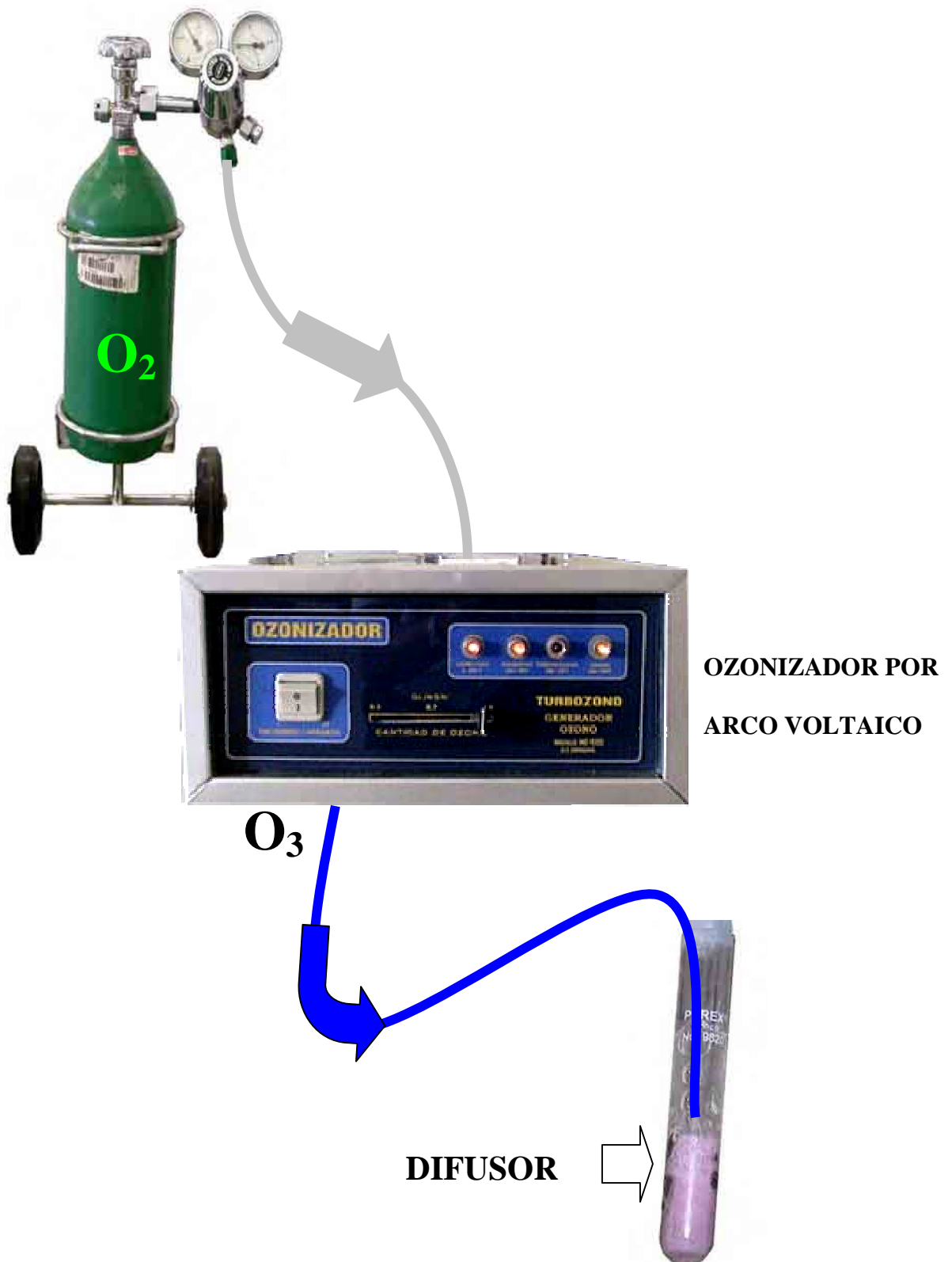


FIGURA 1 - Processo de ozonização.

Quadro 1 - Distribuição da amostra

MATERIAS DAS AMOSTRAS	
Nº	Material
1	Óleo de oliva ozonizado
2	Óleo de girassol ozonizado
3	Calen PMCC
4	Calen PMCC ozonizado
5	Calen ozonizado
6	Calen
7	Propilenoglicol ozonizado
8	Propilenoglicol ozonizado+ Ca(OH) ₂
9	Propilenoglicol
10	Óleo de girassol
11	Óleo de oliva

4.3 Indicadores

Para avaliar o efeito antimicrobiano dos materiais testados na pesquisa foram utilizados, como microrganismos indicadores, uma bactéria aeróbia (*P. aeruginosa*) e uma bactéria anaeróbia facultativa (*E. Faecalis*), de cepas padrões internacionais, do estoque do Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Farmacia UNESP – Araraquara. Estas bactérias são frequentemente isoladas nos canais radiculares de dentes infectados.

Bactérias

- *E. Faecalis* (ATCC: 10541);
- *P. aeruginosa* (ATCC: 27853).

4.4 Meio de cultura

Foi utilizado o meio de cultura de Ágar Muller Hinton (Bacto[®]) Laboratórios DIFCO Ltda., que é um meio de cultura comum para as duas bactérias indicadoras a serem usadas.

Muller Hinton (MHB)

Composição: Infusão de carne 300,0 g/l; Casamino ácidos 17,5 g/l; Amido 1,5 g/l; Bacto agar 17,0g/l; Ph $7,3 \pm 0,2$; T° 25°C.

Preparação

Para 38 g do produto desidratado Muller Hinton (MHB), colocado em um balão de vidro, foram adicionados 1.000,0 mL de água destilada, autoclavando-se por 20 minutos a uma temperatura de 120°C, após a esterilização, foram distribuídos assepticamente, com auxílio de pipetas previamente autoclavadas, em placas de Petri de 20 x 100 mm esterilizadas, na porção de 20 mL para cada placa.

As bactérias padrão foram submetidas à turbação a escala Mac Farland, 10^2 em médio de cultura Trypticaseína de Soja Bacto (TSB) e logo semeadas em 3 placas de Petri cada, fazendo um total de 6 placas cultivadas por tempo de avaliação. Foram observados cuidados como a assepsia e a distribuição homogênea da solução contendo as bactérias sobre toda a superfície do meio de cultura na placa de Petri. Em cada placa foram feitos leitos que alojaram os materiais testados, para o que se utilizo uma seringa tipo Carpule, enchendo os leitos até o nível de o médio de cultura. Os materiais foram avaliados em cinco períodos de tempo após terem sido preparados (ozonizados).

Os materiais não ozonizados foram utilizados tal como são apresentados no comércio.

4.5 Avaliação

4.5.1 Avaliação da amostra

Os materiais em avaliação (Quadro 1), foram colocados nos leitos nas placas de Petri contendo os cultivos das bactérias em 5 tempos diferentes para cada uma:

- Imediatamente após a ozonização dos materiais (três placas);
- Sete dias após a ozonização dos materiais (três placas);
- 15 dias após a ozonização dos materiais (três placas);
- 30 dias após a ozonização dos materiais (três placas);
- 180 dias após a ozonização dos materiais (três placas);
- A formação dos halos de inibição foi medida após 48 horas, para cada tempo de avaliação.

Para medir o halo de inibição, foi utilizada uma régua milimetrada, levando-se em conta o menor diâmetro do halo formado em volta de cada substância avaliada.

4.5.2 Avaliação estatística

A análise estatística não se realizou devido à diferença de difusibilidade no ágar dos veículos empregados na presente investigação. O tamanho da zona de inibição necessariamente não reflete a potência do agente antimicrobiano, a valorização de atividade de cada material foi realizada considerando a presença ou ausência da zona de inibição, em

concordância com trabalhos realizados por Sipert et al.⁸³ 2005.; Leonardo et al.⁶⁰(2000); Al-Khatib et al.² (1990); Barkhordar⁸ (1989).

5 RESULTADO



FIGURA 2 - Halos de inibição formados sobre *P. aeruginosa* 1.óleo de oliva ozonizado 2. óleo de girassolozonizado 3. Calen PMCC 4. Calen PMCC ozonizado 5. Calen 6. Calen ozonizado 7. propilenoglicol ozonizado 8. propilenoglicol ozonizado + Ca(OH)₂ 9. propilenoglicol (controle)

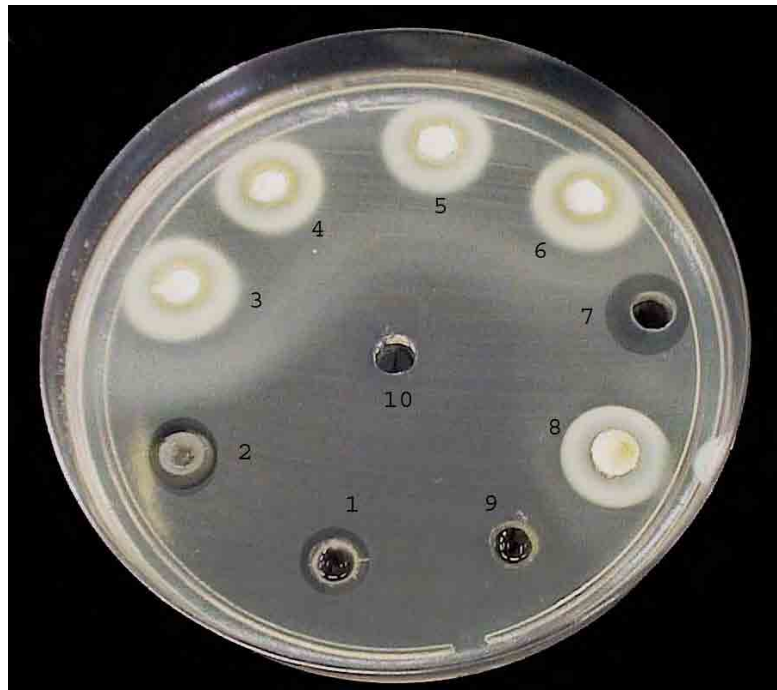


FIGURA 3 - Halos de inibição formados sobre *E. faecalis* 1.óleo de oliva ozonizado 2. óleo de girassol ozonizado 3. Calen PMCC 4. Calen PMCC ozonizado 5. Calen 6. Calen ozonizado 7. propilenoglicol ozonizado 8. propilenoglicol ozonizado + Ca(OH)₂ 9. óleo de oliva (controle) 10. propilenoglicol (controle)

