

Tiago João Macedo do Vale

Ozonoterapia no tratamento endodôntico: Uma revisão narrativa

Universidade Fernando Pessoa  
Faculdade de Ciências da Saúde  
Porto, 2021

Tiago João Macedo do Vale

Ozonoterapia no tratamento endodôntico: Uma revisão narrativa

Universidade Fernando Pessoa  
Faculdade de Ciências da Saúde  
Porto, 2021

Ozonoterapia no tratamento endodôntico: Uma revisão narrativa

“Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte  
dos requisitos para obtenção do grau de Mestre  
em Medicina Dentária.”

---

(Tiago João Macedo do Vale)

## RESUMO

O tratamento endodôntico tem como principal objetivo a desinfecção do sistema de canais radiculares levada a cabo através de uma preparação químico-mecânica. Técnicas e substâncias alternativas têm sido sugeridas com o intuito de melhorar o processo de desinfecção, entre as quais a ozonoterapia. Esta revisão narrativa teve como objetivo rever o panorama atual da utilização do ozono em Endodontia. Foi realizada uma pesquisa nas bases de dados *B-on*, *Cochrane Library*, *PubMed* e *Science Direct* utilizando as palavras-chave “*root canal*”, “*endodontics*”, “*disinfection*”, “*irrigation*” e “*ozone*” com várias combinações. O ozono apresenta baixa citotoxicidade e é eficaz na redução de microrganismos dentro dos canais radiculares, no entanto, apresenta menor ação antimicrobiana do que o hipoclorito de sódio. Contudo, o ozono pode ser indicado como alternativa em casos em que o hipoclorito de sódio não deva ser utilizado ou como substância complementar ao tratamento, otimizando a ação de outras substâncias ou técnicas.

Palavras-chave: Endodontia; Desinfecção; Ozonoterapia.

## **ABSTRACT**

The main objective of endodontic treatment is to disinfect the root canal system through a chemical-mechanical preparation. Alternative techniques and substances have been suggested to improve the disinfection process, including ozonotherapy. This literature review aimed to review the current scenario of the use of ozone in Endodontics. A research was conducted in the databases *B-on*, *Cochrane Library*, *Pubmed* and *Science Direct* using the keywords "*root canal*", "*endodontics*", "*disinfection*", "*irrigation*" and "*ozone*" with various combinations. Ozone has low cytotoxicity and is effective in reducing microorganisms within root canals, however it has less antimicrobial action than sodium hypochlorite. However, ozone may be indicated as an alternative in cases where sodium hypochlorite should not be used or as a complementary substance to the treatment by optimising the action of other substances or techniques.

Key Words: Endodontics; Disinfection; Ozonotherapy

## ÍNDICE GERAL

I. INTRODUÇÃO .....	1
1. Materiais e Métodos .....	2
II. DESENVOLVIMENTO .....	4
1. Contexto histórico da utilização do O <sub>3</sub> .....	4
2. Propriedades do O <sub>3</sub> .....	5
3. Mecanismo de ação .....	6
4. Biocompatibilidade/Toxicidade do O <sub>3</sub> .....	7
5. Aplicações do O <sub>3</sub> em endodontia .....	8
6. Apresentações clínicas e protocolos de atuação .....	9
7. Fatores que influenciam a eficácia .....	10
8. Microbiologia .....	11
III. DISCUSSÃO .....	13
IV. CONCLUSÃO .....	15
BIBLIOGRAFIA .....	16

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Protocolos de aplicação de O <sub>3</sub> em estado gasoso. ....	10
Tabela 2. Protocolos de aplicação de O <sub>3</sub> em estado aquoso.....	10

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Principais eventos históricos da ozonoterapia. ....	5
Figura 2. Mecanismo de ação do O <sub>3</sub> em bactérias gram+ e gram-. ....	7

## ÍNDICE DE ACRÓNIMOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

<b>TENC</b>	Tratamento endodôntico não cirúrgico
<b>NaOCl</b>	Hipoclorito de sódio
<b>CHX</b>	Clorohexidina
<b>O<sub>3</sub></b>	Ozono
<b>EDTA</b>	Ácido etilenodiamino tetra-acético

## I. INTRODUÇÃO

A Endodontia é a especialidade da Medicina Dentária que se dedica ao estudo, prevenção, diagnóstico e tratamento das condições patológicas relacionadas com a polpa e com os tecidos periapicais. (Albuquerque, Kottoor e Hammo, 2014)

O principal fator etiológico das infeções pulpares e periapicais é bacteriano, logo a terapia endodôntica tem como finalidade eliminar os microrganismos e os seus subprodutos do sistema de canais radiculares, bem como prevenir a sua reinfeção (Siqueira *et al.*, 2000; Good *et al.*, 2012).

O objetivo principal da terapia endodôntica consiste na desinfeção, conformação e obturação hermética dos canais radiculares (Buldur e Kapdan, 2017), sendo que a preparação químico-mecânica prévia à obturação é crucial para um tratamento endodôntico não cirúrgico (TENC) bem sucedido a longo prazo (Akyuz Ekim e Erdemir, 2015). É de realçar que durante a preparação mecânica são libertados detritos inorgânicos de dentina, *smear layer*, que juntamente com restos de tecido pulpar vital e necrótico podem comprometer o TENC (Mohammadi *et al.*, 2017). Por forma a alcançar em pleno os objetivos do TENC, simultaneamente à preparação mecânica, e independentemente de esta ser realizada de forma manual ou mecanizada, realiza-se a irrigação do sistema de canais radiculares com soluções irrigantes. Esta irrigação visa não só remover os detritos e os restos pulpares, mas também desinfetar as superfícies canales que não foram alcançadas durante a preparação mecânica (Good *et al.*, 2012).

Dos vários irrigantes com função de desinfeção empregues no TENC, os mais comuns são o hipoclorito de sódio (NaOCl), a clorhexidina (CHX) e a mistura de tetraciclina (doxiciclina), ácido cítrico e detergente (Mohammadi *et al.*, 2017). O NaOCl é o irrigante mais utilizado em endodontia devido a deter propriedades antimicrobianas de largo espetro, conseguir dissolver matéria orgânica (tecido pulpar vital e necrótico) e concomitantemente atuar como lubrificante (Mohammadi *et al.*, 2017; Pinheiro *et al.*, 2018; Khoshroo *et al.*, 2020). As concentrações mais usadas variam entre 0.5% e 5.25% (Fidalgo *et al.*, 2010), sendo que, a sua citotoxicidade é diretamente proporcional à concentração usada (Clarkson e Moule, 1998).

A complexa anatomia dos sistemas de canais radiculares, composta por uma estrutura tridimensional que inclui túbulos dentinários, istmos, ramificações apicais e irregularidades, dificulta a atuação dos irrigantes convencionais, inviabilizando a completa eliminação dos microrganismos patogénicos (Tuncay *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2019, 2020). A descoberta e

utilização de novas técnicas e soluções irrigantes alternativas é, portanto, fundamental para melhorar a qualidade e pronóstico do TENC. Na literatura estão descritas técnicas alternativas e/ou complementares, como por exemplo, nanopartículas de óxidos metálicos (Kishen, 2012), terapia fotodinâmica antimicrobiana (Moradi Eslami *et al.*, 2019), sistemas de irrigação passiva com ultrassons (Holliday e Alani, 2014; Silva *et al.*, 2019), desinfecção assistida por laser (Moshonov *et al.*, 1995), ou a ozonoterapia, que tem suscitado um interesse crescente dentro da comunidade científica (Silva *et al.*, 2020).

O ozono (O<sub>3</sub>), quando dissociado em água, liberta uma forma reativa de oxigênio que atua nos ácidos gordos das membranas celulares dos microrganismos eliminando-os. Alguns autores defendem que a sua eficácia nesta eliminação é similar à preparação químico-mecânica utilizando NaOCl (Huth *et al.*, 2009; Kist *et al.*, 2017), no entanto, Silva *et al.* (2020) considera que a sua eficácia é inferior. Tem também sido estudada a possibilidade de estas duas técnicas serem usadas de forma complementar (Noites *et al.*, 2014; Boch *et al.*, 2016). Nestas comparações, ozonoterapia *versus* NaOCl, são descritas como possíveis vantagens do O<sub>3</sub> a sua maior biocompatibilidade e a promoção da atenuação dos processos inflamatórios (Bocci, 2004; Frascino *et al.*, 2013; Nogales *et al.*, 2016).

O objetivo principal deste trabalho é rever o panorama atual da ozonoterapia no tratamento endodôntico, avaliando se esta é uma possível alternativa ou complemento válido ao uso de NaOCl.

## 1. Materiais e Métodos

Realizou-se uma pesquisa bibliográfica, entre o mês de junho de 2020, e o mês de abril de 2021 recorrendo às seguintes bases de dados: B-on, Cochrane Library, PubMed, Science Direct. Foram utilizadas as palavras-chave “*root canal*”, “*endodontics*”, “*disinfection*”, “*irrigation*” e “*ozone*” e aplicados os marcadores booleanos “AND” e “OR” resultando na seguinte combinação: ((*root canal*) OR (*endodontics*)) AND ((*disinfection*) OR (*irrigation*)) AND (*ozone*). Não foram feitas restrições temporais, contudo limitou-se a pesquisa a artigos escritos nas línguas inglesa e portuguesa.

Iniciou-se o refinamento do objeto de estudo a partir de uma amostra de 281 artigos (35 da B-on, 7 da Cochrane Library, 71 da PubMed e 168 da Science Direct) dos quais se excluíram 40, que se encontravam em duplicado, 167 por desinteresse pelo título, 7 por divergência do tema

estudado e ainda 7 eliminações por não estar disponível o texto completo. A pesquisa culminou num total de 60 artigos (8 da B-on, 4 da Cochrane Library, 35 da PubMed e 13 da Science Direct).

## II. DESENVOLVIMENTO

### 1. Contexto histórico da utilização do O<sub>3</sub>

O professor e cientista Christian F. Schönbein (1799-1868), foi o primeiro a descrever a existência de um gás, com um cheiro “semelhante a fósforo”, que se formava em redor de um ânodo de ouro/platina, durante e após a passagem de corrente elétrica. Após ter realizado várias experiências com o intuito de identificar a causa da formação deste gás, em 1840 Schönbein batizou-o de O<sub>3</sub> (do grego “οζειν”, Eu cheiro) (Oesper, 1929). Posteriormente em 1844, produziu O<sub>3</sub> através da oxidação de fósforo numa atmosfera húmida (Rubin, 2001).

Um novo método de produção de O<sub>3</sub>, através da eletrólise de oxigénio e recorrendo a uma descarga elétrica silenciosa (tubo de super indução ou tubo de Siemens), foi inventado em 1857 por W. Siemens (1816-1892) (Siemens, 1857; Rubin, 2001; Soni *et al.*, 2018). Nas décadas seguintes foram efetuadas várias alterações e otimizações ao método original de produção de O<sub>3</sub> com destaque para Nikola Tesla que desenvolveu um gerador de O<sub>3</sub> simples, eficiente e de baixo custo que serviu de base para a construção dos atuais geradores (Tesla, 1896; Bollyky, 1974; Conrad, 1992).

Paralelamente no final do séc. XIX, o O<sub>3</sub> é aplicado pela primeira vez na área da medicina pelo Dr. C. Lender com o objetivo de purificar sangue (Saini, 2011). Já por esta época, este gás foi descrito como apresentando propriedades desinfetantes e antimicrobianas, eliminando culturas de “*bacillus of charbon*” em aproximadamente 96h (Sanitarium, 1894).

Durante a primeira guerra mundial, o O<sub>3</sub> gasoso revelou-se um aliado importante para o tratamento de diversas lesões apresentadas por soldados alemães, desde gangrenas pós-traumáticas, a feridas com infeção, queimaduras de gás-mostarda ou fístulas. Apesar de até ao ano de 1929, o tratamento de mais de 114 patologias (nos EUA e Europa) ter sido relacionado com a aplicação de ozono/oxigénio, a ozonoterapia só foi aceite como medicina alternativa em 1932 (Bocci, 2004; Saini, 2011).

Em 1935 o médico dentista suíço E. A. Fisch (1899– 1966) descreve pela primeira vez na história, a utilização de água ozonada para tratar uma pulpíte gangrenosa ao cirurgião austríaco, Dr. E. Payr (Bocci, 2011).

Desde então, o O<sub>3</sub> foi introduzido na prática de medicina dentária para desinfeção de canais radiculares ou cáries, eliminação de bactérias gram<sup>+</sup> e gram<sup>-</sup>, tratamento de periodontite

crônica generalizada, periodontite agressiva, gengivite ulcerativa necrosante aguda ou como agente branqueador entre outras aplicações (Padam *et al.*, 2014).

Na figura 1 apresenta-se uma linha temporal com os principais eventos históricos que contribuíram para a descoberta e desenvolvimento da ozonoterapia.

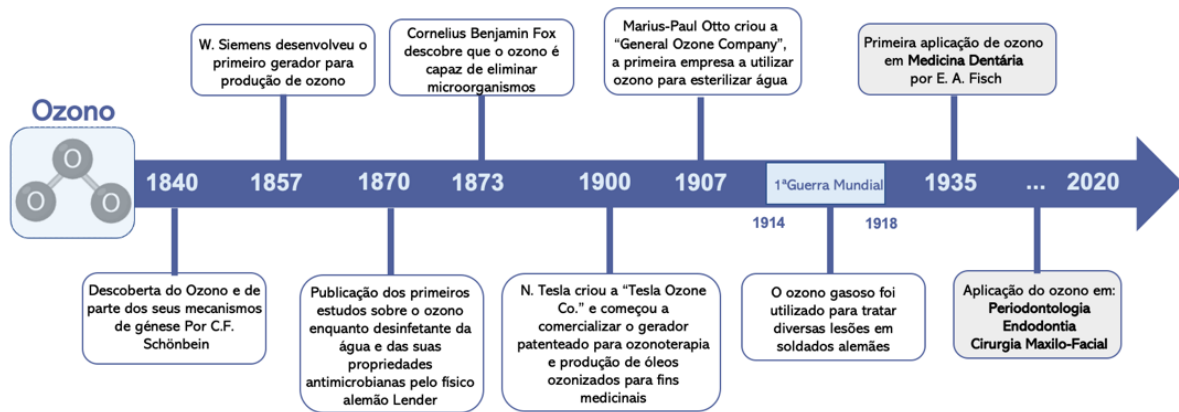


Figura 1. Principais eventos históricos da ozonoterapia.