Tabela 1 - Média da medição dos halos de inibição das três placas semeadas com *P. aeruginosa*, produzidas pelos materiais em avaliação em cada período de tempo após a ozonização. (R: resistente)

<i>P. aeruginosa</i>						
Nº	Materiais	No dia	7 D	15 D	30 D	180 D
1	Óleo de oliva ozonizado	R	R	R	R	R
2	Óleo de girassol ozonizado	R	R	R	R	R
3	Calen PMCC	22,0	21,3	20,7	21,7	21,3
4	Calen PMCC ozonizado	20,7	19,3	20,3	20,7	20,3
5	Calen ozonizado	11,3	12,0	11,3	11,3	11,3
6	Calen	11,3	12,0	11,0	10,7	10,3
7	Propilenoglicol ozonizado	10,3	13,0	12,3	13,0	13,0
8	Propilenoglicol ozonizado+ Ca(OH) ₂	9,3	11,0	10,7	10,7	10,3
9	Propilenoglicol	R	R	R	R	R
10	Óleo de girassol	R	R	R	R	R
11	Óleo de oliva	R	R	R	R	R

Tabela 2 - Média da medição dos halos de inibição das três placas semeadas com *E. faecalis*, produzidas pelos materiais em avaliação em cada período de tempo após a ozonização. (R: resistente)

<i>E. faecalis</i>						
Nº	Materiais	No dia	7 D	15 D	30 D	180 D
1	Óleo de oliva ozonizado	8,7	8,3	8,7	6	6
2	Óleo de girassol ozonizado	10,7	10,3	10,7	8,3	8
3	Calen PMCC	11,3	11,3	11,3	10	10
4	Calen PMCC ozonizado	9,3	9	9,3	9,7	9,7
5	Calen ozonizado	6	6	6	6	6
6	Calen	6	6	6	6	6
7	Propilenoglicol ozonizado	11,3	11,3	11	9,3	9,7
8	Propilenoglicol ozonizado+ Ca(OH) ₂	8,7	8,7	7,3	7,7	7,7
9	Propilenoglicol	R	R	R	R	R
10	Óleo de girassol	R	R	R	R	R
11	Óleo de oliva	R	R	R	R	R

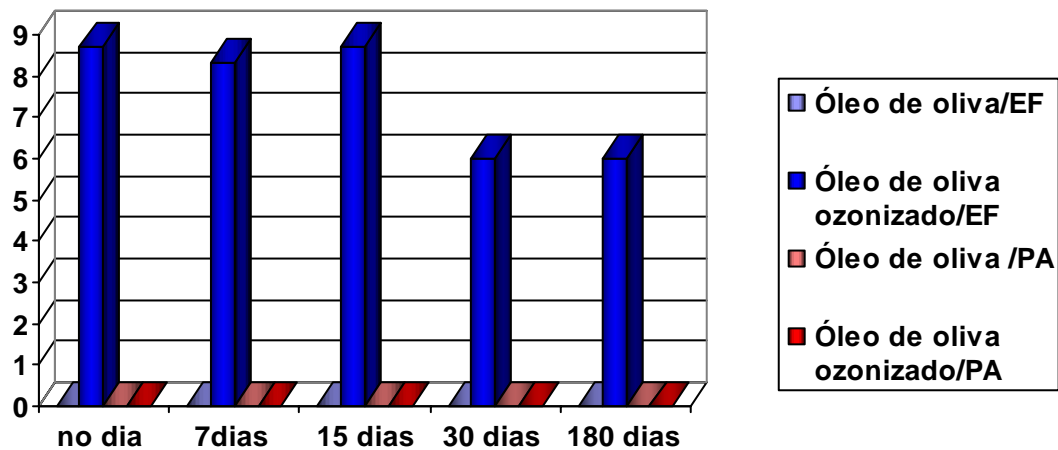


GRÁFICO 1 - Efeito antimicrobiano, em milímetros, de halo de inibição do Óleo de oliva e Óleo de oliva ozonizado sobre as bactérias indicadoras *E. faecalis* (EF) y *P. aeruginosa* (PA) nos períodos de tempo avaliados após a ozonização.

Interpretação

O presente gráfico nos mostra que o óleo de oliva incorporou e reteve o efeito antimicrobiano do ozônio durante os 5 períodos avaliados, gerando um halo de inibição de 8,7mm, observando uma diminuição deste efeito aos 30 dias, a 6,0mm, mantendo este nível até os 180 dias sem variação; observa-se também que este efeito só se deu sobre o *E. faecalis* e não sobre *P. aeruginosa* onde não se formou halo de inibição.

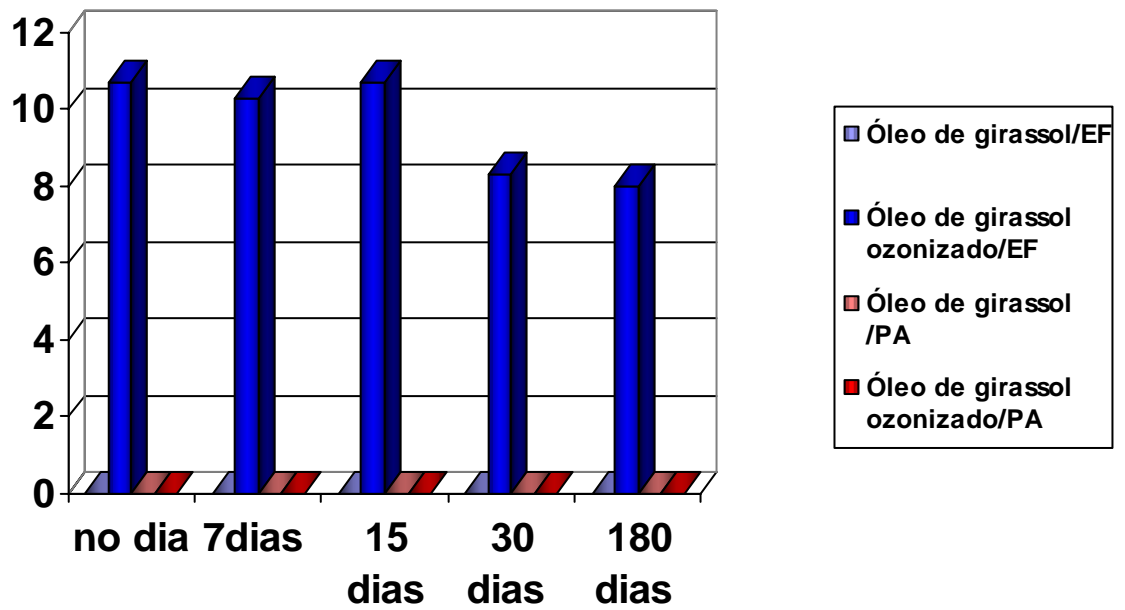


GRÁFICO 2 - Efeito antimicrobiano do Óleo de girassol e Óleo de girassol ozonizado em milímetros de halo de inibição, sobre as bactérias indicadoras *E. faecalis* (EF) y *P. aeruginosa* (PA) nos períodos de tempo avaliados após a ozonização.

Interpretação

O presente gráfico nos mostra que o óleo de girassol incorporou e reteve o efeito antimicrobiano do ozônio durante os 5 períodos avaliados, gerando um halo de inibição de 10,7mm, uma diminuição deste efeito aos 30 dias, a 8,3mm, e até 8,0mm aos 180 dias, observa-se também que este efeito só se deu sobre o *E. faecalis* e não sobre *P. aeruginosa* onde não se formou halo de inibição.

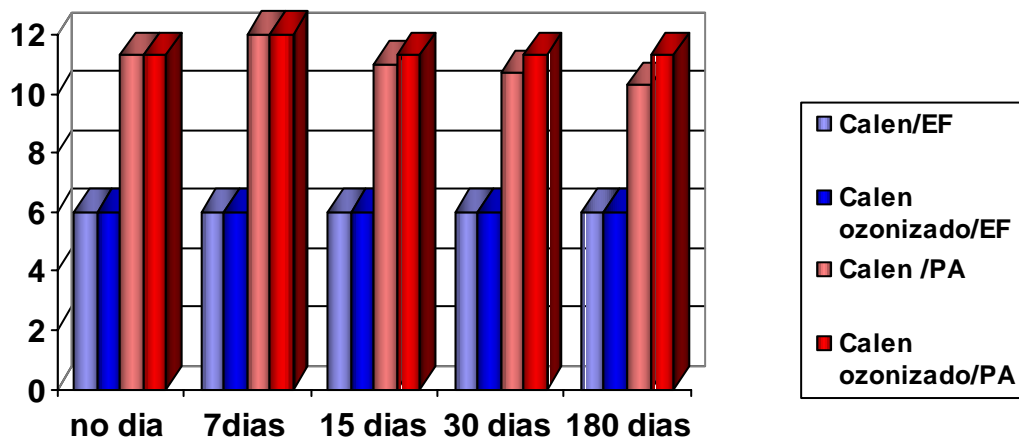


GRÁFICO 3 - Efeito antimicrobiano do Calen e Calen ozonizado, em milímetros de halo de inibição, sobre as bactérias indicadoras *E. faecalis* (EF) y *P. aeruginosa* (PA) nos períodos de tempo avaliados após a ozonização.

Interpretação

O presente gráfico mostra que o Calen teve atividade antimicrobiana em ambas bactérias formando um halo de inibição de 6mm sobre o *E. faecalis* durante todo o tempo de avaliação ao igual que o Calen ozonizado. Sobre a *P. aeruginosa* formou um maior halo de inibição sendo de 11,3 mm no dia, aumenta a 12 mm; no sétimo dia e diminui gradualmente até 10,3 aos 180 dias. O Calen ozonizado mostra que teve uma pequena maior ação sobre *P. aeruginosa* aos 15 dias em 0,3 mm mantendo este halo até os 180 dias.

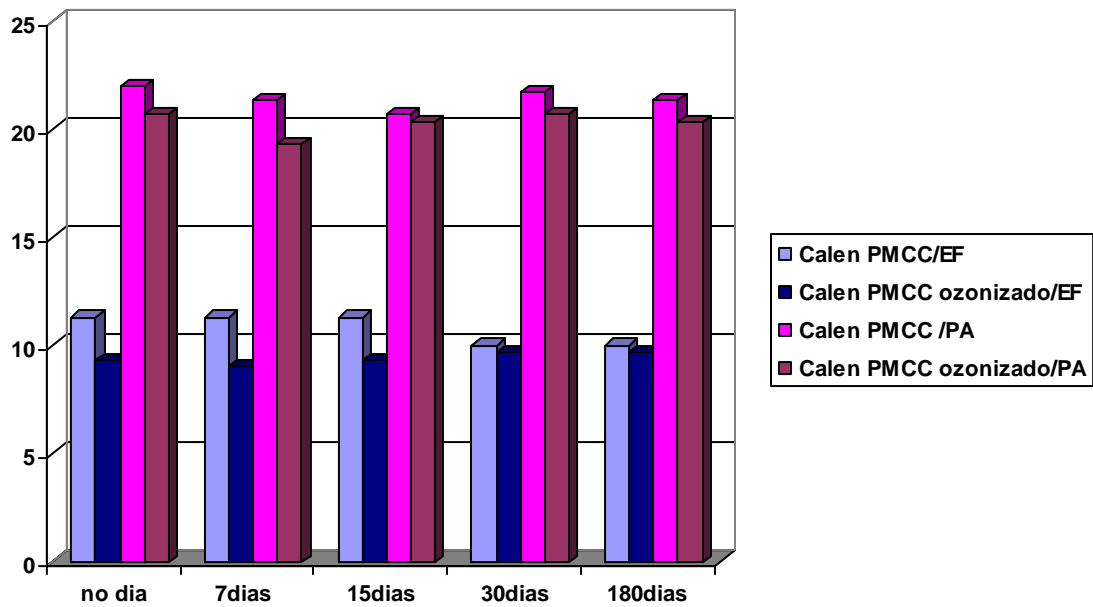


GRÁFICO 4 - Efeito antimicrobiano do Calen PMCC e Calen PMCC ozonizado, em milímetros de halo de inibição, sobre as bactérias indicadoras *E. faecalis* (EF) e *P. aeruginosa* (PA) nos períodos de tempo avaliados após a ozonização.

Interpretação

O presente gráfico mostra que o Calen PMCC gerou o maior halo de inibição sobre o *P. aeruginosa*, 22 mm, mostrando pequena diminuição até quinze dias ficando em 20,7 mm, acresce em 0,6 mm aos trinta dias ficando aos 180 dias em 21,3 mm . O Calen PMCC ozonizado mostra semelhante comportamento no tempo com pequena diminuição do halo de inibição em relação ao Calen PMCC, em 1,3 mm no primeiro dia e 1,0 mm aos 180 dias de avaliação.

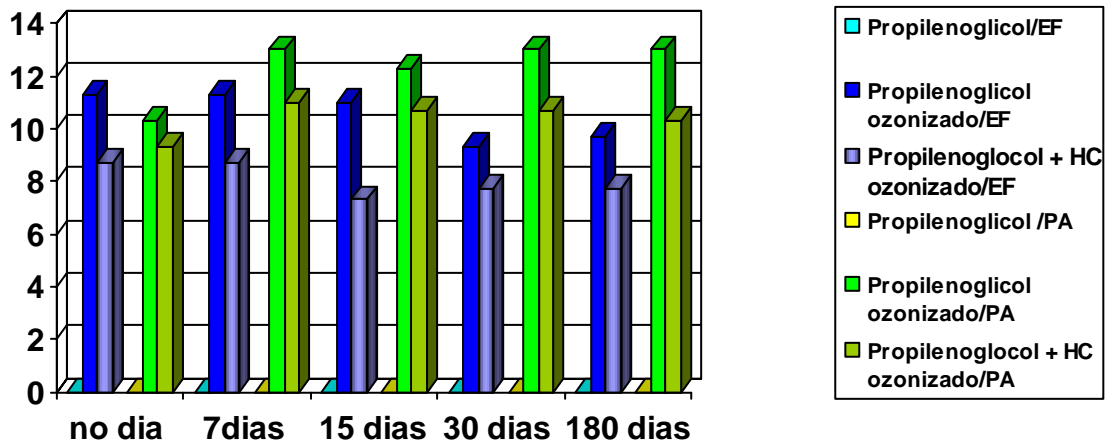


GRÁFICO 5 - Efeito antimicrobiano do Propilenoglicol; Propilenoglicol ozonizado e Propilenoglicol + hidróxido de cálcio (HC) ozonizado, em milímetros de halo de inibição, sobre as bactérias indicadoras *E. faecalis* (EF) y *P. aeruginosa* (PA), nos períodos de tempo avaliados após da ozonização.

Interpretação

O presente gráfico mostra que o propilenoglicol ozonizado teve o maior halo de inibição, e ainda maior sobre o *P. aeruginosa*, 10,3 mm, aumentando este efeito ao sétimo dia a 13 mm, e mantendo este efeito por todo o tempo de avaliação, acontecendo o contrário frente a *E. faecalis* que mostrou um halo de inibição inicial de 11,3 mm, e uma pequena diminuição do halo de inibição aos 15 dias até 30 dias em 2,0 mm, ficando este halo em 9,7mm ao final do tempo avaliado. O propilenoglicol ozonizado mais hidróxido de cálcio mostra pequena diminuição do halo de inibição em relação ao propilenoglicol ozonizado, mais seu comportamento durante o tempo é semelhante ao propilenoglicol ozonizado em ambas bactérias, gerando um halo de inibição inicial sobre a PA de 9,3 mm. aumentando a 11,0 mm ao sétimo dia, decrescendo para 10,7 mm aos 15 e 30 dias e 10,3 mm aos 180 dias.

Sobre o EF formou um halo de inibição inicial de 8,7 mm, diminuindo este halo para 7,3 mm o dia quinze, ficando em 7,7mm aos 30 e 180 dias.

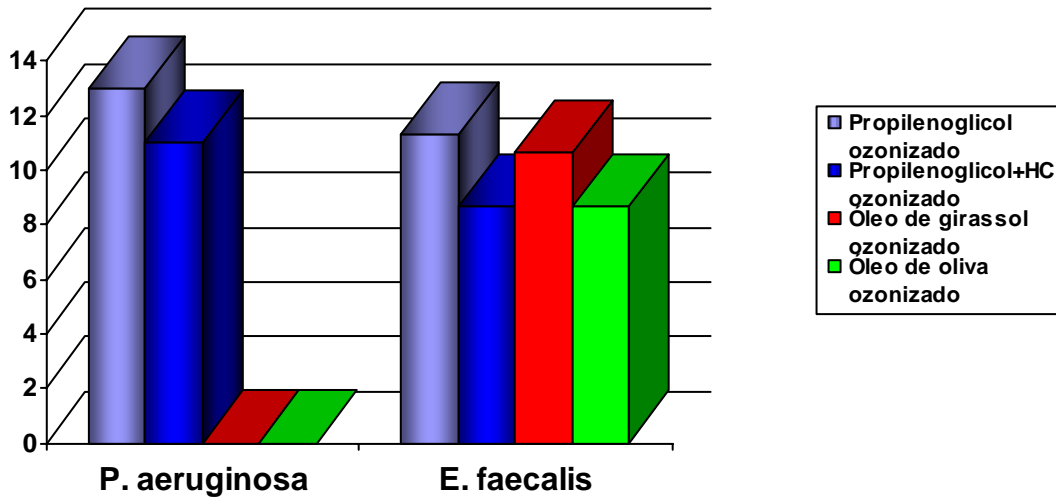


Gráfico 6 - Materiais ozonizados que tiveram formação de halo de inibição, sobre as bactérias indicadoras *E. faecalis* (EF) y *P. aeruginosa* (PA)

Interpretação

No presente gráfico que mostra o comportamento dos produtos ozonizados que tiveram formação de halo de inibição aumentada, pode-se ver que o propilenoglicol ozonizado teve o maior halo de inibição em ambas bactérias, e ainda maior sobre o *P. aeruginosa*, seguida de propilenoglicol ozonizado mais hidróxido de cálcio que também formou halo de inibição em ambas bactérias. O óleo de girassol formou halo de inibição maior sobre o *E. faecalis* que o propilenoglicol ozonizado mais hidróxido de cálcio; mas, sobre a *P. aeruginosa* não teve nenhuma atividade. Da mesma forma o óleo de oliva teve atividade frente a *E. faecalis*, mas em menor quantidade que o óleo de girassol e em igual potencia que

o propilenoglicol ozonizado mais hidróxido de cálcio. Frente a *P. aeruginosa* o óleo de oliva também não teve nenhuma atividade.