## 2. Propriedades do O<sub>3</sub>

O O<sub>3</sub> é composto por três átomos de oxigênio, possui um peso molecular de 47.98 g/mol e em condições de pressão e temperatura normais encontra-se sob a forma de uma molécula gasosa (Tiwari *et al.*, 2017; Soni *et al.*, 2018) Está naturalmente distribuído na atmosfera, mas em maior concentração na estratosfera (1-10ppm), sendo continuamente gerado a partir de e destruído em oxigênio molecular (O<sub>2</sub>) numa reação catalisada por radiação ultravioleta de elevada frequência (sol) e descargas elétricas (relâmpagos)(Azarpazhooh e Limeback, 2008; Tiwari *et al.*, 2017).

É um gás instável, de cor azul-céu suave e odor pungente perceptível a concentrações de 0.005-0.01 ppmv. Possui ponto de evaporação à temperatura de -111.9°C e uma constante de solubilidade em água a 0°C de 0.02M. No estado gasoso é dos agentes oxidantes conhecidos mais fortes, com um potencial redox de E°=+2.076. O seu tempo de semi-vida é de 40min a 20°C e pode ser conservado por mais de 3 meses a -50°C (Bocci, 2002).

Como resultado destas propriedades físicas, o O<sub>3</sub> possui propriedades imunoestimulantes, analgésicas, anti-hipnóticas, desintoxicantes e de estimulação das vias bioenergéticas e biosintéticas. Adicionalmente, devido a ser um agente oxidante forte, o O<sub>3</sub> oxida os fosfolípidos

e as lipoproteínas presentes nas membranas celulares dos microrganismos, impactando a sua integridade (Tiwari *et al.*, 2017).

Esta propriedade permite que o O<sub>3</sub>, tanto na sua forma aquosa como gasosa, seja um composto com excelentes propriedades antimicrobianas (bactérias (Cardoso *et al.*, 2008), fungos (Arita *et al.*, 2005), protozoários (Wickramaayake *et al.*, 1984) e vírus (Harakeh and Butler, 1985), tornando-se bastante atrativa a sua utilização em endodontia como solução desinfetante (Azarpazhooh e Limeback, 2008).

### **3. Mecanismo de ação**

O O<sub>3</sub>, como já foi referido, é termodinamicamente instável, mas quando se encontra solubilizado em água decompõe-se mais devagar, acabando sempre por formar radicais livres e aniões (HO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, O<sub>3</sub><sup>-</sup>, OH<sup>-</sup>) que estabelecem uma reação em cadeia acelerando a decomposição das próprias moléculas de O<sub>3</sub> (Gupta e Abhishek, 2012). Os radicais gerados através da sua decomposição, também atacam várias moléculas orgânicas, como é o caso do radical livre OH (Dodd *et al.*, 2009; Nogales *et al.*, 2016). Os principais microrganismos causadores de infeções endodônticas são as bactérias, tendo sido identificadas mais de 500 espécies ou filótipos bacterianos (Hong *et al.*, 2013; Gomes e Herrera, 2018), pelo que o presente estudo sobre o mecanismo de ação do O<sub>3</sub> foca-se essencialmente na sua atividade bactericida.

A eliminação de bactérias inicia-se com a interação do O<sub>3</sub> com as membranas das bactérias gram<sup>+</sup> e gram<sup>-</sup>, promovendo a peroxidação (degradação oxidativa) dos seus constituintes (lipoproteínas, fosfolípidos e peptidoglicano) (Celiberti *et al.*, 2006). O O<sub>3</sub> provoca também uma alteração na polaridade da superfície da bactéria e por consequência a permeabilidade da membrana aumenta (ver figura 2) (Feng *et al.*, 2018). Após a destabilização das membranas, o O<sub>3</sub> apresenta a capacidade de penetrar para o interior das bactérias (Gupta e Abhishek, 2012), e assim oxidar vários aminoácidos nomeadamente os resíduos de tirosina e histidina (Mudd *et al.*, 1969). Os ácidos nucleicos também são destabilizados, ocorrendo inibição da expressão de quase todos os genes bacterianos (ver figura 2) resultando na eventual morte celular (Ishizaki *et al.*, 1987; Feng *et al.*, 2018).

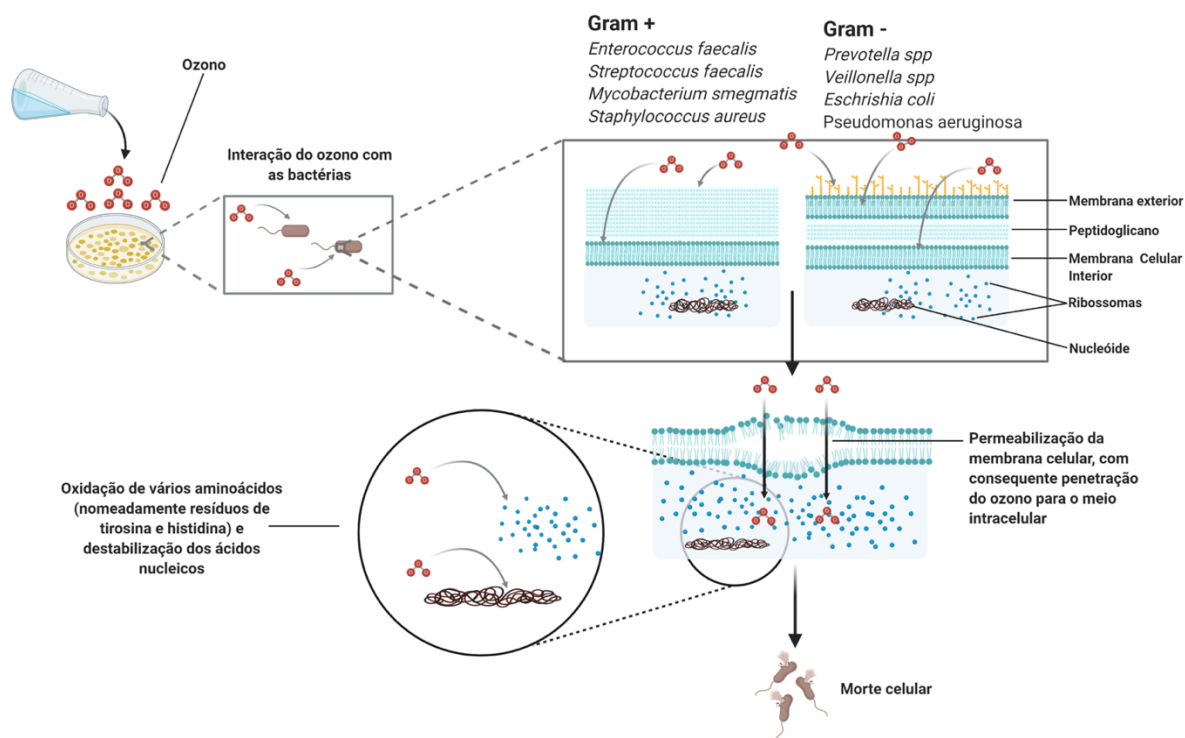


Figura 2. Mecanismo de ação do O<sub>3</sub> em bactérias gram<sup>+</sup> e gram<sup>-</sup>.