6 DISCUSSÃO

6.1 Da metodologia

Para realizar uma avaliação do efeito antimicrobiano de um material ou substância de uso odontológico, podem-se realizar técnicas de avaliação tanto *in vivo* como *in vitro*.²⁹

Desde que se sabe que as bactérias são responsáveis pelos processos patogênicos da polpa dental, muitos autores já realizaram avaliações do efeito bactericida dos mais variados anti-sépticos, na tentativa de encontrar uma substância capaz de as eliminar do sistema de canais radiculares dos dentes e não causar dano aos tecidos adjacentes.^{29,52,112}

Objetivando testar a eficácia dos medicamentos utilizados como curativo intracanal, Haapasalo e Orstavik⁴⁴ em 1987, desenvolveram um modelo *in vitro* para avaliar a infecção de túbulos dentinários a partir de incisivos bovinos, recentemente extraídos. Após a remoção do cimento, os canais foram ampliados em média até 2 mm de diâmetro, tratados com EDTA a 17% e hipoclorito de sódio a 5,25%, com auxílio de ultra-som, para remoção da camada de *smear layer* e a seguir infectados com cultura de *E. faecalis*. Decorrido o tempo preestabelecido, os espécimes foram analisados pela microscopia óptica e eletrônica de varredura. Os autores concluíram que o modelo sugerido parece adequado para testes *in vitro* de medicamentos intracanaís.

Em 1999, Estrela et al.³³ tentando aproximar-se mais da realidade avaliaram a atividade antibacteriana do hidróxido de cálcio nos túbulos dentinários de dentes humanos infectados com *E. faecalis*, *S. aureus*, *Bacillus subtilis* e *P. aeruginosa*, e uma mistura destes.

Bonetti¹⁶ (2000) fez uma avaliação radiográfica, histopatológica e histomicrobiológica, *in vivo*, de tratamentos de canal radicular em dentes de cães com necrose pulpar e lesão periapical crônica induzida, realizado em sessão única e duas sessões,

utilizando três diferentes curativos de demora; e Pereira⁷⁷ (2002), fez uma avaliação utilizando cães para realizar uma:

[]...Comparação do efeito da medicação intracanal com pasta HPG (hidróxido de cálcio, paramonoclorofenol canforado e glicerina) e com óleo ozonizado, no tratamento endodôntico de dentes despulpados com lesão perirradicular associada: estudo radiográfico, histopatológico e histobacteriológico.

Ao final do estudo, não encontrou diferença significativa entre estes produtos para o tratamento endodôntico destes dentes.

Além disso, Siqueira Jr. et al.⁹⁰ 2000, tendo um novo medicamento, avaliaram a atividade antibacteriana do óleo de girassol ozonizado e do hidróxido de cálcio associados ao paramonoclorofenol canforado (PMCC)/glicerina ou ao tricresol formalina/glicerina contra bactérias comumente envolvidas na etiopatogenia das doenças perirradiculares. A metodologia empregada foi o teste de sensibilidade aos antimicrobianos (formação de halo de inibição em cultura de bactérias). Observando a maior eficácia de atividade antibacteriana para o óleo ozonizado.

Aliás, o efeito antimicrobiano do ozônio tem sido amplamente estudado, tanto *in vivo* como *in vitro*, em nosso trabalho pesquisamos uma substância consagrada na literatura como veículo de amplo uso em farmacotécnica, o propilenoglicol, do qual não se tinha nenhuma informação em relação a sua ação antimicrobiana quando misturada ao ozônio. Foi-se seguindo à técnica de avaliação utilizada por Siqueira et al.⁹⁰ (2000) e a da farmacologia, onde para se encontrar um medicamento ideal frente a uma bactéria desconhecida e/ou resistente a alguns antibióticos ou antimicrobianos, utiliza-se o teste de difusão em meio de cultura, chamado antibiograma ou teste de sensibilidade aos antimicrobianos respectivamente, sendo justificada e obrigatória, fazer uma avaliação antimicrobiana inicial *in vitro*, especialmente, o teste de difusão em ágar; esta técnica deu para nos a afinidade pelo ozônio das substâncias

avaliadas e seu comportamento no tempo após a ozonização, o que se traduz em uma projeção de seu efeito antimicrobiano.

6.2 Escolha das bactérias indicadoras

São múltiplas as cepas bacterianas isoladas do canal radicular, mas também é conhecido que na infecção da polpa em seus estágios iniciais são encontrados microrganismos predominantemente aeróbios, e quando esta avança apicalmente torna-se mista, podendo se encontrar bactérias tanto aeróbias como anaeróbias facultativas, sendo que no terço apical são predominantemente anaeróbias.^{56,75}

Estrela et al.³⁰ (1995), para analisar o efeito antibacteriano de duas pastas de hidróxido de cálcio, uma associada ao soro fisiológico e outra ao paramonoclorofenol canforado, usaram culturas puras de uma bactéria aeróbia, considerada de difícil eliminação, *P. aeruginosa*, e duas bactérias anaeróbias facultativas, *E. coli* e *E. faecalis*, onde demonstraram que as duas pastas de hidróxido de cálcio foram eficazes sobre as bactérias analisadas, proporcionando diferentes halos de inibição de crescimento bacteriano.

O *E. faecalis*, um coco gram-positivo anaeróbio facultativo, também tem sido isolado com relativa freqüência de canais infectados, sendo considerado um dos poucos microrganismos facultativos associados com lesões perirradiculares persistentes.^{56,75,95} *Enterococcus SP* pode apresentar resistência a uma gama variada de agentes antimicrobianos e, assim, causar infecções de difícil tratamento.^{48,111}

Devido a essas premissas achamos interessante avaliar as propriedades antimicrobianas destes materiais frente a uma cultura bacteriana aeróbia e outra anaeróbia facultativa.

Tendo em conta estas referências e em coordenação com o Laboratório de Microbiologia Clínica da UNESP, foram utilizadas para nossa pesquisa, como bactérias indicadoras a *P. aeruginosa* (aeróbia) e *E. faecalis* (anaeróbia facultativa).

6.3 Escolha das amostras das substâncias avaliadas e resultados

São muitas as substâncias utilizadas na Endodontia para combater os microrganismos do canal radicular, as quais já foram estudadas amplamente pelos cientistas e clínicos endodontistas, tentando-se encontrar a substância ideal para a desinfecção total do sistema de canais radiculares. No presente trabalho de pesquisa foram avaliadas as substâncias, que de acordo com a literatura especializada, são consideradas como as mais aceitas por suas propriedades antimicrobianas e biocompatibilidade. O hidróxido de cálcio é um dos curativos de demora mais utilizado e estudado pelos cientistas e, dentre as múltiplas apresentações comerciais, o mais popular é o “Calen”, desenvolvido por Leonardo et al.⁵⁶. Estudos de outros e mesmo destes autores, demonstraram que existem microrganismos resistentes a esta medicação, por este motivo adicionou o paramonoclorofenol canforado (Calen PMCC) para total eliminação destes microrganismos, um exemplo é o *E. faecalis*, freqüentemente encontrado em retratamentos endodônticos.¹⁰⁵

O objetivo de misturar o ozônio ao Calen e Calen PMCC foi aumentar o potencial antimicrobiano destas pastas.

Os resultados de nossa pesquisa (Figuras 2 e 3), mostram que o Calen quando misturado ao ozônio não teve variação nenhuma sobre o halo de inibição da *P. aeruginosa* e só um pequeno incremento sobre o *E. faecalis* a partir dos 15 dias em 0,3mm, o que fez chegar-se a conclusão que a pasta Calen aparentemente não foi capaz de incorporar o ozônio. Acreditamos que este resultado se deu porque a consistência da pasta Calen, não permitiu uma boa mistura e incorporação do ozônio aos seus componentes.

Os resultados para o Calen PMCC foram ainda mais desalentadores, porque a ação antimicrobiana, contrariamente ao nosso objetivo, diminuiu quando misturado ao ozônio; concluindo-se que no momento da ozonização a pasta Calen PMCC pode ter tido uma alteração em um dos seus componentes, como a evaporação do cloro, na qual reduziu sua ação antimicrobiana, ou de acordo com a sugestão de Nasser* o PMCC reage com o ozônio podendo sofrer uma oxidação, formando catecol ou se degradar a ácido oxálico + ácido fórmico (reações em anexo), diminuindo assim sua atividade antimicrobiana.

O óleo de girassol ozonizado é também um anti-séptico amplamente desenvolvido, estudado e usado, especialmente em Cuba pelo CNIC (Centro Nacional de Investigación de Cuba). Recentemente, foi difundido em muitos países do mundo, na Endodontia foi testado *in vitro* por Siqueira Jr. et al.⁹⁰ (2000) que o compararam com pastas de hidróxido de cálcio, mostrando efetividade frente à *E. faecalis*; e *in vivo* por Pereira⁷⁷ (2002) que não encontrou diferença significativa tanto radiográfica como histológica, após tratamento com curativo de demora à base de pastas de hidróxido de cálcio com PMCC, e óleo de girassol ozonizado em dentes de cães com lesão periapical induzida com *E. faecalis*.

Quanto ao óleo de oliva ozonizado, encontram-se alguns textos na internet, mas não se tem informação específica a respeito de sua elaboração; por este motivo achamos importante

* NASSER, LM (Instituto de Química, UNESP – Campus de Araraquara) Comunicação pessoal, 2006

avaliar o “Óleo de Oliva Extra Virgem” ozonizado, que por sua pureza química pode ser um bom veículo para o ozônio.

Os resultados de nossa pesquisa (Figuras 2 e 3), mostram que o óleo de girassol tem maior afinidade pelo ozônio do que o óleo de oliva extra virgem. (Gráficos 1 e 2) confirmando o estudo feito por Contreras et al.⁴³ (1989), no Centro Nacional de Investigações Científicas (CNIC), em Cuba, onde foram realizados estudos sobre a substituição do azeite de oliva ozonizado por azeite de girassol.

Aliás, a eficácia antimicrobiana do óleo ozonizado está demonstrada, no entanto nós acreditamos que o ozônio pode se misturar com veículos viscosos de maior poder de difusão e mais fáceis remoção do interior do canal radicular. Cruz et al.²⁵ (2002), fizeram um estudo comparando a capacidade de difusão da água e o propilenoglicol na dentina humana, demonstrando que o propilenoglicol é um veículo de grande difusão na dentina e que seria um ótimo veículo para um agente antibacteriano o qual, de acordo com nossos resultados, aparentemente foi encontrado.

O propilenoglicol é um líquido viscoso límpido, inodoro, incolor, higroscópico, hidrofílico, volátil, não irritante da pele, cuja fórmula molecular é $C_3H_8O_2$; de peso molecular 76,09; amplamente utilizado pela indústria farmacêutica como veículo de um grande número de medicamentos de uso tópico, digestivo, retal e parenteral, entre eles produtos antibacterianos.⁷⁹

Os resultados da presente pesquisa (Figuras 2 e 3), demonstraram que o propilenoglicol é um veículo que tem grande afinidade pelo ozônio e sua atividade antimicrobiana é mantida no tempo (Gráfico 5 -6), e dentre os materiais avaliados, foi quem mais atendeu nossas expectativas, ficando o propilenoglicol ozonizado como um curativo intracanal que deve ser pesquisado mais amplamente até conseguir-se as condições ideais para

sua utilização tanto na endodontia como em outras especialidades da odontologia e na medicina em geral.

7 CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia empregada e os resultados obtidos da avaliação da formação ou não de halos de inibição em culturas de bactérias “*P. aeruginosas* e *E. faecalis*”, podemos concluir que:

1. Tanto o Calen como o Calen PMCC, não têm associação sinérgica com o ozônio, mas possuem atividade antimicrobiana própria e estabilidade no tempo;
2. O óleo de girassol tem melhor capacidade de associação com o ozônio que o óleo de oliva e ambos têm estabilidade no tempo e ação antimicrobiana somente sobre “*E. faecalis*”;
3. O propilenoglicol tem melhor capacidade de associação com o ozônio e boa estabilidade no tempo, mantendo a atividade antimicrobiana;
4. O propilenoglicol, mas hidróxido de cálcio tem menor capacidade de associação com o ozônio que o propilenoglicol e melhor capacidade de associação que o óleo de girassol, possuindo ação antimicrobiana e estabilidade no tempo.

8 REFERÊNCIAS *

1. ABBOTT, P. V. Medicaments: aids to success in endodontics. Part. 1 A review of the literature. **Aust. Dent. J.**, Sydney, v.35, n.5, p.438-448, Oct. 1990.
2. AL-KHATIB Z. Z.; BAUM R. H.; MORSE D. R.; YESILSOY C.; BHAMBHANI S.; FURST M. L. The antimicrobial effect of various endodontic sealers. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 70, n.6, p.784–790, Dec. 1990.
3. ALMYROUDI, A.; MACKENZIE, D.; Mc HUGH, S.; SAUNDERS, W. P. The effectiveness of various disinfectants used as endodontic intracanal medications: an in vitro study **J. Endod.**, Chicago, v.28, n.3, p.163-167, Mar. 2002.
4. ALVES, J. A.; ZINET, M. P. A.; GONÇALVES, E. N. Novos avanços na microbiologia endodôntica: uma breve revisão. **Rev. Paul. Odont.**, São Paulo, v.16, n.1, p.22-32, jan./feb. 1994.
5. ANTHONY, D. R.; GORSON, T. M.; Del RIO, C. E. The effect of three vehicles on the pH of calcium hydroxide. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, Saint Louis, v.54, n.5 p.560-565, Nov. 1982.
6. ARITA, M.; NAGAYOSHI, M.; FUKUIZUMI, T.; OKINAGA, T.; MASUMI S.; MORIKAWA, M.; KAKINOKI, Y.; NISHIHARA, T. Microbicidal efficacy of ozonated water against *Candida albicans* adhering to acrylic denture plates. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v.20, n.4, p.206–210, Ago. 2005.

* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS **NBR - 6023**: informação e documentação – referências – elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24p.

7. ASSED, S. **Prevalência de microrganismos em canais radiculares de dentes humanos com reação periapical crônica. Efeito do preparo biomecânico e do "curativo de demora".** **Immunofluorescência indireta e cultura.** 1993. 110p. Tese (Livre-Docência) - Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1993.
8. BARKHORDAR R. A. Evaluation of antimicrobial activity in vitro of ten root canal sealers on *Streptococcus sanguis* and *Streptococcus mutans*. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v.68, n.6, p.770-772, Dec. 1989.
9. BARROMEI, A.; MAITAN, S. **I radicali liberi dell'ossigeno.** Milão: Masson, 1995, p.159.
10. BAUMGARTNER, J. C.; FALKLER, W. A. Bacteria in the apical 5 mm of infected root canals. **J. Endod.**, Chicago, v.17, n.8, p.380-383, Aug. 1991.
11. BAUMGARTNER, J. C.; WATKINS, B. J.; BAE, K. S. Identification of bacterial species in root canal infections. **J. Endod.**, Chicago, v.22, n.4, p.200, Apr. 1996. Abstract n.49.
12. BEHAR, R.; GARCIA, C. E.; MENÉNDEZ, S.; GÓMEZ, M. Tratamiento de la úlcera gastroduodenal con ozono. **Rev. CENIC Ciene Biol.**, Habana, v.20, n.1/3, p.59, 1989.
13. BERBERT, F. L. C. V.; FERLINI FILHO, J.; SANTA CECÍLIA, M.; NUÑES, E.; RAMOS, C. A. S.; SOUZA, S. M. G.; CONSOLARO, A. Ação terapêutica do hidróxido de cálcio, seus derivados e associados. **Rev. ABO Nac.**, São Paulo, v.4, n.6, p.366-369, dez./jan. 1997.
14. BOCCI, V. Ozonoterapia: ieri, oggi e domani? Ossigeno Ozono, **Fitness News**, Milan, v.6, n.1, p.12, Jan.1994.
15. BOHÓRQUEZ ÁVILA, S, P.; ROCHA, R. S. S.; CONSOLARO, A. Avaliação da presença e localização de bactérias nos canais radiculares e nas lesões periapicais,

- crônicas pelo método de coloração de Brown e Brenn. **Rev. FOB**, Bauru v.3, n.1/4, p.25-31, jan./dez. 1995.
16. BONETTI F. I. **Tratamento de canal radicular de dentes de cães com necrose pulpar e lesão periapical crônica induzida, realizado em sessão única e duas sessões, utilizando três diferentes curativos de demora. Avaliação radiográfica, histopatológica e histomicrobiológica.** 2000. Tese 336f. (Livre docência em Endodontia) Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2000.
 17. BRAUNER, A. W. In vitro and clinical examination of the effect of ozone/oxygen gas mixture on impression material on the oral microflora. In: WORLD CONGRESS OZONE IN MEDICINE, 11., 1993 San Francisco. **Proceedings...** San Francisco, 1993.
 18. BRUZADELLI-MACEDO, S.; CARDOSO, C. C.; MAYRINK, A. S.; DEMARTINI, G.; FRASCHINI, F. Mandible-ozone therapy for osteomyelitis: literature review and case report **Int. J. Drugs Ther.**, Chicago, v.29, n.1/2, p.77-81, Dec. 2002.
 19. BYSTROM, A.; SUNDQVIST, G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0,5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v.55, n.3, p.307-312, Mar. 1983.
 20. BYSTROM, A.; CLEASSON, R.; SUNDQVIST, G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v.1, n.5, p.170-175, Oct. 1985.