#### 4. Biocompatibilidade/Toxicidade do O<sub>3</sub>

Em organismos superiores (nomeadamente mamíferos), o O<sub>3</sub> apresenta níveis de toxicidade inferiores, ao contrário da toxicidade sistémica causada pelo NaOCl quando em contacto com qualquer tecido mole (Gernhardt *et al.*, 2004; Gupta e Abhishek, 2012). A menor toxicidade do O<sub>3</sub> pode ser parcialmente explicado pelo facto de as células eucarióticas deterem mecanismos enzimáticos que auxiliam a re-estabilização dos ácidos nucleicos (Martínez-Sánchez, 2019).

Nas concentrações certas, o O<sub>3</sub> também estimula o sistema imunitário, as vias de metabolismo do oxigénio (Tiwari *et al.*, 2017), dos hidratos de carbono, lípidos e proteínas, além de que atua como analgésico e agente anti-hipóxico (Bhateja, 2012). Apesar de na sua forma gasosa ser considerado citotóxico (Huth *et al.*, 2006), na sua forma aquosa o O<sub>3</sub> é bastante biocompatível (Bhateja, 2012).

Nagayoshi *et al.* (2004), determinaram por meio de estudos *in vitro* em fibroblastos derivados de ratinho (L-929), que para uma capacidade antimicrobiana semelhante, a citotoxicidade da água ozonada 4mg/L é inferior à da solução padrão de 2.5% NaOCl. Foram realizados ensaios idênticos por Huth *et al.* (2006), em células humanas de epitélio oral (BHY) e fibroblastos gengivais (HGF-1). Ambas as linhas celulares foram menos comprometidas pela água ozonada

20 mg/L (no máximo 20% de redução da viabilidade celular) do que pela solução de 5.25% de NaOCl que apresentaram uma redução da viabilidade de aproximadamente 90%. Neste trabalho foram também estudados os efeitos na viabilidade celular (BHY e HGF-1) das soluções irrigantes de 0.2% ciclohexamida e de 3% de peróxido de hidrogênio. Apesar de não se apresentarem tão citotóxicas como o NaOCl, foram demonstradas serem mais nocivas para as células do que a solução de O<sub>3</sub> (Huth *et al.*, 2006). Num outro estudo verificou-se que na linha celular humana de fibroblastos gengivais (FMM1), a utilização de água ozonada concentrada (8 mg/L) provocou uma redução na viabilidade de 31.4% no primeiro contacto, mas este efeito foi totalmente revertido após 24h (Nogales *et al.*, 2016).

## 5. Aplicações do O<sub>3</sub> em endodontia

O O<sub>3</sub> tem sido testado em Endodontia como solução irrigante alternativa ao NaOCl ou usado de forma complementar a outras substâncias, devido à sua ampla ação antimicrobiana e baixa citotoxicidade (Silva *et al.*, 2020).

O NaOCl em concentrações de 0,5% a 6% é a substância mais utilizada para irrigação durante o TENC, apresentando alta atividade antimicrobiana, capaz de atingir um largo espectro de microrganismos, bem como capacidade de dissolução de matéria orgânica, porém apresenta alta citotoxicidade quando em contato com os tecidos periapicais e mucosa oral (Zehnder, 2006)

Diversos estudos reportaram que o O<sub>3</sub> apresenta alta biocompatibilidade e menor citotoxicidade para as células orais do que o NaOCl (Nagayoshi *et al.*, 2004; Huth *et al.*, 2009; Filippi, 2011), podendo assim ser utilizado como tratamento alternativo quando o NaOCl não pode ser usado, como por exemplo em dentes com foramen apical amplo ou com reabsorção apical, devido ao risco de extravasamento da solução irrigante (Boch *et al.*, 2016). Além do seu uso durante ou após a preparação químico-mecânica, o O<sub>3</sub> em estado oleoso também tem sido testado como alternativa às medicações intracanales, no entanto, as propriedades terapêuticas dos óleos ozonados, tais como a sua ação bactericida e potencial de cicatrização, podem ser atribuídas aos produtos formados durante a ozonização dos óleos e não ao O<sub>3</sub> em si (Guinesi *et al.*, 2011). O O<sub>3</sub> reage com os óleos quebrando as ligações entre os átomos de carbono e as moléculas lipídicas, resultando em produtos como cetonas, aldeídos e peróxido de hidrogênio (Guinesi *et al.*, 2011). Até ao momento, ainda é escassa a informação existente na literatura sobre a eficácia e segurança do uso do óleo ozonado em endodontia.

## 6. Apresentações clínicas e protocolos de atuação

O O<sub>3</sub> pode ser utilizado clinicamente em estado gasoso (gás ozonado), aquoso (água ozonada) ou oleoso (óleo ozonado) (Guinesi *et al.*, 2011; Mohammadi *et al.*, 2013). Em Endodontia, tem sido estudada a utilização do O<sub>3</sub> em estado gasoso ou aquoso – durante ou após a realização da preparação químico-mecânica, e em estado oleoso – como medicação intracanal entre sessões (Guinesi *et al.*, 2011; Mohammadi *et al.*, 2013).

Ainda não existe um consenso na forma de aplicação, tempo e concentração ideal do O<sub>3</sub> no TENC (Silva *et al.*, 2020), constando na literatura diferentes equipamentos de geração do O<sub>3</sub> e diversos protocolos de aplicação. De forma geral, o gás ozonado é produzido por equipamentos geradores de O<sub>3</sub>, como por exemplo o HealOzone® 2130 C (Kavo, Biberach, Germany) (Boch *et al.*, 2016) e o Prozone (W&H Dental Werk Burmoos GmbH, Burmoos, Austria) (Case *et al.*, 2012; Üreyen Kaya *et al.*, 2013).

Para aplicá-lo sob a forma de gás dentro dos canais radiculares, pode ser usada uma cânula endodôntica customizada acoplada diretamente ao equipamento gerador (Kist *et al.*, 2017), ou então uma seringa de 10mL acoplada ao gerador de O<sub>3</sub> na qual o gás é introduzido e aplicado com recurso a pontas de irrigação endodôntica convencionais (Nogales *et al.*, 2016).

A água ozonada é produzida através do tratamento de água destilada com recurso a um equipamento gerador de O<sub>3</sub> (Paraskeva *et al.*, 1998). Um frasco de vidro contendo água destilada é acoplado ao equipamento e o O<sub>3</sub> é então incorporado à mesma por um tempo pré-determinado de acordo com o protocolo seguido (por exemplo, durante 5 min) (Nogales *et al.*, 2016). A concentração final da água ozonada deve ser confirmada através de testes fotométricos ou colorimétricos específicos (Huth *et al.*, 2009; Nogales *et al.*, 2016). A água ozonada é então recolhida do frasco e aplicada nos canais radiculares com o uso de seringas e pontas de irrigação, do mesmo modo que é feita a aplicação de qualquer outra solução irrigante.