21. BYSTROM, A.; HAPPOEN. R P.; SJGREN, U.; SUNDQVIST, G. Healing of periapical lesion's of pulpless teeth after endodontic treatment with controlled asepsis. **Endod. Dent Traumatol.**, Copenhagen, v.3, n.2, p.58-63, Apr. 1987.
22. CHONG, B. S.; PITT FORD, T. R. The role of intracanal medication in root canal treatment. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.25, n.2 p.97-106, Mar. 1992.
23. CONTRERAS, R.; GÓMES, M.; MENÉNDEZ, S. Efecto de la sustitución del aceite de oliva por aceite de girasol, sobre la actividad antimicrobiana del aceite ozonizado. **Rev. CENIC Ciene Quím.**, Habana, v.20, n.1/3, p.121-124, 1989.
24. COSTA, A. D.; DANZAI, A.; BURATI NETO, J.; IKEDA, J. Uso do hidróxido de cálcio no tratamento de dentes com lesões periapicais: relato clínico de 13 casos. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, São Paulo, v.35, n.3, p.220-226, mai./jun. 1981.
25. CRUZ, E. V.; KOTA K.; HUQUE, J.; IWAKU, M.; HOSHINO, E. Penetration of propylene glycol into dentine. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 35, n.4, p.330-336, Apr. 2002.
26. DE LAS CAJIGAS, T.; BASTARD, V.; MENÉNDEZ, S.; GÓMEZ, M, El aceite ozonizado en infecciones de la piel y su aplicación en el Consultorio del Médico de la Familia. **Rev. CENIC Ciene Biol.**, Habana, v.20, n.1/3, p.81-84, 1989.
27. EBERHARDT, H. G. The efficacy of ozone therapy as an antibiotic. In: WORLD CONGRESS OZONE IN MEDICINE, 11., 1993, San Francisco. **Proceedings...** San Francisco, 1993. p.1-18,26.
28. ESBERARD, R. M.; CARNES Jr, D. L.; Del RIO, C. E. Changes in pH at the dentin surface in roots obturated with calcium hydroxide pastes. **J. Endod.**, Chicago v.22, n.8, p.402-405, Ago. 1996.
29. ESTRELA, C. **Metodologia científica: ensino e pesquisa em odontologia.** São Paulo. Artes Médicas, 2001. p.121,195-222.

30. ESTRELA, C.; BAMMAN, L. L.; SYDNEY, G. B.; MOURA, J. Efeito antibacteriano de pastas de hidróxido de cálcio sobre bactérias aeróbias facultativas. **Rev. FOB**, Bauru, v.3, n.1/4, p.109-114, jan./dez., 1995.
31. ESTRELA, C.; PIMENTA, F. C.; ITO, L Y.; BAMANN, L. L. In vitro determination of direct antimicrobial effect of calcium hydroxide. **J. Endod.**, Chicago, v.24, n.1 p.15-17, Jan. 1998.
32. ESTRELA, C.; PIMENTA, F. C.; ITO, L. Y.; BAMMANN, L. L. Antimicrobial evaluation of calcium hydroxide in infected dentinal tubules. **J. Endod.**, Chicago, v.25, n.6, p.416-418, June 1999.
33. FABRICIUS, L.; DAHLÉN, G.; OHMAN, A. E.; MOLLER A. J. R. Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure. **Scand. J. Dent. Res.**, Chicago, v.90, n.2, p.134-144, Apr. 1982.
34. FAVA., L. R. G. Efeito antibacteriano das pastas de hidróxido de cálcio. Revisão. **Rev. Paul. Odontol.**, São Paulo, v. 15, n.1, p.10-16, jan./fev. 1993.
35. FRANK, A. L. Therapy for the divergent pulpless tooth by continued apical formation. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.72, n.1, p.87-93, Jan. 1966.
36. FUKUSHIMA, H.; YAMAMOTO, K.; HIROHATA, K.; SAGAWA, H.; LEUNG, K. P.; WALKER C. B. Localization and identification of root canal bacteria in clinically asymptomatic periapical pathosis. **J. Endod.**, Chicago, v.16, n.11, p.534-538, Nov. 1990.
37. GAETTI-JARDIM JR, E.; PEDRINI D.; D' ANTÔNIO, G. M. Bactérias anaeróbias isoladas de canais radiculares de dentes desvitalizados e refratários ao tratamento endodôntico. Estudo da suscetibilidade aos antimicrobianos. **Rev. Odontol. UNESP**, São Paulo, v.25, n.2, p.299-307, 1996.

38. GEORGOPOULOU, M.; KONTAKIOTIS, E.; NAKOU, M. *In vitro* evaluation of the effectiveness of calcium hydroxide and paramonochlorophenol on anaerobic bacteria from the root canal. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v.9, n.6, p.249-253, Dec. 1993.
39. GOMES B. P. F. A.; SAUZA S. F. C.; FERRAZ C. C. R.; TEIXEIRA F. B.; ZAIA, A. A.; VALDRIGHI, L.; SOUZA-FILHO, F. J. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine *in vitro*. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.36, n.4, p.267-275, Apr. 2003.
40. GOMES, B. P. F. A.; DRUCKER, D. B.; LILLEY, J. D. Potencial antimicrobiano de alguns medicamentos intracanaais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISAS ODONTOLÓGICAS, 14., 1997, Águas de São Pedro. **Anais...** Águas de São Pedro, 1997. p.84. Abstract 157.
41. GOMES, I. C. et al. Diffusion of calcium through dentin. **J. Endod.**, Chicago, v.22, n.11, p.590-595, Nov. 1996.
42. GRECCA, F. S.; LEONARDO, M. R.; SILVA, L. A. B.; TANOMARU FILHO, M.; BORGES, M. A. G. Radiographic evaluation of periradicular repair after endodontic treatment of dog's teeth with induced periradicular periodontitis. **J. Endod.**, Chicago, v.27, n.10, p.610-612, Oct. 2001.
43. GURLEY, B. Ozone: pharmaceutical steriland of the future? **J. Parent. Sci. Technol.**, Philadelphia, v.39, n.6, p.256-261, Nov./Dec., 1985.
44. HAAPASALO, M. Black-pigmented Gram-negative anaerobes in endodontics infections. **FEMS Immunol. Med. Microbiol.**, Amsterdam, v.6, n.2/3, p.213-218, Mar. 1993.
45. HAAPASALO, M., ORSTAVIK, D. *In vitro* infection and disinfection of dentinal tubules. **J. Dent. Res.**, Chicago, v.66, n.8, p.1375-1379, Ago.1987.

46. HEITHERSAY G. S. Calcium Hydroxide in the treatment of pulpless teeth with associated pathology. **J. Br. Endod. Soc.**, London, v.8, n.2, p. 74-93, July. 1975.
47. HOLLAND, R. A histological study of the effect of calcium hydroxide in the treatment of pulp less teeth of dogs. **J. Br. Endod. Soc.**, London, v.12, n.1, p.15-23, Jan. 1979.
48. HOLLAND, R.; OTOBONI FILHO, J. A.; SOUZA, V.; NERY, M. J.; BERNABÉ, P. F. E.; DEZAN JR., E. Reparação dos tecidos periapicais com diferentes formulações de Ca(OH)₂ Estudo em cães. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.** São Paulo, v. 53, n.4, p.327-331, jul./ago. 1999.
49. KAKEHASHI, S.; STANLEY, H. R.; FITZGERALD, R. J. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 20, p.340-349, Sept. 1965.
50. KATEBZADEH, N.; HUPP, J.; TROPE, M. Histological periapical repair after obturation of infected root canals in dogs. **J. Endod.**, Chicago, v.25, n.5, p.364-368, May 1999.
51. KATEBZADEH, N.; SIGURDSSON, A.; TROPE, M. Radiographic evaluation of periapical healing after obturation of infected root canals: an *in vivo* study. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.33, n.1, p.60-66, Jan. 2000.
52. KETTERING, J. D.; TORABINEJAD, M. Microbiology and immununology In: COHEN, S.; BURNS, R. C. **Pathways of the pulp**. 7th ed. St. Louis: Mosby, 1998. p.463-475.
53. KEUDELL K.; CONTE M.; FUJIMOTO L.; ERNEST M.; BERRY H. G. Microorganisms isolated from pulp chambers. **J. Endod.**, Chicago v.2, n.5, p.146-148, May 1976.

54. KRAMER, F. Ozonanwendung in der zahnärztlichen Praxis. In: CONGRESSO MUNDIAL DE OZÔNIO NA MEDICINA, 5., 1981, Berlin. **Proceeding...** Berlin, 1981. p.91.
55. LANDERS, R. R.; CALHOUN, R. L. One-appointment endodontic therapy: an opinion survey. **J. Endod.**, Chicago, v.6, n.10, p.799-801, Oct. 1980.
56. LEONARDO, M. R., Curativo de demora In: LEONARDO, M. R. **Endodontia: tratamento de canais radiculares princípios técnicos e biológicos.** v.2. São Paulo: Artes Médicas., 2005. p.997-1048.
57. LEONARDO, M. R.; SILVA, L. A. B. S. Medicação tópica entre sessões, “curativo de demora” em biopulpectomia e necropulpectomia In: LEONARDO, M.R., LEAL, J.M. **Endodontia: Tratamento de canais radiculares.** São Paulo: Panamericana, 1998. cap.24, p.491-534.
58. LEONARDO, M. R., ARAÚJO, C. H., MENDES, A. J. D. Contribuição para o emprego de pastas à base de hidróxido de cálcio na obturação de canais radiculares - Estudo de propriedades físicas, químicas e biológicas. Parte I. **Rev. Fac. Farm. Odontol. Araraquara**, Araraquara, v.10, n.1, p.125-135, 1976.
59. LEONARDO M. R.; DA SILVA L. A.; LEONARDO R. DE T.; UTRILLA L. S.; ASSED S. Histological evaluation of therapy using a calcium hydroxide dressing for teeth with incompletely formed apices and periapical lesions. **J. Endod.**, Chicago, v.19, n.7, p.348-352, July 1993.
60. LEONARDO M. R.; DA SILVA L. A.; TONOMARU FILHO, M.; BONIFACIO K. C.; ITO I. Y. In vitro evaluation of antimicrobial activity of sealers and pastes used in endodontics. **J. endod.** Chicago, v.26, n.9, p.391–394, Sept. 2000.
61. LEONARDO, M. R.; SILVEIRA, F. F.; SILVA, L. A. B.; TANOMARU FILHO, M.; UTRILLA, L. S. Calcium hydroxide root canal dressing. Histopathological evaluation