O gás ozonado pode ser incorporado em soluções oleosas para produzir os óleos ozonados, também levados ao canal com seringas de irrigação, sendo que os óleos ozonados podem ser adquiridos prontos, o que os torna mais fáceis de utilizar (Silveira *et al.*, 2007).

Nas Tabelas 1 e 2 apresentam-se as informações dos protocolos de aplicação utilizados nos estudos incluídos na presente revisão.

**Tabela 1.** Protocolos de aplicação de O<sub>3</sub> em estado gasoso.

Estudo	Concentração	Tempo de aplicação (velocidade)
Boch <i>et al.</i> , 2016	2100 mg/L	60 s
Case <i>et al.</i> , 2012	140 mg/L	2 min (2L/min)
Hems <i>et al.</i> , 2005	–	300s (5.83 cm <sup>3</sup> /s)
Huth <i>et al.</i> , 2009	1 a 53 g/m <sup>3</sup>	1 a 10 min
Kist <i>et al.</i> , 2017	32 g/m <sup>3</sup>	120s
Noites <i>et al.</i> , 2004	4 mg/L	24s, 60s, 120s, 180s
Üreyen Kaya <i>et al.</i> , 2014	140 mg/L	24s (2L/min)

**Tabela 2.** Protocolos de aplicação de O<sub>3</sub> em estado aquoso.

Estudo	Concentração	Tempo de aplicação (velocidade)
Cardoso <i>et al.</i> , 2008	24 mg/L	10 min
Hems <i>et al.</i> , 2005	0.68 mg/L	30s, 60s, 120s, 240s
Hubbezoglu <i>et al.</i> , 2014	8, 12, 16 mg/L	180s
Huth <i>et al.</i> , 2009	1.25 a 20 µg/mL	1 min
Nagayoshi <i>et al.</i> , 2004	4 mg/L	10 min (30 mL/min)
Zan <i>et al.</i> , 2013	16 mg/L	180s

## 7. Fatores que influenciam a eficácia

O efeito antimicrobiano do O<sub>3</sub> é dependente da sua concentração, do tempo e do protocolo de aplicação, para além da estirpe bacteriana em que irá atuar (Silva *et al.*, 2020).

Quanto maior a concentração do O<sub>3</sub>, melhor a sua eficácia antimicrobiana (Huth *et al.*, 2009; Hubbezoglu *et al.*, 2014). Hubbezoglu *et al.* (2014) compararam a atividade antimicrobiana do O<sub>3</sub> em estado aquoso em diferentes concentrações e técnicas de aplicação (manual ou ultrassônica). Apenas a maior concentração testada (16ppm) combinada com a irrigação ultrassônica levou à desinfecção completa dos canais radiculares, mostrando a influência não apenas da concentração, mas também da técnica de aplicação do O<sub>3</sub>.

Noites *et al.* (2014) compararam a ação antimicrobiana do O<sub>3</sub> em estado gasoso aplicado em diferentes tempos, tendo constatado que a aplicação durante curtos períodos de tempo (24s e 60s) não foi eficaz contra *Enterococcus faecalis* ou *Candida albicans*, mas a sua aplicação por períodos mais longos (120s e 180s) apresentou resultados de ação antimicrobiana significativamente melhores. Da mesma forma, no estudo de Hems *et al.* (2005) só houve redução significativa de *Enterococcus faecalis* num período maior de aplicação (240s) entre os vários tempos testados (60s, 120s, 180, 240s).

Apenas um estudo avaliou a associação de diferentes concentrações e diferentes tempos de aplicação (Huth *et al.*, 2006) Ao avaliar a ação do O<sub>3</sub> em estado gasoso em concentrações de 1 a 53 g/m<sup>3</sup>, foi reportada a eliminação total de *Enterococcus faecalis* usando a concentração de 32 g/m<sup>3</sup> durante 1 min ou de 4 g/m<sup>3</sup> durante mais de 2,5 min, mostrando o efeito direto da concentração e tempo na eficácia do O<sub>3</sub>. Analisando a ação do O<sub>3</sub> em estado aquoso em concentrações de 1.25 a 20 µg/mL, apenas na concentração máxima este se aproximou da eliminação total dos biofilmes de *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* e *Pseudomonas aeruginosa* (Huth *et al.*, 2006).

Deve ser levado em consideração que o O<sub>3</sub> se dissipa rapidamente após contato com compostos orgânicos e para manter a sua eficácia precisa de um fluxo contínuo ou ciclos de renovação (Nagayoshi *et al.*, 2004).

Diferenças na permeabilidade celular dos microrganismos também interferem na ação antimicrobiana do O<sub>3</sub>, o que justifica que este tenha uma ação mais eficaz contra alguns microrganismos do que contra outros. O O<sub>3</sub> tem efeito bactericida, interagindo principalmente com os lípidos das membranas citoplasmáticas dos microrganismos, por isso, diferenças na composição da membrana citoplasmática, como a presença de LPS e fosfolipídios nos microrganismos gram-, podem explicar que estes tenham uma maior suscetibilidade à ação do O<sub>3</sub> (Silva *et al.*, 2020).

## 8. Microbiologia

Alguns microrganismos tem sido alvo de grande interesse no estudo das infecções endodônticas persistentes como as bactérias *Enterococcus faecalis* e *Pseudomonas sp.*, além do fungo *Candida albicans* (Pinheiro *et al.*, 2003; Siqueira e Rôças, 2004) e a ação antimicrobiana do O<sub>3</sub> contra esses microrganismos tem sido investigada em cultura e em biofilmes de canais radiculares e túbulos dentinários (Silva *et al.*, 2020).

Hems *et al.* (2005) mostraram que o O<sub>3</sub> em estado gasoso teve um efeito significativo na redução de *Enterococcus faecalis* em estado planctônico, mas foi menos eficaz do que o NaOCl a 0.05%. Da mesma forma, a água ozonada em baixa concentração mostrou-se menos eficaz contra *Candida albicans* e *Peptostreptococcus micros* do que o NaOCl a 2.25% e 5.25% (Huth *et al.*, 2009). No entanto, neste último estudo o O<sub>3</sub>, tanto em estado gasoso quanto aquoso e em

baixas ou altas concentrações, foi tão eficaz quanto o NaOCl a 2.25% e a 5.25% e a CHX a 2% contra *Enterococcus faecalis*.

Já em biofilmes endodônticos, diversos estudos mostraram que o O<sub>3</sub> em estado gasoso foi capaz de reduzir significativamente *Enterococcus faecalis*, porém a sua ação foi menos eficaz do que o NaOCl a 1%, a 2.5%, ou a 3% (Case *et al.*, 2012; Üreyen Kaya *et al.*, 2013; Boch *et al.*, 2016), assim como o O<sub>3</sub> em estado aquoso comparado com NaOCl a 5.25% (Zan *et al.*, 2013; Hubbezoglu *et al.*, 2014) e a 2.5% (Nagayoshi *et al.*, 2004). Apenas dois estudos reportaram que o O<sub>3</sub> foi tão eficaz quanto o NaOCl contra um biofilme de *Enterococcus faecalis* em canais radiculares (Huth *et al.*, 2009; Noites *et al.*, 2014). Apesar disso, os mesmos estudos mostraram uma menor eficácia do O<sub>3</sub> em estado gasoso contra um biofilme de *Candida albicans* (Huth *et al.*, 2009; Noites *et al.*, 2014) e *Pseudomonas aeruginosa* (Huth *et al.*, 2009), comparando com NaOCl. Nagayoshi *et al.* (2004) avaliaram a eficácia da água ozonada contra um biofilme de *Streptococcus mutans* e também observaram uma menor eficácia do que o NaOCl.

Usado como substância complementar, o O<sub>3</sub> pode aumentar a eficácia da irrigação endodôntica convencional com CHX (Noites *et al.*, 2014) e EDTA (Boch *et al.*, 2016). Além disso, a irrigação ultrassônica pode aumentar o efeito bactericida do O<sub>3</sub>, assemelhando-se assim ao potencial de ação do NaOCl (Nagayoshi *et al.*, 2004; Case *et al.*, 2012; Hubbezoglu *et al.*, 2014).

No único ensaio clínico randomizado incluído nesta revisão, dentes permanentes com lesão periapical foram submetidos a TENC. Foi aplicado gás ozonado ou NaOCl a 3% antes da aplicação da medicação intracanal com hidróxido de cálcio. Após 7 dias, a medicação foi removida e foi aplicado novamente o gás ozonado no grupo do O<sub>3</sub> e CHX a 2% no grupo do NaOCl. Ambas as substâncias levaram a taxas de sucesso e regressão de lesão semelhantes após 6 e 12 meses, além de semelhante redução bacteriana (Kist *et al.*, 2017).

### III. DISCUSSÃO

O O<sub>3</sub> é ativo contra uma ampla variedade de microrganismos e reduz a carga microbiana dentro dos canais radiculares, porém tem mostrado menos eficácia do que o NaOCl (Nagayoshi *et al.*, 2004; Case *et al.*, 2012; Üreyen Kaya *et al.*, 2013; Zan *et al.*, 2013; Hubbezoglu *et al.*, 2014; Boch *et al.*, 2016). O O<sub>3</sub> só apresentou eficácia similar à do NaOCl quando aplicado em altas concentrações, por períodos de tempo prolongados, sob irrigação ultrassônica, ou quando complementar a outras substâncias como o próprio NaOCl, o EDTA ou a CHX (Huth *et al.*, 2009; Hubbezoglu *et al.*, 2014; Noites *et al.*, 2014). Sendo assim, não há evidência que suporte a indicação de substituição do NaOCl pelo O<sub>3</sub> durante a preparação químico-mecânica na terapia endodôntica (Silva *et al.*, 2020).

Apesar de não apresentar atividade antimicrobiana superior à do NaOCl, o O<sub>3</sub> apresenta maior biocompatibilidade e menor citotoxicidade para as células orais (Nagayoshi *et al.*, 2004; Huth *et al.*, 2009) e portanto, o seu uso pode ser considerado em casos em que o NaOCl não possa ser utilizado devido ao risco de extravasamento, como no TENC de dentes com reabsorções radiculares e forâmens abertos (Boch *et al.*, 2016). Além disso, pode ser considerada a sua utilização como substância complementar, a fim de aumentar a ação antibacteriana de outras substâncias como a CHX (Noites *et al.*, 2014) e o EDTA (Boch *et al.*, 2016). Pode-se considerar ainda a aplicação do O<sub>3</sub> ativado por ultrassons, para atingir uma eficácia antimicrobiana semelhante à do NaOCl (Hubbezoglu *et al.*, 2014).

Em relação ao uso do O<sub>3</sub> complementar ao NaOCl, apenas um estudo mostrou melhoria na atividade antibacteriana do NaOCl (Noites *et al.*, 2014). A maioria dos estudos que avaliaram esta associação não mostraram esta melhoria (Hubbezoglu *et al.*, 2014; Boch *et al.*, 2016), não se verificando mais valias numa segunda desinfecção com O<sub>3</sub>.

É importante ressaltar que o O<sub>3</sub> não parece ser eficaz na eliminação ou inativação de endotoxinas (Cardoso *et al.*, 2008), ao contrário do que ocorre com o NaOCl (Neelakantan *et al.*, 2019). As endotoxinas têm grande importância no desenvolvimento e manutenção da periodontite apical, sendo que a sua inativação é fundamental no tratamento de dentes com necrose pulpar (Leonardo *et al.*, 2004).

A maioria dos estudos abordados na presente revisão são laboratoriais e apresentam limitações. Nos estudos em que foi avaliada a atividade antimicrobiana do O<sub>3</sub> contra biofilmes endodônticos foram testados biofilmes de apenas uma espécie. Sabe-se que um biofilme de múltiplas espécies reproduz mais fielmente a realidade clínica da infecção endodôntica e

apresenta mecanismos diferenciados que protegem os microrganismos da ação de soluções desinfetantes e medicações (Lukic *et al.*, 2020). Apenas um estudo avaliou a eficácia do O<sub>3</sub> em estado gasoso num biofilme de múltiplas espécies no qual foi observado um efeito mínimo sobre os microrganismos (Müller *et al.*, 2007).

Outra limitação prende-se com o fato de na maioria dos estudos que avaliaram o efeito antimicrobiano do O<sub>3</sub> nos canais radiculares, os microrganismos terem sido recolhidos apenas do interior do canal principal. Um estudo mostrou que a atividade antibacteriana do O<sub>3</sub> pode ser superficial, tendo usado amostras de dentina radicular que apresentaram uma contagem muito maior de bactérias do que as amostras recolhidas do interior do canal radicular (Üreyen Kaya *et al.*, 2013). Futuros estudos devem avaliar o efeito do O<sub>3</sub> na descontaminação dos túbulos dentinários em diferentes profundidades.

A maioria dos estudos incluídos na presente revisão avaliou a eficácia do O<sub>3</sub> contra *Enterococcus faecalis*, uma bactéria gram+. A ação do O<sub>3</sub> ser dependente da sua interação com as camadas lipídicas da membrana dos microrganismos, logo há necessidade de realizar estudos que comparem a eficácia do O<sub>3</sub> em bactérias gram+ e gram- comumente associadas à infecção endodôntica.

O único ensaio clínico randomizado incluído na presente revisão mostrou uma eficácia do O<sub>3</sub> semelhante à do NaOCl, com redução bacteriana e taxas de sucesso pós-tratamento sem diferenças significativas (Kist *et al.*, 2017). Neste estudo a aplicação do O<sub>3</sub> e do NaOCl foi realizada após a instrumentação, seguido de medicação intracanal com hidróxido de cálcio entre as sessões. Após a remoção da medicação no grupo do O<sub>3</sub> foi aplicado novamente O<sub>3</sub> e no grupo do NaOCl foi aplicada CHX a 2%. Os autores relatam que escolheram realizar o TENC em duas sessões utilizando o hidróxido de cálcio para melhorar a eficácia na redução de endotoxinas. Importa ressaltar que a aplicação do hidróxido de cálcio é um fator importante que pode ter interferência no resultado clínico a longo prazo.