- of periapical repair at different time periods, **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto, v.13, n.1, p.17-22, 2002.
62. LEONARDO, M. R. B.; BONIFACIO, K. C.; SILVA, L. A. B.; TANOMARU FILHO, M.; ANDRÉ, R. F. G.; ITO, I. Y. Atividade antimicrobiana in vitro de cimentos e pastas utilizadas na endodontia. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISAS ODONTOLÓGICAS, 14., 1997, Águas de São Pedro. **Anais...** Águas de São Pedro, 1997. p.84. Abstract 158.
63. LEZCANO, I. R.; PÉREZ REY, M.; GUTIÉRREZ, E.; SANCHEZ, Y. Baluja inactivation com ozono de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus faecalis*, en água, como modelos de bactérias gram-positivas. **Rev CENIC Ciene Quím.**, Habana, v.29, n.2, p.109-111, 1998.
64. LOPEZ H. P. SIQUEIRA Jr. J. F. **Endodontia: biologia e técnica**. Rio do Janeiro: Ed. Medica e Científica, 1999. p.650-685
65. MARTON, I. J.; KISS, C. Characterization of inflammatory cell infiltrate in dental periapical lesions. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.26, n.2, p.131-136, Mar. 1993.
66. MENENDEZ, S.; CRUZ, O.; REYES, O. Application of ozonized oil in the treatment of infected radicle conducts. In: WORLD CONGRESS OF THE INTERNATIONAL OZONE ASSOCIATIONS, 12., 1995, Lille, **Proceedings...** Lille, 1995. p.287-290.
67. MENÉNDEZ, S.; PELÁEZ, O.; GÓMEZ, M.; COPELLO, M. Aplicación de la ozonoterapia en la retinosis pigmentária. **Rev. Cubana de Oftalmologia**, Habana, v.3, n.1, p.35-39, 1990.
68. MOLANDER, A. et al. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.31, n.1, p.1-7, Jan. 1998.
69. MORSE, D. R. Endodontic microbiology in the 1970s. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.14, n.2, p.69-79, May 1981.

70. NAGAYOSHI M.; KITAMURA C.; FUKUIZUMI T.; NISHIHARA T.; TERASHITA M.; Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. **J. Endod.**, Chicago, v.30, n.11, p.778-781, Nov. 2004.
71. NAIR P. N. R. Light and electron microscopic studies of root canal flora and periradicular lesions. **J. Endod.**, Chicago, v.13, n.1, p.29-39, Jan. 1987.
72. NAIR. P. N. R.; SJOGREN, U.; KREY, G.; KAHNBERG, K.; SUNDQVIST, G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. **J. Endod.**, Chicago, v.16, n.12, p.580-588, Dec. 1990.
73. NERWICH, A.; FIGDOR D.; MESSER H. H. pH changes in root dentin over a 4-week period following root canal dressing with calcium hydroxide. **J. Endod.**, Chicago, v.19, n.6, p.302-306, June 1993.
74. O OZÔNIO In: CONFERENCIA INTERNACIONAL DO USO MEDICO E ODONTOLÓGICO DO OZÔNIO 1., 2004, Santo André. Disponível em: <<http://www.conferenciaozonio.com.br/ozonio.html>>. Acesso em: 15 dez. 2004.
75. OLIET, S. Single-visit endodontic: a clinical study. **J. Endod.**, Chicago, v.9, n.4, p.147-52, Apr. 1983.
76. ORSTAVIK, D.; HAAPASALO, M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v.6, n.4, p.142-149, Ago. 1990.
77. PEREIRA, A. M. V. S. **Comparação do efeito da medicação intracanal com pasta HPG (hidróxido de cálcio, paramonoclorofenol canforado e glicerina) e com óleo ozonizado, no tratamento endodôntico de dentes despolpados com lesão perirradicular associada:** estudo radiográfico, histopatológico e histobacteriológico

- em cães. 2002. 134p. Tese (Doutorado em Endodontia) Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2002.
78. PETERS, L. B.; WESSELINK, P.R.; MOORER, W. R. The fate and the role of bacteria left in root dentinal tubules. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.28, n.2, p.95-99, Mar. 1995.
79. RAYMOND C. R.; PAUL J. S.; PAUL, J. W. **Handbook of pharmaceutical excipients**, Washington: American Pharmaceutical Association (APhA), 2002. p.521-523.
80. RODRIGUEZ, L. M.; CEPERO, S. M.; PERDOMO, E. O. Efectos del ozono en el tratamiento de la gingivostomatitis herpética aguda. **Rev. Cuba Estomat.**, Habana, v. 31, n.1, p.14-17, jan./abr.1994.
81. SILVEIRA, F. F. **Efeito do tempo de ação do curativo de demora à base de hidróxido de cálcio, utilizado em canais radiculares de dentes de cães com lesão periapical crônica induzida. Análise histopatológica e microbiológica.** 1997. 218p. Dissertação (Mestrado em Endodontia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1997.
82. SILVEIRA, F. F.; LEONARDO, M. R.; ITO, L. Y; SILVA, L. A. B.; TANOMARU FILHO, M. Avaliação histomicrobiológica após curativo de demora com pasta a base de hidróxido de cálcio por diferentes períodos de tiempo. **Rev. Bras. Odontol.**, Rio do Janeiro, v.58, n.4, p.225-227, jul./ago. 2001.
83. SIPERT C. R.; HUSSNE R. P.; NISHIYAMA C. K.; TORRES S. A. In vitro antimicrobial activity of Fill Canal, Sealapex, Mineral Trioxide Aggregate, Portland cement and EndoRez. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.38, n.8, p.539–543, Ago. 2005.

84. SIQUEIRA Jr., J. F. **Infecções endodônticas: controle, prevenção e estudo de patogenicidade, Rio de Janeiro.** 1998. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1998.
85. SIQUEIRA Jr, J. F. **Tratamento das infecções endodônticas.** Rio de Janeiro: Medsi, 1997.
86. SIQUEIRA Jr, J. F.; LOPES, H. P. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.32, n.5, p.361-369, Sept.1999.
87. SIQUEIRA Jr., J. F.; LOPES, H. P.; MAGALHÃES, F. A. C.; UZEDA, M. Atividade antibacteriana da pasta de hidróxido de cálcio/paramonoclorofenol canforado/glicerina contendo diferentes proporções de iodofórmio sobre bactérias anaeróbias estritas e facultativas. **Rev. Paul. Odont.**, São Paulo, v.19, n.2, p.17-21, mar./abr. 1997.
88. SIQUEIRA Jr., J. F.; MAGALHÃES, F. A. C.; UZEDA, M. Avaliação da atividade antibacteriana de medicação intracanal. **Rev. Gaúcha Odont.**, Porto Alegre, v.44, n.5, p.271-274, set./out. 1996.
89. SIQUEIRA Jr., J. F.; OLIVEIRA, J. C. M.; MAGALHÃES, F. A. C.; LOPES, H. P. Efeitos do hidróxido de cálcio associado a diferentes veículos sobre dentina contaminada. **Rev. Bras. Odont.**, Rio do Janeiro, v.58, n.1, p.44-47, jan./fev. 2001.
90. SIQUEIRA Jr., J. F.; ROÇAS, I. N., CARDOSO, C. C. MACE DO, S. B.; LOPES. H. P. Efeitos antibacterianos de um novo medicamento - o óleo ozonizado - comparado às pastas de hidróxido de cálcio. **Rev. Bras. Odont.**, Rio do Janeiro, v.57, n.4, P.252-256, jul./ago. 2000.
91. SIQUEIRA Jr., J. F.; ROÇAS, I. N.; SOUTO, R.; UZEDA, M. de; COLOMBO, A. C. *Actinomyces* Species, Streptococci, and *Enterococcus faecalis* in primary root canal infections **J. Endod.**, Chicago, v.28, n.3, p.168-171, Mar. 2002.

92. SIQUEIRA Jr., J. F.; UZEDA, M. Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. **J. Endod.**, Chicago, v.22, n.12, p.674-676, Dec. 1996.
93. SIQUEIRA Jr., J. F; LOPES, H. P.; UZEDA, M. Atividade antibacteriana de medicamentos endodônticos sobre bactérias anaeróbias estritas. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, Sao Paulo, v.50, n.4, p.326-331, jul./ago. 1996.
94. SJÖGREN, U.; FIGDOR D.; PERSSON S.; SUNDQVIST G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.30, n.5, p.297-306, Sept.1997.
95. SOARES, J. A. **Estudo microbiológico dos canais radiculares, histopatológico e histobacteriológico dos tecidos apicais e periapicais, em função do preparo biomecânico e de dois curativos de demora à base de hidróxido de cálcio, utilizados em dois períodos de avaliação, no tratamento endodôntico de dentes de cães, com reação periapical crônica induzida.** 1999. 408p. Dissertação (Mestrado em Endodontia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1999.
96. SOARES, J. A.; LEONARDO, R. T. Influência da "smear layer" na reparação periapical de dentes com necrose pulpar e patologias periapicais **Rev. Bras. Odont.**, Rio do Janeiro, v.58, n.4, p.240-243, jul./ago. 2001.
97. SOUZA, V.; HOLLAND, R; SOUZA, R. S. Tratamento endodôntico de dentes de cães com polpas vitais em uma ou duas sessões. Influencia dos curativos de demora corticosteróide-antibiótico e hidróxido de cálcio. **Rev. Odont. UNESP**, São Paulo, v.24, n.1, p.47-59, 1995.
98. SOUZA, V.; BERNABÉ, P. F. E.; HOLLAND, R; NERY, M. J.; MELLO, W.; OTOBONI FILHO, J. A. Tratamento não cirúrgico de dentes com lesões periapicais. **Rev. Bras. Odont.**, Rio do Janeiro, v.46, n.2, p.39-46, març./abr., 1989.