Tendo em vista que a concentração, o tempo e a técnica de aplicação interferem diretamente na eficácia do O<sub>3</sub>, novos estudos deverão ser realizados com vista a avaliar e estabelecer um protocolo ideal para a sua aplicação no TENC de infecções primárias e persistentes.

#### **IV. CONCLUSÃO**

A ozonoterapia em Endodontia tem apresentado resultados inferiores à terapia endodôntica convencional com NaOCl e não deve ser indicada como seu substituo, no entanto, o O<sub>3</sub> apresenta significativa atividade antibacteriana e baixa citotoxicidade, podendo ser usado como alternativa em casos em que o NaOCl não é indicado, ou usado de forma complementar melhorando a eficácia de outras substâncias, no entanto novos estudos deverão ser realizados com vista a avaliar e estabelecer um protocolo ideal para a sua aplicação em endodontia.

## BIBLIOGRAFIA

- Akyuz Ekim, S. N. e Erdemir, A. (2015). Comparison of different irrigation activation techniques on smear layer removal: An in vitro study. *Microscopy Research and Technique*, pp. 1–10.
- Albuquerque, D., Koottoor, J. e Hammo, M. (2014). Endodontic and clinical considerations in the management of variable anatomy in mandibular premolars: A literature review. *BioMed Research International*, pp. 1–11.
- Arita, M. *et al.* (2005). Microbicidal efficacy of ozonated water on candida albicans adhered to avrylic plates. *Oral Microbiology and immunology*, 20, pp. 206–210.
- Azarpazhooh, A. e Limeback, H. (2008). The application of ozone in dentistry: A systematic review of literature. *Journal of Dentistry*, 36, pp. 104–116.
- Bhateja, S. (2012). The miraculous healing therapy – “Ozone therapy” in dentistry. *Indian Journal of Dentistry*. Elsevier Inc, 3(3), pp. 150–155.
- Bocci, V. (2002). Physico-chemical properties of ozone. in *Oxygen-Ozone Therapy: A Critical Evaluation*. Springer, pp. 37–41.
- Bocci, V. (2004). Ozone as Janus: This controversial gas can be either toxic or medically useful. *Mediators of Inflammation*, 13(1), pp. 3–11.
- Bocci, V. (2011). Introduction. in *Ozone: A New Medical Drug*. 2nd Ed. Springer.
- Boch, T. *et al.* (2016). Effect of gaseous ozone on Enterococcus faecalis biofilm—an in vitro study. *Clinical Oral Investigations*, 20, pp. 1733–1739.
- Bollyky, L. (1974). Method of producing ozone. Washington, DC :U.S. Patent.
- Buldur, B. e Kapdan, A. (2017). Comparison of the EndoVac system and conventional needle irrigation on removal of the smear layer in primary molar root canals. *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 41(4), pp. 284–288.
- Cardoso, M. G. *et al.* (2008). Effectiveness of ozonated water on Candida albicans, Enterococcus faecalis, and endotoxins in root canals. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 105, pp. 85–91.
- Case, P. D. *et al.* (2012). Treatment of root canal biofilms of enterococcus faecalis with ozone gas and passive ultrasound activation. *Journal of Endodontics*. Elsevier Ltd, 38(4), pp. 523–526.
- Celiberti, P., Pazera, P. e Lussi, A. (2006). The impact of ozone treatment on enamel physical properties. *American Journal of Dentistry*, 19(1), pp. 67–72.
- Clarkson, R. M. e Moule, A. J. (1998). Sodium hypochlorite and its use as an endodontic

irrigant. *Australian Dental Journal*, 43(4), pp. 1–7.

Conrad, R. (1992). Method of powering corona discharge in ozone generators. Washington, DC :U.S. Patent.

Dodd, M. C., Kohler, H. P. E. e Gunten, U. Von. (2009). Oxidation of antibacterial compounds by ozone and hydroxyl radical: Elimination of biological activity during aqueous ozonation processes. *Environmental Science and Technology*, 43, pp. 2498–2504.

Feng, L. *et al.* (2018). Inactivation of vibrio parahaemolyticus by aqueous ozone. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(8), pp. 1233–1246.

Fidalgo, T. K. da S. *et al.* (2010). Inhibitory activity of root canal irrigants against *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*. *Brazilian Oral Research*, 24(4), pp. 406–412.

Filippi, A. (2011). The Influence Of Ozonised Water On The Epithelial Wound Healing Process In The Oral Cavity. *Clinic of Oral Surgery, Radiology and Oral Medicine, University of Basel, Switzerland*, 1(14).

Fraschino, A. V. *et al.* (2013). Aqueous-ozone irrigation of bone monocortical wounds in hyperglycemic rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 28(5), pp. 327–333.

Gernhardt, C. R. *et al.* (2004). Toxicity of concentrated sodium hypochlorite used as an endodontic irrigant. *International Endodontic Journal*, 37, pp. 272–280.

Gomes, B. P. F. de A. e Herrera, D. R. (2018). Etiologic role of root canal infection in apical periodontitis and its relationship with clinical symptomatology. *Brazilian Oral Research*, 32, pp. 82–110.

Good, M., El Karim, I. A. e Hussey, D. L. (2012). Endodontic “solutions” part 1: A literature review on the use of endodontic lubricants, irrigants and medicaments. *Dental Update*, 39(4), pp. 239–246.

Guinesi, A. S. *et al.* (2011). Ozonized Oils: A qualitative and quantitative analysis. *Brazilian Dental Journal*, 22(1), pp. 37–40.

Gupta, M. e Abhishek. (2012). Ozone: An Emerging Prospect In Dentistry. *Indian Journal of Dental Sciences*, 4(1), pp. 47–50.

Harakeh, M. S. e Butler, M. (1985). Factors influencing the ozone inactivation of enteric viruses in effluent. *Ozone: Science & Engineering*, 6, pp. 235–243.

Holliday, R. e Alani, A. (2014). Traditional and contemporary techniques for optimizing root canal irrigation. *Dental Update*, 41, pp. 51–61.

Hong, B. Y. *et al.* (2013). Microbial analysis in primary and persistent endodontic infections by using pyrosequencing. *Journal of Endodontics*. Elsevier Ltd, 39(9), pp. 1136–1140.