99. STASHENKO, P.; WANG, C.; TANI-ISHI, N.; YU, S. M. Pathogenesis of induced rat periapical lesions. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol**, St. Louis, v.78, n.4 p. 494-502, Oct. 1994.
100. STROCKINGER, H. E.: *Ozone toxicity*. A review of research and industrial experience: 1954-1965, **Arch. Environ. Health**, Chicago, v.10, p.719-731, May 1965.
101. SUNDQVIST, G. **Bacteriology studies of necrotic dental pulps** 1976, 94p. Dissertation. Umea Sweden.
102. SUNDQVIST, G. Association between microbial species in dental root canal infections **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v.7, n.5, p. 257-262, Oct., 1992.
103. SUNDQVIST, G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol**. St. Louis, v.78, n.4, p.522-530, Oct. 1994.
104. SUNDQVIST, G.; JOHANSSON, E.; SJOGREN, U. Prevalence of black-pigmented *Bacteroides* species in root canal infections. **J. Endod.**, Chicago, v.15, n.1, p.13-19, Jan. 1989.
105. SUNDQVIST, G.; GORAN D. D.S.; FIGDOR; DAVID B. D.; FRAC, D. S.; PERSSON; SJOGREN. Microbiological analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Rad. Endod.** St. Louis, v.85, n.1, p.86-93, Jan.1998.
106. TANOMARU FILHO, M.; LEONARDO, M. R.; SILVA, L. A. B. Effect of irrigating solution and calcium hydroxide root canal dressing on the repair of apical and periapical tissues of tissues of teeth with periapical lesion **J. Endod.**, Chicago, v.28, n.4, p.295-299, Apr. 2002.
107. TRONSTAD, L. Recent development in endodontic research. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v.100, n.1, p.52-59, Feb. 1992.

108. TRONSTAD, L.; KRESHTOOL, D.; BARNETT, F. Microbiological monitoring and results of treatment of extraradicular endodontic infection. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v.6, n.6, p.129-136, June 1990.
109. TROPE, M.; DELANO, E. O.; ORSTAVIK, D. Endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: single v.s. multivisit treatment. **J. Endod.**, Chicago v.25, n.5, p.345-350, May 1999.
110. VAN WINKELHOFF, A. J.; CARLEE, A. W.; DE GRAAFF, J. Bacteroides endodontalis and others black-pigmented Bacteroides species in odontogenic abscesses. **Infect. Immun.**, Bethesda v.49, n.3, p.494-498, Sept. 1985.
111. WALTON, R. E.; TORABINEJAD, M. **Principles and practice of endodontics**. Philadelphia: Saunders, 1996. 558 p.
112. WEINE F. S. **Tratamento endodôntico**. 5. ed. São Paulo: Santos, 1997. p.695-711.
113. YAMASAKI, M.; NAKANE, A.; KUMAZAWA, M.; HASHIOKA, K.; HORIBA, N.; NAKAMURA, H. Endotoxin and gram-negative bacteria in the rat periapical lesions. **J. Endod.**, Chicago, v.18, n.10, p.501-504, Oct. 1992.

9 ANEXO

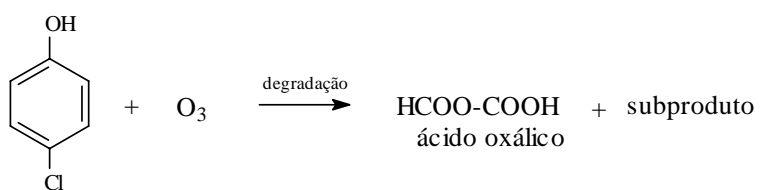
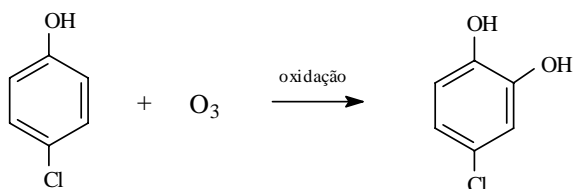
Tabela A1 - Leitura dos halos dos de inibição do *Pseudomona auriginosa*

Bactéria		Pseudomona											
		No dia			7 dias			15 dias			30 dias		
Nº	Materiais / Placa	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	Óleo de oliva ozonizado	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
2	Óleo de girassol ozonizado	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3	Calen PMCC	24	20	22	20	22	22	20	22	20	22	22	21
4	Calen PMCC ozonizado	20	18	24	20	18	20	20	20	21	21	20	21
5	Calen ozonizado	13	11	10	12	12	12	12	12	10	12	12	10
6	Calen	13	11	10	12	12	12	11	12	10	10	12	10
7	Propilenoglicol ozonizado	13	7	10	14	12	13	12	13	12	13	13	13
8	Propilenoglicol ozonizado+ Ca(OH) ₂	10	10	8	10	12	11	10	11	11	11	11	10
9	Óleo de oliva	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
10	Propilenoglicol	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

Tabela A2 - Leitura dos halos dos de inibição do *Enterococcus faecalis*.

Bactéria		Enterococcus faecalis											
Materiais		No dia			7 dias			15 dias			30 dias		
Nº	Placa	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	Óleo de oliva ozonizado	8	8	10	8	8	10	8	8	10	6	6	6
2	Óleo de girassol ozonizado	10	11	11	10	11	10	10	11	11	8	9	6
3	Calen PMCC	10	12	12	10	12	12	10	12	12	10	10	10
4	Calen PMCC ozonizado	10	8	10	10	8	10	10	8	10	10	9	10
5	Calen ozonizado	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
6	Calen	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	5	6
7	Propilenoglicol ozonizado	10	12	12	10	12	12	10	12	12	10	11	10
8	Propilenoglicol ozonizado+ Ca(OH) ₂	8	8	10	8	8	10	6	8	8	7	8	8
9	Óleo de oliva	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
10	Propilenoglicol	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

Nota: o halo de inibição medido as 24 horas, foi o mesmo do que as 48 horas.

Anexo 3 – Reações do PMCC com ozônio

10 RESUMO

ORTEGA CRUZ, H.F. **Avaliação “*in vitro*” da associação do efeito antimicrobiano do ozônio a veículos e curativos de demora em diferentes períodos de tempo de armazenagem.** 2006. 103f. Dissertação (Mestrado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

No presente trabalho de pesquisa se fez uma Avaliação “*in vitro*” da capacidade de associação do efeito antimicrobiano do ozônio a veículos: óleo de oliva, óleo de girassol e propilenoglicol, e curativos de demora: Calen, Calen PMCC e propilenoglicol mais hidróxido de cálcio nos períodos de um, sete, quinze, trinta e cento e oitenta dias, após de submetidos a um processo de ozonização por borbulhagem, mediante a técnica de sensibilidade a os antimicrobianos (difusão em ágar e mensuração de halo de inibição em culturas de bactérias) utilizando como bactérias indicadoras a “*P. aeruginosa e E. faecalis*”. As bactérias foram semeadas em 3 placas de Petri cada, fazendo um total de 6 placas cultivadas por tempo de avaliação. foram feitos leitos para alojar os materiais testados. Após 48 horas, para cada tempo avaliado, analisamos os halos de inibição formados. Baseado nos resultados pode-se concluir que os curativos de demora Calen e o Calen PMCC, não tem associação sinérgica com o ozônio, mas possuem atividade antimicrobiana própria e estabilidade no tempo. O óleo de girassol tem maior capacidade de associação com o ozônio que o óleo de oliva e ambos têm estabilidade no tempo e ação antimicrobiana maior sobre a “*E. faecalis*”. O propilenoglicol tem boa capacidade de associação com o ozônio e estabilidade no tempo, mantendo a atividade antimicrobiana. O propilenoglicol mais hidróxido de cálcio tem menor capacidade de associação com o ozônio que o propilenoglicol e maior capacidade de associação que o óleo de girassol possuindo ação antimicrobiana e estabilidade no tempo.

Palavras - Chave: Ozônio, desinfecção, cavidade da polpa dentária – microbiologia.

11 ABSTRACT

ORTEGA CRUZ, H.F. **Evaluation "in vitro" association of the antimicrobial effect of the ozone to vehicles and root canal medications in different periods of time of storage.** 2006. 103f. Dissertação (Mestrado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

In this investigation "In vitro" evaluation of association of the antimicrobial effect of ozone to vehicles olive oil, sunflower oil and propilenoglicol and temporary root canal medication Calen, Calen plus PMCC and propilenoglicol plus calcium hydroxide after one, seven, fifteen, thirty and one hundred and eighty days post-ozonated, by means of sensibility antimicrobial technique (inhibition halo measure) with "*P. aeruginosa and E. faecalis*". Bacterium where placed in 3 Petri plaques totalizing 6 plaques for evaluation period. Eleven holes where done and material inserted. After 48 hours, inhibition halos where analyze, for each evaluated period. We conclude that the Calen and Calen plus PMCC have no association with ozone, but have antimicrobial activity and last all the period. Sunflower oil has the greater association with ozone than the olive oil, both stability and antimicrobial action against "*E. faecalis*". Propilenoglicol has the greater association with ozone and stability in time, keeping antimicrobial activity. Propilenoglicol plus calcium hydroxide has less association with ozone than propilenoglicol and association affinity than sunflower oil with antimicrobial action and stability in time.

Keywords: Ozone; disinfection; cavity of the dental pulp - microbiology