- Hubbezoglu, I. *et al.* (2014). Antibacterial efficacy of aqueous ozone in root canals infected by *Enterococcus faecalis*. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 7(7), pp. 1–5.
- Huth, K. C. *et al.* (2006). Effect of ozone on oral cells compared with established antimicrobials. *European Journal of Oral Sciences*, 114, pp. 435–440.
- Huth, K. C. *et al.* (2009). Effectiveness of ozone against endodontopathogenic microorganisms in a root canal biofilm model. *International Endodontic Journal*, 42, pp. 3–13.
- Ishizaki, K. *et al.* (1987). Effect of ozone on plasmid DNA of *Escherichia coli* in situ. *Water Research*, 21(7), pp. 823–827.
- Khoshroo, K. *et al.* (2020). A new phantom to evaluate the tissue dissolution ability of endodontic irrigants and activating devices. *Restorative Dentistry & Endodontics*, 45(4), pp. 1–8.
- Kishen, A. (2012). Advanced therapeutic options for endodontic biofilms Biofilm. *Endodontic Topics*, 22, pp. 99–123.
- Kist, S. *et al.* (2017). Comparison of ozone gas and sodium hypochlorite/chlorhexidine two-visit disinfection protocols in treating apical periodontitis: a randomized controlled clinical trial. *Clinical Oral Investigations*, 21(4), pp. 995–1005.
- Leonardo, M. R. *et al.* (2004). Importance of bacterial endotoxin (LPS) in endodontics. *Journal of Applied Oral Science*, 12(2), pp. 93–98.
- Lukic, D. *et al.* (2020). Endodontic-like oral biofilms as models for multispecies interactions in endodontic diseases. *Microorganisms*, 8, pp. 1–24.
- Martínez-Sánchez, G. (2019). Ozonized water , background , general use in medicine and preclinic support. *Ozone Therapy Global Journal*, 9(1), pp. 33–60.
- Mohammadi, Z. *et al.* (2013). A Review of the Properties and Applications of Ozone in Endodontics: An Update. *Iranian Endodontic Journal*, 8(2), pp. 40–43.
- Mohammadi, Z. *et al.* (2017). Unusual root canal irrigation solutions. *Journal of Contemporary Dental Practice*, 18(5), pp. 415–420.
- Moradi Eslami, L. *et al.* (2019). The comparison of intracanal medicaments, diode laser and photodynamic therapy on removing the biofilm of *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* in the root canal system (ex-vivo study). *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. Elsevier, 26, pp. 157–161.
- Moshonov, J. *et al.* (1995). Nd: YAG laser irradiation in root canal disinfection. *Endodontics & Dental Traumatology*, 11, pp. 220–224.
- Mudd, J. B. *et al.* (1969). Reaction of ozone with amino acids and proteins. *Atmospheric Environment*, 3(6), pp. 669–681.

- Müller, P., Guggenheim, B. e Schmidlin, P. R. (2007). Efficacy of gasiform ozone and photodynamic therapy on a multispecies oral biofilm in vitro. *European Journal of Oral Sciences*, 115, pp. 77–80.
- Nagayoshi, M. *et al.* (2004). Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. *Journal of Endodontics*, 30(11), pp. 778–781.
- Neelakantan, P. *et al.* (2019). Endotoxin levels after chemomechanical preparation of root canals with sodium hypochlorite or chlorhexidine: a systematic review of clinical trials and meta-analysis. *International Endodontic Journal*, 52(1), pp. 19–27.
- Nogales, C. G. *et al.* (2016). Ozone therapy as an adjuvant for endodontic protocols: Microbiological – Ex vivo study and cytotoxicity analyses. *Journal of Applied Oral Science*, 24(6), pp. 607–613.
- Noites, R. *et al.* (2014). Synergistic antimicrobial action of chlorhexidine and ozone in endodontic treatment. *BioMed Research International*, 2014, pp. 1–6.
- Oesper, R. (1929). Christian Friedrich Schönbein. PART II. EXPERIMENTAL LABORS. *Journal of Chemical Education*, 6(4), pp. 677–685.
- Padam, S. *et al.* (2014). Application of Ozone in Various Specialities of Dentistry. *Journal of Research and Advancement in Dentistry*, 3(3S), pp. 44–47.
- Paraskeva, P., Lambert, S. D. e Graham, N. J. D. (1998). Influence of Ozonation Conditions on the Treatability of Secondary Effluents. *Ozone: Science & Engineering: The Journal of the International Ozone Association*, 20(2), pp. 133–150.
- Pinheiro, E. T. *et al.* (2003). Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *International endodontic journal*, 36, pp. 1–11.
- Pinheiro, S. *et al.* (2018). Antimicrobial efficacy of 2.5% sodium hypochlorite, 2% chlorhexidine, and ozonated water as irrigants in mesiobuccal root canals with severe curvature of mandibular molars. *European Journal of Dentistry*, 12(1), pp. 94–99.
- Rubin, M. B. (2001). The History of Ozone . the Schönbein Period , 1839-1868. *Bulletin for the History of Chemistry*, 26(1), pp. 40–56.
- Saini, R. (2011). Ozone therapy in dentistry: A strategic review. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*, 2(2), pp. 151–153.
- Sanitarium, B. (1894). The influence of ozone upon bacteria. in *Modern Medicine and Bacteriological Review*. Modern Medicine Publishing Company, p. 17.
- Siemens, W. (1857). Ueber die elektrostatische Induction und die Verzögerung des Stroms in Flaschendrähnen. *Annalen der Physik*, 178(9), pp. 66–122.
- Silva, E. J. N. L. *et al.* (2019). Micro-CT evaluation of different final irrigation protocols on

- the removal of hard-tissue debris from isthmus-containing mesial root of mandibular molars. *Clinical Oral Investigations*. *Clinical Oral Investigations*, 23, pp. 681–687.
- Silva, E. J. N. L. *et al.* (2020). The effect of ozone therapy in root canal disinfection: a systematic review. *International Endodontic Journal*, 53, pp. 317–332.
- Silveira, A. M. V *et al.* (2007). Periradicular Repair after Two-Visit Endodontic Treatment Using Two Different Intracanal Medications Compared to Single-Visit Endodontic Treatment. *Brazilian Dental Journal*, 18(4), pp. 299–304.
- Siqueira, J. F. *et al.* (2000). Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *Journal of Endodontics*, 26(6), pp. 331–334.
- Siqueira, J. F. e Rôças, I. N. (2004). Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 97(1), pp. 85–94.
- Soni, K. S. *et al.* (2018). Review Article Ozone in Pediatric Dentistry : a Miracle Therapy. *Indian Dental Association*, 34(2), pp. 6–9.
- Tesla, N. (1896). APPARATUS FOR PRODUCING OZONE. *Journal of Chemical Information and Modeling*.
- Tiwari, S. *et al.* (2017). Dental applications of ozone therapy: A review of literature. *The Saudi Journal for Dental Research*. The Authors, 8, pp. 105–111.
- Tuncay, O. *et al.* (2015). Effects of ozone and photo-activated disinfection against *Enterococcus faecalis* biofilms in vitro. *Nigerian Journal of Clinical Practice*, 18(6), pp. 814–818.
- Üreyen Kaya, B. *et al.* (2013). Efficacy of endodontic applications of ozone and low-temperature atmospheric pressure plasma on root canals infected with *Enterococcus faecalis*. *Letters in Applied Microbiology*, 58, pp. 8–15.
- Wickramaayake, G. B., Rubin, A. J. e Sproul, O. J. (1984). Inactivation of *Naegleria* and *Giardia* cysts in water by ozonation. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, 56(8), pp. 983–988.
- Zan, R. *et al.* (2013). Antibacterial effects of two different types of laser and aqueous ozone against *enterococcus faecalis* in root canals. *Photomedicine and Laser Surgery*, 31(4), pp. 1–5.
- Zehnder, M. (2006). Root Canal Irrigants. *Journal of Endodontics*, 32(5), pp. 389–398.